

# **Phân lập và tuyển chọn xạ khuẩn ưa nhiệt có khả năng phân hủy lignin từ mẫu mùn thu nhận tại Nhà máy giấy Bãi Bằng**

Lignin là hợp chất tự nhiên có thành phần cấu trúc phức tạp, khó bị phân hủy và cần được loại bỏ trong ngành công nghiệp sản xuất giấy và bột giấy. Ở Việt Nam, nguyên liệu được sử dụng cho sản xuất bột giấy là keo và bạch đàn; hàm lượng lignin trong hai loại gỗ này chiếm khoảng 27,6%. Hiện nay, công nghệ sản xuất bột giấy sinh học thân thiện với môi trường sử dụng các enzyme phân giải lignin cho phép nâng cao chất lượng bột giấy và giảm thiểu các nguồn gây ô nhiễm nước trong công nghiệp giấy. Từ 20 mẫu mùn thu nhận tại công ty giấy Bãi Bằng, 47 chủng xạ khuẩn ưa nhiệt có khả năng phân giải lignin đã được phân lập. Trong đó, chủng CX9 là một trong các chủng có khả năng sinh Lignin peroxidase cao (7345 U/L). Chủng CX9 phát triển tốt trong khoảng 37÷45°C, có khuẩn ty khí sinh màu xám và sinh sắc tố tím trên môi trường ISP2. Dựa vào các đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rDNA, có thể xếp chủng CX9 thuộc vào *Streptomyces thermo violaceus*, do đó được đặt tên là *Streptomyces thermo violaceus* CX9.

## **MỞ ĐẦU**

Lignin chiếm khoảng 10-30% trong sinh khối thực vật, là hợp chất dị vòng cao phân tử của các rượu p-coumaryl, coniferyl và sinapyl, rất khó loại bỏ trong quá trình sản xuất giấy (Gonzalo et al., 2016). Trong sản xuất bột giấy, lignin làm cho giấy có màu vàng và giòn, khó lưu trữ được lâu. Để khắc phục vấn đề này, thông thường dăm mảnh nguyên liệu gỗ được nấu với hóa chất ở nhiệt độ nhất định nhằm hòa tan lignin và một số chất hữu cơ. Bột giấy sau khi nấu còn lẫn một phần các hợp chất lignin biến tính được tẩy trắng bằng hóa chất như clo, dioxit clo và xút. Vì vậy, nước thải rửa bột giấy sau nấu và tẩy trắng có độ màu rất cao do chứa lignin và các dẫn xuất của lignin ở dạng trùng ngưng và clo hóa, chất rắn lơ lửng chủ yếu là xơ, axit béo, tannin, axit nhựa, stilben... Các hợp chất có chứa clo là những hợp chất rất độc hại đối với hệ sinh thái dưới nước và sức khỏe con người nhưng lại khó bị phân hủy, đặc biệt khi đã kết hợp với lignin (Hossain and Ismail, 2015). Hiện nay, đã có một số phương pháp được áp dụng để giảm thiểu hàm lượng lignin trong suốt quá trình sản xuất. Trong đó, phân hủy lignin bằng enzyme và các loại vi sinh vật đang thu hút sự quan tâm lớn.

Nấm mục trắng là các vi sinh vật được nghiên cứu nhiều để phân hủy lignin trong tự nhiên. Các loài nấm mục trắng có thể sản xuất ra các enzyme mạnh cho phân hủy lignin như laccase, lignin peroxidase (LiP) và manganese peroxidase (MnP). Tuy nhiên, các hệ thống enzyme oxy hóa thường đòi hỏi các co-factor và chất hỗ trợ (mediator) có trọng lượng phân tử thấp như: manganase, axit hữu cơ, veratryl alcohol và các tiểu đơn vị cấu trúc của vòng thơm (substituted aromatics) (ví dụ 4-hydroxybenzyl alcohol, aniline, 4-hydroxybenzoioc axit). Các chất mediator là các chất oxi hóa hoạt động mạnh chịu trách nhiệm cho việc phân hủy lignin và có thể thâm nhập sâu vào mạng lưới liên kết lignin nhờ kích thích hạn chế của chúng. Sản phẩm của hoạt động phân hủy lignin của nấm thường rất đa dạng và là các hợp chất thơm có trọng lượng phân tử thấp hơn như guaiacol, rượu coniferyl, p-coumarate, ferulate, protocatechuate, p-hydroxybenzoate và vanillate. Vi khuẩn và xạ khuẩn phân hủy lignin ít được nghiên cứu hơn nấm, tuy nhiên một vài nghiên cứu cho thấy có thể tìm thấy một số vi sinh vật thuộc nhóm  $\alpha$ -proteobacteria (ví dụ như *Sphingomonas* sp.), gamma-proteobacteria (ví dụ *Pseudomonas* sp.) và xạ khuẩn (*Rhodococcus*, *Nocardia* và *Streptomyces* sp.) có tiềm năng trong phân hủy lignin. Các enzyme được công bố từ các vi sinh vật phân hủy lignin

này là các laccase, glutathione S-transferase, các dioxygenase dạng vòng, các monooxygenase và các phenol oxidase. Các enzyme này cũng tham gia vào quá trình phân hủy các hydrocarbon đa vòng thơm (PAHs), có tính chất và cấu trúc tương tự lignin (Bandounas et al., 2011). Mặc dù sự phân hủy lignin không diễn ra hoàn toàn như nấm, nhưng nhiều loài xạ khuẩn cũng được công bố về khả năng chuyển hóa lignin thành các chất có khối lượng phân tử nhỏ hơn theo 2 cách. Đó là hòa tan hoặc tạo ra một chất chuyển hóa có khối lượng phân tử lớn được gọi là polymer lignin có khả năng kết tủa với axit (acid-precipitable polymeric lignin-APPL). Các hợp chất này sẽ được phân hủy tiếp bởi các vi sinh vật khác. *Streptomyces viridosporus* T7A là xạ khuẩn đầu tiên được tìm thấy có khả năng sinh APPL đồng thời sinh ra heme peroxidase. Điều này chỉ ra rằng xạ khuẩn cũng có thể có một tập hợp các enzyme oxy hóa ngoại bào tham gia vào chuyển hóa lignin. Đến nay, laccase sinh tổng hợp từ nhiều loài xạ khuẩn, đặc biệt là các loài *Streptomyces* đã được nghiên cứu (Gonzalo et al., 2016) như Laccase chịu mặn (SilA) của chủng *Streptomyces ipomoea* CECT 3341, và 4 laccase từ *Streptomyces* (*S. coelicolor* A3(2), *S. lividans* TK24, *S. viridosporus* T7A) và *Amycolatopsis* sp. 75iv2. Những enzyme này có độ ổn định hoạt tính cao trong dải pH rộng từ 3-10, là những tác nhân xúc tác tiềm năng trong công nghiệp giấy. Các enzyme này từ xạ khuẩn có thể tốt hơn các enzyme thu nhận từ nấm về khả năng chịu nhiệt và ít phụ thuộc vào các mediator. Chúng cũng có thể có lợi thế hơn trong việc phân hủy các lignin đã bị biến đổi và polymer hóa một phần trong dòng thải của quá trình nghiền và trong quá trình sản xuất nhiên liệu sinh học (Bandounas et al., 2011). Tuy nhiên, cho đến nay, tiềm năng phân hủy lignin của xạ khuẩn, đặc biệt là xạ khuẩn ưa nhiệt và chịu nhiệt vẫn còn chưa được nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn ưa nhiệt có khả năng phân hủy lignin từ các mẫu dăm mảnh, mùn đất, gỗ mục và mùn vỏ cây từ Nhà máy Giấy Bãi Bằng. Trong số các chủng được phân lập chủng CX9 có tiềm năng trong thu nhận các enzyme phân hủy lignin được tiếp tục nghiên cứu hoạt động sinh lignin peroxidase, mangan peroxidase, laccase và định danh.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Nguyên liệu

Vật liệu nghiên cứu bao gồm các mẫu mùn đất, dăm mảnh, gỗ mục thu thập xung quanh nhà máy giấy Bãi Bằng, huyện Phù Ninh, tỉnh Phú Thọ, tọa độ địa lý vĩ độ 21°24'47.1"N; kinh độ 105°18'57.7"E.

Môi trường nuôi cấy và phân loại: các môi trường theo ISP (International Streptomyces Project); Môi trường Bennett (g/l): Cao nấm men: 1g; Cao thịt: 1g; N-Z amine type A: 2g, Glucose: 10g; pH=7, bổ sung 100mg axit tannic; Môi trường Gause II (g/l): glucose 10; pepton 5; cao thịt 0,5; NaCl 5; pH 7,2-7,5; Môi trường Czapek (g/l): NaNO<sub>3</sub>: 3g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,5g; KCl: 0,5g, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,01g; pH=7.

### Phương pháp

#### *Phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn ưa nhiệt phân hủy lignin*

Mẫu mùn thu thập từ nhà máy giấy Bãi Bằng được pha loãng và trang đĩa trên môi trường Czapek có bổ sung 1% alkaline lignin. Các đĩa phân lập được ủ ở 50°C trong 3-5 ngày. Tách và làm sạch các khuẩn lạc xạ khuẩn trên các đĩa phân lập. Các chủng xạ khuẩn được thuần khiết và giữ trên môi trường ISP2 và sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

Các chủng xạ khuẩn phân lập được cấy chấm điểm trên môi trường Bennet có bổ sung 1% tannic axit và ủ ở 50°C trong 3-5 ngày. Các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy lignin tốt được chọn lọc dựa trên đường kính vòng phân giải trên đĩa xung quanh khuẩn lạc (Naz, 2016).

### ***Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái***

Nghiên cứu đặc điểm sinh học theo phương pháp trong ISP (1974) và khóa phân loại Bergey. Màu sắc của khuẩn ty cơ chất (KTCC), khuẩn ty khí sinh (KTKS) và sắc tố tan tiết ra môi trường được đánh giá theo Shirling và Gottlieb (1966) trên bảng màu của Tresner & Backus. Hình dạng cuống sinh bào tử và bào tử được quan sát và chụp ảnh dưới kính hiển vi quang học.

### ***Phương pháp xác định hoạt tính lignin peroxidase***

Hoạt tính LiP được xác định sử dụng cơ chất o-dianisidine. Dung dịch phản ứng enzyme gồm có: 200  $\mu$ l dung dịch enzymethô, 400  $\mu$ l dung dịch đệm phosphat 0,1M pH 7,0, 200  $\mu$ l dung dịch o-dianisidine 0,04%, 200  $\mu$ l dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50 mM. Phản ứng đối chứng sử dụng 600 dung dịch đệm phosphat 0,1M pH 7,0 và không bổ sung H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Phản ứng bắt đầu khi cho 200  $\mu$ l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vào mẫu thí nghiệm. Đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 460 nm và xác định hoạt độ LiP theo Mercer và cộng sự (1996).

### ***Phương pháp xác định hoạt tính mangan peroxidase***

Hoạt tính MnP được xác định bằng sự oxy hóa của phenol đỏ trong sự có mặt của hydrogen peroxide. Dung dịch phản ứng gồm có: 500  $\mu$ l dung dịch enzymethô, 50  $\mu$ l dung dịch MnSO<sub>4</sub> (2 mM), 200  $\mu$ l dung dịch BSA (Bovine serum albumin) (0,5%), 100  $\mu$ l dung dịch Sodium Lactate (0,25M), 100  $\mu$ l dung dịch red phenol (0,01%), 50  $\mu$ l dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2 mM) trong đệm Sodium Succinate (0,2M) pH=4,5. Mẫu đối chứng sử dụng enzyme bất hoạt bằng đun sôi trong 10 phút. Phản ứng được thực hiện ở 30°C, bắt đầu khi bổ sung dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sau 5 phút dừng phản ứng bằng cách cho 40  $\mu$ l NaOH 5M. Đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 610 nm và xác định hoạt tính MnP theo Silvà và cộng sự (2014).

### ***Phương pháp xác định hoạt độ laccase***

Hoạt tính Laccase được xác định với cơ chất ABTS (2,2'-azino-di-[3-ethyl-benzthiazoline-(6)-sulphonic acid). Hỗn hợp phản ứng 0,5 ml dung dịch enzyme thô và 1,1 mL dung dịch 2 mM ABTS pha trong đệm citrate phosphate (100 mM, pH 4.0). Ủ hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng, sau 3 phút đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 420 nm. Một đơn vị của hoạt độ enzyme được xác định là lượng enzyme oxy hóa 1  $\mu$ mol của cơ chất ABTS trong 1 phút (Yan et al., 2015).

### ***Tách chiết DNA và phân tích trình tự gene 16S rRNA***

Phương pháp tách chiết DNA được tiến hành theo Sambrook và Russell (2001). Gen 16S rRNA được khuếch đại bằng cặp mồi 27f (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') (Lane, 1991). Trình tự 16S rDNA nucleotide được phân tích dựa trên dữ liệu Ngân hàng gen của NCBI. Độ tương đồng về trình tự được xác định và so sánh với các trình tự khác được so sánh trên nhân hàng GenBank bằng BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

## **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### ***Phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn chịu nhiệt phân hủy lignin***

Để phân lập được các chủng xạ khuẩn ưa nhiệt có khả năng phân hủy lignin, các mẫu nghiên cứu được pha loãng và nuôi cấy trên môi trường có sử dụng alkin lignin như một nguồn cacbon duy nhất và nuôi ở nhiệt độ 50oC. Trên tổng số 20 mẫu mùn thu thập từ nhà máy giấy Bãi Bằng, đã phân lập được 47 chủng xạ khuẩn ưa nhiệt. Để sàng lọc được các chủng có hoạt tính phân hủy lignin mạnh, 47 chủng xạ khuẩn phân lập được cấy chấm điểm trên môi trường Czapek có bổ sung 1% tannic.

Từ đó 12 chủng tạo vùng đỏ nâu đậm quanh khuẩn lạc được lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu. 12 chủng xạ khuẩn lựa chọn được nuôi cấy trên môi trường lỏng Czapeck có bổ sung 1 % alkin lignin và xác định hoạt tính enzym phân hủy lignin (Lignin peroxydase, Mangan peroxydase và Laccase). Thông qua nghiên cứu của Chandra và Chowdhary(2015), các chủng phân lập cần sử dụng glucose và cao nấm men như nguồn cacbon và nitơ trong những pha sinh trưởng ban đầu và sử dụng chất kraft lignin như những chất đồng chuyển hóa. Vì vậy, glucose và cao nấm men được bổ sung vào môi trường để kích thích sự sinh trưởng của vi sinh vật trong quá trình sản xuất ra enzyme ligninolytic.

Bảng 1. Hoạt tính enzyme phân hủy lignin của các chủng xạ khuẩn phân lập

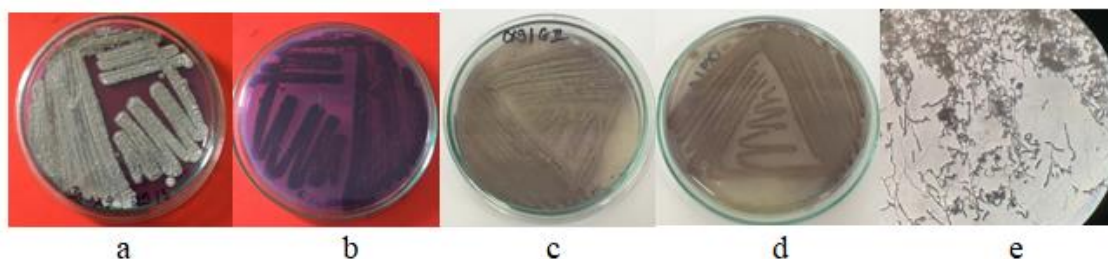
STT	Chủng	Laccase (U/l)	Lignin peroxydase (U/l)	Mangan peroxydase (U/l)
1	CXM4-1	19,676	229,549	63,229
2	CXĐn-1	37,963	0	86,099
3	CXVC1-4	43,287	586,624	75,785
4	CXS3-2	29,398	0	90,135
5	CXM1-21	44,907	1479,313	86,996
6	CXVC1-28	39,120	2831,099	85,650
7	CXD2-19	54,398	1938,410	95,067
8	CXD1-1	59,028	3009,637	93,274
9	CXS2-4	63,889	3749,294	132,740
10	CXS2-3	71,991	7320,049	131,840
11	CXD2-18	55,556	6299,834	94,170
12	CXD1-9 (ký hiệu là CX9)	79,210	7345,692	134,720

*Ghi chú:* CX: xạ khuẩn chịu nhiệt; Đn: Đất ở quanh khu chứa mảnh; D1, D2: mẫu ở bãi chứa mảnh; S2, S3: Mẫu mùn đất quanh khu vực thu hồi lignin; M1, M4: Mùn ở kho chứa gỗ trực; VC1 mùn vỏ cây ở bãi ủ vỏ cây.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong 12 chủng xạ khuẩn ưa nhiệt và chịu nhiệt phân lập, có 10 chủng sinh tổng hợp cả 3 enzyme chính trong phân hủy lignin (Lignin peroxydase, Mangan peroxydase và Laccase). Tuy nhiên, hầu hết các chủng xạ khuẩn nghiên cứu có khả năng sinh tổng hợp mạnh nhất là enzyme lignin peroxydase, dao động từ 200 U/L đến 7320 U/L, trừ hai chủng CXĐn-1 và CXS3-2. Chủng CXM1-9, ký hiệu lại là CX9 sinh tổng hợp mạnh cả ba enzyme phân hủy lignin (Lignin peroxydase, Mangan peroxydase và Laccase) lần lượt là 7345, 134 và 79 U/L được lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu. Điều này cũng tương đồng với báo cáo của Lai và cộng sự về khả năng sinh tổng hợp các enzyme phân hủy lignin của các chủng ưa nhiệt phân lập từ bã trái cọ (EFB) (Lai et al., 2016).

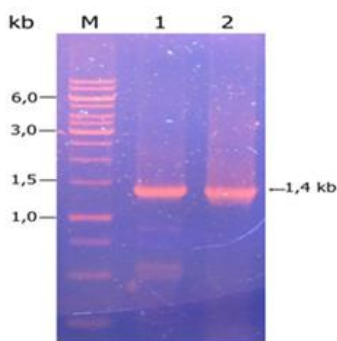
### Nghiên cứu đặc điểm nuôi cấy và định danh chủng xạ khuẩn CX9

Khảo sát khả năng sinh trưởng của chủng CX9 trên một số môi trường nuôi cấy được công bố trong ISP, kết quả cho thấy, chủng CX9 sinh trưởng tốt trên hầu hết các môi trường kiểm tra từ ISP1 đến ISP8. Khuẩn ty khí sinh của chủng CX9 có màu xám, từ xám nhạt đến xám đậm trên ISP4, Gause II và ISP2. Trên ISP 2 chủng sinh sắc tố màu tím trên môi trường nuôi cấy. Khuẩn ty cơ chất của chủng CX9 có màu vàng đậm đến màu tím đậm trên các môi trường khảo sát.



Hình 1. Xạ khuẩn CX9 được nuôi cấy trên môi trường ISP2 (a,b), Gause II (c,d) và cuống sinh bào tử và chuỗi bào tử (độ phóng đại 400) (e)

### Phân tích trình tự gen 16S rDNA



Hình 2. Điện di đồ sản phẩm PCR của CX9 trên gel agarose 1% M: Thang DNA chuẩn; 1 và 2 là sản phẩm PCR

Bảng 2. Mức độ tương đồng di truyền giữa chủng CX9 với các loài xạ khuẩn có họ hàng gần dựa vào trình tự nucleotide của gen 16S rDNA

Chủng so sánh	Mã số trên Genbank	Độ tương đồng, %
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> subsp. <i>apingens</i> NBRC 15459	NR112471.1	98,9
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> NBRC 13905	NR112423.1	98,7
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> NT1	KJ486841.1	98,6
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> subsp. <i>thermoviolaceus</i> 76T-2	KC470043.1	98,4
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> subsp. <i>thermoviolaceus</i> NBRC 13387	AB184371.1	98,6
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> AC8	KY412819.1	98,7
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> BB4	KT274751.1	98,7

Gen 16S rDNA của chủng CX9(1273 bp), có độ tương đồng cao (98 đến 99%) với các gen tương ứng của một số xạ khuẩn thuộc loài *S.thermoviolaceus* (Bảng 2). Như vậy, kết quả phân loại 16S rDNA cho thấy, chủng xạ khuẩn CX9 có đặc điểm rất gần gũi và có độ tương đồng cao với loài *S. thermoviolaceus*.

Bảng 3. So sánh đặc điểm sinh học của chủng CX9 và chủng *Streptomyces thermoviolaceus* đã công bố

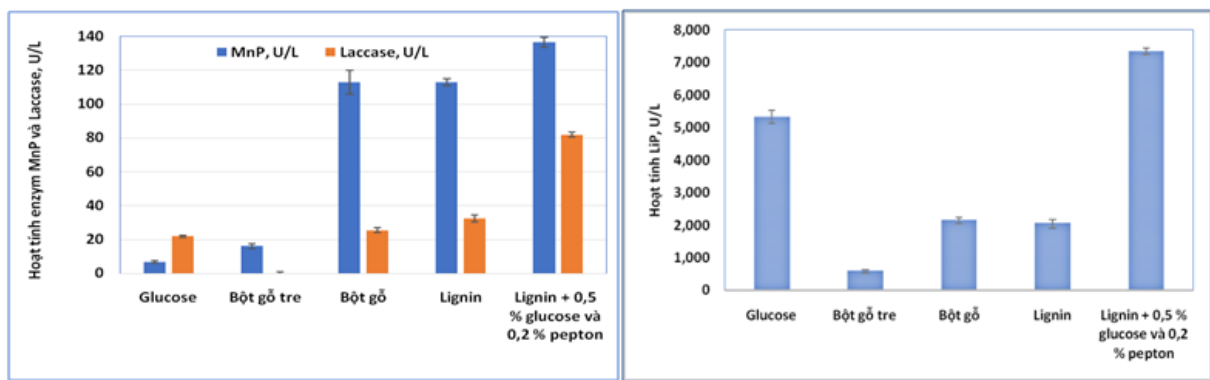
Đặc điểm	Chủng CX9	<i>Streptomyces thermo violaceus</i> subsp. <i>thermoviolaceus</i> DSM 40443 <sup>T</sup> (Kim <i>et al.</i> , 1999)	<i>Streptomyces thermo violaceus</i> subsp. <i>apingens</i> DSM 41392 <sup>T</sup> (Kim <i>et al.</i> , 1999)
<b>Khuẩn ty khí sinh</b>	Xám	xám	xám
<b>Khuẩn ty cơ chất</b>	Vàng/tím	Vàng/tím	Vàng/tím
<b>Sắc tố tan</b>	Tím	Vàng/tím	Vàng/tím
<b>Chuỗi bào tử</b>	Xoắn, đôi khi có xoắn lỏng	Xoắn	Xoắn
<b>Sinh Melanin</b>	không	không	không
<b>Nhiệt độ sinh trưởng</b>	20 ÷ 60°C	20 ÷ 55°C	20 ÷ 55°C
<b>pH sinh trưởng</b>	4 ÷ 9	4 ÷ 9	4 ÷ 9
<b>Phân hủy cơ chất:</b>			
<b>CMC</b>	+	ND	ND
<b>Tinh bột</b>	+	+	+
<b>Lignin</b>	+	ND	ND

Ghi chú: (+) có phân hủy, ND: không kiểm tra

Chủng CX9 có chuỗi bào tử dạng xoắn và xoắn nhẹ trên môi trường ISP4 kiểm tra, nhiệt độ sinh trưởng 20-55oC, sinh trưởng tốt ở 37-45oC. Dải pH sinh trưởng từ 4-9, không sinh trưởng ở pH 10. Chủng có khả năng phân hủy CMC, tinh bột và lignin. So sánh các đặc điểm của chủng CX9 cho thấy chủng có nhiều đặc điểm tương đồng về hình thái với các chủng *S. thermoviolaceus* DSM 40443T và DSM 41392T nên chủng CX9 được đặt tên là *S. thermoviolaceus* CX9.

Khả năng sinh tổng hợp các enzyme phân hủy lignin trên một số cơ chất

Khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp các enzyme trong phân hủy lignin của chủng CX9 được khảo sát trên môi trường Czapeck cơ bản có bổ sung thêm 1 % các cơ chất khác nhau như glucose, bột gỗ, bột tre, lignin và lignin 1%+0,5% glucose và 0,2% pepton. Trên môi trường lỏng, chủng sinh sắc tố nâu nhạt trên môi trường Czapeck có bổ sung glucose và sinh sắc tố nâu đậm đến tím đậm trên môi trường bổ sung bột gỗ hoặc mùn tre và lignin. Chủng sinh trưởng trung bình trên môi trường Czapeck với nguồn cơ chất cacbon duy nhất là bột tre, mùn gỗ và lignin. Sinh trưởng mạnh và tốt trên hai môi trường sử dụng nguồn cacbon là glucose và lignin 1 % + 0,5% glucose + 0,2% pepton. Pilet của chủng tạo trên các môi trường lỏng có dạng mịn nhỏ. Sử dụng môi trường có bổ sung 1% lignin + 0,5% glucose và pepton 0,2%, chủng sinh tổng hợp các enzyme phân hủy lignin cao hơn so với môi trường chỉ sử dụng các cơ chất riêng lẻ.



Hình 4. Ảnh hưởng của một số cơ chất cacbon trong môi trường đến khả năng thu nhận enzyme phân hủy lignin của chủng CX9

Chủng xạ khuẩn CX9 trong nghiên cứu này, có hoạt tính LiP đạt 7,345 U/ml cao hơn so với chủng vi sinh vật ưa nhiệt CLMT 5, CLMT 34 và thấp hơn chủng CLMT 29 trong công bố của Lai và cộng sự (2016). Tuy nhiên hoạt tính MnP và Laccase của chủng CX9 lại thấp hơn các chủng vi sinh vật ưa nhiệt trong công bố trên. Theo công bố của Tsujibo (1999) và Iqbal và cộng sự (1994), *S. thermoviolaceus* có khả năng sinh chitinase và peroxidase. Các peroxidase của chủng *S. thermoviolaceus* có các đặc tính đặc biệt với độ bền nhiệt cao và có tiềm năng ứng dụng lớn hơn các peroxidase thông thường khác (Iqbal et al., 1994). Đặc biệt, theo Garg và cộng sự (1996) xạ khuẩn *S. thermoviolaceus* sinh tổng hợp xylanase chịu nhiệt đã được ứng dụng trong quá trình tẩy trắng bột giấy sinh học. Trong nghiên cứu này, chủng xạ khuẩn *S. thermoviolaceus* CX9 được phân lập từ bãi chứa dăm mảnh của nhà máy giấy Bãi Bằng tại bãi chứa trong lòng đồng ủ, nhiệt độ có thể >50 oC. Chủng xạ khuẩn này bước đầu mới được khảo sát về khả năng sinh tổng hợp các enzyme phân hủy lignin. Tiếp theo, chủng sẽ khảo sát về khả năng sinh tổng hợp các enzyme khác, nhằm khai thác tiềm năng của chủng và ứng dụng trong sản xuất.

## **KẾT LUẬN**

Từ 20 mẫu mùn thu nhận tại công ty giấy Bãi Bằng, đã phân lập được 47 chủng xạ khuẩn ưa nhiệt có khả năng phân giải lignin. Trong đó, chủng CX9 là một trong các chủng có khả năng sinh tổng hợp cả ba enzyme phân hủy lignin là LiP, Laccase và MnP, đặc biệt là hoạt tính Lignin peroxidase cao nhất đạt 7345 U/L. Chủng CX9 phát triển tốt nhất ở 45°C, có khuẩn ty khí sinh màu xám và sinh sắc tố tím trên môi trường ISP2. Dựa vào các đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rDNA, có thể xếp chủng CX9 thuộc loài *Streptomyces thermo violaceus*, và đặt tên là *Streptomyces thermo violaceus* CX9.