

NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM PROTEASE TỪ BACILLUS SUBTILIS SỬ DỤNG TRONG CHẾ BIẾN THỨC ĂN GIA CẦM

Trần Ngọc Hùng⁽¹⁾, Lê Phi Nga⁽²⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một, (2) Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên –
Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Việc bổ sung chế phẩm enzyme vào khẩu phần ăn sẽ giúp cho gia cầm hấp thu tốt các thành phần dinh dưỡng, gia tăng lợi nhuận cho người chăn nuôi. Trong một nghiên cứu nhằm tạo ra một chế phẩm protease có thể hoạt động tốt trong điều gia cầm và giữ được hoạt tính với nhiệt độ cao trong quá trình ép viên, chúng tôi nhận thấy chủng Ba15 có hoạt tính protease cao nhất và bền nhiệt trong số 15 chủng *Bacillus subtilis* nghiên cứu. Chủng Ba15 sinh tổng hợp protease tốt nhất khi nuôi cấy trên môi trường bán rắn có thành phần 2 bã đậu nành: 8 bột bắp; pH dịch khoáng 6,8 và thời gian nuôi cấy là 72 giờ. Chế phẩm thu được trên qui mô sản xuất nhỏ có hoạt tính protease 14,16 UI/g. Enzyme protease của chế phẩm hoạt động được trong khoảng pH 5,8 – 8,0, phù hợp với điều kiện pH của điều gia cầm. Khi xử lý chế phẩm ở nhiệt độ 150°C trong thời gian 1 phút, hoạt tính protease giữ được 94,3%. Bổ sung chế phẩm vào thức ăn dạng viên với tỉ lệ từ 0,1 – 0,5 %, sau 7 tuần nuôi, trọng lượng gà ri tăng trung bình từ 25 – 30% so với lô đối chứng. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có thể sử dụng chế phẩm vào việc sản xuất thức ăn viên cho gia cầm.

Từ khóa: chế phẩm sinh học, protease, thức ăn viên cho gia cầm, *Bacillus subtilis*

*

1. Giới thiệu

Trong chăn nuôi nói chung cũng như chăn nuôi gia cầm nói riêng, thức ăn luôn là vấn đề quan trọng nhất, nó quyết định trực tiếp đến năng suất, chất lượng và giá thành của các sản phẩm thịt, trứng, sữa... Hiện nay, việc bổ sung chế phẩm sinh học vào hỗn hợp thức ăn đang là một xu hướng mới, được nhiều nhà máy chế biến thức ăn gia súc cũng như hộ chăn nuôi lựa chọn[4]. Các chế phẩm sinh học với nhiều loại enzyme có tác dụng hỗ trợ tiêu hóa cho vật nuôi như α -amylase, protease, phytase... sẽ giúp vật nuôi tận dụng tối đa vật chất và năng lượng của

thức ăn. Riêng đối với gia cầm, tỉ lệ protein trong khẩu phần thức ăn phải đảm bảo từ 19-24% [3, 4]. Do đó việc bổ sung chế phẩm có chứa protease vào khẩu phần ăn không những giúp hấp thu protein tốt hơn, nâng cao hiệu quả kinh tế mà còn giảm lượng nitơ trong phân, yếu tố có khả năng gây ô nhiễm môi trường chăn nuôi. Trong số các vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp protease cao, *Bacillus subtilis* không chỉ sinh ra các enzyme khác có tác dụng tốt cho tiêu hóa như α -amylase, cellulose, phytase, xylanase... mà còn là vi khuẩn có lợi, ức chế các vi sinh vật gây bệnh trong đường ruột của gia cầm.

Thị trường chế phẩm sinh học có hoạt tính protease hiện nay rất đa dạng về chủng loại và chất lượng, nhưng chủ yếu cung cấp cho các hộ chăn nuôi gia đình, bổ sung vào thức ăn hỗn hợp dạng bột. Việc sử dụng chế phẩm sinh học vào qui trình công nghiệp chế biến thức ăn cho gia cầm vẫn còn hạn chế, đặc biệt là bổ sung vào thức ăn dạng viên, do chế phẩm bị mất hoạt tính trong quá trình nén viên ở nhiệt độ cao. Với mục tiêu ra một chế phẩm sinh học có hoạt tính protease bổ sung vào thức ăn cho gia cầm, có thể chịu được nhiệt độ cao của máy nén viên và hoạt động tốt trong hệ tiêu hóa của gia cầm. Chúng tôi tiến hành đề tài: *Nghiên cứu tạo chế phẩm protease từ Bacillus subtilis để sử dụng trong chế biến thức ăn gia cầm.*

2. Vật liệu – phương pháp

2.1. Vật liệu

Các chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* trong đề tài do Chi nhánh công ty TNHH Gia Tường tỉnh Bình Dương cung cấp.

Đối tượng thử nghiệm là giống gà ri được thu gom từ các hộ chăn nuôi trên địa bàn huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai

Môi trường giữ giống (MT1)[1]: glucose 50g; pepton 10g; cao thịt 3g; agar 20g; nước cất vừa đủ 1 lít.

Môi trường tăng sinh (MT2)[1]: glucose 35g; pepton 10g; nước giá: 10% vừa đủ 1 lít.

Môi trường bán rắn thu nhận protease (MT3)[1]: ZnSO₄ 0.0014g; KH₂PO₄ 0.4g; DAP 0.8g; NaCl 1.44g; CaCO₃ 2.4g; MgSO₄ 0.2g; bắp 200g; đậu nành 200g; nước 60% (w/w).

2.2. Phương pháp thí nghiệm

Các phương pháp định lượng

Hoạt tính protease được xác định theo phương pháp Anson[6] cải tiến: cho 1ml

dung dịch enzyme vào 2,5ml dung dịch casein 1% trong đệm phosphate pH 7.6. Ủ ở 35°C trong 20 phút. Mẫu đối chứng được làm ngừng phản ứng bằng 5 ml dung dịch TCA 5%. Xác định hàm lượng tyrosine trong dịch bằng cách đo mật độ quang ở bước sóng 660 nm với thuốc thử folin. Một đơn vị hoạt tính (UI) là lượng enzyme protease tối thiểu thủy phân Casein trong thời gian 1 phút tạo thành μmol tyrosine.

Phương pháp nuôi cấy bán rắn thu nhận chế phẩm có hoạt tính protease

Chủng *Bacillus subtilis* được tăng sinh trên môi trường MT2 trong 48 giờ. Cấy dịch tăng sinh vào môi trường bán rắn MT3 sao cho mật độ giống đạt khoảng 1×10^7 CFU/g canh trường, trộn đều, giữ ở nhiệt độ phòng. Sau thời gian thích hợp, thu nhận canh trường bán rắn, sấy thông gió ở nhiệt độ 45-50°C. Khi canh trường khô, xay nhuyễn và bảo quản canh trường ở dạng bột mịn.

Phương pháp xác định khả năng chịu nhiệt của chế phẩm protease

Sấy các đĩa petri sạch trong tủ sấy ở nhiệt độ khảo sát (120 – 150°C). Khi các đĩa petri đã ổn định nhiệt độ, trải đều 5g chế phẩm vào nắp ngoài đĩa petri và dùng đáy của nắp trong đĩa petri ép lên mặt chế phẩm. Sau thời gian khảo sát, đổ chế phẩm sang một đĩa petri nguội khác và xác định hoạt tính protease còn lại trong chế phẩm bằng phương pháp Anson.

Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của pH lên khả năng thủy phân của enzyme protease trong chế phẩm

Casein được hòa tan trong các dung dịch đệm phosphate có pH khác nhau: 5,6; 5,8; 6,0; 6,2; 6,4; 6,8; 7,0; 7,2; 7,4; 7,6 và 8,0, với nồng độ cuối là 1% (w/v). Chế phẩm cũng

được li trích enzyme protease và pha loãng trong các dung dịch đệm phosphate có pH tương ứng với độ pha loãng thích hợp. Sau thời gian 30 phút, lọc thu dịch enzyme. Tiến hành đo hoạt tính protease của chế phẩm tại các giá trị pH thủy phân khác nhau.

Phương pháp xác định khả năng hoạt động của protease trong chế phẩm với cơ chất là thức ăn viên cho gà ở điều kiện pH mô phỏng điều gà

Bổ sung chế phẩm vào thức ăn hỗn hợp dạng viên cho gà với nồng độ 0,1%. Bổ sung vào hỗn hợp dung dịch đệm sao cho độ ẩm đạt 60%, pH của hỗn hợp lần lượt đạt 5,0; 5,5 và 6,0. Sau thời gian ủ 4 giờ tại nhiệt độ 40°C, thu dịch lọc, xác định nồng độ protein hòa tan và acid amine trong dịch lọc. Tiến hành song song với mẫu có bổ sung chế phẩm đã bất hoạt enzyme protease bằng Na-EDTA và PMSF^[8,10]. Tiến hành lặp lại ít nhất 3 lần với mỗi mẫu.

Phương pháp thử nghiệm khả năng hỗ trợ tiêu hóa của chế phẩm có hoạt tính protease trên gà ri từ 0 đến 49 ngày tuổi

Trứng gà ri được thu nhận từ nhiều nguồn bố mẹ khác nhau và cho ấp nở nhân

tạo. Mỗi lô thí nghiệm gồm 18 gà con, thả tự do trong diện tích khoảng 3 m².

Lô 1: Lô đối chứng, thức ăn không bổ sung chế phẩm. Lô 2-5: thức ăn bổ sung chế phẩm với tỉ lệ tương ứng 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 %. Thức ăn viên do Công ty cám Con Cò cung cấp, thành phần thức bao gồm: đậm 20%, xơ thô 5%, độ ẩm 13%, canxi (0,7 – 1,2) và phospho 0,5%. Hàng tuần, cân khối lượng từng cá thể ở các lô và lượng thức ăn trung bình mà mỗi cá thể sử dụng.

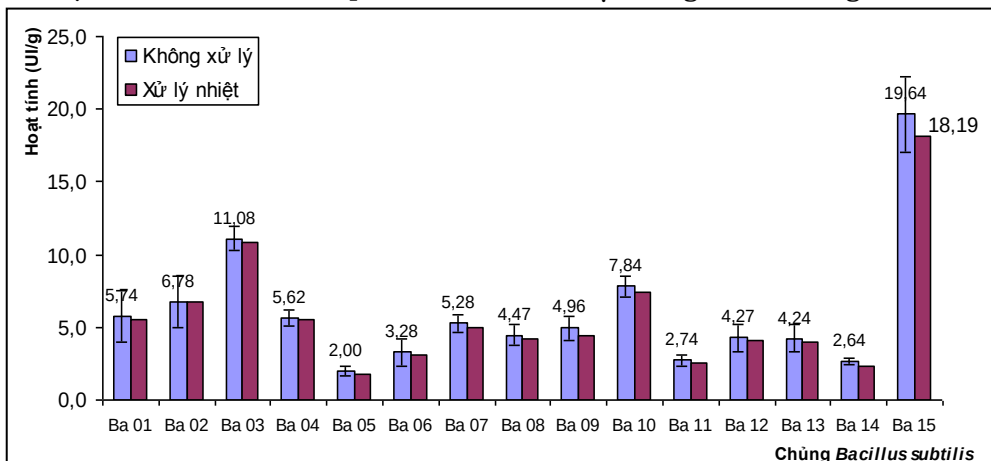
Phương pháp đánh giá và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại ít nhất 3 lần. Số liệu thu nhận được tính toán sai số và đánh giá mức độ tương đồng theo sai số chuẩn.

3. Kết quả

3.1. Chọn lọc chủng *Bacillus subtilis* tốt nhất có khả năng sinh protease chịu được nhiệt độ cao

Canh trường nuôi cấy bán rắn *Bacillus subtilis* sau thời gian nuôi cấy được sấy khô và xác định hoạt tính protease. Song song đó, chúng tôi cũng tiến hành xử lý các canh trường ở nhiệt độ 125°C trong thời gian 1 phút. Sau đó xác định hoạt tính protease còn lại trong canh trường.



Hình 1: Hoạt tính protease của các chủng *B. subtilis* trước và sau khi xử lý nhiệt

Khi nuôi cấy trong môi trường bán rắn, các chủng nghiên cứu có khả năng tổng hợp protease rất khác nhau. Thấp nhất trong số này là chủng Ba-05 với hoạt tính chỉ đạt 2,0 UI/g và cao nhất là chủng Ba-15 với hoạt tính đạt 19,64 UI, cao hơn 77% so với chủng có hoạt tính cao thứ hai là Ba-03 (hình1). Sau quá trình xử lý nhiệt (125°C, 60 giây), hoạt tính protease trong canh trường nuôi cấy bán rắn còn lại 88,4 - 98,8%. Canh trường của chủng Ba-15 chỉ giữ được 92,6% nhưng hoạt tính protease còn lại vẫn cao hơn nhiều so với các chủng khác. Mặc dù protease của *Bacillus subtilis* không có khả năng hoạt động ở nhiệt độ cao, nhưng vẫn giữ được hoạt tính sau quá trình xử lý nhiệt. Điều này có thể do các phân tử enzyme nằm sâu trong các hạt môi trường rắn nên nhiệt độ cao chỉ làm ảnh hưởng đến lớp bên ngoài. Mặt khác, việc có mặt ion Ca^{2+} trong canh trường cũng góp phần làm tăng khả năng bền nhiệt của protease. Từ các kết quả trên, chủng *Bacillus subtilis* Ba-15 được chúng tôi sử dụng để tối ưu khả năng sinh protease trên môi trường bán rắn.

3.2. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng tới quá trình sinh protease của chủng *Bacillus subtilis* Ba-15 trên qui mô phòng thí nghiệm

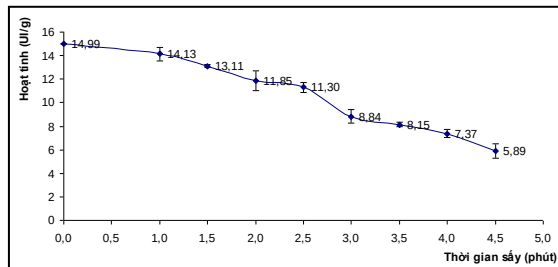
Chủng *B. subtilis* sau khi tăng sinh được cấy vào các erlen chứa 75g môi trường bán rắn sinh tổng hợp protease MT3. Trong đó lần lượt có sự thay đổi về các thông số của các yếu tố thử nghiệm. Sau thời gian nuôi cấy, thu nhận canh trường và xác định hoạt tính protease

Sau quá trình thử nghiệm, chúng tôi đã xác định được chủng có khả năng sinh protease tốt nhất khi được tăng sinh trong

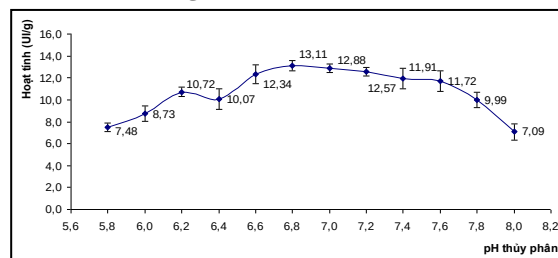
khoảng 30 giờ, nuôi cấy trên môi trường có thành phần cơ chất là bột bắp: bã đậu nành ép dầu với tỉ lệ 8:2, pH dịch khoảng 6,8 và thời gian nuôi cấy là 72 giờ, với hoạt tính protease đạt 63,66 UI/g canh trường khô.

3.3. Khảo sát sơ bộ tính chất của protease trong chế phẩm khi nuôi cấy trên qui mô sản xuất nhỏ

Các kết quả nghiên cứu ở mục 3.2 được sử dụng để thử nghiệm nuôi cấy trên qui mô sản xuất nhỏ với khối lượng mỗi mẻ là 70kg. Thành phẩm được sấy khô, xay nhuyễn và bảo quản trong các bao PE hàn kín miệng. Chế phẩm được sử dụng để khảo sát hoạt tính protease sau khi xử lý ở 150°C trong các khoảng thời gian khác nhau; và hoạt tính protease tại các giá trị pH thủy phân khác nhau.



Hình 2: Hoạt tính protease của chế phẩm sau khi xử lý 150°C trong các khoảng thời gian khác nhau



Hình 3: Hoạt tính protease của chế phẩm tại các giá trị pH thủy phân khác nhau

Hoạt tính protease của chế phẩm giảm nhanh theo thời gian sấy. Sau thời gian sấy 1 phút, hoạt tính protease giảm không nhiều (5,7%), đạt trung bình 14,1 UI/g

(hình 2). Ở thời gian sấy 3 phút, hoạt tính protease chỉ còn khoảng 59,0%. Kết quả này cho thấy enzyme protease của chế phẩm có thể chịu đựng được nhiệt độ cao của quá trình tạo viên nén cho cả gia cầm và cá. Kết quả thí nghiệm đã cho những đánh giá sơ bộ về khả năng chịu nhiệt của protease trong chế phẩm, từ đó có sự điều chỉnh phù hợp giữa thời gian và nhiệt độ tạo viên nén khi bổ sung chế phẩm vào hỗn hợp thức ăn dạng viên. Bên cạnh khả năng chịu nhiệt, hệ enzyme protease của chế phẩm còn có khả năng hoạt động trong khoảng pH từ acid yếu cho đến kiềm yếu. Với hoạt tính tốt nhất tại pH 6,8, đạt 13,1 UI/g (hình 3). Tại pH 5,8, hoạt tính protease đạt 57% so với tại pH tối ưu của chế phẩm. Kết quả thí nghiệm này cho thấy chế phẩm hoàn toàn có khả năng hoạt

động tốt trong điều kiện tiêu hóa của điều gia cầm^[7,9]. Hỗ trợ cho việc phân giải các protein thành các chất đơn giản, dễ hấp thu. Ngoài ra, với khoảng pH hoạt động rộng, chế phẩm còn có thể sử dụng để hỗ trợ tiêu hóa cho nhiều loại vật nuôi khác.

3.4. Thử nghiệm khả năng thủy phân của chế phẩm trên thức ăn viên cho gia cầm

Thức ăn viên cho gia cầm được trộn với chế phẩm với tỷ lệ 0,1%. Sau đó ủ trong các điều kiện mô phỏng trong điều gia cầm; pH 5,0; 5,5 và 6,0; độ ẩm hỗn hợp 60% và nhiệt độ 40°C. Song song đó, chúng tôi cũng tiến hành thí nghiệm thức với chế phẩm đã được xử lý với Na-EDTA và PMSF để ức chế hoạt tính của protease.

Bảng 1: Nồng độ protein hòa tan, tyrosine và đường khử có trong thức ăn được trộn và không trộn chế phẩm

pH	Nghiệm thức	Nồng độ protein TB (mg/ml)	Nồng độ tyrosine (μ mol/ml)	Nồng độ đường khử TB (mg/ml)
6.0	Mẫu đối không trộn chế phẩm	26,3 $\pm$ 1,81	6,59 $\pm$ 1,06	22,3 $\pm$ 0,6
	Mẫu trộn chế phẩm đã xử lý chất ức chế protease	30,7 $\pm$ 0,43	10,11 $\pm$ 0,45	33,1 $\pm$ 0,4
	Mẫu trộn chế phẩm	35,2 $\pm$ 0,20	16,15 $\pm$ 0,22	35,6 $\pm$ 0,4
5.5	Mẫu không trộn chế phẩm	22,9 $\pm$ 0,49	7,04 $\pm$,71	28,6 $\pm$ 1,3
	Mẫu trộn chế phẩm đã xử lý chất ức chế protease	24,7 $\pm$ 0,37	10,61 $\pm$ 0,17	47,5 $\pm$ 1,1
	Mẫu trộn chế phẩm	27,2 $\pm$ 0,30	14,62 $\pm$ 0,43	45,0 $\pm$ 0,1
5.0	Mẫu không trộn chế phẩm	24,1 $\pm$ 0,53	6,83 $\pm$ 0,42	30,9 $\pm$ 0,3
	Mẫu trộn chế phẩm đã xử lý chất ức chế protease	28,2 $\pm$ 0,89	8,16 $\pm$ 0,44	47,7 $\pm$ 0,2
	Mẫu trộn chế phẩm	31,0 $\pm$ 0,4	12,64 $\pm$ 0,50	47,1 $\pm$ 0,4

Ghi chú: 1 g thức ăn tương ứng với 3 ml dịch lọc

Tại cả 3 giá trị pH khảo sát, đều có sự gia tăng hàm lượng protein hòa tan và tyrosine khi ủ hỗn hợp thức ăn với chế

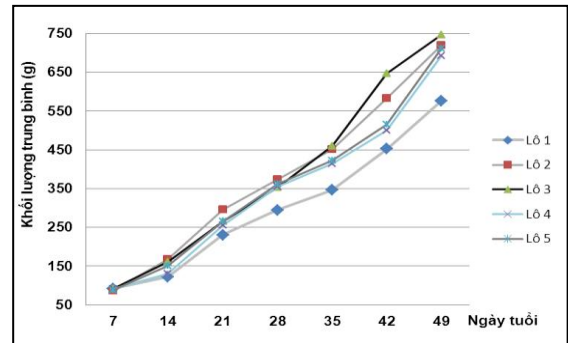
phẩm không xử lý và chế phẩm đã được xử lý Na-EDTA, PMSF so với mẫu đối chứng. Sự gia tăng hàm lượng protein hòa tan ở

mẫu có chế phẩm so với mẫu có chế phẩm đã được xử lý tại pH 5,0; 5,5 và 6,0 lần lượt là 11,8; 10,9 và 17,3%. Lượng tyrosine cũng đạt cao nhất tại pH 6,0 (16,15 $\mu\text{mol/ml}$) và giảm dần khi pH dịch thủy phân giảm về acid với giá trị tại pH 5,5 và 5,0 lần lượt đạt 14,62 và 12,64 $\mu\text{mol/ml}$ (bảng 1). Kết quả này khá phù hợp với đặc điểm protease của Ba-15 như đã đề cập ở mục 3.3. Điều này cũng cho thấy rằng enzyme protease trong chế phẩm có khả năng thủy phân các protein không tan trong hỗn hợp thức ăn thành các đoạn peptid hòa tan và các amino acid, giúp cho việc tiêu hóa và hấp thu protein của gia cầm được dễ dàng hơn.

Ở những nghiệm thức có xử lý chất ức chế protease, hàm lượng protein hòa tan và tyrosine cao hơn so với mẫu đối chứng, chứng tỏ việc gia tăng hàm lượng peptid và acid amine không phải do bản thân protease trong chế phẩm quyết định. Hệ enzyme cellulase (cellulase, xylanase, glucanase, pectinase...) không bị ảnh hưởng bởi Na-EDTA và PMSF nên đã thủy phân phá vỡ vách tế bào thực vật, giải phóng các protein hòa tan và acid amine vào dịch môi trường. Tuy nhiên sự có mặt của protease làm gia tăng đáng kể hàm lượng tyrosine trong các dịch thủy phân.

3.5. Thử nghiệm khả năng hỗ trợ tiêu hóa của chế phẩm có hoạt tính protease trên gà ri

Sau 7 tuần tuổi, trọng lượng gà ri ở lô đối chứng đạt trung bình 576 g/con, không khác biệt nhiều so với các kết quả mà các tác giả Nguyễn Huy Đạt^[2] và Bùi Đức Lũng^[5] đã thực hiện. Gà ăn thức ăn ở các lô thức ăn có trộn chế phẩm với tỷ lệ 0,1; 0,5; 1 và 2% đều có trọng lượng cơ thể cao hơn so với lô đối chứng.



Hình 4: Khối lượng gà khi ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm chứa protease

Từ tuần 2 đến tuần 4, so với lô đối chứng, trọng lượng gà ở lô thứ 2 có mức tăng cao nhất, tăng lần lượt 37, 25 và 27%, lô thứ 3 có mức tăng thấp hơn, đạt 31, 14 và 20% qua hàng tuần khảo sát. Giữa lô 4 và lô 5, không có sự khác biệt nhiều về độ tăng trọng so với lô đối chứng. Ở tuần 5, không có sự khác biệt về độ tăng trọng của lô 2 và lô 3, tất cả đều tăng 24% so với lô đối chứng. Ở tuần 6 và tuần 7, gà ở lô 3 có độ tăng trọng cao nhất so với lô đối chứng, tăng lần lượt 43 và 30% trong khi trọng lượng gà ở lô 2 chỉ tăng lần lượt 28 và 25%.

Từ các kết quả thực nghiệm trên chúng tôi nhận thấy có thể sử dụng thức ăn dạng viên có bổ sung chế phẩm có hoạt tính protease với tỷ lệ 0,1% trong vòng 7 tuần đầu. Việc bổ sung này sẽ giúp cho đàn gà có độ tăng trọng khoảng 26% so với khi sử dụng thức ăn không bổ sung chế phẩm. Từ đó rút ngắn thời gian nuôi, tiết kiệm hơn chi phí thức ăn, giúp tăng lợi nhuận cho người chăn nuôi.

4. Kết luận và khuyến nghị

4.1. Kết luận

Dựa vào hoạt tính protease thu được khi nuôi cấy các chủng trên môi trường bán rắn, chúng tôi nhận thấy chủng *Bacillus subtilis* Ba-15 có khả năng đáp ứng những

mục tiêu mà đề tài đặt ra. Chủng Ba-15 cho hoạt tính protease tốt nhất khi nuôi cấy trên môi trường bán rắn chứa nguồn cơ chất là bã đậu nành và bột bắp với tỉ lệ 2:8; pH dịch khoáng 6,8 và thời gian nuôi cấy bán rắn tốt nhất là 72 giờ.

Áp dụng các điều kiện tối ưu trên vào qui mô sản xuất nhỏ, hoạt tính protease của chủng Ba-15 thu được đạt 14,16 (UI/g CP). So với các sản phẩm cùng loại trên thị trường, chế phẩm thu được có hoạt tính protease cao hơn từ 5 cho đến hàng trăm lần (không thể hiện trong bài), tuy nhiên kết quả này chỉ đạt 23% so với khi nuôi cấy trong phòng thí nghiệm. Đây là một hạn chế mà đề tài chưa khắc phục được.

Chế phẩm thu được trên quy mô sản xuất nhỏ hoàn toàn đáp ứng được các yêu cầu mà mục tiêu ban đầu đã đặt ra: (1) hoạt tính protease trong chế phẩm có khả năng ổn định trong thời gian 1 phút khi xử lý nhiệt khô ở nhiệt độ xấp xỉ 150°C; (2) hoạt động tốt trong khoảng pH nghiên cứu từ 5,8 – 8,0; tốt nhất tại pH 6,8.

Việc thử nghiệm tác dụng của chế phẩm trên gà ri ở qui mô thử nghiệm cũng thu được nhiều kết quả khả quan. Chế phẩm có hoạt tính protease có khả năng hỗ trợ tiêu hóa tốt cho gà ri. Khi bổ sung chế phẩm vào thức ăn dạng viên với tỉ lệ từ 0,1 – 0,5 %. Sau 7 tuần nuôi, trọng lượng gà tăng trung bình từ 25 – 30% so với lô đối chứng.

4.2. Khuyến nghị

Với khả năng hoạt động trong khoảng pH trung tính và ổn định hoạt tính ở nhiệt độ cao, chúng tôi đề nghị nghiên cứu thêm một số ứng dụng khác như bổ sung vào thức ăn viên của cá, thủy cầm.

Chủng có khả năng sinh tổng hợp protease cao khi được nuôi cấy trên quy mô thí nghiệm sẽ là một lợi thế cho việc tinh sạch protease của chủng, từ đó sẽ có những nghiên cứu và ứng dụng có ý nghĩa hơn.

Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng lên khả năng sinh tổng hợp của chủng trên qui mô sản xuất nhỏ.

Nghiên cứu về tác động hỗ trợ tiêu hóa của chế phẩm chỉ chứa protease khi bổ sung vào thức ăn cho gia cầm.

*

STUDY OF PRODUCTION PROTEASE PRODUCT FROM BACILLUS SUBTILIS TO USE FOR CHICKEN-FEED PROCESSING

Tran Ngoc Hung⁽¹⁾, Le Phi Nga⁽²⁾

(1) Thu Dau Mot University

(2) University of Science (VNU HCM)

ABSTRACT

Supplying enzyme products to diet will help poultry absorb more nutrients, increasing the profit of farmers. In a study to make a protease product that can catalyse in poultry and yet retain its activity at the high temperatures of chicken-feed tablet processing, we found that among 15 strains of Bacillus subtilis, strain Ba15 had the highest protease activity and was stable with high temperature. Maximum protease yield was observed in the semi-solid medium containing ingredients with ratio of 2 soybean residue : 8 corn powder; pH of mineral solution is 6.8; in a culture time of 72 hours. The product received from small-scale production had a protease activity 14.16 UI/gr. Protease of the product could catalyse in pH ranges from

5.8 to 8.0, conforming to the pH value in poultry. Treating product at temperature of 150oC in 1 minute, the activity of protease remained at 94.3%. Adding the product to the chicken-feed tablet with the ratio of 0.1 – 0.5%, the weight of the chickens increased average 25 – 30% compared to the control batch after 7 weeks. The result of this study show that we can utilize this product for producing chicken-feed tablets.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vũ Ngọc Bội (2004), *Nghiên cứu quá trình thủy phân protein cá bằng enzyme protease từ Bacillus subtilis S5*, Luận án tiến sĩ, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, tr. 13-21, 56-57.
- [2] Nguyễn Huy Đạt và CS (2006), *Nghiên cứu chọn lọc nâng cao năng suất gà Ri vàng rom*, Báo cáo khoa học Viện chăn nuôi 2006, Trung tâm Nghiên cứu gia cầm Vạn Phúc, tr. 1.
- [3] Nguyễn Đức Hùng (2006), *Chăn nuôi gia cầm*, NXB Nông Nghiệp, tr. 26-30.
- [4] Dương Thanh Liêm (2008), *Thức ăn và dinh dưỡng gia cầm*, NXB Nông Nghiệp, tr. 5-20.
- [5] Bùi Đức Lũng, Nguyễn Huy Đạt, Vũ Thị Hùng, Trần Long (2005), *Đặc điểm ngoại hình và năng suất của gà Ri vàng rom (VR) Việt Nam ở thế hệ xuất phát qua chọn lọc và nhân giống*, Viện Chăn nuôi.
- [6] Nguyễn Văn Mùi (2001), *Thực hành hóa sinh học*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr.51-53, 71-72.
- [7] Clifford A. Adams (1998), *Enzyme technology for feed industry: European perspective*, Asian Poultry Magazine, No. 02, 02/1998, pp. 14-16.
- [8] Hiroshi Uehara, Kunio Yamane, Bunji Maruo (1979), *Thermosensitive, Extracellular Neutral Protease in Bacillus subtilis: Isolation, Characterization, and genetics*, Journal of Bacteriology, Vol. 139, No. 2, 08/1979, pp.583-584.
- [9] Kemin (1998), *Modern enzyme technology for feed industry*, Asian Poultry Magazine, No. 02, 02/1998, pp. 37, 46, 58-59.
- [10] Shang-Shyng Yang (1998), *Protease and amylase production of Streptomyces rimosus in submerged and solid state cultivations*, Botanical Bulletin Academia Sinica, Vol. 40, 1999, pp. 259-260.