

BÀI TỔNG QUAN

**HỢP CHẤT HYDROCARBON THƠM ĐA NHÂN (PAHs) VÀ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY SINH HỌC BỞI VI KHUẨN**

**Nghiêm Ngọc Minh, Cung Thị Ngọc Mai**

*Viện Công nghệ sinh học*

TÓM TẮT

Trên thế giới và ở Việt Nam hiện nay, cùng với sự phát triển nhanh chóng của xã hội, nhu cầu về nguồn nguyên, nhiên liệu của con người ngày càng tăng kéo theo sự mở rộng các ngành công nghiệp khai thác, chế biến như công nghiệp dầu mỏ, sản xuất sơn, sản xuất giấy, công nghiệp dệt nhuộm hay sản xuất các hóa chất tẩy rửa,... Hoạt động của các ngành công nghiệp này hàng năm đã thải ra một lượng lớn chất độc gây ô nhiễm môi trường và có ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Ngoài một số sự cố, nguyên nhân chính của ô nhiễm môi trường là do các chất thải không được xử lý triệt để hay chưa được xử lý vẫn hàng ngày thải ra môi trường, phá vỡ cân bằng sinh thái và gây ảnh hưởng nghiêm trọng đối với sức khỏe con người. Trong số này phải kể đến các hợp chất hydrocarbon thơm (PAHs) là các chất thường gây ra ung thư và đột biến ở người. Chúng luôn có trong nước, các chất thải công nghiệp và trong dầu mỏ. Sự phân hủy hoàn toàn các hợp chất PAHs đòi hỏi sự tham gia của tập đoàn các vi sinh vật. Khi PAHs được hấp thụ bởi vi sinh vật, chúng sẽ phân hủy theo con đường hiếu khí bằng cách gắn thêm 2 nguyên tử oxy nhờ vi khuẩn để tạo hợp chất *cis*-dihydrodiol hay các hợp chất phenol. PAHs cũng có thể hoạt động bởi hệ enzyme P<sub>450</sub> của nhiều nấm và vi khuẩn để tạo arene oxide. Sự hoạt hóa này cũng có thể được thực hiện nhờ các enzyme phân hủy lignin tạo ra quinone. Tuy nhiên trong bài này chúng tôi tập trung vào khả năng phân hủy PAHs bởi vi khuẩn.

*Từ khóa: PAHs, phân hủy PAHs, phân hủy PAHs bởi vi khuẩn, hợp chất cis-dihydrodiol, hợp chất phenols*

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA PAHs

**PAHs là gì?**

PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) được sử dụng để chỉ một số các chất hữu cơ gồm hai hay nhiều vòng hydrocarbon thơm liên kết với nhau, được hình thành trong quá trình đốt cháy than đá, dầu, gỗ, rác thải hay các hợp chất hữu cơ như thuốc lá và thịt cháy thành than. PAHs thường tồn tại dưới dạng hỗn hợp (1 phần của sản phẩm đốt cháy ví dụ như bồ hóng). Một vài PAHs được sử dụng làm thuốc và tạo màu, nhựa và thuốc trừ sâu, một số khác thì chứa trong nhựa đường. Chúng có thể được tìm thấy trong bề mặt của dầu thô, than đá, nhựa than đá, dầu và nhựa carton. PAHs được tìm thấy ở môi trường trong không khí, nước và đất. Chúng xuất hiện trong không khí, đồng thời tấn công và liên kết vào phân tử bụi như cát sau đó tích tụ trong đất hoặc trầm tích.

**Cấu trúc hóa học và một số đặc tính cơ bản của PAHs**

Tại nhiệt độ thường (từ 15 - 35°C), PAHs tinh khiết tồn tại ở thể rắn, không màu hoặc có màu trắng

hay màu vàng chanh. Tùy thuộc vào khối lượng phân tử mà các PAHs có những tính chất vật lý, hóa học khác nhau. Nhìn chung, chúng có nhiệt độ nóng chảy và nhiệt độ sôi cao, áp suất bay hơi thấp và rất ít tan trong nước nhưng tan tốt trong chất béo. Một số đặc tính cơ bản của PAH được mô tả trong bảng 1 (Lan Sander, Stephen Wis, 1997).

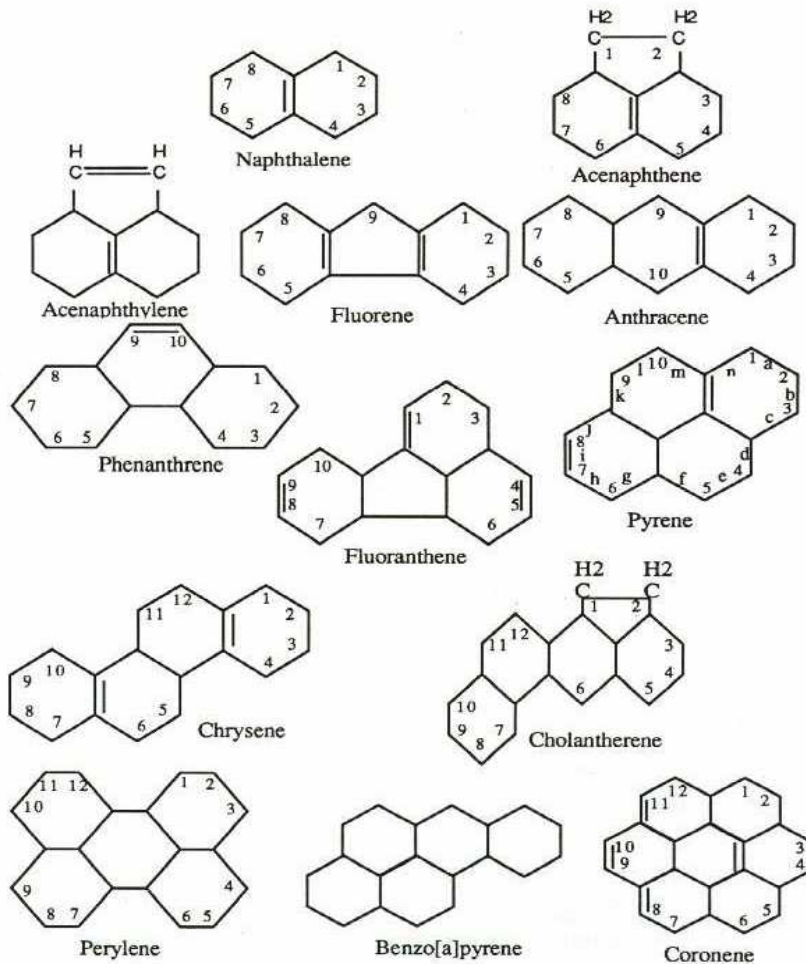
Hệ số K<sub>ow</sub> cao, các PAH có xu hướng tăng khả năng hấp phụ lên bề mặt các vật liệu rắn, tương ứng với sự giảm khả năng phân hủy sinh học. Độ hòa tan trong nước của PAH tỷ lệ nghịch với chỉ số K<sub>ow</sub>. PAH là những chất kỵ nước. Khả năng gây ô nhiễm môi trường tùy thuộc khả năng hòa tan của chúng trong môi trường nước (Carl Cerniglia, 1992; Sims *et al.*, 1983). Đặc điểm về khả năng hòa tan và áp suất hơi của PAH là nhân tố chính ảnh hưởng đến khả năng phân tán của chúng trong khí quyển, thủy quyển và sinh quyển. Số lượng vòng benzen trong cấu trúc hóa học của các PAH quyết định khả năng hòa tan của các PAH trong nước. PAH giảm khả năng hòa tan trong nước hay tăng tính kỵ nước khi số lượng vòng benzen tăng (Wilson, Jones, 1993). Khả năng hòa tan của các PAH rất biến động, từ những chất khó hòa tan nhất là benzo(b)perylene có chỉ số hòa tan là

0,003 mg/l cho đến chất dễ hòa tan nhất là naphthalene có chỉ số hòa tan tới 31 mg/l. Nếu khả năng hòa tan trong nước của PAH thấp, hay hệ số hấp phụ cao, chỉ số K<sub>p</sub> cao sẽ dẫn đến các PAH có xu hướng bị hấp phụ trong cặn bùn, đất đá và trầm tích, do đó ảnh hưởng rất nhiều tới khả năng chúng bị phân hủy sinh học bởi vi sinh vật (Ahn Y *et al.*, 1999). Ngược lại, khả năng hòa tan trong nước của PAH cao thì khả năng bị phân hủy bởi vi sinh vật cũng cao. Điều đó cho thấy khả năng hòa tan trong nước của các PAH có ảnh hưởng đặc biệt quan trọng trong quá trình phân hủy sinh học PAH.

Hệ số K<sub>p</sub><sup>d</sup> cao, các PAH có xu hướng tăng khả năng hấp phụ lên bề mặt các vật liệu rắn, tương ứng với sự giảm khả năng phân hủy sinh học vì khi chỉ số K<sub>p</sub> cao thì có nghĩa là số nguyên tử carbon, số mạch vòng trong phân tử PAH đó cũng tăng lên do vậy nó

sẽ khó bị phân hủy hơn tức là sẽ làm giảm khả năng phân hủy sinh học.

Áp suất hơi và nhiệt độ sôi cũng có vai trò quan trọng trong quá trình xử lý loại bỏ PAH khỏi các địa điểm ô nhiễm, nó ảnh hưởng đến khả năng hóa hơi của mỗi PAH, mà sự bay hơi cũng là một cách để loại bỏ PAH khỏi nguồn ô nhiễm. Khi áp suất hơi tăng, khả năng bay hơi cũng tăng. Khả năng bay hơi cũng phụ thuộc vào kích thước và khối lượng phân tử. Từ cấu trúc phân tử PAHs ở trên và HÌNH 1 ta thấy, naphthalene có kích thước nhỏ nhất nên có khả năng bay hơi đến 89%, trong khi đó BaP là hợp chất có kích thước lớn, chỉ có khả năng bay hơi 1%. Phenanthrene là đồng phân của anthracene có độ bay hơi thấp hơn do cấu trúc phân tử chứa các vòng thơm không thẳng hàng như trong cấu trúc của anthracene.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của một số loại PAHs (Lane Sander, Stephen Wis, 1997).

**Bảng 1.** Tính chất vật lý của một số loại PAH.

Tên loại PAH	Số vòng	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Nhiệt độ sôi (°C)	Độ tan trong nước (mg/l)	LogKp <sup>d</sup>	Áp suất hơi ở 20°C (torr)
Phenanthrene	3	101	340	1,29	4,45	6,8.10 <sup>-4</sup>
Anthracene	3	216	340	0,07	4,46	2,0.10 <sup>-4</sup>
Fluoranthene	4	111	250	0,26	5,33	6,0.10 <sup>-6</sup>
Benzo[a]anthracene	4	158	400	0,24	5,61	5,0.10 <sup>-9</sup>
Pyrene	4	149	360	0,14	5,32	6,8.10 <sup>-7</sup>
Schylene	4	255	488	0,02	5,61	6,3.10 <sup>-7</sup>
Benzo[a]pyrene (BaP)	5	179	496	0,0038	6,04	5,0.10 <sup>-7</sup>
Dibenzo[a] anthracene	5	262	524	0,0005	5,97	1,0.10 <sup>-10</sup>
Benzo[g,h,i]perylene	6	222	--	0,0003	7,23	1,0.10 <sup>-10</sup>

**Ghi chú:** \* Kp<sup>d</sup>= [octanol]/ [nước].

### Nguồn gốc phát sinh và khả năng tích tụ PAHs

PAHs được hình thành chủ yếu từ các quá trình nhiệt phân, đặc biệt từ sự đốt cháy không hoàn toàn của hợp chất hữu cơ trong công nghiệp và trong các hoạt động khác của con người, ví dụ như quá trình khai thác than đá và dầu mỏ, sự đốt cháy của các khí thiên nhiên, đốt cháy nhiên liệu từ; khí thải của các phương tiện giao thông, từ quá trình chế biến thức ăn, từ khói thuốc lá, khí thải của các lò đốt rác (rác thải y tế và rác thải đô thị); các quá trình công nghiệp như bê gãy các liên kết mạch dài của các chất hữu cơ có trong dầu mỏ, các công đoạn đúc sắt thép và sản xuất nhôm, than chì. Có tới hàng trăm PAHs khác nhau, nhưng được biết đến nhiều nhất là benzo[a]pyrene (BaP). Ngoài ra, còn có một số các hợp chất vòng thơm khác như: carbazole, acridine hay nitro-PAHs, có thể sinh ra bởi sự đốt cháy không hoàn toàn. Nói một cách tổng quát, PAHs được sinh ra nhiều nhất từ các hoạt động công nghiệp và các hoạt động khác của con người.

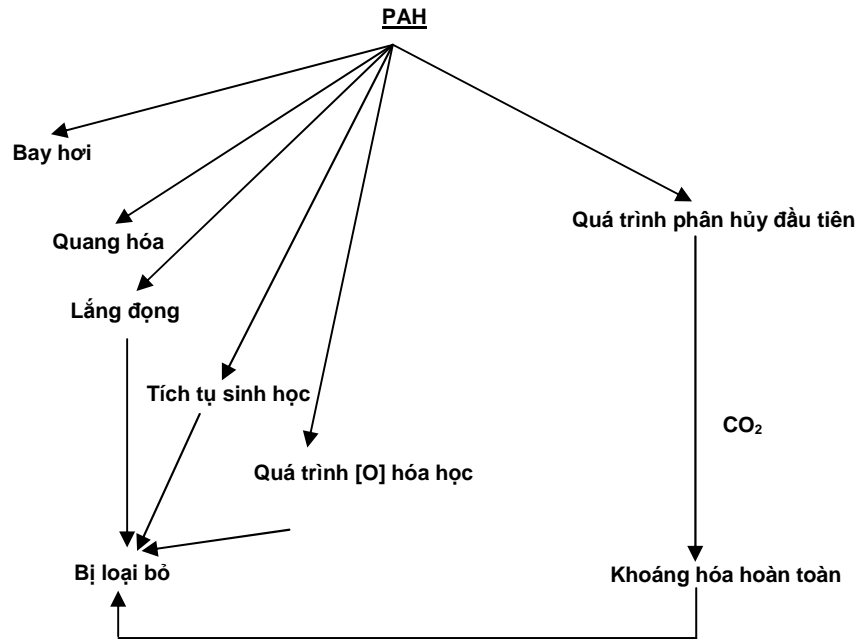
### PHÂN HỦY SINH HỌC PAHs BỞI VI SINH VẬT

#### Con đường phân hủy sinh học PAHs bởi vi sinh vật

Những nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng vi sinh vật phân hủy PAHs là 1 quá trình chủ yếu có khả năng loại bỏ các độc tố có trong trầm tích và bề mặt đất (Sims *et al.*, 1990). Những hợp chất này có thể là hỗn hợp các chất bị phân hủy (khoáng hóa) hay bị

chuyển hóa một phần (Hình 2) bởi tập hợp các vi sinh vật hay các vi sinh vật đơn lẻ (Cerniglia, Heitkamp, 1989). Sự phân hủy sinh học trong đất ô nhiễm chứa PAHs là một cách để loại bỏ ô nhiễm, chúng cũng có thể được loại bỏ nhờ thiêu đốt.

Trong suốt các thế kỷ trước, một lượng lớn các vi sinh vật đã được phân lập có khả năng phân hủy các PAHs khác nhau và những con đường phân hủy PAHs mới cũng đã được chỉ ra. Các nhà khoa học cho rằng, các con đường phân hủy PAHs bởi vi sinh vật chủ yếu là theo con đường đồng trao đổi chất. Hiện nay, xử lý chất ô nhiễm theo phương pháp vi sinh (bioremediation) là một hướng đi mới mẻ và đầy triển vọng trong giải quyết các vấn đề ô nhiễm môi trường. Phương pháp phân hủy sinh học được ứng dụng hiện nay như: bổ sung các vi sinh vật có khả năng phân hủy chất độc vào vùng ô nhiễm (bioaugmentation), kích thích phát triển của vi sinh vật bản địa (biostimulation). Phương pháp phân hủy sinh học không đòi hỏi các điều kiện phức tạp như nhiệt độ cao, áp suất, quá trình xúc tác....; không gây ra ô nhiễm thứ cấp, thân thiện với môi trường, chi phí thấp do đó rất phù hợp với điều kiện ở nước ta. Hạn chế của các phương pháp này là thời gian xử lý. Quá trình phân hủy sinh học các hợp chất hydrocarbon có thể được thực hiện bởi rất nhiều các vi sinh vật (Al-Turki, 2009), trong đó vai trò của vi khuẩn đã được các nhà khoa học nghiên cứu từ rất lâu. Trong bảng 2 đã chỉ ra có hơn 60 giống vi khuẩn có chứa các loài khác nhau có khả năng phân hủy hydrocarbon.



Hình 2. Một số con đường chuyển hóa của PAH (Carl Cerniglia, 1992).

Bảng 2. Các chi vi khuẩn có khả năng phân hủy PAHs (Al-Turki, 2009).

1. <i>Achromobacter</i>	16. <i>Azotobacter</i>	31. <i>Escherichia</i>	46. <i>Phorm</i>
2. <i>Acidovorax</i>	17. <i>Bacillus</i>	32. <i>Flavobacterium</i>	47. <i>Proteus</i>
3. <i>Acinetobacter</i>	18. <i>Beijerinckia</i>	33. <i>Gordona</i>	48. <i>Pseudomonas</i>
4. <i>Actinomyces</i>	19. <i>Beneckea</i>	34. <i>Klebsiella</i>	49. <i>Rhodococcus</i>
5. <i>Aerobacter</i>	20. <i>Brevibacterium</i>	35. <i>Lactobacillus</i>	50. <i>Sarcina</i>
6. <i>Aeromonas</i>	21. <i>Clavibacter</i>	36. <i>Leucothrix</i>	51. <i>Serratia</i>
7. <i>Agmenellum</i>	22. <i>Clostridium</i>	37. <i>Marinobacter</i>	52. <i>Spherotilus</i>
8. <i>Agrobacterium</i>	23. <i>Coccochloris</i>	38. <i>Micrococcus</i>	53. <i>Sphingomonas</i>
9. <i>Alcaligenes</i>	24. <i>Comanonas</i>	39. <i>Microcoleus</i>	54. <i>Spirillum</i>
10. <i>Alteromonas</i>	25. <i>Corynebacterium</i>	40. <i>Moaxella</i>	55. <i>Streptomyces</i>
11. <i>Anabaena</i>	26. <i>Curtobacterium</i>	41. <i>Mycobacterium</i>	56. <i>Thermoleophilum</i>
12. <i>Aphanocapsa</i>	27. <i>Cyclolasticus</i>	42. <i>Nocardia</i>	57. <i>Vibrio</i>
13. <i>Arthrobacter</i>	28. <i>Cytophaga</i>	43. <i>Nostoc</i>	58. <i>Xanthomonas</i>
14. <i>Aureobacterium</i>	29. <i>Enterobacter</i>	44. <i>Oscillatoria</i>	
15. <i>Azospirillum</i>	30. <i>Erwinia</i>	45. <i>Peptococcus</i>	

### Khả năng phân hủy sinh học của một số loại PAHs bởi vi khuẩn

#### Một số nghiên cứu trên thế giới

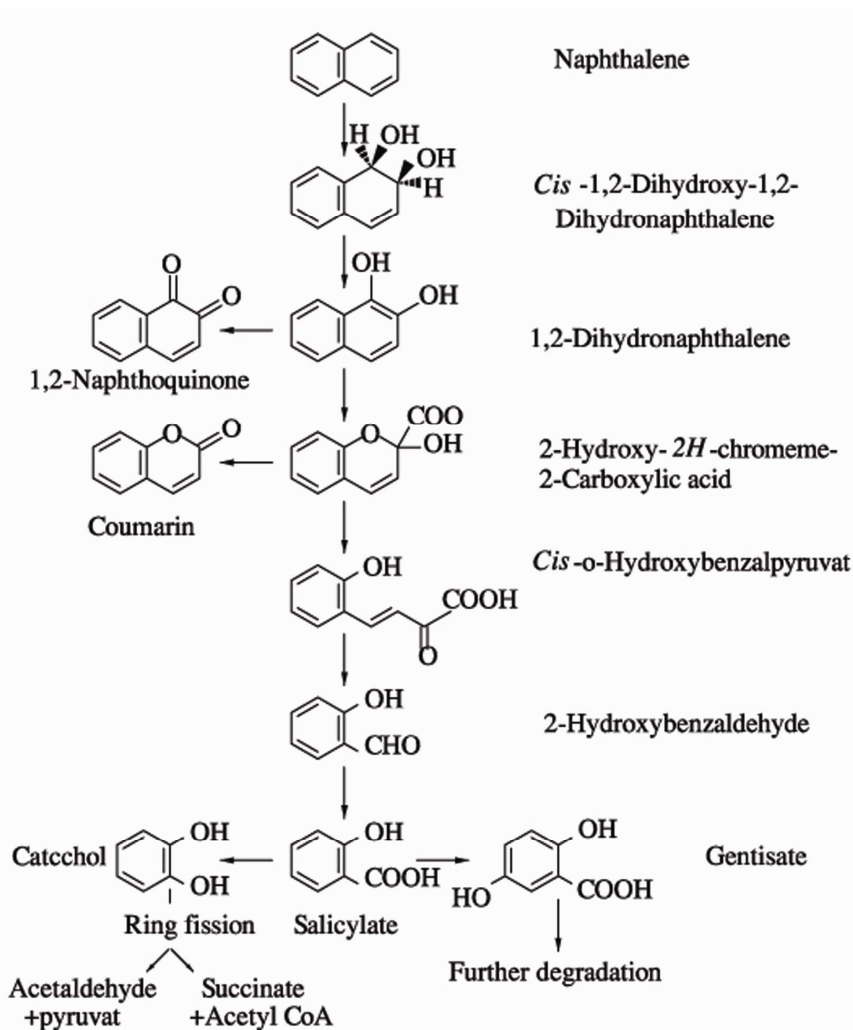
##### Naphthalene

Khả năng phân hủy naphthalene được nghiên cứu nhiều nhất trong số các PAH vì nó có cấu trúc

đơn giản nhất, hòa tan dễ nhất và vi sinh vật có khả năng phân hủy naphthalene dễ dàng được phân lập. Có rất nhiều vi khuẩn được phân lập và sử dụng naphthalene như nguồn carbon và năng lượng duy nhất được công bố: *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Mycobacterium*, *Polaromonas*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas* và *Streptomyces* (Jong-Su Seo, 2009)

Sự phân hủy naphthalene được bắt đầu bằng 1 loạt các enzyme, naphthalene dioxygenase tấn công vào vòng thơm hình thành *cis*-(1R, 2S)-dihydroxy-1,2-dihydronaphthalene (*cis*-naphthalene dihydrodiol). *Cis*-naphthalene dihydrodiol đã được tạo thành sau đó loại hydro tạo 1,2-dihydroxynaphthalene bởi enzyme *cis*-dihydrodiol dehydrogenase. Tiếp đó, 1,2-dihydroxynaphthalene bị chuyển hóa thành salicylate thông qua 2-hydroxy-

2*H*-chromene-2-carboxylic acid, *cis*-*o*-hydroxybenzalpyruvate và 2-hydroxy-benzaldehyde. Bước tiếp theo, 1,2-dihydroxynaphthalene bị oxy hóa thành naphthaquinone. Salicylate thường bị loại bớt carbon để tạo thành catechol và bị chuyển hóa cắt vòng ở vị trí *meta*- và *ortho*-. Fuenmayor và đồng tác giả đã chỉ ra rằng salicylate bị chuyển hóa thành gentisate bởi enzyme salicylate-5-hydroxylase (Jong-Su Seo, 2009).



Hình 3. Con đường oxy hóa của naphthalene bởi vi khuẩn (Goyal et al., 1997; Auger et al., 1995; Baboshin et al., 2008; Denome et al., 1993; Kiyohara et al., 1994).

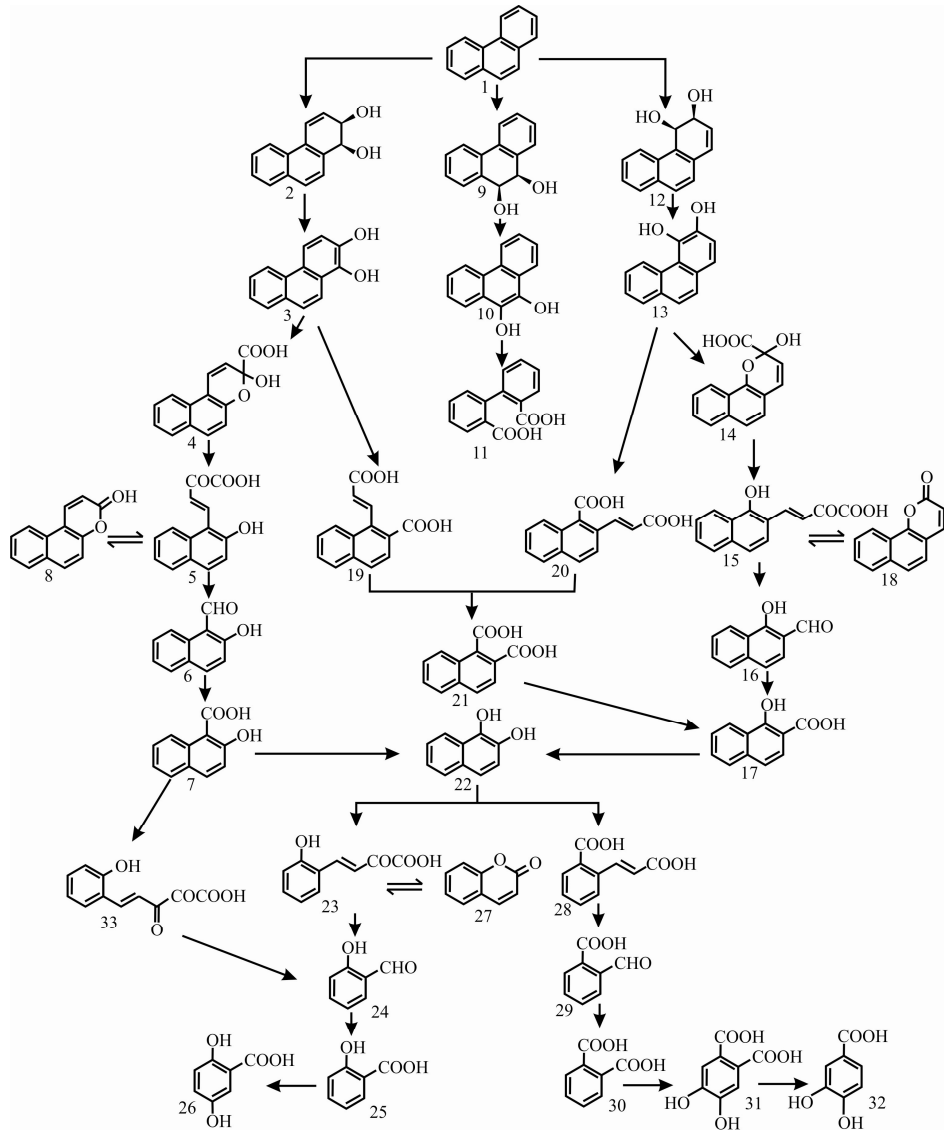
### Phenanthrene

Phenanthrene có chứa vùng “bay” và vùng “k” có khả năng hình thành epoxide, là một chất có khả năng gây ung thư. Phenanthrene là một PAH đơn

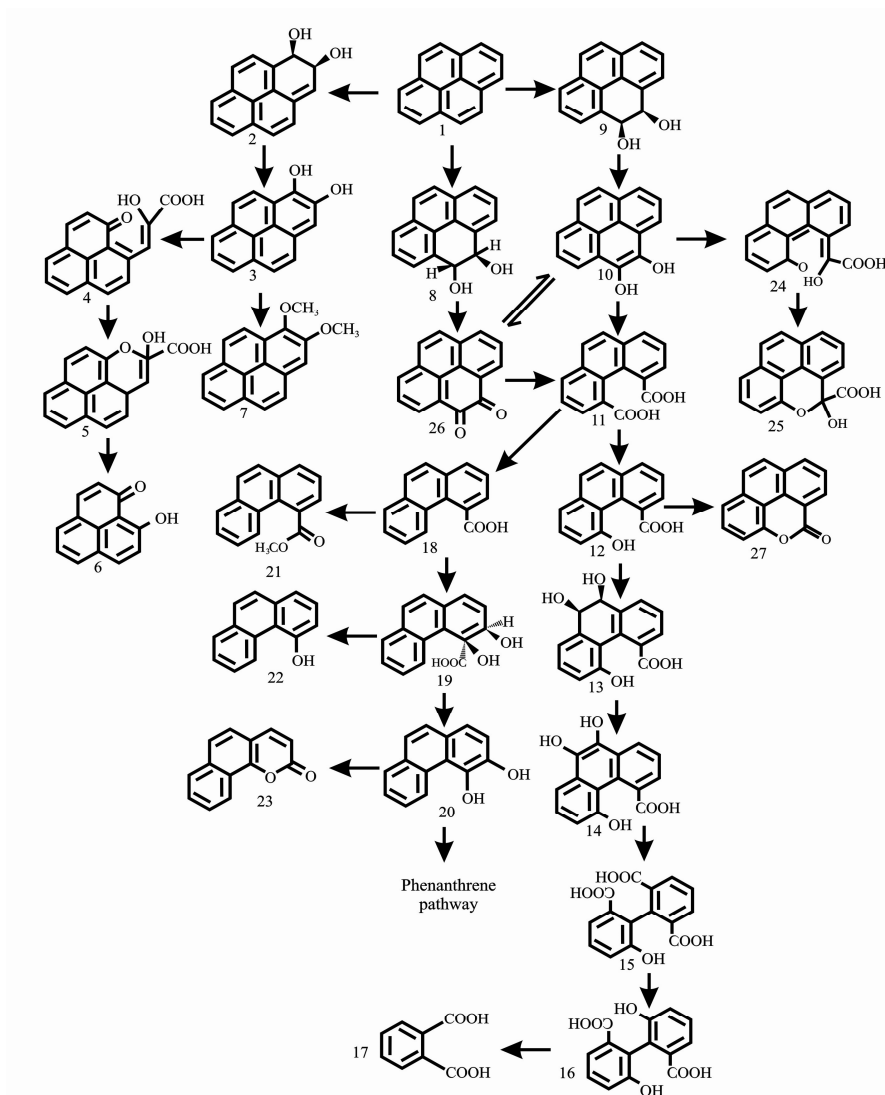
giản nhất có chứa những vùng này. Chính vì vậy, phenanthrene được sử dụng là cơ chất chuẩn để nghiên cứu cơ chế chuyển hóa của vùng bay- và vùng K- trong các PAHs gây ung thư như benz[*a*]pyrene, benzo[*a*]anthracene và chrysene.

Vùng bay- của phenanthrene là vùng giữa nguyên tử carbon số 4 và 5 và vùng K- là vùng giữa liên kết số 9 và số 10. Một số lượng lớn các vi khuẩn thuộc các chi: *Acidovorax*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*,

*Burkholderia*, *Comamonas*, *Mycobacteria*, *Pseudomonas* và *Sphingomonas* đã được phân lập và chúng có khả năng sử dụng phenanthrene như nguồn carbon và năng lượng duy nhất (Jong-Su Seo, 2009).



**Hình 4.** Con đường phân hủy phenanthrene bởi vi khuẩn (Baboshin *et al.*, 2008; Boldrin *et al.*, 1993; Casellas *et al.*, 1997; Grifoll *et al.*, 1995; Wattiau *et al.*, 2001; Monna *et al.*, 1993). 1. Phenanthrene; 2. *cis*-1,2-dihydroxy-1,2-dihydrophenanthrene; 3. 1,2-dihydroxyphenanthrene; 4. 3-hydroxy-3*H*-benzo[*f*]chromene-3-carboxylic acid; 5. 4-(2-hydroxy-naphthalene-1-yl)-2-oxo-but-3-enoic acid; 6. 2-hydroxy-naphthalene-1-carbaldehyde; 7. 2-hydroxy-1-naphthoic acid; 8. 5,6-benzocoumarin; 9. *cis*-9,10-dihydrophenanthrene; 10. 9,10-dihydroxyphenanthrene; 11. 2,2'-diphenic acid; 12. *cis*-3,4-dihydroxy-3,4-dihydrophenanthrene; 13. 3,4-dihydroxyphenanthrene; 14. 2-hydroxy-2*H*-benzo[*h*]chromene-2-carboxylic acid; 15. 4-(1-hydroxynaphthalene-2-yl)-2-oxo-but-3-enoic acid; 16. 1-hydroxy-naphthalene-2-carbaldehyde; 17. 1-hydroxy-2-naphthoic acid; 18. 7,8-benzocoumarin; 19. 1-(2-carboxy-vinyl)-naphthalene-2-carboxylic acid; 20. 2-(2-carboxy-vinyl)-(naphthalene-1-carboxylic acid); 21. naphthalene-1,2-dicarboxylic acid; 22. naphthalene-1,2-diol; 23. 2-hydroxybenzalpyruvic acid; 24. salicylic aldehyde; 25. salicylic acid; 26. gentisic acid; 27. coumarin; 28. 2-carboxycinnamic acid; 29. 2-formylbenzoic acid; 30. phthalic acid; 31. 3,4-dihydroxyphthalic acid; 32. protocatechuic acid; 33. *trans*-2,3-dioxo-5-(2'-hydroxyphenyl)-pent-4-enoic acid.



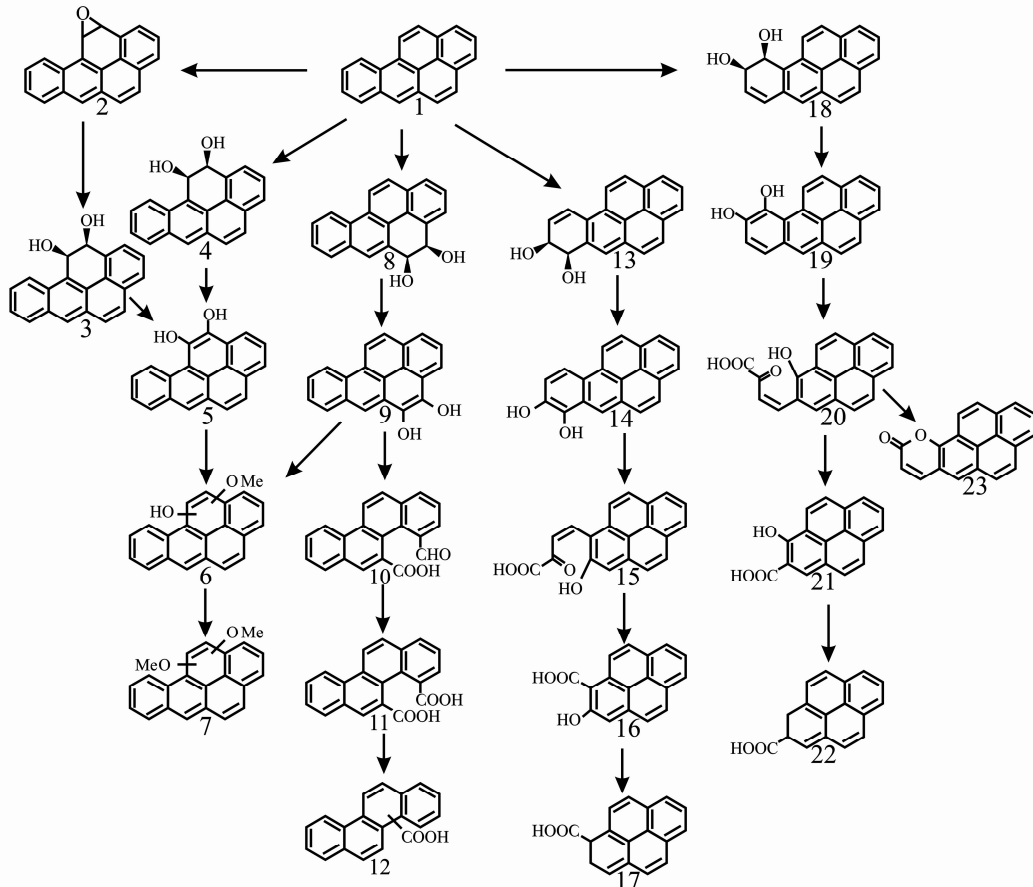
**Hình 5.** Con đường phân hủy pyrene bởi vi khuẩn (Carl Cernigna *et al.*, 1992). 1. pyrene; 2. pyrene-*cis*-1,2-dihydrodiol; 3. pyrene-1,2-diol; 4. 2-hydroxy-3-(perinaphthenone-9-yl)-propionic acid; 5. 2-hydroxy-2*H*-1-oxa-pyrene-2-carboxylic acid; 6. 4-hydroxyperinaphthenone; 7. 1,2-dimethoxypyrene; 8. pyrene-*trans*-4,5-dihydrodiol; 9. pyrenen-*cis*-4,5-dihydrodiol; 10. pyrene-4,5-diol; 11. phenanthrene-4,5-dicarboxylic acid; 12. 4-carboxyphenanthrene-5-ol; 13. 4-carboxy-5-hydroxyphenanthrene-9,10-dihydrodiol; 14. 4-carboxyphenanthrene-5,9,10-triol; 15. 2,6,6'-tricarboxy-2'-hydroxybiphenyl; 16. 2,2'-dicarboxy-6,6'-dihydroxybiphenyl; 17. phthalic acid; 18. 4-phenantroic acid; 19. 3,4-dihydroxy-3,4-dihydro-phenanthrene-4-carboxylic acid; 20. phenanthrene-3,4-diol; 21. 4-phenanthroic acid methyl ester; 22. 4-hydroxyphenanthrene; 23. 7,8-benzocoumarin; 24. 2-hydroxy-2-(phenanthrene-5-one-4-enyl)-acetic acid; 25. 5-hydroxy-5*H*-4-oxa-pyren-5-carboxylic acid; 26. pyrene-4,5-dione; 27. 4-oxa-pyrene-5-one.

Gần đây, Seo và đồng tác giả (2006) đã giải thích được rằng sản phẩm cắt vòng ở vị trí *ortho*- là 2-(2-carboxy-vinyl)-naphthalene-1-carboxylic acid, bị phân hủy thành naphthalene-1,2-diol thông qua naphthalene-1,2-dicarboxylic acid và 1-hydroxy-2-naphthoic acid. Pagnout và đồng tác giả (2007) đã

công bố các nhóm gen tham gia vào quá trình phân hủy phenanthrene qua con đường oxy hóa ở vị trí C3,4 của phenanthrene và cắt vòng ở vị trí *meta*-. Quá trình này cũng có thể xảy ra bởi sự oxy hóa ở vị trí C1,2 của phenanthrene để hình thành *cis*-1,2-dihydroxy-1,2-dihydrophenanthrene thông qua quá

trình loại hydro tạo 1,2-dihydroxyphenanthrene. Diol này sau đó được xúc tác tạo naphthalene-1,2-diol ở cả vị trí *meta*- và *ortho*-. Thông thường, phenanthren-1,2 và 3,4-diol chủ yếu trải qua quá trình cắt vòng vị trí *meta*- để tạo ra 5,6- và 7,8-benzocoumarin. Naphthalene-1,2-diol cũng được tạo ra từ 1-hydroxy-2-naphthoic acid và 2-hydroxy-1-

naphthoic acid được phân hủy tiếp để tạo ra phthalic acid ở vị trí *ortho*- và con đường salicylic ở vị trí *meta*-. Mallick và đồng tác giả đã có báo cáo cắt vòng ở vị trí *meta*- của 2-hydroxy-1-naphthoic acid thành dạng *trans*-2,3-dioxo-5-(2'-hydroxyphenyl)-pent-4-enoic acid nhờ *Staphylococcus* sp. PN/Y.



**Hình 6.** Con đường chuyển hóa của BaP bởi vi khuẩn (Schneider *et al.*, 1996; Moody *et al.*, 2004; Rentz *et al.*, 2008). 1. Benzo[a]pyrene; 2. benzo[a]pyrene-11,12-epoxide; 3. benzo[a]pyrenetrans-11,12-dihydrodiol; 4. benzo[a]pyrene *cis*-11,12-dihydrodiol; 5. 11,12-dihydroxybenzo[a]pyrene; 6. hydroxymethoxybenzo[a]pyrene; 7. dimethoxybenzo[a]pyrene; 8. benzo[a]pyrene *cis*-4,5-dihydrodiol; 9. 4,5-dihydroxybenzo[a]pyrene; 10. 4-formylchrysene-5-carboxylic acid; 11. 4,5-chrysene-dicarboxylic acid; 12. chrysene-4 hoặc 5-carboxylic acid; 13. benzo[a]pyrene *cis*-7,8-dihydrodiol; 14. 7,8-dihydroxybenzo[a]pyrene; 15. *cis*-4-(7-hydroxypyrene-8-yl)-2-oxobut-3-enoic acid; 16. pyrene-7-hydroxy-8-carboxylic acid; 17. 7,8-dihydro-pyrene-8-carboxylic acid; 18. benzo[a]pyrene *cis*-9,10-dihydrodiol; 19. 9,10-dihydroxybenzo[a]pyrene; 20. *cis*-4-(8-hydroxypyrene-7-yl)-2-oxobut-3-enoic acid; 21. pyrene-8-hydroxy-7-carboxylic acid; 22. 7,8-dihydro-pyrene-7-carboxylic acid; 23. 10-oxabenzod[def]chrysene-9-one.

### Pyrene

Các nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra rằng, trong đất đã tìm được vi sinh vật khoáng hóa pyrene. Có rất nhiều vi khuẩn được phân lập có khả năng

phân hủy pyrene đã được nghiên cứu. *Mycobacterium* là vi khuẩn Gram (+) được nghiên cứu rộng rãi về khả năng sử dụng pyrene như nguồn carbon và năng lượng duy nhất. Heitkamp và đồng tác giả (1988) đã tìm thấy 3 sản phẩm của quá trình



oxy hóa vòng là pyrene-*cis*-4,5-dihydrodiol, pyrene-*trans*-4,5-dihydrodiol và pyrenol và 4 sản phẩm cắt vòng là 4-hydroxyperinaphthenone, 4-phenanthroic acid, phthalic acid và cinnamic acid nhờ sử dụng phương pháp UV, sắc ký khối phổ, NMR và GC. Sự hình thành pyrene-*cis*-4,5-dihydrodiol bằng enzyme dioxygenase và pyrene-*trans*-4,5-dihydrodiol bởi monooxygenase đã chứng minh một loạt khả năng oxy hóa tấn công vào pyrene. Pyrene-1,2-diol thu được ở vị trí 1,2-C đã được khoáng hóa thành 4-hydroxyperinaphthenone theo con đường tạo *cis*-2-hydroxy-3-(perinaphthenone-9-yl)-propionic acid và 2-hydroxy-2*H*-1-oxa-pyrene-2-carboxylic acid. Kim và Freeman (2005) đã tìm ra 1,2-dimethoxypyrene như sản phẩm phụ của pyrene-1,2-diol. Pyrene-4,5-diol đã bị phân hủy ở vị trí *ortho*- tạo phenanthrene-4,5-dicarboxylic acid, bị khoáng hóa tiếp thông qua con đường tạo phenanthrene-3,4-diol và 6,6'-dihydroxy-2,2'-biphenyl-dicarboxylic acid. Cắt vòng ở vị trí *meta*- của pyrene-4,5-diol dẫn tới 5-hydroxy-5*H*-4-oxa-pyrene-5-carboxylic acid thông qua 2-hydroxy-2-(phenanthrene-5-one-4-enyl)-acetic acid. Sản phẩm chuyển hóa mới là 6,6'-dihydroxy-2,2'-biphenyl-dicarboxylic acid đã được xác định từ sự phân hủy pyrene bởi *Mycobacterium* sp. AP1. Liang và đồng tác giả đã chỉ ra rằng sự hình thành pyrene-4,5-dione và hầu hết các enzyme cần thiết trong suốt bước đầu tiên của quá trình phân hủy pyrene bởi *Mycobacterium* sp. KMS. Kim và đồng tác giả (2005) đã tìm ra 27 enzyme cần thiết trong con đường phân hủy hoàn toàn pyrene nhờ những hiểu biết về gene và protein.

#### *Benzo[a]pyren (BaP)*

Schneider và đồng tác giả (1996) đã xuất bản một bài báo miêu tả về sự phát hiện các sản phẩm của sự cắt vòng thơm của BaP, *Mycobacterium* sp. RJGII-135 phát triển trên môi trường chứa cao men, peptone và tinh bột tan có khả năng chuyển hóa sinh học 20 µg BaP trong 50 ml môi trường. Cơ chế của quá trình phân hủy sinh học BaP đã được phát hiện (Hình 5) bằng phương pháp sắc ký khối phổ với độ phân giải cao tạo *cis*-7,8-benzo[a]pyrenedihydrodiol, 4,5-chrysenedicarboxylic acid, *cis*-4-(8-hydroxypyren-7-yl)-2-oxobut-3-enoic acid [hoặc *cis*-4-(7-hydroxypren-8-yl)-2-oxobut-3-enoic acid], và 7,8-dihdropyrene-7-carboxylic acid (hoặc 7,8-dihdropyrene-8-carboxylic acid). Tác giả chưa phân biệt được giữa sản phẩm cắt ở vị trí *meta*- thông qua liên kết 7,8 và liên kết 9, 10 của BaP, do đó quá trình cắt vòng có khả năng tạo ra 2 sản phẩm theo 2 cơ chế đó.

#### MỘT SỐ NGHIÊN CỨU Ở VIỆT NAM

Tại Việt Nam, bên cạnh một số cơ sở nghiên cứu khác, Viện Công nghệ sinh học đã tiến hành một số nghiên cứu về khả năng phân hủy PAHs cũng như sự phân bố của các tập đoàn vi sinh vật tại các vùng sinh thái khác nhau. Các nghiên cứu xử lý nước thải nhà máy giấy (có chứa các chất PAHs) theo hướng phân hủy sinh học tại quy mô phòng thí nghiệm và pilot cũng đã được thử nghiệm. Kết quả cho thấy, hoàn toàn có thể áp dụng công nghệ này tại hiện trường.

Đã có một số công bố của các tác giả trong nước về khả năng phân hủy các PAH của các chủng vi sinh vật được phân lập từ các nguồn khác nhau. Năm 2000, Nguyễn Bá Hữu và đồng tác giả đã phân lập được 7 chủng vi khuẩn từ mẫu bùn cát tại Khe Chè, Quảng Ninh trong đó chủng vi khuẩn KCP8 có khả năng chuyển hoá 6 loại PAH sau 7 ngày nuôi cấy. Chủng vi khuẩn *Sphingomonas yanoikuyae* MXL-9 phân lập từ cặn dầu thô mỏ Bạch Hổ phân hủy 64,5% phenanthrene và 61,4% anthracene sau 7 ngày nuôi cấy ở nồng độ thấp (La Thị Thanh Phương *et al.*, 2003). Chủng KCP8 của Nguyễn Bá Hữu và đồng tác giả phân lập tại Khe Chè có khả năng phân hủy hỗn hợp PAH: phenanthrene, anthracene và fluoranthene sau 7 ngày nuôi cấy ở môi trường muối khoáng là 76,12%, trong đó khả năng phân hủy phenanthrene trong hỗn hợp là 79,96%, anthracene là 71,09% và fluoranthene là 41,01%. Năm 2008, Lê Tiến Mạnh và đồng tác giả đã phân lập được chủng BQN31 từ mẫu nước nhiễm dầu thu thập tại bể thu gom của xí nghiệp khai thác mỏ Quảng Ninh có khả năng sử dụng 69,38% naphthalene, 60,24% phenanthrene, 18,52% fluorene, 25,9% anthracene và 18,75% pyrene. Cũng trong năm 2008, Phan Thị Hoàng Hào và đồng tác giả đã phân lập được chủng BDNR1 từ đất trong bioreactor kỵ khí không bắt buộc xử lý đất nhiễm chất diệt cỏ chứa dioxin có khả năng phân hủy 86,2% pyrene, 50% anthracene, naphthalene và phenanthrene, 44,4% fluoranthrene và 20% fluorene; chủng BDNR4 phân hủy 61,5% pyrene, 50% anthracene và naphthalene, 65,3% fluoranthrene, 47% fluorene và 23,1% naphthalene. Ngoài ra, còn một số công trình của các tác giả trong nước đã công bố về khả năng phân hủy PAH của các chủng vi sinh vật tại Việt Nam.

Trong một vài năm trở lại đây, phòng Công nghệ sinh học môi trường thuộc Viện Công nghệ sinh học đã thành công trong việc thử nghiệm công nghệ phân hủy sinh học trong xử lý nước thải nhiễm dầu tại Công ty Xăng dầu B12, Cục Xăng dầu quân đội,

tham gia xử lý chất độc hóa học/dioxin tại Đà Nẵng và Biên Hòa, thử nghiệm xử lý thuốc bảo vệ thực vật DDT, 666, thuốc nổ TNT, xử lý nước thải nhà máy giấy Hải Dương, Thanh Hóa... trong đó thành phần PAHs có trong nước thải hoặc đất bị ô nhiễm đã được loại bỏ đáng kể. Sự gia tăng những hiểu biết về tập đoàn vi sinh vật phân hủy PAHs và cơ chế phân hủy sinh học PAHs sẽ giúp cho việc tìm hiểu thêm về sự phân hủy PAH trong tương lai.

Tóm lại, những hiểu biết về phân hủy sinh học các PAHs bởi vi khuẩn đã được xác định từ thập kỷ trước. Một số chủng vi sinh vật phân hủy PAH đã được phân lập và xác định đặc tính. Cũng trong thời gian đó, các nghiên cứu sâu hơn đã được tiến hành ở một số vùng nghiên cứu khả năng phân hủy sinh học PAH. Trong quá trình phân hủy sinh học, các PAH đã kết hợp với các hydrocarbon khác trong hỗn hợp và bị các vi sinh vật phân hủy.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahn Y, Sanseverino J, Sayler GS (1999) Analyses of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from contaminated soil. *Biodegradation* 10: 149-157.

Al-Turki AI (2009) Microbial Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Degradation in Soil. *Res J Environ Toxicol* 3(1): 1-8.

Mrozik A, Piotrowska-sege Z, Labuzek S (2003) Bacterial Degradation and Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Pol J Environ Stud* 12(1): 15-25.

Auger RL, Jacobson AM, Domach MM (1995) Effect of nonionic surfactant addition on bacterial metabolism of naphthalene: Assessment of toxicity and overflow metabolism potential. *J Hazard Mater* 43: 263-272.

Baboshin M, Akimov V, Baskunov B, Born T.L, Khan S.U, Golovleva L (2008) Conversion of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas* sp. VKM B-2434. *Biodegradation* 2008(19): 567-576.

Boldrin B, Tiehm A, Fritzsche C (1993) Degradation of phenanthrene, fluorene, fluoranthene, and pyrene by a *Mycobacterium* sp. *Appl Environ Microbiol* 59: 1927-1930.

Carl E Cerniglia (1992) *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons*. *Biodegradation* 3: 351-368.

Casellas M, Grifoll M, Bayona JM, Solanas AM (1997) New metabolites in the degradation of fluorene by *Arthrobacter* sp. strain F101. *Appl Environ Microbiol* 63: 819-826.

Denome SA, Stanley DC, Olson ES, Young KD (1993)

Metabolism of dibenzothiophene and naphthalene in *Pseudomonas* strains: Complete DNA sequence of an upper naphthalene catabolic pathway. *J Bacteriol* 175(21): 6890-6901.

Goyal AK, Zylstra GJ (1997) Genetics of naphthalene and phenanthrene degradation by *Comamonas testosteroni*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 19: 401-407.

Grifoll M, Selifonov SA, Gatlin CV, Chapman PJ (1995) Actions of a versatile fluorene-degrading bacterial isolate on polycyclic aromatic hydrocarbons. *Appl Environ Microbiol* 61(10): 3711-3723.

Heitkamp MA, Freeman JP, Miller DW, Cerniglia CE (1988) Pyrene degradation by a *Mycobacterium* sp.: Identification of ring oxidation and ring fission products. *Appl Environ Microbiol* 54: 2556-2565.

Hoàng Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Đương Nhã, Đặng Thị Cẩm Hà (2003) Nấm sợi phân hủy hydrocarbon thơm đa nhân phân lập từ cặn dầu thô của giếng khai thác dầu, Vũng Tàu. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 1(2): 255-264.

Jong-Su Seo, Young-Soo Keum, Qing X Li (2009) Bacterial degradation of aromatic compounds. A review. *Int J Environ Public Health* 6(1): 278-309.

Kim YH, Freeman JP (2005) Effects of pH on the degradation of phenanthrene and pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Appl Microbiol Biotechnol* 67: 275-285.

Kiyohara H, Torigoe S, Kaida N, Asaki T, Iida T, Hayashi H, Takizawa N (1994) Cloning and characterization of a chromosomal gene cluster, PAH, that encodes the upper pathway for phenanthrene and naphthalene utilization by *Pseudomonas putida* OUS82. *J Bacteriol* 176: 2439-2443.

La Thị Thanh Phương, Nguyễn Bá Hữu, Đặng Thị Cẩm Hà (2003) Phân hủy sinh học hydrocarbon thơm đa nhân (PAH) bởi chủng vi khuẩn MLX-9 phân lập từ cặn dầu thô của mỏ Bạch Hổ, Vũng Tàu. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 1(1): 109-117.

Lane C Sander, Stephen A Wis (1997) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons structure index. *National Institute of Standards and Technology (NIST) Special Publication* 922.

Lê Tiến Mạnh (2008) Phân lập, tuyển chọn và nghiên cứu khả năng phân hủy sinh học hydrocarbon thơm của một vài chủng vi khuẩn được phân lập từ nước ô nhiễm dầu tại Quảng Ninh. *Luận văn Thạc sỹ sinh học*. Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên.

Monna L, Omori T, Kodama T (1993) Microbial degradation of dibenzofuran, fluorene, and dibenzo-p-dioxin by *Staphylococcus auriculans* DBF63. *Appl Environ Microbiol* 59: 285-289.

Moody JD, Freeman JP, Fu PP, Cerniglia CE (2004) Degradation of benzo[a]pyrene by *Mycobacterium*

*vanbaalenii* PYR-1. *Appl Environ* 70: 340-345.

Nghiêm Ngọc Minh, Nguyễn Thành Đức (2004) Phân loại chủng vi khuẩn HDG1 phân lập từ mẫu nước thải nhà máy giấy Hải Dương. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 2(2): 245-252.

Nguyễn Bá Hữu (2002) Nghiên cứu các nhóm vi sinh vật và khả năng phân hủy hydrocacbon thơm đa nhân của một số chủng vi khuẩn trong quá trình xử lý ô nhiễm dầu tại Khe Chè, Quảng Ninh. *Luận văn Thạc sỹ sinh học*. Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

Pagnout C, Frache G, Poupin P, Maunit B, Muller JF, Féraud JF (2007) Isolation and characterization of a gene cluster involved in PAH degradation in *Mycobacterium* sp. strain SNP11: expression in *Mycobacterium smegmatis* mc(2)155. *Res Microbiol* 158(2): 175-186.

Phan Thị Hoàng Hào (2008) Nghiên cứu phân hủy sinh học chất diệt cỏ chứa dioxin của một số chủng vi khuẩn từ đất nhiễm chất độc hóa học. *Luận văn Tốt nghiệp Đại học*. Viện Đại học Mở Hà Nội.

Rentz JA, Alvarez PJJ, Schnoor JL (2008) Benzo[a]pyrene degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* JAR02. *Environ Pollut* 151(3): 669-677.

Robert A Kanaly, Shigeaki Harayama (2000) Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria. *J Bacteriol* 182(8): 2059-2067.

Schneider J, Grosser R, Jayasimhulu K, Xue W, Warshawsky D (1996) Degradation of pyrene, benzo[a]anthracene, and benzo[a]pyrene by *Mycobacterium* sp. Strain RJGII-135, isolated from a former coal gasification site. *Appl Environ Microbiol* 62: 13-19.

Seo JS, Keum YS, Hu Y, Lee SE, Li QX (2006) Phenanthrene degradation in *Arthrobacter* sp. P1-1: Initial 1,2-, 3,4- and 9,10-dioxygenation, and meta- and ortho-cleavages of naphthalene-1,2-diol after its formation from naphthalene-1,2-dicarboxylic acid and hydroxyl naphthoic acids. *Chemosphere* 65(11): 2388-2394.

Sims RC, Overcash MR (1983) Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil - plant systems. *Residue Reviews* 88: 1-68.

Srogy K (2007) Monitoring of environmental exposure to Polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environ Chem Lett* 5: 169-195.

Wattiau P, Bastiaens L, van Herwijnen R, Daal L, Parsons J.R, Renard M.E, Springael D, Cornelis G.R (2001) Fluorene degradation by *Sphingomonas* sp. LB126 proceeds through protocatechuic acid: a genetic analysis. *Res Microbiol* 152: 861-872.

Wilson SC, Jones KC (1993) Bioremediation of soils contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environ Pollut* 88: 229-249.

## POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON (PAHs) AND THEIR BIODEGRADATION BY BACTERIA

Nghiêm Ngọc Minh\*, Cung Thi Ngọc Mai

*Institute of Biotechnology*

### SUMMARY

Around the world and in Vietnam, with the development of society, the request for raw materials and fuel increases that bring about widening exploiting, processing industries such as: petroleum industry, paint producing, wood producing, textile and dye industry or toxic detergent and chemicals processing, etc. The industrial activities release a large amount of toxic waste, which pollute environment and influence human health. Beside some breakdown, the main reason of pollution is the waste that doesn't strict treat or doesn't treat and they discard the environment, to break through balance of ecology and cause serious effect to human health. Among them there are several PAHs that cause cancer and mutation, they always exist in water, industrial wastes and petroleum. The complete degradation of PAHs from various sources requires a community of microorganisms. When PAHs are taken by microorganisms, they will be activated in aerobic metabolism by insertion of two oxygen atoms by bacteria and greenalgae to produce either *cis*-dihydrodiols or phenols. PAHs may also be activated by cytochrome P450 of many fungi and bacteria to produce arene oxides. This activation may also be performed by lignin degrading enzymes to produce quinines. In this review, we only focus on bacteria that degrade PAHs.

**Keywords:** Bacterial degradation of PAHs, *cis*-dihydrodiol, degradation PAHs, phenols, PAHs

\* Author for correspondence: Tel: 84-4-39947243; E-mail: [nghiemminh@ibt.ac.vn](mailto:nghiemminh@ibt.ac.vn)