

## Tương lai ứng dụng Enzyme trong xử lý phế thải (Tổng quan)

Trần Đình Toại<sup>1</sup>, Trần Thị Hồng<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup> Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 2 tháng 4 năm 2007

**Tóm tắt.** Ngày nay, tốc độ ô nhiễm môi trường đang gia tăng, do đó cần phải thực hiện nghiêm ngặt các tiêu chuẩn đối với việc thải chất thải vào môi trường. Các phương pháp xử lý hoá học và sinh học thông thường ngày càng khó đạt được mức độ cần thiết để loại bỏ các chất ô nhiễm này. Do đó, cần phải triển khai những phương pháp xử lý nhanh hơn, rẻ hơn, đáng tin cậy hơn và với những dụng cụ đơn giản hơn so với những hệ thống xử lý hiện hành. Hiện nay người ta đã biết nhiều loại enzym khác nhau của thực vật và vi sinh vật. Số lượng enzym đã biết đạt tới con số hơn 3000 enzym. Các enzym, đặc biệt là Hydrolases và Oxidoreductases có tác dụng đặc thù trong xử lý các ô nhiễm bằng cách kết tủa hoặc chuyển hóa các sản phẩm phân hủy chất thải.

Enzym có nhiều triển vọng ứng dụng trong tương lai. Một số enzym đã được ứng dụng thành công trong việc xử lý chất thải. Tuy nhiên cần có những nghiên cứu tiếp theo để tìm ra enzym có hoạt độ tốt nhất và tối ưu nhất trong thực tế sử dụng.

### 1. Mở đầu

Ngày nay, tốc độ ô nhiễm môi trường đang gia tăng, do đó cần phải thực hiện nghiêm ngặt các tiêu chuẩn đối với việc thải chất thải vào môi trường. Các phương pháp xử lý hoá học và sinh học thông thường ngày càng khó đạt được mức độ cần thiết để loại bỏ các chất ô nhiễm này. Do đó, cần phải triển khai những phương pháp xử lý nhanh hơn, rẻ hơn, đáng tin cậy hơn và với những dụng cụ đơn giản hơn so với những hệ thống xử lý hiện hành.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh được enzyme có nhiều khả năng và triển vọng giải

quyết vấn đề nêu trên trong giám định và xử lý ô nhiễm môi trường. Hầu hết những quy trình xử lý rác thải đều sử dụng một trong hai phương pháp hoá lý hoặc sinh học hoặc kết hợp. Phương pháp xử lý bằng enzyme là trung gian giữa hai phương pháp truyền thống, nó bao gồm các quy trình hoá học trên cơ sở hoạt động của các chất xúc tác có bản chất sinh học. Enzyme có thể hoạt động trên các chất ô nhiễm đặc biệt khó xử lý để loại chúng bằng cách kết tủa hoặc chuyển chúng thành dạng khác. Ngoài ra chúng có thể làm thay đổi các đặc tính của chất thải đưa chúng về dạng dễ xử lý hoặc chuyển thành các sản phẩm có giá trị hơn.

Phương pháp xử lý bằng enzyme so với phương pháp xử lý thông thường có những

\* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-4-5583001

E-mail: tthong@vnu.edu.vn

ưu điểm sau: được áp dụng đối với các hợp chất sinh học khó xử lý; tác dụng ở cả vùng nồng độ chất ô nhiễm cao và thấp; một số enzyme riêng biệt có tác dụng trên phạm vi rộng pH, nhiệt độ và độ mặn; không gây ra những biến động bất thường; không gây ra các cản trở phá vỡ cân bằng sinh thái.

Trong bài này, chúng tôi xin trình bày ngắn gọn về việc nghiên cứu ứng dụng một số enzyme và đánh giá một cách cơ bản tiềm năng của chúng ứng dụng trong thực tiễn và tương lai để xử lý chất thải.

Cho tới nay, người ta đã biết được khoảng 3.000 enzyme. Tất cả các enzyme đều được gọi tên và được xếp vào "Hệ thống phân loại" gồm 6 lớp (class). Trong các lớp có các lớp phụ (subclass), nhóm (section). Mỗi enzyme đều có ký hiệu phản ánh các thứ tự phân loại trên [1].

Các chất độc hại trong môi trường thường là các chất hữu cơ có vòng thơm như các hợp chất phenol, các amin vòng, hoặc các chất hữu cơ phospho. Để đạt được mục đích xử lý môi trường, cần phải phá hủy hoặc loại bỏ các chất độc hại nêu trên. Các enzyme xúc tác phản ứng oxy hóa - khử thuộc lớp 1 (Oxidoreductase) và các enzyme xúc tác phản ứng thủy phân thuộc lớp 3 (Hydrolase) có vai trò tích cực trong việc này.

## 2. Các enzyme Oxidoreductase trong xử lý môi trường

Với ý nghĩa đối với công nghệ môi trường, trong lớp Oxidoreductase có thể kể đến các enzyme peroxidase, các enzyme này có ý nghĩa quan trọng.

### 2.1. Các enzyme peroxidase phân lớp EC 1.11

Trong số các enzyme peroxidase, đầu tiên phải nhắc tới Catalase. Catalase (ký hiệu EC

1.11.1.6) xúc tác phản ứng đặc hiệu phân huỷ  $H_2O_2$  [2]. Ngoài ra, catalase còn có thể phân huỷ formaldehyde, formic acid và alcohol. Các chất nêu trên là những chất độc hại với môi trường, được thải ra trong nước thải của các nhà máy chế biến sữa, pho mát hoặc các nhà máy dệt, sợi. Catalase vi khuẩn có tác dụng tích cực trong việc phá hủy chúng.

Trong các enzyme peroxidase nêu trên, catalase, peroxidase và manganese peroxidase được nghiên cứu nhiều phục vụ cho việc phát hiện một số ion kim loại độc cho môi trường như:  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Cr^{+6}$ ,  $Mn^{+2}$  [3]. Peroxidase củ cải ngựa (Horseradish peroxidase-HRP) có ký hiệu EC 1.11.1.7, tác động như catalase, xúc tác phản ứng đặc hiệu [4].

HRP là một trong những enzyme được nghiên cứu nhiều nhất có liên quan tới phương pháp xử lý rác thải bằng enzyme. HRP có thể xúc tác phản ứng oxy hoá một phổ rộng các hợp chất thơm độc bao gồm phenol, biphenol, aniline, benzidine và các hợp chất thơm dị vòng như hydroxyquinoline và arylamine carcinogen như benzidine và naphthylamine. Sản phẩm phản ứng được polyme hoá thông qua quá trình không có enzyme xúc tác dẫn tới hình thành các chất kết tủa có thể dễ dàng loại bỏ khỏi nước hoặc nước thải nhờ quá trình lắng đọng hoặc lọc. HRP đặc biệt phù hợp với xử lý nước thải bởi nó giữ nguyên hoạt tính ở phạm vi rộng pH và nhiệt độ.

HRP có khả năng làm kết tủa nhiều chất thải khó loại bỏ cùng với nhiều hợp chất dễ loại bỏ hơn bằng cách hình thành các polimer phức tạp có tính chất tương tự như các sản phẩm polimer của các hợp chất dễ loại bỏ. Một hệ quả của đặc tính này đối với các loại nước thải nguy hiểm đã được chứng tỏ khi người ta thấy rằng các chất biphenyl được polichloride hoá có thể bị loại bỏ khỏi dung dịch khi kết tủa với phenol.

Người ta đã dùng peroxidase chiết xuất từ cà chua và dạ hương nước để polimer hoá các cơ chất phenol. Các peroxidase này có khả năng loại bỏ cơ chất guaiacol và các loại rễ cây đã tập trung các chất ô nhiễm phenol trên bề mặt rễ. Các enzyme peroxidase có trong rễ cây có khả năng giúp hạn chế tối thiểu sự hấp thu các hợp chất phenol vào trong cây bằng cách tập trung chúng kéo ra bề mặt của rễ.

Peroxidase còn được sử dụng để cải thiện quá trình khử nước bằng cặn phosphate. Cặn phosphate chứa một lượng đáng kể như đất sét có thể trương nở có kích thước nhỏ và vì tính sa lắng của nó nên làm chậm quá trình khử nước [5]. Dùng peroxidase trước khi xử lý bằng cặn phosphate sẽ tạo nên một liên kết cơ học mạnh hơn giữa các phân tử của chất lỏng và peroxidase thúc đẩy mạnh sự sinh trưởng của tảo và nấm mốc, có lợi cho việc tập trung các phân tử, tạo tính nhớt và tạo gel. Như vậy, khi độ nhớt tăng và tạo gel sẽ giúp cho việc tạo lớp lắng cặn.

Chloride peroxidase (ký hiệu EC 1.11.1.10) xúc tác phản ứng đặc hiệu [6]. Ngoài khả năng oxy hoá một vài hợp chất của phenol, Chloroperoxidase từ nấm *Caldariomyces fumago* [7] còn cho thấy khả năng xúc tác các phản ứng vận chuyển oxy như phản ứng oxi hoá ethanol thành acetaldehyd hoặc oxy hoá khử các ion clorua. Các enzyme phân giải lignin (phân lớp EC.1.11) [8].

Lignin là một trong các polysaccharide của thành tế bào của thực vật, nói đúng hơn là một polymer vòng thơm. Lignin là một đại phân tử, có khối lượng phân tử lớn hơn 10.000. Lignin có cấu trúc nhiều vòng thơm, có đặc tính không ưa nước. Do đó rất khó phân huỷ. Vì vậy, các enzyme phân giải lignin có vai trò quan trọng trong chu trình vận chuyển carbon trên trái đất.

Về cấu tạo, lignin gồm các mạch phenylpropanoid phức tạp, cấu trúc không đồng nhất (heterogeneity). Chính vì tính chất đó nên việc phân huỷ sinh học lignin (biodegradation) cần đòi hỏi hệ enzyme oxy hóa mạnh. Trong các enzyme oxidase phân huỷ lignin, enzyme có hoạt tính rất mạnh là Ligninase (Lignin peroxidase) và Manganese peroxidase EC 1.11.1.13. Enzyme Manganese peroxidase xúc tác phản ứng đặc hiệu phân huỷ  $H_2O_2$  [9].

Manganese peroxidase (MnP) xúc tác phản ứng oxy hoá một vài loại phenol đơn vòng và sắc tố vòng, nhưng những phản ứng này phụ thuộc vào sự có mặt của  $Mg^{2+}$  và đệm. Trên thực tế, MnP xúc tác phản ứng oxy hoá khử Mn(II) thành Mn(III) khi có mặt ligand làm bền vững Mn(III). Kết quả là tạo thành phức hợp Mn(III) sau khi xảy ra phản ứng oxi hoá khử các chất hữu cơ.

Ligninase EC 1.11.1.14 [10] (LiP) là một phân của hệ thống enzyme ngoại bào của nấm mục trắng *Phanerochaete chrysosporium*. LiP có đặc tính gây khoáng hoá nhiều loại hợp chất thơm khó xử lý và oxy hoá một số lượng lớn các hợp chất phenol và hợp chất thơm đa vòng. LiP cố định trên chất mang xốp ceramic hoặc trên màng silicon, nó có thể sử dụng để xử lý các rác thải nguy hiểm khó phá huỷ.

## 2.2. Các oxidase thuộc các phân lớp oxidase EC.1.1

Trong phân lớp EC.1.1, L-galactonolactone oxidase (EC 1.1.3.24) có ý nghĩa đối với việc xử lý ô nhiễm môi trường. Enzyme này xúc tác phản ứng đặc hiệu là phản ứng oxi hoá L-galactono-1,4-lactone thành L-ascorbate [11].

L-galactonolactone oxidase từ nấm men *Candida norvegensis* có thể được dùng để biến galactose từ quá trình thủy phân lactose trong dịch sữa chua thành axit L-ascorbic. Enzyme

này đã được thử nghiệm xử lý nước thải của nhà máy chế biến sữa.

### 2.3. Một số enzyme phân lớp khác: Polyphenol oxidase

Các enzyme polyphenol oxidase là một họ khác trong nhóm enzyme oxy hoá khử có khả năng xúc tác cho các phản ứng oxy hoá các hợp chất phenol. Các enzyme này được chia thành hai phân họ: tyrosinase và laccase. Hoạt tính của cả hai họ đều cần sự có mặt của oxy phân tử nhưng không cần có mặt các coenzyme.

Tyrosinase có ký hiệu EC 1.14.18.1 [12] còn gọi là polyphenol oxydase, phenolase hay catecholase xúc tác cho hai phản ứng liên tiếp: phản ứng thứ nhất là phản ứng thủy phân monophenol nhờ oxy phân tử thành các *o*-diphenol và phản ứng thứ hai là phản ứng dehydrogen hoá các *o*-diphenol nhờ oxy thành các *o*-quinon. Các quinon thường không bền và bị polime hoá không cần enzyme thu được các hợp chất không tan trong nước và dễ dàng bị loại bỏ nhờ quá trình kết tủa đơn giản.

Tyrosinase cố định trên chitosan cho kết quả xử lý hợp chất phenol rất hiệu quả (loại bỏ phenol 100%). Việc cố định tyrosinase có ưu điểm trong việc giữ lại được các enzyme trong bản thể phản ứng và bảo vệ chúng không bị mất hoạt tính khi thực hiện các phản ứng với quinon. Tyrosinase được cố định vẫn còn giữ được hoạt tính ngay cả sau 10 chu trình phản ứng. Do vậy điều này cho thấy sự kết hợp giữa tyrosinase được cố định và chitosan là một phương án có hiệu quả để loại thải các phenol độc.

Laccase (EC 1.10.3.2) là một enzyme kim loại xúc tác cho phản ứng oxy hoá hydroquinone thành benzoquinone [13]. Trong trung tâm hoạt động của enzyme này

có ion  $\text{Cu}^{2+}$  tham gia. Dùng laccase cố định trên chất mang để xử lý các thuốc nhuộm anthraquinonic làm giảm tới 80% độ độc của các thuốc nhuộm này [14]. So với các chất hoá học để khử độc của các chất nhuộm vải thì laccase có các ưu điểm quan trọng hơn hẳn vì xử lý bằng phương pháp hoá học thì hợp chất azo của chất màu nhuộm vải thường chuyển về các dạng amin tương tự, mà các amin này thường là các tác nhân đột biến gây ung thư [15].

### 2.4. Ứng dụng kết hợp một số enzyme để phân giải lignin

#### - Ứng dụng kết hợp Peroxidase và laccase

Quá trình tẩy trắng giấy được áp dụng rộng rãi trong công nghiệp nghiền bột giấy để loại bỏ các gốc lignin trong bột giấy. Các gốc này là nguyên nhân làm cho bột giấy có màu nâu và được loại bỏ mà ít tổn kém bằng cách dùng các chất tẩy trắng như chlorine và các oxid chlorine. Quá trình tẩy trắng tạo ra dịch lỏng có màu nâu đen chứa các sản phẩm bị chlorin hoá độc và có khả năng gây đột biến gây nguy hiểm đối với môi trường. Peroxidase và laccase có tác dụng tích cực trong việc xử lý dịch lỏng sau quá trình tẩy nói trên và dạng cố định của các loại enzyme này trong mọi trường hợp đều hiệu quả hơn so với dạng tự do.

#### - Ứng dụng kết hợp laccase với manganese peroxidase

Laccase kết hợp với manganese peroxidase từ nấm trắng *Dichomitus squalens* cũng cho những kết quả rất khả quan để phân giải lignin. Đặc biệt, laccase có thể oxy hoá các hợp chất phenol thành các gốc anion tự do tương ứng có khả năng phản ứng cao do đó Laccase còn được sử dụng để xử lý các hợp chất Clo hoặc phenol trong nước thải của các chế biến sản phẩm chứa cellulose. Trong

trường hợp này khi laccase kết hợp với manganese peroxidase cố định cho hiệu quả đáng kể. Người ta đã sử dụng hai enzyme này cố định trên màng siêu lọc polysulphone để loại bỏ các hydrocarbon vòng thơm trong nước ô nhiễm bởi dầu mỏ [16].

### 3. Các enzyme Hydrolase trong xử lý môi trường

#### 3.1. Các enzyme thủy phân amylose: các amylase

Trong cấu trúc của tinh bột, không chỉ có liên kết  $\alpha(1-4)$  glucosit tạo nên thành phần chủ yếu là amylose, mà còn có liên kết  $\alpha(1-6)$  glucosit tạo nên phân nhánh amylopectin. Do đó, việc thủy phân hoàn toàn tinh bột cần có amylase với những tác động đặc trưng riêng biệt. Thí dụ: Exoamylase gồm  $\beta$ -amylase và  $\gamma$ -amylase, đây là những enzyme thủy phân tinh bột amylose từ đầu không khử của chuỗi polysaccharide [17].

Các Amylase là các enzyme đường hoá, có khả năng phân huỷ amylose và amylopectin, glycogen và các polysaccharit tương tự giải phóng glucose. Trong số các enzyme đó, mỗi enzyme có một chức năng phân biệt.  $\alpha$ -amylase (EC 3.2.1.1);  $\beta$ -amylase (EC 3.2.1.2) tác động liên kết  $\alpha(1-4)$  amylose của tinh bột,  $\alpha$ -amylase cắt tinh bột thành dextrin, còn  $\beta$ -amylase cắt tinh bột hoặc dextrin thành maltose. Maltase tiếp tục cắt liên kết  $\alpha(1-4)$  của maltose để tạo thành glucose.  $\alpha(1-6)$ -glucosidase cắt liên kết phân nhánh  $\alpha(1-6)$  của amylopectin để tạo thành các đoạn amylose [18].

Vì vậy, các enzyme này có ý nghĩa quan trọng trong việc phân huỷ phế thải chứa các nguồn tinh bột từ các làng nghề làm bún, bánh đa, bánh cuốn, chế biến nông sản ngô khoai, sắn ... Từ các phế thải lương thực này, nhờ các amylase có thể dùng để sản xuất alcohol. Cũng nhờ các enzyme đường hoá

$\alpha$ -amylase và glucoamylase, từ các phế thải lương thực chứa tinh bột của các dây chuyền quy trình chế biến thức ăn có thể sản xuất màng bao gói có tính chất phân huỷ quang học và sinh học.  $\alpha$ -amylase trước tiên được dùng để phá vỡ các phân tử tinh bột mạch dài để tạo thành những mảnh nhỏ. Tiếp theo glucoamylase tác dụng tạo thành glucose thông qua quá trình đường hoá (hơn 90% tinh bột được chuyển thành đường). Glucose được lên men thành axit lactic nhờ chủng vi sinh vật sản sinh axit lactic. Axit lactic cuối cùng được thu lại, tinh sạch và dùng để sản xuất màng bao gói kiểu này. Sản phẩm cuối cùng chứa 95% axit lactic và 5% các chất thải an toàn với môi trường [19]. Ở nước ta, việc nghiên cứu sử dụng các enzyme vi khuẩn amylase để xử lý nước thải của các làng nghề làm bún, bánh đa đã có những kết quả đáng kể.

#### 3.2. Các enzyme phân huỷ cellulose

Trong thập kỷ qua, enzyme thủy phân cellulose ngày càng được quan tâm. Sự quan tâm này là do các enzyme này có khả năng thủy phân chất thải chứa cellulose, chuyển hoá các hợp chất kiểu lignocellulose và cellulose trong rác thải tạo nên nguồn năng lượng thông qua các sản phẩm đường, ethanol, khí sinh học hay các các sản phẩm giàu năng lượng khác. Thí dụ: từ các chất thải nhà máy giấy như các sản phẩm từ bột giấy và giấy có thể thu nguồn năng lượng như ethanol [20].

Hiện nay vẫn có số lượng lớn các công trình đề xuất những phương pháp có thể thực hiện được trong việc sử dụng các enzyme để thủy phân cellulose có trong các chất thải hữu cơ tại các thành phố lớn (MSW) để thu các sản phẩm đường có thể lên men và cuối cùng là tạo ra ethanol và butanol.

Trong cấu trúc của cellulose và cellotetraose chủ yếu là liên kết  $\beta$ -(1-4) glucosit. Nói chung, để phá huỷ hoàn toàn cấu trúc của polysaccharide này cần có các Cellulase với những tác động đặc trưng riêng biệt. Sau khi Cellulase (EC 3.2.1.4) (còn gọi là endoglucanase D) và  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21) (còn gọi là cellobiase) phá huỷ không chọn lọc  $\beta$ -1,4-glucan thành các mảnh có khối lượng phân tử nhỏ oligocellulose, enzyme cellobiosidase (EC 3.2.1.91) còn gọi là cellobiohydrolase phá huỷ tiếp các mảnh nhỏ này cho tới đơn vị nhỏ nhất là đường đơn [21].

Như vậy, việc thủy phân cellulose, hay nói một cách đúng đắn hơn là thủy phân các polysaccharide của thực vật, không phải chỉ một hoặc hai enzyme là đủ, mà cần tới một hệ enzyme. Chính vì vậy, đã có nhiều nghiên cứu đề cập đến việc sản xuất các chế phẩm bao gồm một số enzyme để xử lý phế thải là các polysaccharide thực vật.

Thí dụ chế phẩm enzyme từ nấm "Econase" được sử dụng để nghiên cứu hiệu quả của các enzyme thủy phân cellulose đối với việc xử lý MSW [22]. Chế phẩm Econase có thành phần chính là endo-1,4- $\beta$ -D-glucosidase (EC 3.2.1.4), cellobiohydrolase và exo-1,4- $\beta$ -D-glucosidase (EC 3.2.1.74) và một số các enzyme khác.

Với các tính chất như nêu trên, các enzyme cellulase đã có những ứng dụng trong lĩnh vực xử lý nước thải nhà máy giấy

Nguyên liệu làm giấy là gỗ, sinh khối của thực vật bậc cao. Sinh khối này chứa rất nhiều loại polysaccharide, trong đó các polysaccharide quan trọng quyết định đến chất lượng số lượng giấy như cellulose. Ngoài ra, còn có các polysaccharide khác cũng góp phần quan trọng như aminopectin, pectin, xylans, galactomannan,... Vì vậy, nước thải của các nhà máy giấy, các cơ sở chế biến gỗ các xưởng mộc, các xưởng sản xuất

mây tre đan đều chứa các loại polysaccharide nêu trên.

Do đó, ngoài các enzyme nêu trên, với mục đích xử lý triệt để nước thải loại này, còn có thể sử dụng bổ sung một số enzyme khác để phân huỷ các polysaccharide khác ngoài cellulose. Thí dụ như: sử dụng mannohydrolyase (EC 3.2.1.10) gọi là exo- $\beta$ -mannanase hoặc mannan 1,2-(1,3)- $\alpha$ -mannosidase (EC 3.2.1.77) và endo- $\beta$ -mannanase (EC 3.2.1.78) để phá huỷ mannan [23], galactanase (EC 3.2.1.89) còn gọi là arabinogalactanase để phá huỷ arabinogalactan [24]. Cellulases và Hemicellulases để phá huỷ hemicellulose. Hai enzyme cuối này có thể sản xuất từ nhiều chủng vi sinh vật, trong đó có *Cellulomonas biazotea* [25].

### 3.3. Các enzyme thủy phân pectin

Pectin là heterosaccharide của thành tế bào thực vật, có cấu tạo mạch dài tạo nên bởi các đơn vị monosaccharide, gồm các liên kết (1,4)- $\alpha$ -D-galacturonic acid và các methyl ester:

Pectin là thành phần quan trọng tồn tại trong rác thải. Không như cellulose, Pectin khó phân huỷ. Vì vậy phải tìm được các chủng vi sinh thích hợp để giải quyết vấn đề này. Trên cơ sở lựa chọn 100.000 gen khác nhau của nấm (Fungus) *Aspergillus japonicus*, người ta đã tách được các enzyme phân giải pectin (pectinolytic enzyme) như Pectinase, Pectinesterase (Pectinmethylesterase 3.1.1.11). Ngoài *Aspergillus japonicus*, gần đây, nhiều nấm khác cũng được khảo nghiệm khả năng phân huỷ tốt pectin như: *Euglena gracilis* [26], *Ceriporiopsis subvermispora* [9], *Aspergillus fumigatus* [27], *Sitophilus oryzae* [28], *Aspergillus niger* [29], *Clostridium thermosulfurogenes*, *Clostridium thermosaccharolyticum* *Sitophilus oryzae* [30].

### 3.4. Các enzyme thủy phân protein

Protease thuộc nhóm enzyme thủy phân protein được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm, chẳng hạn trong chế biến cá và thịt. Protease có thể thủy phân các protein có trong chất thải, để sản xuất các dung dịch đặc hoặc các chất rắn khô có giá trị dinh dưỡng cho cá hoặc vật nuôi. Protease thủy phân các protein không tan thông qua nhiều bước, ban đầu chúng được hấp thụ lên các chất rắn, cắt các chuỗi polypeptit tạo thành các liên kết lỏng trên bề mặt. Sau đó, quá trình hoà tan những phần rắn xảy ra với tốc độ chậm hơn phụ thuộc vào sự khuếch tán enzyme lên bề mặt cơ chất và tạo ra những phần nhỏ.

Chính vì tính chất trên mà protease được sử dụng, một mặt để tận dụng các phế thải từ nguồn protein để những phế thải này không còn là các tác nhân gây ô nhiễm môi trường, một mặt để xử lý các phế thải protein tồn đọng trong các dòng chảy thành dạng dung dịch rửa trôi không còn mùi hôi thối [31].

Lông tạo nên 5% trọng lượng cơ thể gia cầm và có thể được coi như là nguồn protein cao trong tạo nên cấu trúc keratin cứng được phá huỷ hoàn toàn. Lông có thể được hoà tan sau khi xử lý với NaOH, làm tan bằng cơ học và bằng các enzyme thủy phân, như protease kiềm từ *Bacillus subtilis* tạo thành sản phẩm có dạng bột, màu xám với hàm lượng protein cao có thể được sử dụng làm thức ăn.

Protease ngoại bào được tiết ra từ *Bacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas marinoglutinosa* và *Acromonas hydrophila* có thể cố định trong canxi alginate để thực hiện các phản ứng liên tục thu được sản lượng cao trong các phản ứng thủy phân thịt cá [32].

### 3.5. Các enzyme phá huỷ hợp chất chứa halogen

Các enzyme vi sinh vật phá huỷ hợp chất chứa halogen, phá huỷ liên kết carbon-

halogen có thể chia làm 2 loại haloalkane dehalogenase and haloacid dehalogenase (HAD) [33].

Rất nhiều enzyme có vai trò trong việc khử clo như: 4-chlorobenzoate dehalogenase (EC 3.8.1.6); 4-chlorobenzoyl-CoA dehalogenase (EC 3.8.1.7); atrazine chlorohydrolase (EC 3.8.1.8); 2-haloacid dehalogenase (EC 3.8.1.10); 2-haloacid dehalogenase (EC 3.8.1.11). Mỗi enzyme này có các đặc thù riêng. Chẳng hạn, Alkylhalidase EC 3.8.1.1 (halogenase) hoặc haloalkane dehalogenase (EC 3.8.1.5) [14], 1-chlorohexane halidohydrolase xúc tác phản ứng phân huỷ haloalkane tạo thành aldehyde [34].

Atrazine là một chất độc diệt cỏ (herbicide) hầu như hoàn toàn không tan trong nước (33mg/lít), nhưng nồng độ cho phép trong nước là 0,2 mg/lít. Một số chủng vi sinh như *Pseudomonas* sp. strain ADP có khả năng chuyển hoá atrazine. Chủng này tiết ra Atrazine chlorohydrolase xúc tác phản ứng chuyển hoá atrazine. Như vậy, bằng phản ứng Atrazine chlorohydrolase, atrazine độc, không tan có thể chuyển hoá các sản phẩm tan được và không độc [35].

## 4. Các lớp enzyme khác

### 4.1. Enzyme tham gia vào quá trình khử độc các kim loại nặng. Khử ô nhiễm arsen

Khử ô nhiễm arsen

Các kim loại nặng như arsenic, đồng, cadmi, chì, crom và một số kim loại khác, đều là những chất ô nhiễm nguy hiểm tìm thấy trong một số dòng nước thải công nghiệp và mỏ khai thác cũng như các chất thải rắn, bùn thải của thành. Hiện nay, vấn đề ô nhiễm arsen đang là vấn đề thời sự, cần cấp bách giải quyết. Trong khuôn khổ của bài báo, chúng tôi trình bày quan điểm sử dụng

enzyme vi sinh góp phần vào giải quyết vấn đề này

Trong cuộc sống, con người tiếp xúc với arsen qua không khí, nước uống và thức ăn. Lượng arsen đi vào cơ thể hàng ngày cỡ 20-300µg với khoảng 25% là arsen vô cơ, phần còn lại là arsen hữu cơ. Các dạng arsen hữu cơ trong thức ăn như asenobetain, asenocholin tương đối không độc, ngược lại các dạng arsen vô cơ lại rất độc, với liều lượng gây chết ở người là 100-200 mg oxyt arsen. Trên thế giới, nguồn nước ngầm có chứa arsen trên 50µg/L được phát hiện ở nhiều nước như Acentina, Mehicô, Myanma, Việt Nam, v.v...

Ở Việt Nam, theo kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả cho thấy, hàm lượng arsen trong các giếng khoan có nồng độ tới 50µg/L, thậm chí có nơi cao hơn 150µg/L. Như vậy vấn đề ô nhiễm arsen trong nước giếng khoan dùng cho sinh hoạt tại nông thôn và ngay cả một số nơi trong thành phố của Việt Nam là một thực trạng đáng lo ngại đã ảnh hưởng tới sức khoẻ con người.

Việc xử lý nhiễm độc arsen bằng phương pháp hoá học rất khó khăn. Phương pháp enzyme có thể khắc phục được những khó khăn. Nguyên tắc chung của phương pháp enzyme là chuyển hoá Arsenite (hoá trị III) rất độc thành Arsenat (hoá trị V) ít độc hơn, hoặc chuyển hoá Arsen dạng vô cơ sang dạng hữu cơ. Arsen trong dạng hữu cơ ít độc hơn trong dạng vô cơ. Chẳng hạn, enzyme Arsenate reductase (còn gọi là arsenite oxidase) (EC 1.20.98.1) từ chủng *Alcaligenes faecalis*, xúc tác cho phản ứng chuyển hoá Arsenite (hoá trị III) rất độc thành Arsenate (hoá trị V) ít độc hơn [36], hoặc arsenate reductase (donor) (EC 1.20.99.1) (còn gọi là glutaredoxin), từ chủng *Chrysiogenes arsenatis* xúc tác phản ứng chuyển hoá Arsenite [37]. Chất cho electron ở phản ứng

này có thể là benzylviologen hoặc một số chất khác hoặc cũng có thể chuyển hoá arsenite dạng vô cơ sang dạng hữu cơ (methylarsonate) nhờ Arsenite methyltransferase (EC 2.1.1.137) xúc tác phản ứng [38] chuyển hoá các arsenite thành methylarsonate ít độc hơn nhờ S-adenosyl-L-methionine.

#### 4.2. Enzyme tham gia vào xử lý các chất có hoạt tính bề mặt

Các tác nhân có hoạt tính bề mặt hay hoạt động bề mặt là các chất hữu cơ, đó là các phân tử có tính phân cực mạnh và là thành phần cơ bản của chất tẩy. Các chất có hoạt tính bề mặt có thể gây ra sự ô nhiễm nghiêm trọng khi ở nồng độ cao ví dụ như từ các nhà máy xà phòng, hệ thống thoát nước thành phố và có thể phát sinh các hiện tượng không mong muốn như việc tạo bọt [37].

Alkylsulfatase từ *Pseudomonas* C12B *Pseudomonas putida* hoặc từ *Pseudomonas aeruginosa* [38] có thể làm giảm hiệu suất các chất có hoạt tính bề mặt xuống tới nồng độ 750 mg dm<sup>-3</sup>. Enzyme này đặc hiệu với các gốc alkyl sulfate, và có thể phá huỷ hoàn toàn gốc alkyl sulfate, alkyl ethoxy sulfate hoặc aryl sulfonate trong các chất có hoạt tính bề mặt. Tuy nhiên, trên thực tế, enzyme này không thể tấn công các alkane sulfonate. Nói chung, alkylsulfatase hứa hẹn một ứng dụng trong tương lai về việc xử lý một phạm vi rộng các chất có hoạt tính bề mặt có trong nước thải.

#### 4.3. Enzyme xử lý chất thải xyanua, Cyanide hydratase

Người ta ước tính rằng mỗi năm có khoảng 3 triệu tấn xyanua được sử dụng trên toàn thế giới vào các mục đích công nghiệp khác nhau như các sản phẩm hoá học trung



gian, tổng hợp tơ sợi, cao su và dược liệu cũng như các mỏ quặng và mạ kim [39]. Ngoài ra, nhiều loài thực vật, vi sinh vật và côn trùng cũng có khả năng thải ra HCN cùng với các enzyme thủy phân. Cuối cùng, thực phẩm hầu hết đều chứa một hàm lượng đáng kể xyanua bắt nguồn từ cyanogenic glycoside có nguồn gốc từ một vài loại thực phẩm. Khi có mặt xyanua sẽ ức chế quá trình trao đổi chất, có thể gây chết người và các sinh vật khác, cần phải loại bỏ chúng trước khi thải ra môi trường.

Cyanide hydratase (EC 4.2.1.66), hoặc formamide hydro-lyase là một enzyme có khả năng chuyển hoá cyanide [39] trong nước thải công nghiệp thành amoniac và formate thông qua một bước phản ứng [40].

Cyanide hydratase được phân lập từ một vài loại nấm và được tạo ra từ nấm khi nồng độ xyanua thấp. Khi được cố định, tính bền của Cyanide hydratase tăng lên nhiều và enzyme từ *Gloeocercospora sprrghi* bền vững hơn từ *Stemphylium loti* [41]. Cyanide hydratase từ nấm thích hợp để xử lý các chất thải công nghiệp chứa xyanua.

Một số vi khuẩn Gram(-) như *Alcaligenes denitrificans* cũng tiết ra cyanidase có ái lực độ bền cao và có khả năng loại xyanua ở nồng độ rất thấp, ví dụ như  $< 0.02 \text{ mg dm}^{-3}$  CN. Sau này, khi công nghệ sinh học phát triển, người ta đã tách được gen cyanidase từ *Pseudomonas stutzeri* AK61 [39] *Pseudomonas pseudoalcaligenes* [42].

Hoạt tính của cyanidase không bị ảnh hưởng bởi các ion thông thường có mặt trong nước thải (ví dụ như  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  và  $\text{Ni}^{2+}$ ), hay bởi các chất hữu cơ như acatat, formamide, acetamide và acetonitrile. pH tối ưu trong khoảng 7.8-8.3 và mất hoạt tính hoàn toàn, không phục hồi khi pH cao hơn 8.3 [40].

Tóm lại, việc sử dụng enzyme trong xử lý phế thải có một tương lai đầy hứa hẹn. Đây

là một trong những hướng nghiên cứu ứng dụng để sử dụng có hiệu quả enzyme trong công nghệ xử lý phế thải sinh hoạt ở nước ta hiện nay.

Công trình được hoàn thành dưới sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình Nghiên cứu cơ bản trong Khoa học Tự nhiên.

## Tài liệu tham khảo

- [1] Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB). Enzyme Nomenclature. Recommendations. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC1/>
- [2] R.O. Martin, P.K. Stumpf, Fat metabolism in higher plants. XII. Oxidation of long chain fatty acids, *J. Biol. Chem.* 234 (1959) 2548.
- [3] J. Chaudiere, A.L. Tappel, Purification and characterization of selenium-glutathione peroxidase from hamster liver, *Arch. Biochem. Biophys.* 226 (1983) 448.
- [4] S. Colonna, N. Gaggero, G. Carrea, P. Pasta, Horseradish peroxidase catalysed sulfoxidation is enantioselective, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 254 (1992) 357.
- [5] I. Anana, M. Misra, Enzymatic dewatering of Florida phosphate slimes, *Minerals and Metallurgical Processes*, 6 (1989) 93.
- [6] R. Theiler, J.C. Cook, L.P. Hager, J.F. Siuda, Halohydrocarbon synthesis by homoperoxidase, *Science* 202 (1978) 1094.
- [7] P. Ortiz-Bermudez, E. Srebotnik, H.E. Kenneth Chlorination and cleavage of lignin structures by fungal chloroperoxidases From *Caldariomyces fumago*, *Applied and environmental microbiology* 69 (2003) 5015.
- [8] M.D. Aitken, R. Venkatadri, R.L. Irvine, Oxidation of phenolic pollutants by a lignin degrading enzyme from the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *Water Research* 23 (1989) 443.
- [9] P. Zou, H. Schrempf, The heme-independent manganese-peroxidase activity depends on the presence of the C-terminal domain within the *Streptomyces reticuli* catalase-peroxidase CpeB, *Eur. J. Biochem.* 267 (2000) 2840.

- [10] P.O. Magalhaes, A. Ferraz, A.F. Milagres, Enzymatic properties of two beta-glucosidases from *Ceriporiopsis subvermispora* produced in biopulping conditions, *J Appl Microbiol.* 101 (2006) 480.
- [11] H.S. Bleeg, F. Christensen, Biosynthesis of ascorbate in yeast, Purification of L-galactono-1,4-lactone oxidase with properties different from mammalian L-gulonolactone oxidase, *Eur. J. Biochem.* 127 (1982) 391.
- [12] M. Golicnik, J. Stojan. Slow-binding Inhibition., A Theoretical and Practical Course for Students: Tyrosinase (EC 1.14.18.1) properties, *Biochemistry and Molecular Biology Education* 32 (2004) 228.
- [13] J. D. Crowe, S. Olsson, Induction of Laccase Activity in *Rhizoctonia solani* by Antagonistic *Pseudomonas fluorescens* Strains and a Range of Chemical Treatments, *Applied and Environmental Microbiology* 67 (2001) 2088.
- [14] M.R. Mokela, K.S. Hildon, T. K. Hakala, A. Hatakka, T. K. Lundell, Expression and molecular properties of a new laccase of the white rot fungus *Phlebia radiata* grown on wood, *Current Genetics* 50 (2006) 323.
- [15] Elias Abadulla; Tzanko Tzanov; Silgia Costa; Karl-Heinz Robra; Artur Cavaco-Paulo; Georg M. Guebitz., Decolorization and Detoxification of Textile Dyes with a Laccase from *Trametes hirsuta*, *Applied and Environmental Microbiology* 66 (2000) 3357.
- [16] D'Annibale, A.S. Rita Stazi, V. Vinciguerra, G. Giovannozzi, Oxirane-immobilized *Lentinula edodes* laccase: stability and phenolics removal efficiency in olive mill wastewater, *J. Biotechnol.* 77 (2000) 265.
- [17] H. Iefuji, M. Chino, M. Kato, Y. Iimura, Raw-starch-digesting and thermostable alpha-amylase from the yeast *Cryptococcus* sp. S-2: purification, characterization, cloning and sequencing, *Biochem J.* 318, Pt 3 (1996) 989.
- [18] P. Tomasik, C. H. Schilling. Chemical modification of starch *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* 59 (2004) 175.
- [19] J.H. Auh, H. Y. Chae, Y.R. Kim, K.H. Shim, S.H. Yoo, K.H. Park, Modification of Rice Starch by Selective Degradation of Amylose Using Alkalophilic *Bacillus Cyclomaltodextrinase*, *J. Agric. Food Chem.*, 54 (6) (2006) 2314.
- [20] M.A. Elberson, F. Malekzadeh, M.T. Yazdi, N. Kameranpour, M.R. Noori-Dalooi, M.H. Matte, M. Shahamat, R.R. Colwell, K.R. Sowers, *Cellulomonas persica* sp. nov. and *Cellulomonas iranensis* sp. nov., mesophilic cellulose-degrading bacteria isolated from forest soils, *J. Syst. Evol. Microbiol* 50 (2000) 993.
- [21] P.O. Magalhaes, A. Ferraz, A.F. Milagres, Enzymatic properties of two beta-glucosidases from *Ceriporiopsis subvermispora* produced in biopulping conditions, *J Appl Microbiol.*, 101(2) (2006) 480.
- [22] A. Lagerkvist, H. Chen, Control or two-step anaerobic degradation of municipal solid waste (MSW) by enzyme addition, *Water Science and Technology*, 27 (1993) 47.
- [23] A.F.V. Eriksson, Purification and characterisation of a fungal b-mannanase, *Acta Chem. Scand.* 22 (1968) 1924.
- [24] J.M. Labavitch, L.E. Freeman, P. Albersheim, Structure of plant cell walls. Purification and characterization of a b-1,4-galactanase which degrades a structural component of the primary cell walls of dicots, *J. Biol. Chem.* 251 (1976) 5904.
- [25] M.I. Rajoka, Double Mutants of *Cellulomonas* sp. for Production of Cellulases and Hemicellulases following Growth on Straw of a Perennial Grass World, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21 (6-7) (2005) 1063.
- [26] P.O. Magalhaes, A. Ferraz, A.F. Milagres, Enzymatic properties of two beta-glucosidases from *Ceriporiopsis subvermispora* produced in biopulping conditions, *J Appl Microbiol.*, Aug; 101(2) (2006) 480.
- [27] U. Phutela; V. Dhuna; S. Sandhu; B.S. Chadha, Pectinase and polygalacturonase production by a thermophilic *Aspergillus fumigatus* isolated from decomposing orange peels Braz, *J. Microbiol* 36 (2005) 324.
- [28] Z. Shen, K. Pappan, N. S. Mutti, Q. He, M. Denton, Y. Zhang, M.R. Kanost, J. C. Reese, G. R., Reec Pectinmethylesterase from the rice weevil, *Sitophilus oryzae*: cDNA isolation and sequencing, genetic origin, and expression of the recombinant enzyme, *J. Insect Sci.* 5 (2005) 21.
- [29] M. C. Maldonado, A. M. Strasser de Saad, D. Callieri, Purification and characterization of pectinesterase produced by a strain of *Aspergillus niger*, *Current Microbiology*, 28 (1994) 193.
- [30] O. Mayans, M. Scott, I. Connerton, T. Gravesen, J. Benen, J. Visser, R. Pickersgill, J. Jenkins, Two crystal structures of pectin lyase A from *Aspergillus niger* reveal a pH driven conformational change and striking divergence in the substrate-binding clefts of pectin and pectate lyases. *Structure* 5 (1997) 677.

- [31] R. Gupta, O.K. Beg, P. Lorenz, Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59 (1) (2002) 15.
- [32] G. Emtiazi, I. Nahvi, B. K. Maal, Production and immobilization of alkaline protease by *Bacillus polymyxa* which degrades various proteins, *International Journal of Environmental Studies* 62 (2005) 101.
- [33] K. Soda, T. Kurihara, J.Q. Liu, V. Nardi-Dei, C. Park, M. Miyagi, S. Tsunasawa, N. Esaki, Bacterial 2-haloacid dehalogenases: Structures and catalytic properties, *Pure Appl. Chem.* 68 (1996) 2097.
- [34] L.A. Heppel, V.T. Porterfield, Enzymatic dehalogenation of certain brominated and chlorinated compounds, *J. Biol. Chem.* 176 (1948) 763.
- [35] M.L. De Souza, L.P. Wackett, K.L. Boundy-Mills, R.T. Mandelbaum, M.J. Sadowsky, Cloning, characterization, and expression of a gene region from *Pseudomonas* sp. strain ADP involved in the dechlorination of atrazine, *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (1995) 3373.
- [36] P.J. Ellis, T. Conrads, R. Hille, P. Kuhn, Crystal structure of the 100 kDa arsenite oxidase from *Alcaligenes-faecalis* in two crystal forms at 1.64 Å and 2.03 Å, *Structure* 9 (2001) 125.
- [37] T. Krafft, J.M. Macy, Purification and characterization of the respiratory arsenate reductase of *Chrysiogenes arsenatis*, *Eur. J. Biochem.* 255 (1998) 647.
- [38] O.L. Valenzuela, V.H. Borja-Aburto, G.G. Garcia-Vargas, C. Cruz-Gonzalez, E.A. Garcia-Montalvo, E. S. Calderon-Aranda, L. M. Del, L.M. Razo "Urinary trivalent methylated arsenic species in a population chronically exposure to inorganic arsenic", *Environmental health perspectives* 3 (2005) 250.
- [39] A. Watanabe, K. Yano, K. Ikebukuro, I. Karube, Cyanide hydrolysis in a cyanide-degrading bacterium, *Pseudomonas stutzeri* AK61, by cyanidase, *Microbiology*, 144 (Pt 6) (1998) 1677.
- [40] S. J. E. Basheer, J. R. Boume, Kinetics of enzymatic degradation of cyanide, *Biotechnology and Bioengineering*, 39 (1992) 629.
- [41] N. Nazly, C. J. Knowles, A. J. Beardsmore, W. T. Naylor, E. G. Corcoran, Detoxification of cyanide by immobilised fungi, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 33B (1983) 119.
- [42] V. M. Luque-Almagro, M.J. Huertas, M. Martinez-Luque, C. Moreno-Vivian, M. D. Roldan, F. Castillo, R. Blasco, Bacterial Degradation of Cyanide and Its Metal Complexes under Alkaline Conditions, *Applied and Environmental Microbiology* 71 (2005) 940.

## The future of Enzyme application in waste treatment

Tran Dinh Toai<sup>1</sup>, Tran Thi Hong<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Chemistry, Vietnamese Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup> College of Science, VNU, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

The implementation of increasingly stringent standards for the discharge of wastes into the environment has necessitated the need for the development of alternative waste treatment.

Nowadays, it is well known a number of enzymes derived from a variety of different plants and microorganisms has been reported to above 3000 ones more. Among these, many of them lay an important role in an array of waste treatment applications. Enzymes, especially Hydrolases, and Oxidoreductases can act on specific recalcitrant pollutants to remove them by precipitation or transformation to other products. They also can change the characteristics of a given waster to render it more amenable treatment or aid in converting waste material to value-added products.

Enzymes seem to have a promising future. There is a presentation of some enzymes have successful application in waste treatment. However, further research need determine which enzyme is best corresponding to reality and to optimize the enzymatic process as a whole.

