

NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN CHỦNG VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG THỦY PHÂN KERATIN CỦA LÔNG VŨ GIA CẦM PHÂN LẬP TỪ KHU GIẾT MỔ GIA CẦM CHỢ HÒA KHÁNH, ĐÀ NẴNG

RESEARCHING ON THE SECTION OF BACTERIUM STRAINS CAPABLE OF HYDROLYZING KERATIN BASED ON POULTRY FEATHERS FROM HOA KHANH MARKET SLAUGHTERHOUSE IN DA NANG

Trần Thị Bích Ngọc¹, Tạ Ngọc Ly²

¹Lớp 09SH, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng; Email: ngoctran09sh@gmail.com

²Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng; Email: tnly@cb.dut.udn.vn

Tóm tắt - Keratin là protein khó hòa tan, chiếm 90 – 95% trọng lượng lông vũ gia cầm. Sản phẩm thủy phân lông vũ gia cầm có nhiều ứng dụng quan trọng như làm thức ăn bổ sung cho chăn nuôi, sản xuất phân bón. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập một số chủng có khả năng phân hủy lông vũ gia cầm và xác định các đặc tính sinh học của chúng thu được. Kết quả đã phân lập được bốn chủng có hiệu suất thủy phân cao (70-80%), có hoạt tính keratinase và protease cao. Nhiệt độ nuôi cấy tối ưu là 35°C, thời gian nuôi cấy là 4 ngày. Hàm lượng protein hòa tan và nitơ tổng số được xác định nằm trong khoảng 1,2g/l và 0,2 g/l. Từ kết quả đó có thể kết luận rằng, chủng vi khuẩn chúng tôi phân lập được có hoạt tính cao, có thể sử dụng để sản xuất dịch thủy phân lông vũ gia cầm có chất lượng tốt, có tiềm năng sử dụng cho nhiều mục đích khác nhau.

Từ khóa - keratin; keratinaza; lông vũ gia cầm; proteaza, nitơ; phân bón hữu cơ vi sinh

1. Đặt vấn đề

Phế phẩm của công nghiệp chế biến gia cầm – lông vũ gia cầm được tạo ra một lượng lớn lên đến hàng ngàn tấn/năm. Do lông vũ gia cầm chứa hàm lượng protein rất cao nên có thể tận dụng làm nguồn bổ sung protein cho thức ăn chăn nuôi hoặc làm phân bón cho cây trồng[1]. Nguồn lông vũ gia cầm phế thải từ các trại chăn nuôi, nơi giết mổ gia cầm đang được tận dụng để sản xuất bột lông vũ gia cầm bằng cách thủy phân trong môi trường kiềm ở nhiệt độ và áp suất cao. Việc sử dụng phương pháp này không chỉ tạo ra sản phẩm có chất lượng thấp, giá thành cao, phá hủy một số acid amin mà còn tiêu thụ nhiều năng lượng[2]. Sử dụng các chủng vi khuẩn có hoạt tính keratinase cao để thủy phân lông vũ gia cầm đang được xem là hướng nghiên cứu mới rất được quan tâm do có nhiều ưu điểm hơn, khắc phục được những hạn chế của phương pháp cũ. Bên cạnh việc tạo ra nguồn protein bổ sung vào thức ăn chăn nuôi, xử lý được nguồn rác khó phân hủy góp phần làm giảm tình trạng ô nhiễm môi trường thì keratinase còn có nhiều ứng dụng quan trọng trong công nghiệp[3]. Vì vậy, việc nghiên cứu về keratinase từ vi khuẩn có ý nghĩa thực tiễn lớn.

Keratin là thành phần chủ yếu có trong lông vũ gia cầm. Nó là protein có cấu trúc dạng sợi. Phân tử tạo bởi các cầu nối disulfua, liên kết hydro và các đầu tương tác kỵ nước, do đó mà keratin có độ bền cơ học cao. Keratin không tan trong nước và không bị phân hủy bởi các protease thông thường như: trypsin, pepsin và papain. Nhưng keratin có thể bị phân hủy bởi các chủng vi khuẩn xạ khuẩn và nấm

Abstract - Keratin is an insoluble protein, which accounts for 90-95 % of poultry's feathers. Hydrolyzed feather products have many important applications such as providing food supplements for livestock and producing fertilizers. In this study, we classified a number of strains capable of causing feather biodegradation and determined the biological characteristics of these strains. The obtained results were the four isolated strains with a high active biodegradable ability (70-80 %), as well as high keratinase and protease activity. The optimal incubation temperature was 35°C and the incubation time were 4 days. The soluble protein content and total nitrogen were determined in the range of 1,2g/l and 0,2 g/l. From the results, it can be concluded that the isolated strains are highly active and can be used to produce a high quality hydrolysis solution from chicken feathers with a potential to be used for various purposes.

Key words - keratin; keratinase; poultry feathers; protease; nitrogen; bio-organic fertilizers

có khả năng sinh tổng hợp keratinase[4, 5].

Keratinase [EC 3.4.99] là một dạng protease kiềm rất phổ biến trong thế giới vi sinh vật. Vi sinh vật sinh tổng hợp keratinase có thể được tìm thấy ở nhiều nơi và từ nhiều nguồn khác nhau. Cho đến nay, keratinase được nghiên cứu chủ yếu có nguồn gốc từ vi khuẩn[6].

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu và ứng dụng thành công về các chủng sinh vật có hoạt tính keratinase. Tuy nhiên, ở Việt Nam lĩnh vực nghiên cứu này chưa có nhiều và việc ứng dụng chúng còn rất hạn chế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy lông vũ gia cầm, xác định một số đặc điểm sinh học cũng như hoạt tính sinh enzyme keratinase và protease. Ngoài ra, hàm lượng protein và nitơ của dịch thủy phân cũng được xác định để đánh giá khả năng sử dụng dịch thủy phân như là nguồn phân bón hữu cơ cho cây trồng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

- Mẫu đất và nước thu nhận từ khu vực giết mổ gia cầm của chợ Hòa Khánh- Đà Nẵng.
- Chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* tại phòng thí nghiệm bộ môn Công nghệ Sinh học – ĐHBK – ĐHDN.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn

Sử dụng mẫu đất, nước và lông tại khu giết mổ gia cầm chợ Hòa Khánh, Tp Đà Nẵng để phân lập sinh vật. Cho

riêng biệt 1g đất, 1ml nước và 1g lông vào 3 bình chứa, bổ sung 9ml nước muối sinh lý vào mỗi bình, ủ ở 80°C trong 10-15 phút. Pha loãng mẫu ở các nồng độ khác nhau rồi cấy trải trên môi trường cao thịt pepton (NaCl: 5 g/l, pepton: 10 g/l, cao thịt: 3g/l, aga:20g/l, pH 7,2-7,3), ủ ở 30°C. Sau 24, 48 giờ, số lượng khuẩn lạc được đếm bằng mắt thường và tiến hành chọn khuẩn lạc theo hình thái riêng.

2.2.2. Xác định khả năng thủy phân lông vũ gia cầm của các chủng phân lập được.

Xác định trọng lượng lông còn lại sau thời gian nuôi lắc bằng cách lọc, sấy khô lông và cân khối lượng còn lại sau nuôi cấy lắc. Xác định tỉ lệ % về khả năng thủy phân lông vũ của các chủng vi khuẩn theo công thức:

$$A (\%) = \frac{m_{BD} - m_C}{m_{BD}} \times 100\%$$

A (%): Tỉ lệ phần trăm về sự thủy phân của các chủng
 m_{BD} : Trọng lượng lông vũ ban đầu.

m_C : Trọng lượng lông vũ còn lại sau thời gian nuôi cấy lắc.

2.2.3. Đo hoạt tính keratinase và protease

Vi khuẩn nuôi cấy lắc trong môi trường lông vũ ở 35°C, 24h, 200 v/p. Ly tâm 5000 v/p, 5 phút thu dịch nổi làm enzym thô. Sử dụng môi trường thạch có bổ sung cơ chất cảm ứng bột lông vũ và thuốc nhuộm Amido black. Ủ ở 30°C, trong 24h, đo đường kính vòng thủy phân của mỗi chủng và chọn ra chủng có hoạt tính keratinase mạnh.

Định tính protease theo phương pháp đục lỗ thạch trên môi trường casein 1%, agar 2%. Cho 0,1 ml các dịch chiết enzyme vào các lỗ, ủ ở 37°C trong thời gian 20 giờ, đo đường kính vòng phân giải casein.

2.2.4. Xác định hàm lượng protein và nitơ tổng số của dịch thủy phân lông vũ gia cầm

Định lượng protein bằng phương pháp Bradford bằng cách bổ sung 1ml mẫu dịch thủy phân vào bình chứa 5ml thuốc thử Bradford, lắc đều và để yên. Đo giá trị OD₅₉₅ của mẫu dung dịch ta cần xác định. Dựa vào đường chuẩn, ta xác định được nồng độ protein trong mẫu.

Công thức tính:

$$X = \frac{(OD - b)}{a} \times D$$

Trong đó: a, b là hệ số đường chuẩn

D: độ pha loãng mẫu

Xác định nitơ tổng số bằng phương pháp Kjeldahl theo TCVN 8557-2010 về phương pháp xác định nitơ tổng số trong phân bón.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy lông vũ gia cầm

Từ ba mẫu đất, nước và lông vũ gia cầm chúng tôi đã phân lập được 14 chủng vi khuẩn. Trong đó, mẫu đất 5 chủng, mẫu nước 4 chủng và mẫu lông vũ gia cầm 5 chủng sinh vật. Nhân giống các vi khuẩn đã phân lập trong môi trường MPA.

Thử khả năng phân hủy lông vũ gia cầm của các chủng

phân lập trong môi trường nuôi cấy lắc bổ sung lông vũ gia cầm (NaCl 0,5g/l; K₂HPO₄ 0,3g/l; KH₂PO₄ 0,4g/l; 20g lông vũ gia cầm/l; pH=7-7,2), tỉ lệ thủy phân lông vũ gia cầm sau 4 ngày nuôi cấy được thể hiện ở Bảng 1. Kết quả khảo sát 14 chủng phân lập và 1 chủng *Bacillus subtilis* có ở phòng thí nghiệm bộ môn CNSH cho thấy có 13 chủng có khả năng phân hủy lông vũ gia cầm. Khả năng thủy phân lông vũ gia cầm thay đổi từ mức độ không thủy phân (chủng L.HK.3 và N.HK.3) đến thủy phân trung bình (chủng L.HK.1, N.HK.4, Đ.HK.3, L.HK.4) và mức cao; trong đó có 4 chủng Đ.HK.1 (79,53%), Đ.HK.4 (78,39%), L.HK.2 (72,93%) và L.HK.5 (71,68%) có khả năng phân hủy mạnh nhất. Như vậy, hệ vi sinh vật thu nhận từ khu giết mổ gia cầm có sự đa dạng lớn về khả năng thủy phân lông vũ gia cầm, trong đó bao gồm các chủng không có khả năng thủy phân lông vũ gia cầm.

Bảng 1. Tỷ lệ thủy phân lông vũ gia cầm của các chủng vi sinh vật phân lập được

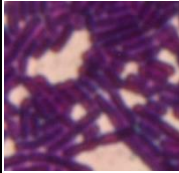
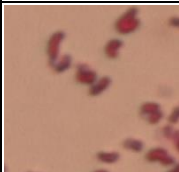
STT	Tên chủng	Lượng lông vũ gia cầm ban đầu (g)	Lượng lông vũ gia cầm còn lại (g)	Tỷ lệ thủy phân (%)
1	Đ.HK.1	1,0	0,2047±0,013	79,53
2	Đ.HK.2	1,0	0,4152±0,011	58,48
3	Đ.HK.3	1,0	0,4759±0,01	52,41
4	Đ.HK.4	1,0	0,2161±0,016	78,39
5	Đ.HK.5	1,0	0,3795±0,012	62,05
6	L.HK.1	1,0	0,5968±0,02	40,32
7	L.HK.2	1,0	0,2707±0,015	72,93
8	L.HK.3	1,0	0	0
9	L.HK.4	1,0	0,4039±0,06	59,61
10	L.HK.5	1,0	0,2832±0,014	71,68
11	N.HK.1	1,0	0,3262±0,01	67,38
12	N.HK.2	1,0	0,4205±0,016	57,95
13	N.HK.3	1,0	0	0
14	N.HK.4	1,0	0,5128±0,014	48,72
15	B.PTN	1,0	0,3184±0,022	68,16

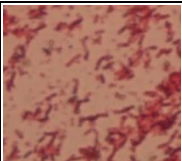
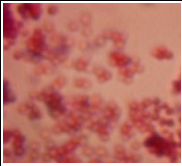
3.2. Xác định một số đặc điểm sinh học của các chủng tuyển chọn

3.2.1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và nhuộm màu

Quan sát hình thái khuẩn lạc và nhuộm Gram tế bào vi khuẩn. Kết quả ở Bảng 2.

Bảng 2. Đặc điểm các chủng vi khuẩn

Chủng	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái tế bào	Gram (G)	Ảnh chụp kính hiển vi (x100)
Đ.HK.1	Tròn, trơn bóng, màu trắng hơi vàng	Hình que lớn,	G +	
Đ.HK.4	Màu cam, viền răng cưa	Hình thoi dài,	G -	

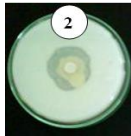
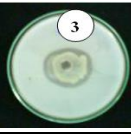
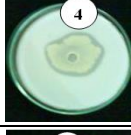
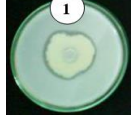
L.HK.2	Trắng sữa, nhẵn, viền răng cưa	Hình que, tạo chuỗi	G +	
L.HK.5	Vàng, tròn	Hình cầu, tụ thành đám	G -	

3.2.2. Hoạt tính keratinase

Thử hoạt tính keratinase của chủng bằng phương pháp đục đĩa thạch đo vòng thủy phân trong môi trường có cơ chất cảm ứng là bột lông vũ gia cầm 2%, agar 2%. Kết quả cho thấy cả 4 chủng đều có đường kính vòng thủy phân lớn, không có sự khác biệt lớn giữa 4 chủng tuyển chọn. Kết quả này phù hợp với hiệu suất phân hủy lông vũ gia cầm bằng 4 chủng đã khảo sát trước đó.

Đặc biệt chủng vi khuẩn Bacillus của phòng thí nghiệm CNSH cũng cho hoạt tính keratinase cao.

Bảng 3. Đường kính vòng thủy phân keratinase của các chủng chọn lọc

Chủng	ΔD (mm)	Hình
Đ.HK.1	10,8	
Đ.HK.4	6,2	
L.HK.2	4,4	
L.HK.5	4,0	

3.2.3. Hoạt tính protease

Trong lông vũ gia cầm, ngoài keratin còn có các thành phần protein khác, hơn nữa keratin sau khi thủy phân cần tiếp tục chuyển hóa thành axit amin để dễ hấp thụ. Thí nghiệm này nhằm xác định hoạt tính protease của chủng tuyển chọn. Nuôi cấy ly tâm thu dịch em enzym thô. Thử hoạt tính trên cơ chất casein, kết quả đo cho thấy 2 chủng Đ.HK.1 và L.HK.2 có enzyme protease hoạt động hơn.

Bảng 4. Đường kính vòng thủy phân protease của các chủng chọn lọc

Chủng	ΔD (mm)
Đ.HK.1	15,2
Đ.HK.4	10,6
L.HK.2	12,7
L.HK.5	9,5



Hình 4. Vòng thủy phân của enzyme protease từ các chủng tuyển chọn

Chủng Đ.HK4 có đường kính vòng thủy phân lớn nhất, dịch thủy phân bằng chủng này có màu sắc đậm, đậm mùi rất giống với phân hữu cơ.

3.3. Đặc điểm của quá trình phân hủy lông vũ gia cầm bằng chủng vi sinh vật tuyển chọn

3.3.1. Nhiệt độ nuôi cấy

Nhiệt độ nuôi cấy là một trong các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn. Vi khuẩn Bacillus hoạt động tốt ở 35 - 40°C.

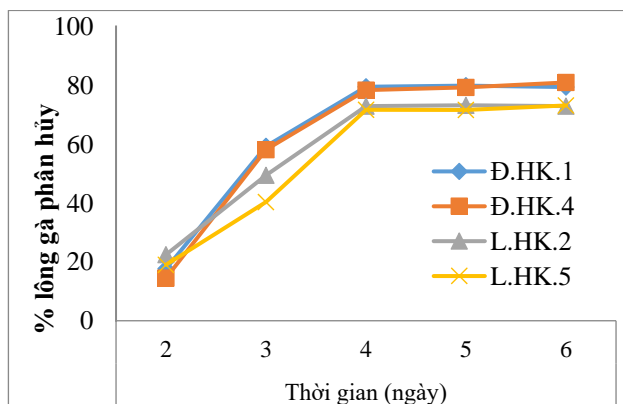
Bảng 5. Tỷ lệ thủy phân lông vũ gia cầm ở các mức nhiệt độ

Chủng	Tỷ lệ thủy phân		
	30 (°C)	35 (°C)	40 (°C)
Đ.HK.1	67,32	79,53	72,35
Đ.HK.4	60,28	78,39	70,19
L.HK.2	56,74	72,93	69,48
L.HK.5	62,21	71,68	65,44

Trong khi đó một số loại vi khuẩn khác hoạt động ở nhiệt độ thấp hơn từ 30 - 35°C như *Chryseobacterium* và *Vibrio*. Nuôi cấy lắc 4 chủng Đ.HK.1, Đ.HK.4, L.HK.2 và L.HK.5 ở các mức nhiệt độ khác nhau từ 30 - 40°C cho thấy ở khoảng nhiệt độ 35 - 40°C có hiệu suất thủy phân tốt. Đặc biệt là ở nhiệt độ 35°C, cho hiệu suất thủy phân cao nhất.

3.3.2. Tốc độ phân hủy lông vũ gia cầm

Nuôi cấy lắc các chủng ở 35°C, 200v/p quan sát, đo lượng lông vũ gia cầm đã phân hủy trong môi trường qua từng ngày nuôi cấy. Kết quả đo cho thấy ở ngày thứ 3 và thứ 4 lượng lông vũ gia cầm bị phân hủy nhiều, đặc biệt là ngày thứ 4. Đến ngày thứ 5 và thứ 6 tuy có chút thay đổi nhưng không đáng kể.

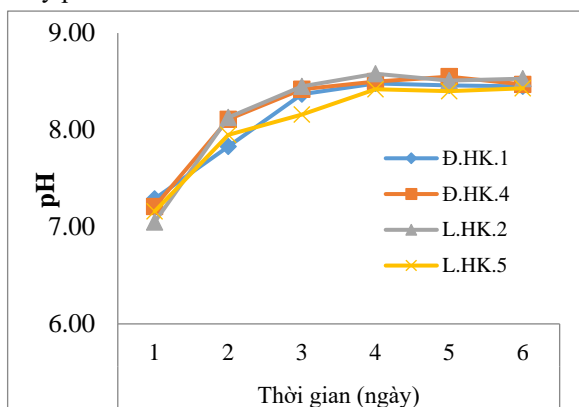


Hình 5. Tốc độ phân hủy lông vũ gia cầm theo thời gian

3.3.3. Sự thay đổi của pH theo thời gian phân hủy

Quá trình thủy phân tạo ra sản phẩm có khả năng làm

thay đổi pH của dung dịch, từ đó ảnh hưởng đến quá trình thủy phân.



Hình 6. Sự thay đổi pH theo thời gian phân hủy

Đo pH dịch thủy phân lông vũ gia cầm của các chủng tuyển chọn qua các ngày nuôi cấy. pH dịch thủy phân tăng từ 7,0 – 7,2 đến 8,4 – 8,6 sau 3 ngày nuôi cấy.

Các chủng khác nhau không có sự khác biệt lớn về pH. Xu hướng thay đổi pH cũng tương tự nhau. Điều này có thể giải thích rằng, cùng 1 cơ chất dưới cùng 1 điều kiện phân ứng, các vi sinh vật đã chuyển hóa tương tự nhau nên pH không khác nhau nhiều.

3.4. Hàm lượng protein hòa tan và nitơ tổng số trong dịch thủy phân lông vũ gia cầm bằng các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Để đánh giá chất lượng của dịch thủy phân lông vũ gia cầm, hàm lượng protein hòa tan và nitơ tổng số được xác định. Kết quả được cho thấy dịch thủy phân lông vũ gia cầm của chủng Đ.HK.1 có hàm lượng protein hòa tan và nitơ tổng số cao hơn 3 chủng Đ.HK.4; L.HK.2 và L.HK.5 (Bảng 6).

Đối chiếu với kết quả về tốc độ phân hủy lông vũ gia cầm và khả năng thủy phân lông vũ gia cầm của 4 chủng trên, chúng tôi nhận thấy có sự tương quan thống nhất với hàm lượng protein và nitơ tổng số của dịch thu được. Như vậy, chất lượng của dịch thủy phân tỉ lệ tương đối với mức độ thủy phân của lông vũ gia cầm.

Bảng 6. Hàm lượng protein hòa tan và nitơ tổng số của dịch thủy phân lông vũ gia cầm

Mẫu	Hàm lượng protein hòa tan (g/l)	Hàm lượng nitơ tổng số (g/l)
Đ.HK.1	0,1871	1,260
Đ.HK.4	0,1715	1,120
L.HK.2	0,1543	0,980
L.HK.5	0,1398	0,896

4. Bàn luận

Trong các chủng tuyển chọn có 2 chủng gram dương (Đ.HK.1; L.HK.2) và 2 chủng gram âm (Đ.HK.4; L.HK.5). Dựa vào đặc điểm hình thái tế bào và khuẩn lạc, 2 chủng gram âm giống với chủng vi khuẩn *Bacillus*. Trong một số công bố [7-9], chủng *Bacillus* cũng được xác định là có hoạt tính sinh keratinase cao. Ngoài ra, các chủng chúng tôi

tuyển chọn được có 1 số đặc điểm sinh học khá tương đồng: nhiệt độ thích hợp để vi khuẩn phân hủy lông vũ gia cầm là 35°C, hiệu suất thủy phân cao 70 – 85% sau 3 – 4 ngày nuôi cấy.

Sự sản sinh protease và keratinase của các chủng tuyển chọn được đánh giá thông qua sự thủy phân của keratin và casein trong môi trường. Đã có nhiều công bố về quá trình này và đó là cơ sở của việc sử dụng phương pháp sinh học trong thủy phân lông vũ gia cầm [10]. Dựa vào sự thủy phân của lông vũ gia cầm có thể nhận thấy rằng, sự sản sinh protease và keratinase diễn ra theo pha log và giảm dần khi nồng độ cơ chất giảm.

Hầu hết các báo cáo về chủng vi sinh vật có hoạt tính keratinase thuộc nhóm vi khuẩn và xạ khuẩn, có pH tối ưu trong khoảng từ trung tính đến kiềm. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã xác định được pH của dịch thủy phân thay đổi theo hướng tăng dần và ổn định ở mức pH 8,5. Kết quả này khá phù hợp với các nghiên cứu khác [8, 11].

Để đánh giá khả năng sử dụng dịch thủy phân lông vũ gia cầm như là nguồn cung cấp protein chất lượng cao làm phân bón hữu cơ, nồng độ protein hòa tan và nitơ tổng số được xác định. Sản phẩm thu được có nồng độ các protein hòa tan và nitơ tổng số cao, có thể sử dụng làm nguồn cung cấp đạm cho các sản phẩm khác nhau. Quan trọng hơn, phương pháp sử dụng vi sinh vật được tiến hành trong điều kiện phản ứng ôn hòa, không sử dụng hóa chất, trong khi phương pháp sử dụng hóa chất có giá thành cao, điều kiện phản ứng khắc nghiệt và tiềm ẩn nguy cơ gây ô nhiễm môi trường thứ cấp.

Nồng độ nitơ tổng số trong mẫu thủy phân lông vũ gia cầm đạt 0,18g/l. So sánh với phân bón POMIOR, loại phân bón lá cao cấp được sản xuất từ dịch thủy phân keratin của tóc, hàm lượng nitơ tổng số của dịch thủy phân lông vũ gia cầm mà chúng tôi thu nhận được cao hơn khoảng 30 lần. Theo các công bố của Cherry và Grazziotin [12, 13], dịch thủy phân từ lông vũ gia cầm có hàm lượng cao các axit amin, đặc biệt là glycin, biotin. Các axit amin này đã được chứng minh là có tác động rất tốt lên sự sinh trưởng phát triển của cây trồng, vì vậy dịch thủy phân lông vũ gia cầm có thể sử dụng sản xuất phân bón cao cấp cho cây trồng. Ngoài ra, một số tác giả gần đây đã chứng minh được rằng, các chủng vi khuẩn phân hủy lông vũ gia cầm đồng thời cũng sản sinh indole acetic acid (IAA) là một loại hormon sinh trưởng của thực vật, có tác dụng kích thích sự tăng trưởng của cây trồng [10]. Đây là cơ sở để chúng tôi tiến hành nghiên cứu sản xuất phân bón lá cao cấp từ dịch thủy phân lông vũ gia cầm, kết quả nghiên cứu sẽ được công bố trong thời gian tới.

5. Kết luận

Từ các mẫu đất, lông và nước thu được tại nơi giết mổ gia cầm chợ Hòa Khánh, phân lập được 14 chủng vi khuẩn. Trong đó, chọn lọc được 4 chủng vi khuẩn có khả năng sinh keratinase cao (Đ.HK.1; Đ.HK.4; L.HK.2 và L.HK.5). Nhiệt độ thích hợp để các chủng tuyển chọn đạt hiệu suất phân hủy trên 70% sau 4 ngày nuôi cấy là 35°C.

Phân tích thành phần protein và nitơ tổng số cho thấy dịch thủy phân có chất lượng tốt, hoàn toàn đáp ứng yêu cầu để làm nguồn protein bổ sung cho thức ăn chăn nuôi

hoặc sản xuất phân bón hữu cơ cao cấp. Với những ưu điểm của phương pháp thủy phân bằng vi sinh vật cũng như chất lượng tốt của sản phẩm thủy phân, nghiên cứu này mở ra khả năng sử dụng vi sinh vật phân giải các nguyên liệu giàu keratin thành các sản phẩm hữu ích, mang lại thu nhập, góp phần làm giảm thiểu ô nhiễm môi trường và hướng tới nền sản xuất hữu cơ xanh, sạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Gupta, R., et al., Biotechnological applications and prospective market of microbial keratinases. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013. **97**(23): p. 9931-40.
- [2] Agrahari, S. and N. Wadhwa, Isolation and characterization of feather degrading enzymes from *Bacillus megaterium* SN1 isolated from Ghazipur poultry waste site. *Prikl Biokhim Mikrobiol*, 2012. **48**(2): p. 199-205.
- [3] Ramakrishnan, J., et al., Formulation of economical microbial feed using degraded chicken feathers by a novel *Streptomyces* sp: mitigation of environmental pollution. *Braz J Microbiol*, 2011. **42**(3): p. 825-34.
- [4] Ramnani, P. and R. Gupta, Optimization of medium composition for keratinase production on feather by *Bacillus licheniformis* RG1 using statistical methods involving response surface methodology. *Biotechnol Appl Biochem*, 2004. **40**(Pt 2): p. 191-6.
- [5] Mukhopadhyay, R.P. and A.L. Chandra, Keratinase of a streptomycete. *Indian J Exp Biol*, 1990. **28**(6): p. 575-7.
- [6] Mazotto, A.M., et al., Keratinase Production by Three *Bacillus* spp. Using Feather Meal and Whole Feather as Substrate in a Submerged Fermentation. *Enzyme Res*, 2011. **2011**: p. 523780.
- [7] Cedrola, S.M., et al., Keratinases and sulfide from *Bacillus subtilis* SLC to recycle feather waste. *World J Microbiol Biotechnol*, 2012. **28**(3): p. 1259-69.
- [8] Cheng, S.W., et al., Production and characterization of keratinase of a feather-degrading *Bacillus licheniformis* PWD-1. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1995. **59**(12): p. 2239-43.
- [9] Fakhfakh, N., et al., Production and biochemical and molecular characterization of a keratinolytic serine protease from chicken feather-degrading *Bacillus licheniformis* RPK. *Can J Microbiol*, 2009. **55**(4): p. 427-36.
- [10] Anwar, M.S., et al., Multitrait plant growth promoting (PGP) rhizobacterial isolates from *Brassica juncea* rhizosphere: Keratin degradation and growth promotion. *Commun Integr Biol*, 2014. **7**(1): p. e27683.
- [11] Cao, L., et al., Characterization of a new keratinolytic *Trichoderma atroviride* strain F6 that completely degrades native chicken feather. *Lett Appl Microbiol*, 2008. **46**(3): p. 389-94.
- [12] Grazziotin, A., et al., Production of feather protein hydrolysate by keratinolytic bacterium *Vibrio* sp. kr2. *Bioresour Technol*, 2007. **98**(16): p. 3172-5.
- [13] Cherry, J.P., et al., Some chemical and nutritional properties of feather protein isolates containing varying half-cystine levels. *Adv Exp Med Biol*, 1977. **86B**: p. 503-30.

(BBT nhận bài: 19/06/2014, phản biện xong: 08/08/2014)