

NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH SINH TỔNG HỢP CELLULASE NGOẠI BÀO TỪ CHỦNG XẠ KHUẨN *Streptomyces thermocarboxydus* MIP_GN36

Chu Thanh Bình^{1*}, Ngô Thị Đức Hạnh¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Lựa chọn tỉ lệ tiếp giống, nguồn các-bon, ni-tơ, các ion kim loại trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng đến hoạt động cellulase ngoại bào của chủng *S. thermocarboxydus* MIP_GN36 hướng tới tạo chế phẩm vi sinh xử lý môi trường.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu thực nghiệm các thành phần môi trường và ion kim loại ảnh hưởng đến hoạt tính cellulase của chủng *S. thermocarboxydus* MIP_GN36 từ bộ sưu tập chủng vi sinh vật Viện Y học dự phòng Quân đội. Lựa chọn môi trường nuôi cấy sinh tổng hợp cellulase tiến hành với các yếu tố: tỉ lệ giống bổ sung từ 2-6%; nguồn các-bon: glucose, dextrose, fructose, lactose, maltose; nguồn ni-tơ: malt extract, tryptone, cao thịt bò, (NH₄)₂SO₄, NH₄Cl; các kim loại: Ca²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺. Xác định hoạt tính cellulase bằng phương pháp định lượng đường khử.

Kết quả: Tỉ lệ tiếp giống lựa chọn là 3%; nguồn các-bon là dextrose, nguồn ni-tơ là tryptone, bổ sung ion Mg²⁺, Zn²⁺ và Cu²⁺ làm tăng hoạt tính cellulase lần lượt là 17,3%, 29,94% và 44,1%.

Kết luận: Các thành phần môi trường ảnh hưởng đến hoạt tính cellulase chủng *S. thermocarboxydus* MIP_GN36 để tạo chế phẩm vi sinh gồm lựa chọn tỉ lệ tiếp giống 3%, nguồn các-bon là dextrose 1%, nguồn ni-tơ là tryptone 1%, bổ sung Cu²⁺ 1mM trong môi trường sinh tổng hợp cellulase ngoại bào.

Từ khóa: *S. thermocarboxydus*, MIP_GN36, yếu tố ảnh hưởng.

OPTIMIZATION OF FACTORS AFFECTING EXTRACELLULAR CELLULASE PRODUCTION BY *Streptomyces thermocarboxydus* MIP_GN36

ABSTRACT

Objectives: To optimize the inoculum, carbon and nitrogen sources, and metal ions in the culture medium to enhance the extracellular cellulase activity of *Streptomyces thermocarboxydus* strain MIP_GN36 for the development of a microbial preparation for environmental bioremediation.

Subjects and methods: Study on the effects of culture medium components and metal ions on the cellulase activity of *Streptomyces thermocarboxydus* strain MIP_GN36 from the culture collection of the Military Institute of Preventive Medicine. The culture medium for cellulase production was optimized by evaluating the following factors: the inoculum size was varied from 2% to 6%; carbon sources included glucose, dextrose, fructose, lactose, and maltose; nitrogen sources included malt extract, tryptone, beef extract, (NH₄)₂SO₄, and NH₄Cl. The effects of metal ions (Ca²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Mg²⁺, and Zn²⁺) were also evaluated. Cellulase activity was determined by measuring the amount of reducing sugars released using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method.

Results: The selected inoculum was 3%; the carbon source was dextrose, and the nitrogen source was tryptone. Supplementation with Mg²⁺, Zn²⁺, and Cu²⁺ ions increased cellulase activity by 17.3%, 29.94%, and 44.1%, respectively.

Conclusions: The optimal culture conditions for extracellular cellulase production by *Streptomyces thermocarboxydus* strain MIP_GN36 were an inoculum size of 3%, dextrose (1%) as the carbon source, tryptone (1%) as the nitrogen source, and supplementation with 1 mM Cu²⁺.

Keywords: *S. thermocarboxydus*, MIP_GN36, influencing factors.

Chịu trách nhiệm nội dung: Chu Thanh Bình, Email: chuthanhbinhvn@gmail.com

Ngày nhận bài: 12/02/2026; mời phản biện khoa học: 3/2026; chấp nhận đăng: 21/8/2026.

¹Viện Y học dự phòng Quân đội.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cellulose được xem là polymer sinh học phổ biến nhất trên trái đất, đồng thời là polymer hữu cơ có trữ lượng lớn nhất trong tự nhiên, đóng vai trò là polysaccharide cấu trúc chủ yếu của thành tế bào thực vật và chiếm khoảng 30-50% khối lượng khô của thành tế bào thực vật (Shigeru Deguchi, 2022) [1]. Cellulose ($[C_6H_{10}O_5]_n$) là một polysaccharide mạch thẳng, gồm các gốc β -D-glucose gắn với nhau bằng liên kết β -(1,4); cellobiose được xem là đơn vị lặp cấu trúc của phân tử cellulose. Nó tồn tại ở dạng vô định hình hoặc tinh thể, được tạo ra thông qua việc thiết lập các liên kết hydro nội phân tử và liên phân tử (Oh, 2005) [2]. Ở thực vật, cellulose tồn tại dưới dạng vi sợi, có đường kính từ 20-30 nanomet (Zhao, 2007) [3], với chiều dài từ 100-40.000 nanomet.

Trong tự nhiên, phân hủy cellulose chủ yếu nhờ enzym cellulase có nguồn gốc từ vi sinh vật. Cellulase là một hệ enzym bao gồm nhiều thành phần khác nhau hoạt động hiệp đồng nhằm xúc tác quá trình thủy phân cellulose thành các cellooligosaccharide, cellobiose và cuối cùng là glucose. Các sản phẩm thủy phân này có thể được vi sinh vật sử dụng như nguồn các-bon và năng lượng cho quá trình sinh trưởng (Korish, 2003) [4]. Hệ enzym cellulase bao gồm ba nhóm enzym chính: endoglucanase, exoglucanase và β -glucosidase. Sự phối hợp hoạt động của ba nhóm enzym này giúp chuyển hóa cellulose thành các đường đơn một cách hiệu quả.

Cùng với sự phát triển của khoa học và công nghệ, các chế phẩm vi sinh vật ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp giàu cellulose, như lá cây, rơm rạ, tạo ra phân bón hữu cơ. Phương pháp này vừa góp phần giảm ô nhiễm môi trường do đốt rác thải hữu cơ, vừa tận dụng hiệu quả nguồn sinh khối, bổ sung chất dinh dưỡng cho đất và cây trồng. Tuy nhiên, khi ủ ngoài trời, nhiệt độ trong đống ủ thường tăng cao, có thể đạt 45-60°C, làm hạn chế sự sinh trưởng và hoạt động của nhiều vi sinh vật thông thường, từ đó, làm giảm hiệu quả phân hủy cellulose. Trong điều kiện này, các vi sinh vật có khả năng chịu nhiệt và sinh tổng hợp enzym phân giải cellulose mạnh đóng vai trò đặc biệt quan trọng. Xạ khuẩn được xem là nhóm vi sinh vật có nhiều ưu điểm nổi bật, chịu được nhiệt độ cao, nhiều loài có khả năng sinh tổng hợp các hợp chất kháng khuẩn giúp ức chế vi sinh vật gây bệnh, dễ tiến hành lên men rắn theo kiểu ủ đống. *S. thermocarboxydus* MIP_GN36 có khả năng chịu nhiệt lên tới 50°C và có khả năng sinh tổng hợp cellulase ngoại bào [5].

Mục đích của nghiên cứu này là lựa chọn môi trường nuôi cấy sinh tổng hợp cellulase ngoại bào từ chủng xạ khuẩn *S. thermocarboxydus*

MIP_GN36 nhằm hướng tới tạo chế phẩm vi sinh xử lý môi trường.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chủng xạ khuẩn *S. thermocarboxydus* MIP_GN36 hoạt hóa từ bộ sưu tập chủng của Khoa Vi sinh vật, Viện Y học dự phòng Quân đội.

- Môi trường hoạt hóa và cấy chuyển chủng MIP_GN36: ISP4 (g/L) tinh bột 5; cao nấm men 2; NaCl 1; Agar 20 [5].

- Môi trường lên men cấp 1: MT A2 (g/L): cao thịt 3, pepton 5, glucose 10.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu thực nghiệm các thành phần môi trường và ion kim loại ảnh hưởng đến hoạt tính cellulase.

- Tỷ lệ tiếp giống từ môi trường lên men cấp 1: từ 2-6% (v/v). Cơ chất cảm ứng: carboxymethyl cellulose (CMC) (Merck) 1,5% (w/v), thời gian nuôi cấy 120 giờ, tốc độ lắc 150 vòng/phút, nhiệt độ nuôi cấy 45-50°C [5].

- Nguồn các-bon sử dụng cho nghiên cứu: glucose, dextrose, fructose, lactose, maltose (nồng độ 1%). Nguồn ni-tơ: malt extract, tryptone, cao thịt bò, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl (nồng độ 1%). Các ion kim loại của các muối $CaCl_2$, $CuCl_2$, $MgCl_2$, $ZnCl_2$, $MnCl_2$ với nồng độ 1 mM [6]. Mẫu đối chứng không bổ sung ion kim loại.

- Nồng độ dextrose sử dụng cho nghiên cứu từ 0,25-2,0% (w/v); tryptone bổ sung với hàm lượng từ 0,5-2,0% (w/v).

- Xác định hoạt tính cellulase theo Miller (1959) [16] dựa trên cơ sở khi đường khử là sản phẩm thủy phân của cellulose phản ứng với thuốc thử 3,5-acid dinitrosalicylic (DNS) màu vàng chanh tạo thành 3-amino 5-nitro salicylic acid màu đỏ cam và hấp thụ cực đại ở bước sóng 540 nm. Cường độ màu của sản phẩm phản ứng tỉ lệ thuận với lượng đường khử được tạo ra nhờ hoạt động xúc tác của cellulase. Hỗn hợp phản ứng gồm 300 μ L CMC 1% (trong đệm sodium acetate 0,05M; pH 5,0) với 150 μ L dịch enzym thô được ủ ở 50°C trong 30 phút. Phản ứng được dừng bằng cách nhỏ 600 μ L DNS, hỗn hợp đun sôi trong 5 phút để tạo màu. Đo độ hấp phụ quang của sản phẩm tạo thành ở bước sóng 540 nm. Một đơn vị hoạt tính của enzym được định nghĩa là lượng enzym có khả năng xúc tác chuyển hóa 1 μ mol glucose trong 1 phút ở điều kiện thí nghiệm.

$$\text{Hoạt tính} = \frac{\text{Glucose tạo thành}}{\text{Thời gian phản ứng}} \times \text{Enzym phản ứng}$$

Trong đó, đơn vị đo hoạt tính là U/mL, đo glucose tạo thành là μmol , đo thời gian phản ứng là phút và đo thể tích enzym phản ứng là mL.

- Dụng đường chuẩn: glucose (Merck) hòa tan với các nồng độ từ 0-1 mg/mL, bước nhảy 0,1 mg/mL; tiến hành phản ứng enzym như trên. Phương trình đường chuẩn có dạng:

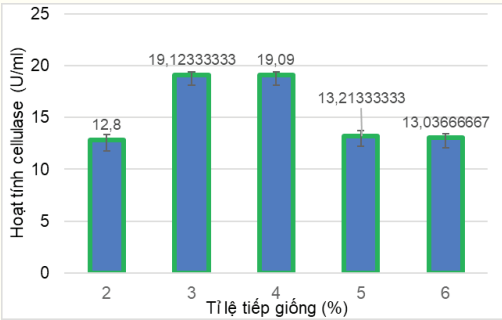
$$y = 0,001x + 0,032$$

Trong đó, y là độ hấp phụ (OD) ở bước sóng 540 nm; x là nồng độ glucose.

- Xử lý số liệu: bằng phần mềm Excel. Kết quả mỗi thí nghiệm thể hiện dưới dạng $\bar{X} \pm \text{SD}$ sau 3 lần lặp lại ngẫu nhiên.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

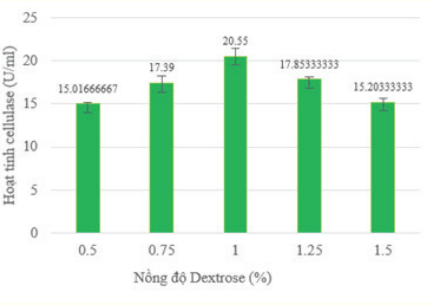
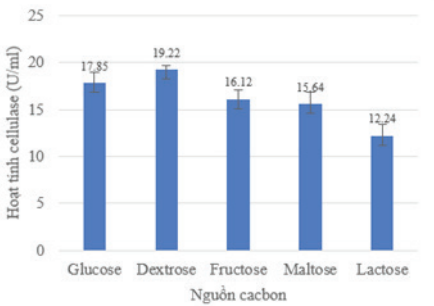
- Ảnh hưởng của tỉ lệ tiếp giống:



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của tỉ lệ tiếp giống đến hoạt tính cellulase của chủng xạ khuẩn MIP_GN36.

Tỉ lệ tiếp giống từ 3-4% cho hoạt tính cellulase cao nhất (đạt 19,09-19,12 U/ml), sau đó, hoạt tính giảm còn 13,21 U/ml với tỉ lệ tiếp giống 5%.

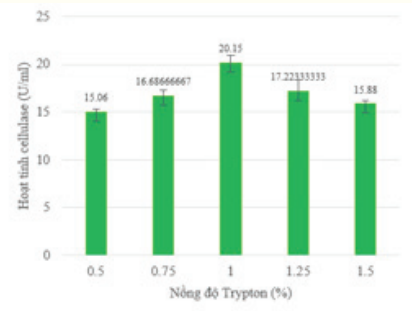
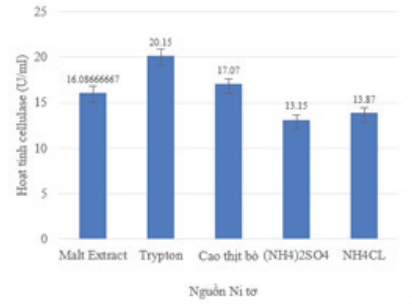
- Ảnh hưởng của thành phần môi trường nuôi cấy:



Biểu đồ 2. (A): Ảnh hưởng của nguồn các-bon; (B): Ảnh hưởng của nồng độ dextrose.

Kết quả cho thấy nguồn các-bon, ni-tơ và các ion kim loại có khả năng ảnh hưởng đến hoạt tính cellulase của chủng MIP_GN36.

- Ảnh hưởng của nguồn ni-tơ và nồng độ tryptone:



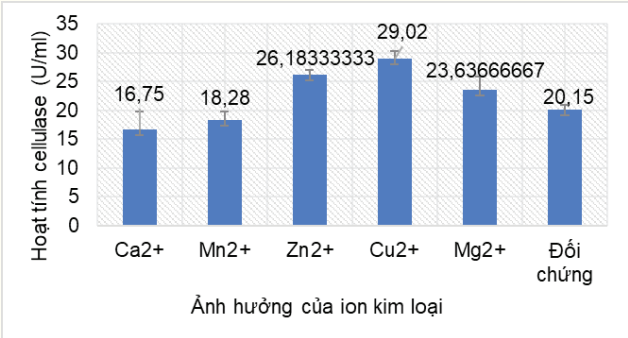
Biểu đồ 3. (A): Ảnh hưởng của nguồn ni-tơ đến hoạt tính cellulase của chủng; (B): Ảnh hưởng của nồng độ tryptone.

Khảo sát (hình 3) cho thấy môi trường bổ sung Tryptone cho hoạt tính cellulase cao nhất, đạt 20,15 U/mL,

- Ảnh hưởng của các ion kim loại:

Bảng 1. Ảnh hưởng của ion kim loại đến hoạt tính cellulase

Ion kim loại	Hoạt tính (%)
Ca ²⁺	83,13
Mn ²⁺	90,72
Zn ²⁺	129,94
Cu ²⁺	144,1
Mg ²⁺	117,3
Đối chứng	100



Biểu đồ 4. Ảnh hưởng của ion kim loại đến hoạt tính.

Khảo sát ảnh hưởng của các ion Ca^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} đến hoạt tính cellulase của chủng MIP_GN36 (bảng 1 và hình 4), thấy: bổ sung Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} vào môi trường nuôi cấy làm tăng hoạt tính cellulase lần lượt là 17,3%, 29,94% và 44,1% so với mẫu đối chứng không bổ sung ion kim loại. Ngược lại, Ca^{2+} và Mn^{2+} làm giảm hoạt tính cellulase so với mẫu đối chứng.

4. BÀN LUẬN

4.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ tiếp giống đến khả năng sinh cellulase của chủng MIP_GN36

Trong các nghiên cứu trước, chủng MIP_GN36 đã được định danh là *Streptomyces thermocarboxydus*; đồng thời, được đánh giá là chủng an toàn sinh học và xác định các điều kiện nuôi cấy thích hợp gồm pH 7,0, thời gian nuôi cấy 120 giờ và ở nhiệt độ 45°C [5]. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ tiếp giống và thành phần môi trường nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp cellulase của chủng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỉ lệ tiếp giống 3% là điều kiện phù hợp nhất để đạt hoạt tính cellulase cao, phản ánh sự cân bằng giữa tốc độ sinh trưởng của chủng *Streptomyces* và khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào. Ở tỉ lệ này, mật độ tế bào ban đầu đủ lớn để rút ngắn pha thích nghi (lag phase), giúp quần thể nhanh chóng chuyển sang pha sinh trưởng, là giai đoạn diễn ra mạnh mẽ các hoạt động trao đổi chất và sinh tổng hợp protein. Đối với *Streptomyces*, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra sự biểu hiện của các gen liên quan đến chuyển hóa thứ cấp và một số enzym ngoại bào chịu ảnh hưởng của cơ chế cảm ứng mật độ tế bào (quorum sensing), thông qua các phân tử tín hiệu thuộc nhóm γ -butyrolactone và các chất điều hòa tương tự [7]. Khi mật độ tế bào đạt đến ngưỡng thích hợp, các phân tử tín hiệu này tích lũy đủ để hoạt hóa các mạng lưới điều hòa phiên mã, từ đó thúc đẩy quá trình sinh tổng hợp enzym. Ngược lại, nếu tỉ lệ tiếp giống quá thấp, số lượng tế bào ban đầu không đủ để nhanh chóng đạt ngưỡng tín hiệu cần thiết, kéo dài thời gian thích nghi và làm chậm quá trình cảm ứng sinh tổng hợp cellulase. Trong khi đó, tỉ lệ tiếp giống quá cao có thể làm tốc độ tiêu thụ nguồn các-bon, ni-tơ và ô-xy hòa tan tăng nhanh, dẫn đến cạnh tranh dinh dưỡng giữa các tế bào ngay từ giai đoạn đầu nuôi cấy. Đồng thời, sự tích lũy các sản phẩm chuyển hóa và các chất ức chế trong môi trường cũng có thể gây tác động bất lợi đến sinh trưởng và khả năng tiết enzym ngoại bào. Đối với *Streptomyces*, sự thay đổi hình thái từ hệ sợi sinh dưỡng sang hệ sợi khí sinh và quá

trình biệt hóa cũng chịu ảnh hưởng đáng kể bởi mật độ quần thể và điều kiện môi trường. Do đó, tỉ lệ tiếp giống hợp lý đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa khả năng sản xuất enzym. Tỉ lệ tiếp giống 3% không chỉ tạo điều kiện cho sự cân bằng của sinh khối mà còn góp phần duy trì trạng thái thuận lợi để chủng có thể cảm ứng biểu hiện các gen liên quan đến sinh tổng hợp cellulase. Trên cơ sở đó, tỉ lệ tiếp giống 3% được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo nhằm bảo đảm hiệu quả sinh trưởng và khả năng sản xuất cellulase của chủng *Streptomyces* nghiên cứu.

4.2. Ảnh hưởng của thành phần môi trường nuôi cấy

Thành phần môi trường nuôi cấy có vai trò quan trọng, ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của vi sinh vật và sinh tổng hợp enzym. Hoạt tính enzym của một chủng vi sinh vật phụ thuộc trực tiếp vào các chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy.

- Ảnh hưởng của nguồn các-bon:

Nhằm đánh giá ảnh hưởng của nguồn các-bon đến khả năng sinh tổng hợp cellulase, chủng MIP_GN36 được nuôi cấy trên môi trường với nguồn các-bon thay thế bằng glucose, dextrose, fructose, lactose, maltose với lượng bổ sung 1%, thành phần khác không thay đổi (cao thịt: 3%, CMC 1,5%). Kết quả hình 2A cho thấy, hoạt tính cellulase của chủng MIP_GN36 trên môi trường bổ sung dextrose cao nhất, đạt 19,22 U/mL; các nguồn các-bon khác cho hoạt tính cellulase giảm dần, thấp nhất là lactose (12,24 U/mL). Như vậy, dextrose được lựa chọn là nguồn các-bon cho các thí nghiệm tiếp theo. Khi khảo sát nồng độ dextrose trong khoảng 0,5-1,5%, hoạt tính cellulase đạt cao nhất (20,55 U/mL) tại nồng độ 1%. Khi tiếp tục tăng nồng độ dextrose lên 1,25% và 1,5%, hoạt tính enzym giảm dần (hình 2B). Điều này cho thấy tồn tại một ngưỡng nồng độ tối ưu đối với nguồn các-bon trong quá trình nuôi cấy chủng MIP_GN36.

Sự suy giảm hoạt tính cellulase khi nồng độ dextrose tăng cao có thể liên quan đến cơ chế ức chế dị hóa carbon (carbon catabolite repression - CCR), trong đó, sự hiện diện của nguồn các-bon dễ hấp thu như dextrose làm giảm biểu hiện các gen mã hóa enzym phân giải polysaccharide. Ở nồng độ tối ưu (1%), nguồn các-bon vừa đủ cung cấp năng lượng cho sinh trưởng và cảm ứng tổng hợp enzym. Tuy nhiên, khi nồng độ tăng cao hơn, tế bào có xu hướng ưu tiên chuyển hóa đường đơn thay vì tiết enzym ngoại bào để phân giải cellulose. Ngoài ra, hàm lượng dextrose cao còn có thể làm mất cân bằng tỉ lệ C/N và gây tích lũy các sản phẩm

chuyển hóa trung gian. Từ đó, ảnh hưởng bất lợi đến hiệu suất sinh tổng hợp cellulase [8, 9, 10].

4.3. Ảnh hưởng của nguồn ni-tơ và nồng độ tryptone

Hình 3 cho thấy môi trường bổ sung tryptone cho hoạt tính enzym cao nhất, đạt 20,15 U/mL, vượt trội so với các nguồn ni-tơ khác được khảo sát. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Mohamed I (2015) [11], hai chủng *Streptomyces auranticus* và *Streptomyces minoensis* do Phòng thí nghiệm Công nghệ cao Ai Cập cung cấp cũng ghi nhận tryptone là nguồn ni-tơ tối ưu cho sinh tổng hợp cellulase. Trong nghiên cứu này, hoạt tính cellulase giảm dần theo thứ tự: cao thịt bò (beef extract), malt extract, NH_4Cl và $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Tryptone là nguồn ni-tơ hữu cơ giàu peptide và acid amin tự do, dễ hấp thu đối với nhiều xạ khuẩn, trong đó có chi *Streptomyces*. Việc sử dụng tryptone có thể làm tăng hoạt tính cellulase thông qua một số cơ chế sinh học. Thứ nhất, các peptide ngắn trong tryptone giúp tế bào tiết kiệm năng lượng cho quá trình đồng hóa ni-tơ so với nguồn ni-tơ vô cơ như NH_4Cl hay $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Từ đó, ưu tiên cho sinh tổng hợp protein ngoại bào, bao gồm cellulase. Thứ hai, một số acid amin trong tryptone (như glutamate, aspartate) đóng vai trò là tiền chất trong quá trình tổng hợp enzym và có thể kích thích biểu hiện các gen mã hóa cellulase thông qua cơ chế điều hòa trao đổi chất. Ngoài ra, nguồn ni-tơ hữu cơ thường góp phần duy trì pH môi trường ổn định hơn so với muối amoni, hạn chế hiện tượng ức chế enzym do biến động pH trong quá trình nuôi cấy [8, 10].

Bên cạnh đó, việc sử dụng các nguồn ni-tơ vô cơ ở nồng độ cao có thể gây hiện tượng ức chế dị hóa ni-tơ (nitrogen catabolite repression - NCR), làm giảm biểu hiện của các enzym phân giải polysaccharide, bao gồm cellulase. Ngược lại, tryptone cung cấp ni-tơ ở dạng peptide và acid amin phức hợp, được giải phóng và hấp thu theo hướng ổn định hơn, giúp duy trì trạng thái sinh trưởng cân bằng và thuận lợi cho quá trình tiết enzym ngoại bào. Cơ chế điều hòa này đã được ghi nhận ở nhiều chủng *Streptomyces* sinh cellulase và được xem là một trong những nguyên nhân giải thích vì sao các nguồn ni-tơ hữu cơ như tryptone thường cho hoạt tính enzym cao hơn so với các nguồn ni-tơ vô cơ [12].

Ảnh hưởng của nồng độ tryptone đến hoạt tính cellulase (hình 3B): kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính enzym tăng dần theo nồng độ tryptone và đạt cực đại 20,15 U/mL tại nồng độ 1%. Khi tiếp tục tăng nồng độ tryptone, hoạt tính cellulase có xu

hướng giảm. Điều này có thể liên quan đến hiện tượng dư thừa nguồn ni-tơ dẫn đến mất cân bằng tỉ lệ C/N hoặc gây ức chế dị hóa ni-tơ, làm giảm biểu hiện enzym ngoại bào. Nồng độ tối ưu thu được trong nghiên cứu này thấp hơn so với báo cáo của Mohamed I (2015) [11] (hoạt tính cellulase cao nhất đạt được ở nồng độ tryptone 1,35%), cho thấy sự khác biệt phụ thuộc vào đặc tính chủng vi sinh vật và điều kiện nuôi cấy.

4.4. Ảnh hưởng của các ion kim loại

Hoạt động của cellulase phụ thuộc vào các mức độ xoắn của protein và nhạy cảm với các yếu tố như ion kim loại. Kết quả bảng 1 và hình 4 tương đồng với báo cáo của Y Soeka và cộng sự (2019) [6] (chủng xạ khuẩn *Streptomyces macrosporeus* KRC21.D phân lập từ đất vườn Cibodas - Indonesia cho hoạt tính cellulase tăng lên khi môi trường nuôi cấy bổ sung các ion kim loại, như Cu^{2+} , Zn^{2+} và Mg^{2+} so với mẫu đối chứng không bổ sung); Azzeddine B. và cộng sự năm 2013 [13] (ghi nhận việc bổ sung Zn^{2+} vào môi trường nuôi cấy chủng *Streptomyces* B-PNG23 làm tăng hoạt tính cellulase 10,6%, trong khi bổ sung Cu^{2+} giúp hoạt tính enzym tăng đáng kể, đạt 52,75%).

Kết quả nghiên cứu cho thấy các ion kim loại hóa trị hai có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng sinh tổng hợp cellulase của chủng *Streptomyces*, thể hiện vai trò quan trọng của các nguyên tố vi lượng trong quá trình điều hòa chuyển hóa và sản xuất enzym ngoại bào. Đối với *Streptomyces*, các ion như Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} hay Ca^{2+} không chỉ tham gia vào cấu trúc của nhiều metalloenzyme mà còn đóng vai trò là đồng yếu tố (cofactor) cho các enzym xúc tác trong quá trình trao đổi chất, sao chép DNA, tổng hợp RNA và dịch mã protein. Sự hiện diện của các ion này ở nồng độ thích hợp giúp duy trì tính toàn vẹn của màng tế bào, ổn định ribosome và nâng cao hiệu quả sinh trưởng, từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình sinh tổng hợp cellulase. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng các ion kim loại hóa trị hai còn tham gia điều hòa sự biểu hiện của các gen mã hóa enzym thủy phân carbohydrate thông qua việc hoạt hóa hoặc ức chế các protein điều hòa phiên mã, góp phần kiểm soát lượng enzym được tổng hợp theo nhu cầu sinh lý của tế bào. Sau khi cellulase được tổng hợp, các ion kim loại tiếp tục tham gia vào quá trình gấp cuộn protein, ổn định cấu trúc bậc ba và bậc bốn của enzym, giúp duy trì cấu hình không gian cần thiết cho hoạt động xúc tác [14]. Đối với một số thành phần của hệ cellulase, đặc biệt là các β -glucosidase hoặc endoglucanase ở một số chủng *Streptomyces*, sự hiện diện của ion

kim loại thích hợp còn có thể làm tăng độ bền nhiệt, khả năng chịu biến tính và kéo dài thời gian duy trì hoạt tính của enzym trong môi trường nuôi cấy. Ngoài tác động trực tiếp lên enzym, các ion kim loại còn ảnh hưởng đến hệ thống tiết protein ngoại bào, giúp cellulase được vận chuyển hiệu quả từ tế bào ra môi trường, qua đó làm tăng hoạt tính cellulase đo được trong dịch nuôi cấy. Tuy nhiên, tác động của các ion kim loại mang tính phụ thuộc nồng độ; khi vượt quá ngưỡng tối ưu, chúng có thể gây mất cân bằng nội môi ion, làm phát sinh stress oxy hóa, ảnh hưởng đến tính thấm của màng tế bào và ức chế hoạt động của nhiều enzym thiết yếu trong quá trình trao đổi chất. Hậu quả là sinh trưởng của *Streptomyces* bị suy giảm, đồng thời quá trình tổng hợp và tiết cellulase cũng bị ức chế, dẫn đến hoạt tính enzym giảm đáng kể. Vì vậy, việc xác định loại ion kim loại và nồng độ bổ sung thích hợp là yếu tố quan trọng trong tối ưu hóa môi trường nuôi cấy, góp phần nâng cao hiệu suất sản xuất cellulase của *Streptomyces* và tạo tiền đề cho ứng dụng quy mô công nghiệp trong xử lý sinh khối lignocellulose và các quá trình công nghệ khác [15, 16].

5. KẾT LUẬN

Điều kiện nuôi cấy thích hợp cho chủng xạ khuẩn *S. thermocarboxydus* MIP_GN36 sinh tổng hợp cellulase được lựa chọn gồm: tỉ lệ tiếp giống 3%, nguồn các-bon là dextrose 1%, nguồn ni-tơ là tryptone 1%. Các ion kim loại Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} cho hoạt tính cellulase ngoại bào tăng lần lượt là 17,3%, 29,94% và 44,1%.

Đây là những kết quả quan trọng cho nuôi cấy chủng xạ khuẩn *S. thermocarboxydus* MIP_GN36 sinh tổng hợp cellulase nhằm tạo chế phẩm vi sinh xử lý môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Shigeru Deguchi, M.T., "An ultrasensitive nanofiber-based assay for enzymatic hydrolysis and deep-sea microbial degradation of cellulose", *Iscience*, Vol 25, Issue 8: pp. 345-361, 2022.
- Oh, S.Y., "Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy", *Carbohydrate Research*, pp. 2376-2391, 2005.
- Zhao, Y.W., "A new approach to measurement of saccharifying capacities of crude cellulase", *Bioresources*, 1: pp. 189-200, 2007.
- Korish, M., "Production, purification, properties and application of the cellulases from a wild type strain of a yeast isolate", *Johannes Gutenberg University of Mainz*, Mainz, pp. 177-191, 2003.
- Thanh, B.C., "Nghiên cứu một số điều kiện sinh tổng hợp cellulase ngoại bào từ chủng MIP_GN36 (xạ khuẩn *Streptomyces thermocarboxydus*) ứng dụng trong xử lý môi trường", *Tạp chí Y học Quân sự*, 371: tr. 44-47, 2024.
- Yati Sudaryati Soeka, N.S., "Characterization of cellulase enzyme produced by two selected strains of *Streptomyces macrosporeus* isolated from soil in Indonesia", *Makara Journal of Science*, 23 (2): pp. 131-142, 2019.
- M.J., B., "Regulation of secondary metabolism in *Streptomyces*", *Current Opinion in Microbiology*, 8: pp. 208-215, 2005.
- Lynd L.R., W.P., "Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66 (3): pp. 506-577, 2002.
- M.K., B., "Cellulases and related enzymes in biotechnology", *Biotechnology Advances*, 18: pp. 355-383, 2000.
- Kuhad R.C., G.R., "Microbial cellulases and their industrial applications", *Enzyme Research*, pp. 150-155, 2011.
- Mohamed I. Abou-Dobara, A.K.-S.-F., "Cellulase production by two *Streptomyces* species", *Botany Dept., Faculty of Sci., Damietta Univ., New Damietta*. The higher institute for comprehensive professions, Mesallata, Libya, pp. 24-32, 2015.
- Van Wezel G.P., M.K., "The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances.", *Nature Reviews Microbiology*, 9: pp. 549-560, 2011.
- Azzeddine B., A. M., "Optimization and partial characterization of endoglucanase produced by *Streptomyces* B-PNG23", *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 65 (2): pp. 549-558, 2013.
- Chater K.F., e.a. "The complex extracellular biology of *Streptomyces*", *FEMS Microbiology Reviews*, 34: pp. 171-198, 2010.
- Mery S., Waheeb, Walid F Elkhtib, Mahmoud A Yassien, Nadia A, Hasouna, "Optimized production and characterization of a thermostable cellulase from *Streptomyces thermodiastaticus* strain", *AMB Express*, 14 (1): pp. 129-137, 2024.
- Miller, G.L., "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar", *Analytical Chemistry*, 31(3), pp. 426-428, 1959. □