

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI KERATIN TỪ CHẤT THẢI CHĂN NUÔI TẠI TIỀN GIANG

● PHAN NGỌC DUYÊN - TRẦN NGỌC CHI

TÓM TẮT:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy mạnh các loại cơ chất chứa keratin này từ mẫu đất và mẫu nước thải thu ở lò giết mổ gia súc thuộc tỉnh Tiền Giang. Các mẫu được pha loãng và nuôi cấy trên môi trường bột lông vũ để phân lập và khảo sát khả năng phân hủy cơ chất chứa keratin của vi khuẩn. Đa số các dòng vi khuẩn được phân lập có khuẩn lạc màu trắng đục hoặc vàng nhạt, bìa nguyên với dòng tế bào hình que và dòng hình cầu, dòng Gram âm và dòng Gram dương. Trong đó, dòng V5 thể hiện khả năng phân hủy keratin mạnh nhất với kết quả phân hủy lông gia cầm là 57,5%. Kết quả xác định trình tự đoạn gen 16S ribosomal RNA cho thấy dòng V5 đồng hình 99,79% với dòng *Bacillus megaterium*.

Từ khóa: keratin, phân lập, vi khuẩn phân hủy keratin, *Bacillus megaterium*.

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, cùng với sự phát triển kinh tế, thì môi trường đang ngày càng bị ô nhiễm, đặc biệt ở các nước đang phát triển nói chung và Việt Nam nói riêng. Các phế phẩm, chất thải của các nhà máy, các lò giết mổ, chế biến gia súc, gia cầm đã thải lượng lớn phế phẩm ra môi trường, gây ô nhiễm nghiêm trọng, trong đó thành phần chính là keratin (90%). Keratin có đặc điểm là ổn định cơ học, có khả năng chống phân hủy protein cao nhờ vào các liên kết disulfua, hydro và các liên kết khác (Akhtar W. *et al.*, 1997). Keratin là thành phần cấu tạo chính của lông gia súc, gia cầm và là hợp chất rất khó bị phân hủy trong tự nhiên, chiếm tỷ lệ khá lớn trong nguồn rác thải từ các lò giết mổ, trở thành một nguồn ô nhiễm nghiêm trọng (Daniel J.D. *et al.*, 2009). Đã có nhiều phương pháp được áp dụng để

xử lý lông gia súc, gia cầm như chôn, đốt bỏ hoặc làm thức ăn gia súc. Tuy nhiên, các phương pháp vật lý và hóa học tiêu tốn khá nhiều năng lượng và không thân thiện với môi trường, đồng thời còn làm giảm giá trị dinh dưỡng của sản phẩm, do bị mất đi một số acid amin (Akhtar W. *et al.*, 1997). Nghiên cứu “Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn có khả năng phân giải keratin từ chất thải chăn nuôi ở Tiền Giang” được thực hiện với mục tiêu tìm ra các dòng vi khuẩn chịu nhiệt có khả năng phân hủy mạnh cơ chất chứa keratin, góp phần xử lý hiệu quả loại chất thải này trong môi trường.

2. Tổng quan nghiên cứu

Keratin, hay chất sừng là một họ các protein cấu trúc dạng sợi. Keratin là vật liệu cấu trúc chính tạo nên những lớp bên ngoài của da người, là thành phần cấu trúc quan trọng của mái tóc và

móng tay, cung cấp sức mạnh và độ dẻo dai cần thiết cho cơ quan nhai như lưỡi và vòm miệng cứng. Keratin không bị hòa tan trong dung dịch muối, nhưng những protein này có thể hòa tan trong các dung dịch có chứa các chất biến tính, chẳng hạn như ure.

Các nghiên cứu đã tìm được số loài vi khuẩn vẫn có khả năng phân giải keratin hiệu quả nhờ vào hoạt tính của enzyme keratinase (Kim *et al.*, 2001). Nhiều dòng vi khuẩn phân hủy keratin được phân lập từ đất và nước thải, trong đó có *Bacillus licheniformis*. Một số dòng ưa ấm (mesophilic) cũng được mô tả cho thấy khả năng phân giải keratin như *Streptomyces pactum* DSM 40530 (Barker G.C *et al.*, 2003). Các dòng vi khuẩn Gram âm cũng có khả năng phân hủy keratin.

Chyseobacterium indologenes có khả năng phân hủy lông vũ trong quá trình nuôi cấy (Quách Thị Thanh Tâm và ctv, 2014). Keratinase là một loại enzyme ngoại bào, chỉ được tạo ra trong sự hiện diện của keratin trong cơ chất. Keratinase chủ yếu tấn công vào các liên kết disulfide (S-S) của keratin (Barker G.C *et al.*, 2003). Quách Thị Thanh Tâm và ctv. (2014) đã phân lập được 18 dòng vi khuẩn hiếu khí. Kết quả khảo sát sự phân hủy keratin qua việc phân hủy lông gia súc và gia cầm cho thấy, các dòng vi khuẩn phân hủy được từ 14,59% đến 37,76% khối lượng bột lông gia cầm sau một tuần lắc ủ ở các mức nhiệt độ khảo sát; kết quả phân hủy lông dê cao hơn từ 25% đến 40,47%. Ngoài ra, Huỳnh Kim Yến và Bùi Thị Minh Diệu (2018) cũng đã nghiên cứu phân lập và tuyển chọn những dòng vi khuẩn chịu nhiệt có khả năng phân hủy mạnh các cơ chất chứa keratin từ lông gia súc - gia cầm. Với 54 dòng có khả năng phát triển và phân hủy keratin ở 45°C; 18 dòng phát triển ở 50°C; 5 dòng phát triển ở 55°C.

Kết quả xác định trình tự đoạn gen 16S ribosomal RNA cho thấy, dòng KG2 đồng hình 97% với dòng *Bacillus megaterium* AIMST3.Ei.1. Phần lớn các dòng vi khuẩn có hoạt tính phân hủy keratin cao phân lập được đều thuộc chi *Bacillus*. Đối với *B. licheniformis*, theo nghiên cứu của Kim *et al.* (2001), keratinase có khối lượng phân tử 33 kDa, pH tối ưu đã được xác định 7.5, nhiệt độ tối ưu

là 50°C và ổn định khi bảo quản ở -20°C. Keratinase tổng hợp từ dòng *Bacillus* sp. này cũng đã được mô tả trong nhiều nghiên cứu Kim *et al.* (2001); Dòng *Bacillus megaterium* F7-1 đã được 5. Daniel J.D. *et al.* (2009) nghiên cứu và cho thấy, khả năng phân hủy đến 26% lượng bột lông gà sau 24 giờ chủng ở 30°C. Nhiều nghiên cứu ghi nhận keratinase được phân lập từ chủng *B. licheniformis* và *B. subtilis*, là thành viên của nhóm protease serine, điều này đã được đề cập đến trong công bố của Brandelli (2008). Một số nơi trên thế giới đã nghiên cứu và sử dụng sản phẩm phân hủy lông gà làm thức ăn bổ sung protein cho chăn nuôi gia súc. Sử dụng cách thủy phân bột lông bằng vi khuẩn có thể tạo ra sản phẩm thay thế đến 15% protein trong thức ăn gia cầm.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Thời gian và địa điểm

Thời gian: Từ tháng 03/2022 đến tháng 10/2022.

Địa điểm: Phòng thí nghiệm Vi sinh - Trường Đại học Tiền Giang.

3.2. Phương tiện nghiên cứu

3.2.1. Vật liệu

Hai mẫu đất và 2 mẫu nước từ trại nuôi gà và 2 mẫu nước được thu ở lò giết mổ gia cầm tại tỉnh Tiền Giang. Với mẫu đất (trại gà Vĩnh Hựu và Trại gà của 2 hộ dân xã Bình Nhì): đất được đào sâu khoảng 20 cm ở ngay cơ sở giết mổ gia cầm, thu khoảng 10 gram mẫu. Với mẫu nước (lò giết mổ Lò Vôi và lò giết mổ gia cầm thị xã Gò Công): thu tại nơi trực tiếp thải nguồn nước ra và thu khoảng 10 ml nước.

3.2.2 Hóa chất, dụng cụ, thiết bị:

Peptone, Yeast extract, Sữa không béo tiệt trùng, Agar, NH_4Cl , NaCl , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , bình tam giác, ống nghiệm, đĩa petri, cốc thủy tinh, que cấy, đầu tip, cân, máy vortex, nồi hấp tiệt trùng, tủ cấy, tủ ủ.

3.3. Phương pháp nghiên cứu

3.3.1. Phân lập vi khuẩn có khả năng phân giải keratin trên môi trường lông gia cầm

Các mẫu đất và nước sau khi mang về phòng thí nghiệm được lắc tăng sinh thời gian và được pha loãng từ nồng độ 100 đến 10-10. Chọn các nồng độ từ 10-6 đến 10-8 để trải lên môi trường SMA (Skim

Milk Agar) (5 g/l peptone, 3 g/l yeast extract, 100 ml/l sữa không béo tiệt trùng, 20 g/l agar) (bằng cách hút 100 µl dịch pha loãng trải lên môi trường sữa), ủ trong 24h. Các khuẩn lạc có hình dạng khác nhau tạo được vòng phân giải rõ rệt được chọn để cấy chuyển sang môi trường bột lông vũ và ủ trong 24h. Những dòng có khả năng phát triển trên môi trường bột lông vũ được cấy chuyển tiếp tục trên môi trường này đến khi rỗng. Các đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của vi khuẩn được tiến hành quan sát về hình dạng, màu sắc, độ nổi, kích thước tế bào, đặc tính Gram (Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Hữu Hiệp, 2002). Các khuẩn lạc rời được cấy rìa trên môi trường có bổ sung bột lông vũ đến khi rỗng. Các mẫu vi khuẩn rỗng được cấy vào ống nghiệm chứa môi trường bột lông vũ và trữ ở 4°C.

3.3.2. Đánh giá khả năng phân hủy bột lông vũ của các dòng vi khuẩn phân lập được

Thí nghiệm đánh giá khả năng phân hủy bột lông vũ bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố gồm các nghiệm thức là các dòng vi khuẩn phân lập được với 1 nghiệm thức đối chứng, 3 lần lặp lại.

Khả năng phân hủy bột lông vũ của vi khuẩn được tính theo công thức sau:

$$A (\%) = (mBD - mC) \times 100 / mBD$$

Trong đó: A (%) là tỉ lệ bột lông vũ bị phân hủy bởi vi khuẩn.

mBD: là khối lượng bột lông ban đầu.

mC: là khối lượng bột lông còn lại sau khi bị phân hủy.

3.2.3. Xác định mật số vi khuẩn bằng cách đo độ đục McFarland

Độ đục chuẩn McFarland được sử dụng để điều chỉnh độ đục của huyền phù nuôi cấy vi khuẩn cho thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh.

Điều chỉnh huyền dịch vi khuẩn giống với độ đục chuẩn, chuẩn bị các nồng độ pha loãng của huyền dịch, xác định số lượng vi khuẩn bằng phương pháp đo OD. Huyền dịch vi khuẩn có cùng độ đục với độ đục chuẩn 0,5 có số lượng vi khuẩn là 10^8 CFU/ml với giá trị OD là 0,66.

3.2.4. Đánh giá khả năng phân hủy sợi lông của các dòng vi khuẩn được chọn

Chọn những chiếc lông gà cùng loại có kích thước và khối lượng tương đương. Cho mỗi chiếc

lông vào ống nghiệm chứa 20 ml môi trường gồm NaCl 0,5 g/l, KH_2PO_4 0,4 g/l, K_2HPO_4 0,3 g/l, NH_4Cl 0,5 g/l, sao cho toàn bộ chiếc lông bị ngập trong môi trường, đem khử trùng ở 121°C trong 10 phút. Lần lượt chũm vào mỗi ống nghiệm 4 ml huyền phù tế bào vi khuẩn, ủ ở 120 rpm. Quan sát và ghi nhận thời gian làm gãy rụng lông đối với mỗi dòng vi khuẩn trong vòng 10 ngày.

3.2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích phương sai ANOVA (Analysis of Variance) bằng phần mềm SPSS và kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 1% hoặc 5%.

3.2.6. Nhận diện các dòng vi khuẩn được tuyển chọn bằng phương pháp sinh học phân tử

Dòng vi khuẩn được tuyển chọn được gửi giải trình tự đoạn gen 16S rRNA tại Công ty Nam Khoa, đối chiếu với dữ liệu trên ngân hàng gen NCBI bằng phần mềm BLAST để nhận diện dòng vi khuẩn dựa vào mức độ tương đồng về trình tự của đoạn gen này với dòng vi khuẩn đã được xác định.

4. Kết quả và thảo luận

4.1. Kết quả phân lập vi khuẩn

Từ 2 mẫu đất và 2 mẫu nước được thu tại lò mổ gia cầm, trại gà tại tỉnh Tiền Giang đã phân lập được 5 dòng vi khuẩn. Tất cả các dòng vi khuẩn trên đều có thể phát triển và phân hủy keratin, đều có hình thái, kích thước khuẩn lạc và màu sắc đa dạng. (Bảng 1)

Đặc điểm khuẩn lạc các dòng vi khuẩn phân lập được thể hiện ở Hình 1:

Đặc điểm hình thái của một số dòng vi khuẩn thể hiện ở Hình 2.

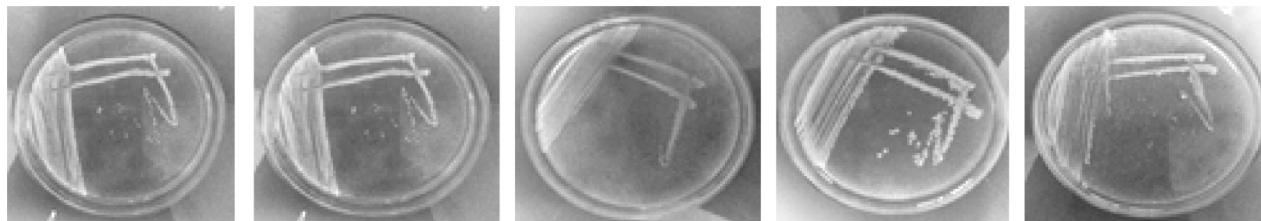
Kết quả khảo sát về màu sắc khuẩn lạc cho thấy các dòng vi khuẩn có màu trắng ngà chiếm đa số, bên cạnh đó còn có các khuẩn lạc màu vàng nhạt, vàng đậm, trắng sữa thể hiện có sự đa dạng về màu sắc của khuẩn lạc. Tuy nhiên, một số dòng vi khuẩn có hiện tượng chuyển màu trong quá trình cấy trữ lâu ngày.

Về hình dạng khuẩn lạc: phần lớn các khuẩn lạc có dạng hình tròn và không đều. Ngoài ra độ nổi các khuẩn lạc có dạng mô chiếm tỷ lệ cao. Dạng bìa khuẩn lạc: hầu hết các dòng vi khuẩn phân lập được đều có khuẩn lạc dạng bìa nguyên và dạng bìa răng cưa. Trong số 5 chủng phân lập được có 2 vi

Bảng 1. Đặc điểm tế bào và khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn phân lập được

STT	Đặc điểm tế bào			Đặc điểm khuẩn lạc				
	Tên	Hình dạng	Gram	Hình dạng	Độ nổi	Bìa	Màu sắc	Đường kính (mm)
1	V1	Tròn	+	Tròn	Mô	Nguyên	Vàng đậm	1
2	V2	Tròn	—	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng ngà	5
3	V3	Tròn	—	Tròn	Lài	Răng cưa	Vàng nhạt	10
4	V4	Tròn	+	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	2
5	V5	Que	+	Tròn	Lài	Nguyên	Trắng	5

Ghi chú : Vi khuẩn bắt màu tím: Gram dương; Vi khuẩn bắt màu đỏ hồng: Gram âm
 Nguồn:

Hình 1: Đặc điểm hình thái một số dòng vi khuẩn phân lập được

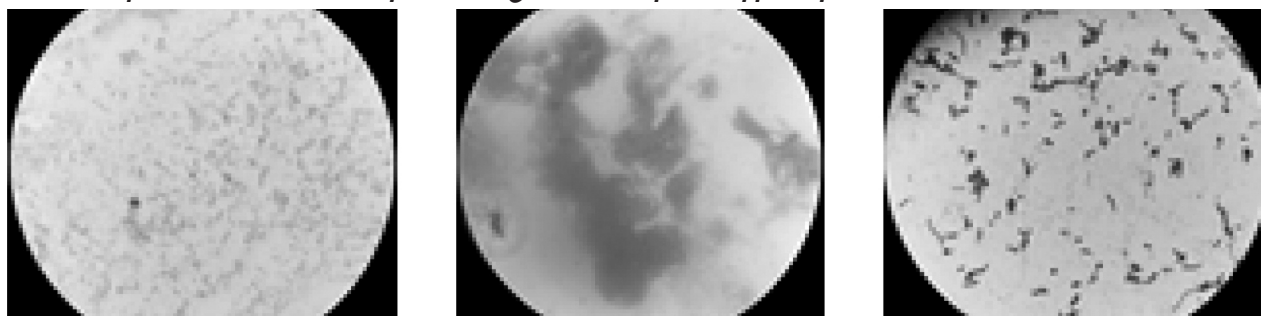
Khuẩn lạc trắng sữa

Khuẩn lạc vàng nhạt

Khuẩn lạc vàng đậm

Khuẩn lạc trắng

Khuẩn lạc trắng ngà

Hình 2: Đặc điểm hình thái một số dòng vi khuẩn phân lập được

Dòng vi khuẩn V2

Dòng vi khuẩn V3

Dòng vi khuẩn V5

khuẩn Gram âm, còn lại đều là Gram dương. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu khác về đặc điểm hình thái của một số vi khuẩn. Nhuộm Gram các dòng vi khuẩn với tỷ lệ các dòng vi khuẩn có bắt màu đỏ hồng biểu hiện vi khuẩn Gram dương trội hơn màu tím biểu hiện vi khuẩn Gram âm.

4.2. Kết quả khảo sát khả năng phân hủy bột lông vũ từ các dòng vi khuẩn được chọn

Kết quả khảo sát sau 9 ngày nuôi lắc cho thấy, cả 5 dòng vi khuẩn đều có khả năng phân hủy lông vũ. Dòng vi khuẩn V5 có khả năng phân hủy mạnh

nhất với tỷ lệ là 57,5%, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với mẫu đối chứng và với các dòng còn lại. Lông vũ sau khi được lọc, sấy khô và cân để so sánh khối lượng giữa các nghiệm thức thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 2.

Những nghiệm thức ở các chỉ tiêu trên có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. Dựa vào bảng thống kê cho thấy, những nghiệm thức có giá trị dao động từ 0,85 → 1,13 trong đó: V5 là nghiệm thức nhỏ nhất. Đồng thời kết quả phân tích thống kê cũng cho thấy, khả năng phân hủy bột lông vũ của dòng

Bảng 2: Kết quả phân tích thống kê thí nghiệm khả năng phân giải bột lông vũ

Dòng vi khuẩn phân giải bột lông vũ	Khối lượng bột còn lại (g)
V1	1,02 ^{ab}
V2	1,13 ^a
V3	0,99 ^b
V4	1,01 ^{ab}
V5	0,85 ^c
F	**
CV%	4,46%

Ghi chú: Số liệu thống kê Bảng 2 là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị trung bình có các mẫu tự theo giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức độ 1%. (theo phép thử Duncan).

Nguồn:

V5 khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% theo phép thử Duncan so với mẫu đối chứng và với tất cả các dòng còn lại. Giá trị càng nhỏ thì cho thấy sự phân hủy keratin càng cao, nên V5 là dòng được chọn và được tiến hành giải trình tự định danh.

4.3. Kết quả khảo sát khả năng phân hủy sợi lông gà từ các dòng vi khuẩn được chọn

Sau 10 ngày quan sát, kết quả khảo sát khả năng phân hủy sợi lông gà nguyên cho thấy tất cả 5 dòng vi khuẩn phân lập được đều có khả năng làm gãy rụng sợi lông con của cọng lông gà. Trong đó, V5 có khả năng làm gãy rụng lông gà tốt nhất sau 10 ngày (trên 80%), V1 cho thấy khả năng làm gãy rụng lông gà hơn 50% tổng số lông con, các dòng còn lại cũng cho thấy khả năng làm gãy rụng lông khá (khoảng 25%) tổng số lông con.

4.4. Kết quả nhận diện dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy keratin mạnh nhất bằng phương pháp sinh học phân tử

Dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy keratin mạnh nhất có kết quả giải trình tự 16S rDNA như sau:

GATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACA
TGCAAGTCGAGCGAACTGATTAGAAGCTTG
CTTCTATGACGTTAGCGGCGGACGGGTGAG
TAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTG
GGATAACTTCGGGAAACCGAAGCTAATACC
GGATAGGATCTTCTCCTTCATGGGAGATGA
TTGAAAGATGGTTTCGGCTATCACTTACAG
ATGGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTG
AGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCAT
AGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACT
GGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGG
ACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTG
AGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTC
TGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACGAGAGTA
ACTGCTCGTACCTTGACGGTACCTAACCAG
AAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCC
GGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGC
GGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACG
GCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGG
GGAAGTTGAGTGC

Đoạn DNA của dòng V5 dài 1493bp có tỷ lệ đồng hình 99,79% với trình tự DNA của AB428797.1 *Bacillus megaterium* dòng AIK9. Khi so sánh với dữ liệu ngân hàng gen trên trang web <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> bằng chương trình BLAST. Kết quả tra cứu cho thấy, trình tự gen của dòng V5 có kết quả tương đồng với dòng *Bacillus megaterium* với độ tương đồng 99,79%.

Sequences producing significant alignments

Download

New Select columns

Show

100

☒ select all 100 sequences selected

[GenBank](#)

[Graphics](#)

[Distance tree of results](#)

New [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ <i>Bacillus megaterium</i> gene for 16S rRNA, strain AIK9gene partial seque... <i>Bacillus so...</i>		1155	1155	99%	0.0	99,79%	1493	AB428797.1

Bacillus megaterium là 1 vi khuẩn hình que, Gram dương có bào tử. Đây được coi như một loại vi khuẩn hiếu khí, nhưng vẫn có thể phát triển trong điều kiện kỵ khí khi cần thiết, là một trong những loại vi khuẩn có kích thước lớn nhất được tìm thấy trong đất cát, vì thế được gọi là “mega”, có nghĩa là "tương đối lớn". Đây là một khuẩn hoại vật đất phổ biến, được nuôi dưỡng từ sinh vật chết hoặc đang phân hủy chất hữu cơ. *B. megaterium* có mặt ở khắp nơi trong môi trường. Ngoài việc là 1 vi khuẩn đất phổ biến, nó còn có thể được tìm thấy trong các loại thực phẩm khác nhau (bao gồm mật ong và phấn ong, trong đó hầu hết các vi sinh vật không phát triển) và trên nhiều loại bề mặt khác nhau (bao gồm các mẫu vật lâm sàng, da, giấy, đá,...). Nó cũng đã được phân lập từ phân bò, sâu bướm hoàng đế. Như vậy, dòng vi khuẩn V5 được tuyển chọn từ nghiên cứu này thuộc chi *Bacillus*.

Kết quả này phù hợp với kết luận của Godde C et al. (2005) là phần lớn các dòng vi khuẩn có hoạt tính phân hủy keratin cao phân lập được đều thuộc chi *Bacillus*. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả định danh trong nghiên cứu của Quách Thị Thanh Tâm và ctv. (2014). Các dòng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* đã được nghiên cứu khá nhiều và chứng tỏ được khả năng phân hủy cơ chất

keratin. Vì vậy, khả năng ứng dụng các dòng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* để xử lý rác thải chứa keratin được kỳ vọng rất cao.

5. Kết luận và khuyến nghị

5.1. Kết luận

Thí nghiệm đã phân lập được 5 dòng vi khuẩn từ chất thải chăn nuôi ở Tiền Giang. Đa số các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy keratin có khuẩn lạc tròn (trừ V5), màu trắng ngà, độ nổi mô và bìa nguyên.

Kết quả khảo sát sự phân hủy keratin qua việc phân hủy lông vũ cho thấy các dòng vi khuẩn phân hủy được từ 43,5% đến 57,5% khối lượng bột lông vũ sau 9 ngày lactic. Ngoài ra, kết quả theo dõi sự làm gãy rụng sợi lông gà sau 10 ngày cũng cho thấy tất cả các dòng vi khuẩn đều có khả năng làm gãy rụng các sợi lông con trên sợi lông gà lớn. Tổng hợp kết quả 2 thí nghiệm chọn được dòng V5 cho khả năng phân hủy keratin cao hơn các dòng còn lại. Kết quả định danh cho thấy, dòng V5 có kết quả tương đồng với dòng AB428797 *Bacillus megaterium* AIK9 với độ tương đồng 99,79%.

5.2. Khuyến nghị

Khảo sát thêm các dòng vi khuẩn phân hủy keratin. Tiếp tục nghiên cứu nuôi tăng sinh các dòng vi khuẩn này để cho ra kết quả tốt nhất góp phần vào việc xử lý chất thải trong môi trường ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Hữu Hiệp (2002). *Thực tập vi sinh vật đại cương*. Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
2. Bùi Thị Minh Diệu (2018). Phân lập và nhận diện dòng vi khuẩn chịu nhiệt cao có khả năng phân hủy lông gia súc - gia cầm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 54(9B): 6-14.
3. Quách Thị Thanh Tâm và Bùi Thị Minh Diệu (2015). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn có khả năng phân hủy lông gia súc gia cầm từ các lò mổ gia súc ở ba huyện Tam Bình, Long Hồ và Vũng Liêm tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 41B: 1-11.
4. Quách Thị Thanh Tâm, Bùi Thị Minh Diệu và Phạm Minh Triết (2014). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn chịu nhiệt có khả năng phân giải keratin từ chất thải chăn nuôi ở Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 32B: 58-68.

Tiếng Anh

1. Akhtar W. and Edwards H.G.M (1997). Fourier-transform Raman spectroscopy of mammalian and avian keratotic biopolymers. *Spectrochim Acta*. 53: 81-90.

2. Barker G.C., Smith J.J. and Cowan D.A (2003). Review and reanalysis of domain specific 16S primers. *Journal of Microbiological Method*. 55: 541-555.
3. Brandelli A., 2005: *J. Biotechnol*, pp. 35-37.
4. Brandelli A., D.J. Daroit and A. Riffel (2009): *Appl Biochem Biotechnol*, 85: 1735-1750.
5. Daniel J.D., Ana P.F.C. and Brandelli A (2009). Keratinolytic potential of a novel *Bacillus* sp. P45 isolated from the Amazon basin fish *Piaractus mesopotamicus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 63: 358-363.
6. Godde C., K. Sahm, S.J.J. Brouns, L.D. Kluskens, J. van der Oost, W.M. de Vos and G. Antranikian (2005): *Appl. Environ. Microbiol*, 71: 3951-3958.
7. Kim, J.M., W.J. Lim and H.J. Suh (2001). Feather-degrading *Bacillus* species from poultry waste. *Process Biochemistry*, 37: 287-291.

Ngày nhận bài: 18/5/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 1/6/2023

Ngày chấp nhận đăng bài: 15/6/2023

Thông tin tác giả:

1. ThS. PHAN NGOC DUYEN

2. ThS. TRẦN NGỌC CHI

Trường Đại học Tiền Giang

ISOLATION AND SELECTION OF BACTERIA CAPABLE OF DEGRADING KERATIN FROM LIVESTOCK WASTE IN TIEN GIANG PROVINCE

● Master. **PHAN NGOC DUYEN**¹

● Master. **TRAN NGOC CHI**¹

¹Tien Giang University

ABSTRACT:

This study is carried out to isolate and select bacterial strains capable of strongly degrading keratin-containing substrates from soil and wastewater samples collected at cattle slaughterhouses in Tien Giang province. In this study, samples were diluted and cultured in the environment of feather flour to isolate and investigate the bacteria's ability to degrade keratin-containing substrates. Most of the isolates had milky white or pale-yellow colonies, whole covers with rod and globular cell lines, and gram-negative and gram-positive strains. The study's results show that the V5 line has the strongest ability to degrade keratin, with a result of avian feather decomposition of 57.5%. The results of sequencing the 16S ribosomal RNA gene fragment show that the V5 line is 99.79% homomorphic with the *Bacillus megaterium* line.

Key word: keratin, isolation, keratin-degrading bacteria, *Bacillus megaterium*.