

# Hoạt tính protease của một số chủng *Bacillus* phân lập từ nước thải chế biến thịt và thủy hải sản

Võ Hồng Thi<sup>1,\*</sup>, Nguyễn Hoàng Mỹ<sup>2</sup>, Nguyễn Phạm Huyền<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Khoa Môi trường và Công nghệ sinh học, Đại học Kỹ thuật Công nghệ TpHCM (HUTECH)

<sup>2</sup>Viện Khoa học Công nghệ và Quản lý Môi trường, Đại học Công nghiệp TpHCM

Nhận ngày 23 tháng 3 năm 2012

**Tóm tắt.** Sự phát triển của công nghiệp chế biến thịt và thủy hải sản ở Việt Nam thời gian qua đã và đang phát sinh nhiều vấn đề ô nhiễm nước bởi các hợp chất hữu cơ giàu Nitơ do đó việc xử lý các hợp chất dạng này bằng phương pháp sinh học là phù hợp. Mục tiêu nghiên cứu là khảo sát khả năng sinh tổng hợp enzyme protease cũng như các yếu tố cơ bản ảnh hưởng đến chúng từ các chủng *Bacillus* phân lập trên ba loại nước thải giàu đạm khác nhau được lấy từ các nhà máy chế biến thịt và thủy hải sản. Từ 30 chủng phân lập, cùng với các kết quả về đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa chuyên biệt thu nhận được kết hợp với khóa phân loại của Bergey, đã lựa chọn ra 10 chủng *Bacillus* có khả năng phân giải protein tốt. Kết quả khảo sát cũng cho thấy sau thời gian 72 giờ nuôi cấy ở các điều kiện pH 7 và 50°C, hoạt tính protease của cả 10 chủng đều đạt cực đại và dao động trong khoảng từ 1 đến 1,15 U/ml. Đó là cơ sở để tiếp tục triển khai nghiên cứu ứng dụng khả năng xử lý nước thải chế biến thịt và thủy hải sản trong thực tế với các tổ hợp *Bacillus* tuyển chọn.

*Từ khóa:* *Bacillus*, hoạt tính protease, khóa phân loại Bergey.

## 1. Mở đầu

Trong số các loại hình công nghiệp chế biến thực phẩm tại Việt Nam, ngành chế biến thịt gia súc gia cầm và thủy hải sản phát triển khá đa dạng và phong phú, song quy mô sản xuất phân tán theo hình thức hộ gia đình hay liên hộ gia đình với công nghệ chế biến thủ công và thiết bị tự tạo chiếm tỉ lệ tới 70-74% [1-3]. Do đó, việc thu gom và xử lý nước thải tại các cơ sở chế biến này chưa được quan tâm khi phần lớn

lượng nước thải phát sinh không được xử lý hoặc chỉ được xử lý một phần với hiệu quả rất thấp trước khi đổ ra sông ngòi, ao hồ, đã và đang gây nhiễm bẩn nghiêm trọng về lâu dài các nguồn nước và môi trường xung quanh [4, 5]. Một điểm đặc trưng trong nước thải chế biến thịt và thủy hải sản là sự hiện diện với hàm lượng lớn các chất hữu cơ cao phân tử như protein, amino acid, lipid và một số chất khác [6]. Các chất hữu cơ cao phân tử này do chậm phân hủy nên chính là tác nhân khiến nguồn nước bị ô nhiễm nặng nề [7, 8]. Trong nước thải của các nhà máy chế biến khác nhau, tải lượng và nồng độ của chúng có thể khác biệt, phụ

\* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-8-35120788  
E-mail: vohongthi@yahoo.com

thuộc vào loại nguyên liệu chế biến, chất phụ gia sử dụng, loại sản phẩm sản xuất... nhưng phần chất hữu cơ chủ yếu đều là protein [9], có lẽ là do protein thường chiếm từ 15-25% trọng lượng tươi các loại cá và thịt gia súc [8, 10]. Do vậy, để giảm thiểu ô nhiễm, bên cạnh các phương pháp xử lý hóa học, hóa lý, cơ học thì xử lý sinh học được đặc biệt quan tâm và đem lại hiệu quả cao do đặc trưng ô nhiễm nồng độ lớn các protein có thể phân hủy sinh học trong nước thải chế biến thịt và thủy hải sản.

Trong quá trình xử lý nước thải bằng phương pháp sinh học, sự phân giải protein mở đầu bằng giai đoạn thủy phân và nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng đây là giai đoạn quan trọng, quyết định tốc độ và hiệu quả xử lý [11, 12]. Ở giai đoạn này, một số nhóm vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp enzyme ngoại bào phân giải các hợp chất protein không tan thành các đơn phân tử (các monomer và oligomer) dễ tan hơn và dễ hấp thụ hơn đóng vai trò then chốt. Trong số các vi sinh vật có khả năng sinh enzyme ngoại bào cao, vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* được biết đến khá nhiều do chúng có thể sử dụng được đa dạng nguồn cơ chất để tăng sinh khối và phát triển, do vậy *Bacillus* đã và đang được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau của đời sống nói chung và trong công tác xử lý nước thải nói riêng ở Việt Nam như nước nuôi thủy sản [13], nước sông, hồ bị ô nhiễm bởi chất thải sinh hoạt [14-16]. Nhờ có hoạt tính enzyme ngoại bào cao, các loài thông dụng khác nhau của *Bacillus* như *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*..., khi được bổ sung vào các loại nước thải nói trên, đã chứng tỏ hiệu lực phân hủy chất hữu cơ cao hơn hẳn so với các chủng tự nhiên sẵn có trong nước thải [13-16].

Từ những cơ sở trên đây, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tuyển chọn một số chủng *Bacillus* có hoạt lực phân giải protein cao

trong nước thải, làm cơ sở cho ứng dụng vào việc xử lý các loại nước thải giàu đạm. Với mục tiêu đó, nghiên cứu trước hết tập trung vào khả năng sinh tổng hợp enzyme protease cũng như các yếu tố cơ bản ảnh hưởng đến chúng của các chủng *Bacillus* phân lập từ ba loại nước thải giàu đạm khác nhau.

## 2. Đối tượng, nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

#### 2.1.1. Nước thải

- Nước thải chế biến thủy sản của nhà máy thủy sản số 4, đường Hưng Phú, quận 8, Tp HCM.

- Nước thải sản xuất của công ty cổ phần hải sản Sài Gòn Fisco, KCN Vĩnh Lộc, quận Bình Tân, Tp HCM.

- Nước thải chế biến thịt của công ty cổ phần kỹ nghệ Vissan, đường Nơ Trang Long, quận Bình Thạnh, Tp HCM.

Cả ba loại nước thải trên đều được lấy trong bể tiếp nhận nước thải sản xuất của ba nhà máy. Nước thải tại đó được lưu giữ khoảng 2 ngày trước khi được đưa vào trạm xử lý hoặc thải ra môi trường.

#### 2.1.2. Vi khuẩn *Bacillus*

Các chủng *Bacillus* sau khi được phân lập từ nước thải và thử nghiệm hoạt tính protease là đối tượng của các thử nghiệm kế tiếp.

### 2.2. Nguyên liệu nghiên cứu

- Môi trường phân lập vi khuẩn (môi trường NA): peptone 1g/100ml, cao thịt 0,3g/100ml, NaCl 0,5g/100ml và agar 20g/1000ml.

- Môi trường định tính khả năng sinh  $\text{NH}_3$  trong quá trình phân giải protein (môi trường NB): peptone 1g/100ml, cao thịt 0,3g/100ml, NaCl 0,5g/100ml.

- Môi trường thử nghiệm khả năng phân giải gelatine (môi trường NG): gelatine 5g/100ml, peptone 0,5g/100ml.

- Các môi trường khác phục vụ các thử nghiệm sinh hóa.

- Các hóa chất xác định hoạt tính protease.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Phương pháp phân lập các chủng *Bacillus* có khả năng phân hủy protein và xác định các đặc điểm hình thái, sinh hóa

Mẫu nước thải của các cơ sở chế biến thủy sản nêu trên được gia nhiệt ở  $80^\circ\text{C}$  trong khoảng 20 phút, pha loãng và cấy trang trên môi trường NA, ủ ở  $37\pm 1^\circ\text{C}$  trong 24 giờ, rồi cấy ria các khuẩn lạc thu được đến khi thuần nhất.

Các chủng vi khuẩn phân lập được xác định hình thái bằng phương pháp nhuộm Gram và nhuộm bào tử. Đặc điểm sinh hóa của các chủng được xác định thông qua các thử nghiệm khả năng di động, catalase, nitrate, Indol, Methyl red, VP, citrate, nitrate.

Từ các kết quả thu nhận được ở trên, so sánh với các mô tả trong khóa phân loại Bergey [17] để bước đầu dự đoán các chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*.

#### 2.3.2. Phương pháp xác định khả năng phân giải protein của các chủng *Bacillus* phân lập

- Trên môi trường NB với thuốc thử Nessler: màu sắc dung dịch thu được biến thiên màu từ vàng rom đến vàng nâu sậm, phụ thuộc hàm lượng  $\text{NH}_3$  sinh ra.

- Xác định hoạt tính protease bằng phương pháp đục lỗ thạch trên môi trường NA. Các chủng có khả năng phân giải protein mạnh cho đường kính vòng phân giải lớn xung quanh giếng thạch.

- Thử nghiệm gelatin: các chủng có khả năng phân giải gelatine sẽ làm tan chảy môi trường NG trong ống thạch và phần gelatine đã phân hủy sẽ không đông dù ở nhiệt độ thấp ( $4^\circ\text{C}$ ).

#### 2.3.3. Phương pháp xác định hoạt tính enzyme protease và ảnh hưởng của các yếu tố

- Phương pháp Anson cải tiến xác định hoạt tính protease: hoạt lực phân giải casein trong dịch nuôi cấy các chủng *Bacillus* đã phân lập và chọn lọc ở  $37\pm 1^\circ\text{C}$  trong 60 phút được đánh giá thông qua độ hấp thụ quang ở 660nm của sản phẩm phân giải với thuốc thử Folin. Đơn vị hoạt tính enzyme được xác định là lượng enzyme cần để chuyển hóa lượng casein tương đương 1  $\mu\text{mol}$  tyrosine ở điều kiện thí nghiệm.

- Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến hoạt tính protease: lấy 1ml dịch chiết enzyme thô (sau ly tâm) từ dịch nuôi cấy sau các khoảng thời gian khác nhau (24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ) tại  $37\pm 1^\circ\text{C}$  để xác định hoạt tính bằng phương pháp Anson cải tiến.

- Khảo sát ảnh hưởng của pH ban đầu đến hoạt tính protease: lấy 1ml dịch chiết enzyme thô sau khoảng thời gian nuôi cấy phù hợp đã xác định được ở trên ở  $37\pm 1^\circ\text{C}$  trong môi trường NB trước đó đã điều chỉnh pH về các giá trị 3, 5, 7, 9 bằng NaOH 1M hoặc HCl 1M để xác định hoạt tính bằng phương pháp Anson cải tiến.

- Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính protease: tiến hành nuôi cấy các chủng vi sinh vật với khoảng thời gian và pH tối ưu đã xác định ở trên trong các điều kiện nhiệt độ lần lượt là  $30\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $37\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $40\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $50\pm 1^\circ\text{C}$ ,

60±1°C bằng thiết bị điều nhiệt. Sau đó, ly trích thu enzyme và xác định hoạt tính bằng phương pháp Anson cải tiến.

Ở tất cả các khảo sát trên, mỗi thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần để tính kết quả trung bình, sau khi đã loại bỏ sai số thô.

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Kết quả phân lập và lựa chọn các chủng *Bacillus* có khả năng phân hủy protein tốt

Từ các mẫu nước thải của 3 nhà máy thủy sản, đã phân lập được 30 chủng vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường NA chứa protein là nguồn carbon duy nhất.

Tiếp theo, việc lựa chọn các chủng *Bacillus* trong phạm vi đề tài dựa trên hai yếu tố:

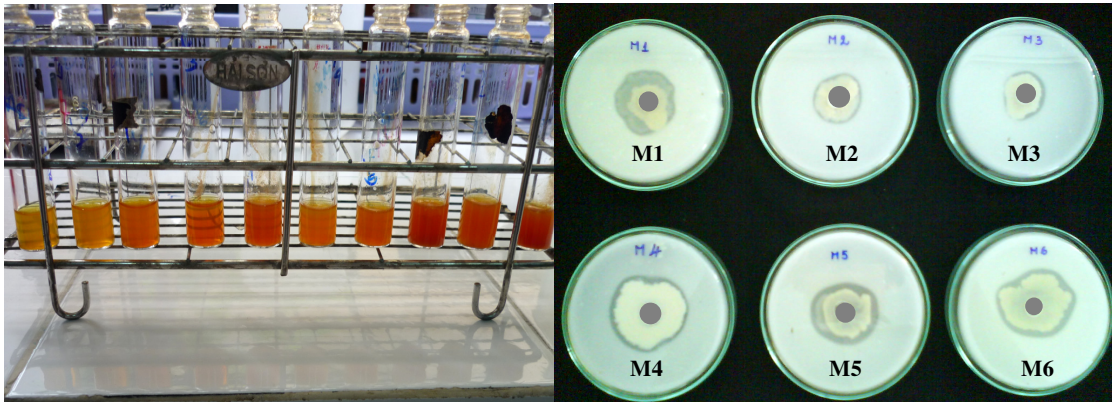
- là các trực khuẩn Gram dương, sinh bào tử.

- khả năng phân giải protein tốt, nhằm đảm bảo hiệu quả khi ứng dụng các chủng này vào xử lý nước thải giàu đạm trong thực tế.

Từ đó, trong số 30 chủng phân lập, đã lựa chọn được 10 chủng, trong đó có 7 chủng có nguồn gốc từ nước thải chế biến thủy sản, ký hiệu M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 và 3 chủng có nguồn gốc từ nước thải chế biến thịt, ký hiệu V1, V2 và V3. Hình thái và khả năng phân giải protein của một số chủng phân lập trong số 10 chủng lựa chọn được thể hiện trên các hình 1 và 2 dưới đây.



Hình 1. Kết quả nhuộm Gram của các chủng M1, M2, M3, V1, V2 (từ trái qua phải).



Hình 2. Khả năng sinh NH<sub>3</sub> (ảnh trái) của 10 chủng *Bacillus* và hoạt tính phân giải protein (ảnh phải) của 6 trong số 10 chủng *Bacillus*

Kết quả thử nghiệm sinh hóa của 10 chủng được trình bày ở bảng 1.

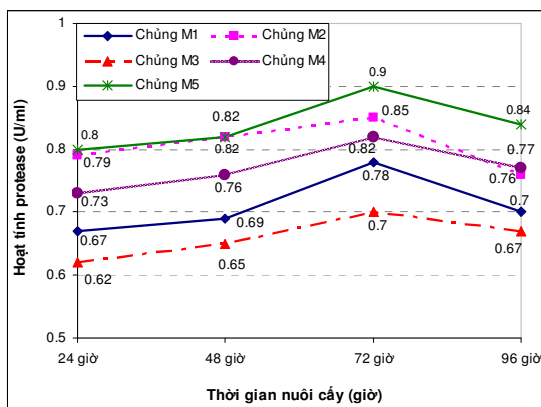
Bảng 1. Kết quả thử nghiệm sinh hóa của 10 chủng vi khuẩn lựa chọn

Thử nghiệm	Các chủng vi khuẩn									
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	V1	V2	V3
Di động	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. citrate	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+
Nitrate	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
Tinh bột	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
NaCl 7%	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+

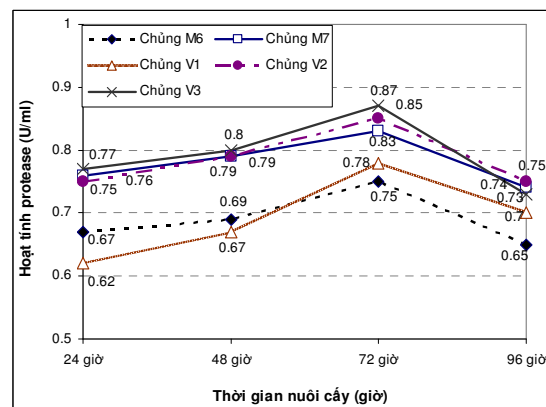
Như vậy, từ các kết quả thu được về hình thái, khả năng phân giải protein cũng như đặc điểm sinh hóa đối với 10 chủng trên, so với khóa phân loại vi sinh vật của Bergey [17], có thể khẳng định một lần nữa là các chủng đã lựa chọn đều thuộc chi *Bacillus*.

So sánh với các công trình của Hà Thanh Toàn và đồng tác giả [18] đã phân lập được 17

chủng vi khuẩn phân giải protein từ nước rỉ rác Cần Thơ; công trình của Trần Liên Hà và Đặng Ngọc Sâm [14] chọn lọc được 5 chủng *Bacillus* có hoạt tính protease tốt từ 50 chủng ban đầu để ứng dụng xử lý nước hồ ô nhiễm thì số lượng các chủng *Bacillus* phân lập được trong nghiên cứu này cũng khá đa dạng.



Hình 3. Hoạt tính phân giải protein theo thời gian của các chủng M1, M2, M3, M4, M5.



Hình 4. Hoạt tính phân giải protein theo thời gian của các chủng M6, M7, V1, V2, V3.

### 3.2. Kết quả khảo sát hoạt tính phân giải protein của 10 chủng *Bacillus* lựa chọn theo thời gian nuôi cấy

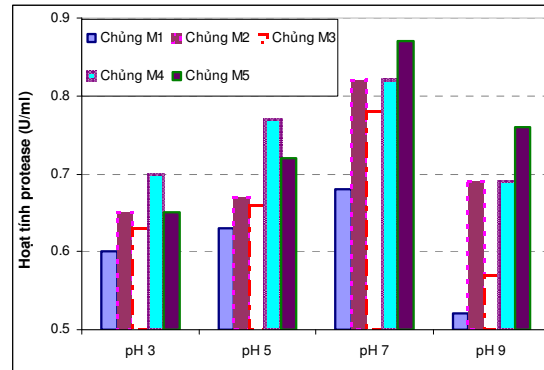
Các hình 3 và 4 cho thấy cả 10 chủng *Bacillus* lựa chọn đều có hoạt tính phân giải protein rõ ràng và đạt được cao nhất tại thời gian nuôi cấy 72 giờ. Trong đó chủng M5 có hoạt độ phân giải mạnh nhất (0,9 U/ml) còn chủng M3 là chủng có hoạt độ yếu nhất (0,7 U/ml). Đây cũng là khoảng thời gian nuôi cấy thường được tìm thấy trong một số nghiên cứu tương tự cho hoạt tính protease sinh thành từ *Bacillus* đạt cực đại [19, 20].

Sau 72 giờ, hoạt tính phân giải protein của tất cả 10 chủng đều giảm dần. Hiện tượng này cũng được quan sát thấy ở các khảo sát tương tự trên *Bacillus* cũng như các nhóm vi khuẩn khác [19, 21, 22]. Theo các tác giả trên, có thể vì ở cuối pha sinh tổng hợp, tế bào bắt đầu tự phân và tốc độ tích lũy enzyme bị chậm lại.

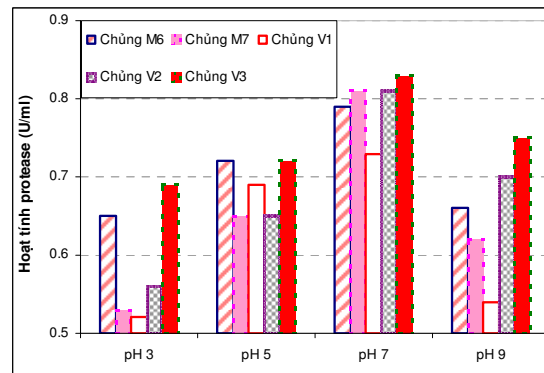
### 3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH ban đầu đến hoạt độ protease của 10 chủng

Các vi sinh vật nói chung khá nhạy cảm với sự thay đổi của nồng độ ion  $H^+$  trong môi trường. Theo Nguyễn Đức Lượng và Nguyễn Thị Thùy Dương [6], nồng độ  $H^+$  (hay pH) có thể làm thay đổi trạng thái ion hóa các nhóm chức ở trung tâm hoạt động của enzyme, do đó làm thay đổi khả năng phản ứng của các nhóm này trong phản ứng xúc tác phân giải cơ chất.

Ngoài ra, pH là yếu tố ảnh hưởng đến mức độ ion hóa cơ chất, cụ thể là tại pH tối thích, phân tử cơ chất được ion hóa tới trạng thái thích hợp nhất cho sự kết hợp với enzyme. Kết quả khảo sát hoạt tính protease của 10 chủng ở 4 mức pH là 3, 5, 7, 9 được thể hiện ở hình 5 và 6.



Hình 5. Sự thay đổi hoạt tính protease theo pH môi trường của các chủng M1, M2, M3, M4, M5.



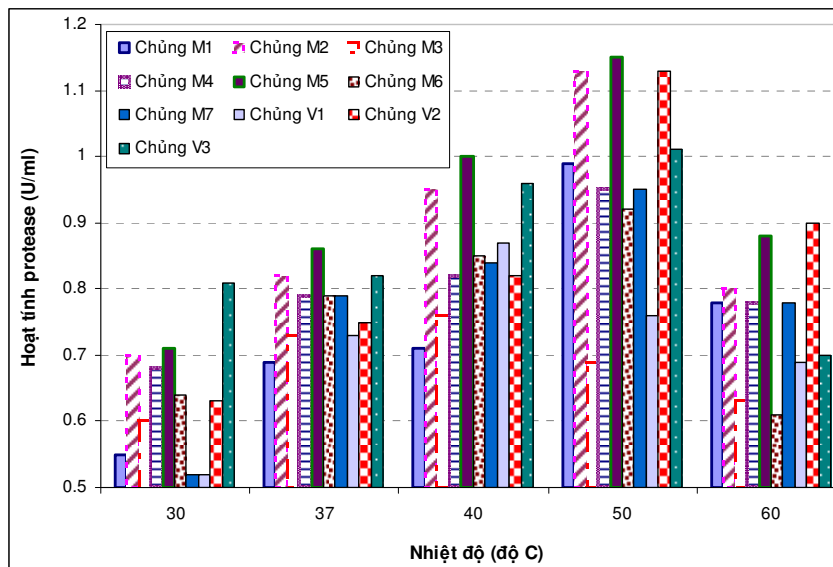
Hình 6. Sự thay đổi hoạt tính protease theo pH môi trường của các chủng M6, M7, V1, V2, V3

Cả 10 chủng *Bacillus* lựa chọn đều biểu hiện hoạt tính phân giải protein mạnh nhất ở pH 7. Ở giá trị pH này, hoạt độ protease mạnh nhất là chủng M5 (0,87 U/ml) và yếu nhất là chủng M1 (0,68 U/ml). Đây là một ưu điểm khi ứng dụng các chủng này làm chế phẩm thúc đẩy quá trình phân hủy nhanh protein trong công tác xử lý nước thải chế biến thủy sản, thịt gia súc gia cầm vì pH trong các loại nước thải trên thực tế thường dao động xung quanh khoảng 6,5 – 7,5.

### 3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt độ protease của 10 chủng

Nhiệt độ là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hoạt động enzyme. Nhiệt độ càng tăng, hoạt lực của enzyme cũng tăng theo song đến một mức nhiệt độ giới hạn thì hoạt lực enzyme lại giảm xuống [23]. Điều này được minh chứng khá rõ ràng ở đồ thị hình 7,

cho thấy nhiệt độ tối thích với hoạt tính enzyme của cả 10 chủng đều đạt mức cao nhất ở 50°C. Kết quả này vừa đồng nhất lại vừa khác biệt với những thử nghiệm tương tự trước đây trên các loài khác nhau của chủng *Bacillus* [20, 24-26]. Đó là do nhiệt độ tối thích của enzyme không phải là hằng số mà phụ thuộc vào nhiều yếu tố như loại và nồng độ cơ chất, pH môi trường, sự có mặt của các ion vô cơ ... [6].



Hình 7. Sự thay đổi hoạt tính protease theo nhiệt độ của 10 chủng chọn lọc.

## 4. Kết luận

Từ nước thải sản xuất giàu đạm của một vài nhà máy chế biến thịt và thủy hải sản, đã lựa chọn được 10 chủng *Bacillus* có khả năng phân giải protein tốt từ 30 chủng phân lập, bao gồm 7 chủng có nguồn gốc từ nước thải chế biến thủy sản và 3 chủng có nguồn gốc từ nước thải chế biến thịt. Kết quả khảo sát hoạt tính phân giải protein của 10 chủng này cho thấy hoạt tính protease đạt cực đại sau 72 giờ nuôi cấy ở pH 7 và 50°C. Những kết quả ban đầu này có thể được coi là cơ sở để triển khai nghiên cứu ứng

dụng khả năng xử lý nước thải chế biến thịt và thủy hải sản trong thực tế với các mức độ nước thải ô nhiễm khác nhau của các tổ hợp *Bacillus* tuyển chọn.

## Tài liệu tham khảo

- [1] J. Hambrey, C. Carleton, Seafood potential markets and research strategy, *Vietnam Institute of Fishery Economic and Planning* (2005).
- [2] N. T. Phuong, *Overview about aquaculture in Vietnam*, Working paper, Ministry of Fisheries, 2005.

- [3] Pham Hong Nhat, Environmental performance improvement for small and medium-sized slaughterhouses in Vietnam, *Environment, Development and Sustainability* 8 (2006) 251.
- [4] N. Mai, Export of Vietnamese agricultural and seafood products to the European Union: identify barriers in terms of environmental standards, Political Publisher, Hanoi, 2004.
- [5] Nguyễn Thế Chinh, Vấn đề ô nhiễm môi trường với sự phát triển cụm công nghiệp làng nghề, *Tạp chí quản lý kinh tế* 9 (2006) 52.
- [6] Nguyễn Đức Lương, Nguyễn Thị Thùy Dương, *Công nghệ sinh học môi trường – tập 1: công nghệ xử lý nước thải*, NXB Đại học quốc gia Tp Hồ Chí Minh, 2003.
- [7] P. Chowdhury, T. Viraraghavan, A. Srinivasan, Biological treatment processes for fish processing wastewater – A review, *Bioresource Technology* 101 (2010) 439.
- [8] M. R. Johns, Developments in wastewater treatment in the meat processing industry: A review, *Bioresource Technology* 54 (1995) 203.
- [9] J. F. Gonzalez, Wastewater treatment in the Fishery Industry, *FAO Fisheries Technical Paper*, No. 355/FAO, Rome, Fisheries Dept., 1996.
- [10] Z. Sikorski, Seafood Resource: Nutrient Composition and Preservation. CRC Press Inc., Boca Raton, 1990.
- [11] B. Frolund, T. Griebet, P. H. Nielsen, Enzymatic activity in the activated sludge flox matrix, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43(1995) 755.
- [12] J. E. Burgess, B. I. Pletschke, Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: A mini-review, *Water SA* 34 (2008) 343.
- [13] Võ Thị Thứ, Trương Ba Hùng, Nguyễn Minh Dương, La Thị Nga, Lê Thị Thu Hiền, Phạm Thị Minh Hà, Lê Doanh Toại, Nguyễn Trường Sơn, Đào Thị Thanh Xuân, Nghiên cứu sử dụng *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis* và *Lactobacillus acidophilus* để sản xuất chế phẩm sinh học Biochie xử lý nước nuôi thủy sản. *Tuyển tập hội thảo toàn quốc về nghiên cứu và ứng dụng khoa học công nghệ trong nuôi trồng thủy sản*, 2005, trang 815.
- [14] Trần Liên Hà, Đặng Ngọc Sâm, Phân lập và tuyển chọn *Bacillus* để xử lý nước hồ bị ô nhiễm, *Hội nghị Khoa học lần thứ 20 - Kỷ niệm 50 năm thành lập trường Đại học Bách khoa Hà Nội*, 2006, trang 55.
- [15] Trần Liên Hà, Nagano Hiroko, Khả năng sử dụng *Bacillus subtilis* CN2 trong xử lý nước hồ bị ô nhiễm, *Hội nghị Khoa học lần thứ 20 - Kỷ niệm 50 năm thành lập trường Đại học Bách khoa Hà Nội*, 2006, trang 34.
- [16] Ngô Tự Thành, Bùi Thị Việt Hà, Vũ Minh Đức, Chu Văn Mẫn, Nghiên cứu hoạt tính enzyme ngoại bào của một số chủng *Bacillus* mới phân lập và khả năng ứng dụng chúng trong xử lý nước thải, *Tạp chí Khoa học Đại học quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* 25 (2009) 101.
- [17] R. E. Buchanon, N. E. Gibbons, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Ed, The Williams and Wilkins company, Baltimore, 1989.
- [18] Hà Thanh Toàn, Mai Thu Thảo, Nguyễn Thu Phương, Trần Lê Kim Ngân, Bùi Thế Vinh và Cao Ngọc Diệp, Phân lập vi khuẩn phân giải cellulose, tinh bột và protein trong nước rỉ từ bãi rác ở thành phố Cần Thơ, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ* 10 (2008) 195.
- [19] S. Sharmin, M. T. Hossain, M. N. Anwar, Isolation and characterization of a protease producing bacteria *Bacillus amovivorus* and optimization of some factors of culture conditions for protease production, *Journal of Biological Sciences* 5 (2005) 358.
- [20] W. Shumi, M. T. Hossain, M. N. Anwar, Proteolytic activity of a bacterial isolate *Bacillus fastidiosus* den Dooren de Jong, *Journal of Biological Sciences* 4 (2004) 370.
- [21] Nguyễn Xuân Tấn Thắng, Nguyễn Trọng Lạng, Nghiên cứu những yếu tố ảnh hưởng tới khả năng phân giải cellulose của một số chủng vi sinh vật phân lập tại tỉnh Thái Nguyên, *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn* 22 (2006) 92.
- [22] Nguyễn Lân Dũng, Xử lý phế thải của các nhà máy chế biến hoa quả làm thức ăn chăn nuôi, *Báo cáo Khoa học chương trình KC. 04.02*, Đại học Quốc gia Hà Nội, 2004.
- [23] Nguyễn Thành Đạt, *Cơ sở sinh học vi sinh vật – tập 1*, NXB Đại học Sư phạm, Hà Nội, 2005.
- [24] N. Sinha, T. Satyanarayana, Optimization of alkaline protease production by thermophilic *Bacillus licheniformis* S-40, *Ind. J. Microbiol.* 33 (1991) 43.
- [25] U. Boominadhan, R. Rajakumar, P. K. V. Sivakumaar, M. M. Joe, Optimization of protease enzyme production using *Bacillus* sp. isolated from different wastes, *Botany Research International* 2 (2009) 83.
- [26] B. H Joshi, Purification and characterization of a novel protease from *Bacillus firmus* Tap 5 isolated from tannery industry, *J. Appl. Sci. Res.* 6 (2010) 1068.



## Study of protease activity of several *Bacillus* strains isolated from slaughterhouse and seafood processing wastewater

Vo Hong Thi<sup>1</sup>, Nguyen Hoang My<sup>2</sup>, Nguyen Pham Huyen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Environment and Biotechnology, HCMC University of Technology (HUTECH)*

<sup>2</sup>*Institute for Environmental Science, Engineering and Management, HCMC University of Industry*

The development of meat and seafood processing Industries in Vietnam in recent years has arisen water pollution problems from nitrogen-rich organic matters, and then it is appropriate to treat/remove them with the addition of bioaugmentors. Studying protease production capability and optimizing the key conditions for maximum activity of extracellular protease of *Bacillus* strains isolated from three different kinds of protein-rich wastewater discharged from slaughterhouse and seafood processing plants are objectives of this research. From 30 strains isolated, base on characteristic of the morphology, physiology and the Bergey's manual, the 10 most efficient proteolytic *Bacillus* strains were selected. Besides, studying results showed that after 72-hour cultivation at pH 7 and 50°C condition, protease activities of all 10 *Bacillus* strains gained maximum, which were in the range of 1 and 1,15 U/ml. Results of this study have set up further application of selected *Bacillus* strains for removal of Nitrogen-pollutants in meat and seafood processing wastewaters.

*Keywords:* *Bacillus*, protease activity, Bergey's manual.