



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003145

(51) **C12N 1/20**
2021.01

(13) **Y**

(21) 2-2022-00312

(22) 15/10/2020

(67) 1-2020-05894

(45) 25/05/2023 422

(43) 25/01/2021 394

(73) Viện Công nghiệp Giấy và Xenlulo, Bộ Công thương (VN)
59 Vũ Trọng Phụng, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội

(72) Đặng Văn Sơn (VN); Phan Thị Hồng Thảo (VN); Cao Văn Sơn (VN); Ngô Văn Hữu (VN); Trần Thị Hương (VN); Nguyễn Vũ Mai Linh (VN).

(54) **CHŨNG XẠ KHUẨN CHỊU NHIỆT STREPTOMYCES SP. CXD2-17 THUẦN KHIẾT
VỀ MẶT SINH HỌC CÓ KHẢ NĂNG LÀM GIẢM NHỰA TRONG DĂM MẢNH GỖ
KEO VÀ BẠCH ĐÀN**

(57) Sáng chế đề cập đến chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học có khả năng làm giảm nhựa cây trong dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn, ứng dụng trong tiền xử lý dăm mảnh gỗ trong sản xuất bột giấy. Chủng xạ khuẩn theo sáng chế được phân lập từ trong lòng bãi ủ dăm mảnh gỗ có nhiệt độ 40 - 60°C, tại nhà máy Giấy Bãi Bằng, Phú Ninh, Phú Thọ, Việt Nam.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học. Cụ thể, sáng chế đề cập đến chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học có khả năng làm giảm hàm lượng nhựa cây trong dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn, được thu thập tại bãi dăm mảnh Nhà máy giấy Bãi Bằng, Phú Ninh, Phú Thọ, Việt Nam nhằm ứng dụng trong giảm nhựa cây trên dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn ứng dụng trong sản xuất bột giấy hóa học tẩy trắng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhựa cây là phần để chỉ các chất trích ly (extract) trong gỗ, chúng thường tập trung chủ yếu trong các kênh dẫn nhựa, túi nhựa, tế bào nhu mô. Sự đa dạng trong thành phần nhựa cây phụ thuộc vào loại cây (gỗ cứng và gỗ mềm), bộ phận của cây, điều kiện sinh trưởng, vị trí địa lý, mùa trong năm và tuổi của cây (Morais và Pereira, 2012). Đáng chú ý nhất là các chất trích ly béo (lipophilic extract), tức là các hợp chất chiết được trong dung môi không phân cực như ankan, rượu béo, axit béo, axit nhựa, sterol, các terpenoid, sterol liên hợp, các chất béo trung tính (triglycerit) và sáp (este của rượu béo và axit béo), vì chúng có ảnh hưởng lớn tới quá trình sản xuất bột giấy và giấy (Gutiérrez et al., 2009, 2010; Poletto, 2016; He và Hu, 2013).

Nguyên liệu sản xuất bột giấy chính hiện nay tại nước ta là gỗ cứng (bạch đàn, keo tai tượng và keo lai). Cặn nhựa hiện nay là vấn đề gây ảnh hưởng lớn đến quá trình sản xuất bột giấy từ gỗ, làm giảm hiệu quả chạy máy, gây lỗi, khuyết tật giấy thành phẩm dẫn đến giảm hiệu quả cả quá trình sản xuất. Không những vậy, nước thải từ quá trình sản xuất chứa chất trích ly gỗ có thể độc hại với môi trường. Do có cấu trúc bền vững nên các axit nhựa ít bị biến đổi bởi các quá trình phân hủy hóa học và duy trì được cấu trúc trong suốt quá trình sản xuất bột giấy và thường tạo thành các keo tụ ở trong nước và gây ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng và sinh sản của động vật thủy sinh. Hiện nay, tại Việt nam có 2 nhà máy lớn sản xuất bột giấy, nhà máy Bãi Bằng sử dụng công nghệ nấu sulfat gián đoạn và cặn nhựa là vấn đề ảnh hưởng lớn tới sản xuất. Một số giải pháp đã được áp dụng trong bảo quản dăm mảnh, phun nước, bổ sung hóa chất trợ phân tán nhựa trong quá trình nấu bột v.v., nhưng vẫn chưa đem lại hiệu quả thực sự. Công ty CP Giấy An Hòa, mặc dù áp dụng công nghệ nấu liên tục với dây chuyền thiết bị mới, nhưng cặn nhựa vẫn gây ra nhiều khó khăn (gây cáu cặn đường ống, tắc lưới lọc dịch trong nồi nấu liên tục v.v.). Nước thải có chứa hóa chất

và nhựa kéo vào dòng thải cần xử lý trước khi xả vào môi trường hoặc tái sử dụng. Biện pháp kiểm soát nhựa cây được cho là thân thiện với môi trường và sức khỏe con người trong quá trình sản xuất giấy hiện nay là sử dụng vi sinh vật và enzym để phân hủy nhựa cây.

Trong tự nhiên, vi sinh vật phân hủy gỗ bao gồm nấm mốc, nấm đảm (basidiomycetes), nấm đất gỗ (sapstain fungi), và một số loại khác. Trong giải pháp này chúng tôi đề cập đến nhóm xạ khuẩn chịu nhiệt. Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật sinh trưởng nhanh chịu được nhiều điều kiện bất lợi của môi trường. Chúng có khả năng sinh bào tử và sinh tổng hợp nhiều enzym ngoại bào. Nhóm xạ khuẩn chịu nhiệt phân hủy nhựa cây có khả năng chịu được nhiệt độ cao thích ứng trong điều kiện nhiệt độ của đông ủ, sinh trưởng trong điều kiện khắc nghiệt của môi trường và sinh tổng hợp enzym ligninaza, sterol esteraza và một số enzym khác giúp phân hủy nhựa cây. Ủ nguyên liệu gỗ với vi sinh vật giúp giảm hàm lượng các chất trích ly nhựa trong nguyên liệu trước nấu dẫn đến cải thiện quá trình sản xuất và hạn chế được các chất độc hại trong nước thải.

Trên thế giới và Việt Nam chưa có công bố nào về chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 (chủng xạ khuẩn chịu nhiệt phân lập tại bãi dăm mảnh của nhà máy giấy Bãi Bằng) ứng dụng để phân hủy nhựa cây trên nguyên liệu dăm mảnh gỗ keo. Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt theo sáng chế làm giảm hàm lượng chất trích ly nhựa cây trong nguyên liệu gỗ keo và bạch đàn đến 46 - 60%.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học, có khả năng làm giảm hàm lượng chất trích ly nhựa cây trong nguyên liệu gỗ keo và bạch đàn. Cụ thể, sáng chế đề cập đến chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 phân lập từ đông ủ dăm mảnh gỗ của nhà máy giấy Bãi bằng, Phù Ninh, Phú Thọ, Việt Nam làm giảm hàm lượng chất trích ly nhựa cây trong nguyên liệu gỗ là 46-60% có trình tự đoạn 16S-rARN được nêu trong SEQ ID NO:1. Việc phân lập và xác định chủng do Phòng Vi sinh vật đất - Viện Công nghệ sinh học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam tiến hành và lưu giữ tại Viện Công nghệ sinh học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với tên nộp lưu CXD2-17.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 thể hiện ảnh chụp SEM cuống sinh bào tử của xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17.

Hình 2 thể hiện trình tự gen đoạn bảo thủ 16S rARN của chủng xạ khuẩn nội sinh *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học theo sáng chế đã được đăng ký trên ngân hàng GenBank với mã số đăng ký MT534042.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong phạm vi của sáng chế, chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 sẽ được bộc lộ rõ ràng ở đây thông qua các phương án thực hiện sáng chế.

Sáng chế đề cập đến đến chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 làm giảm hàm lượng nhựa trong nguyên liệu dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn. Chủng *Streptomyces* sp. CXD2-17 được phân lập từ bãi ủ dăm mảnh gỗ của Nhà máy Giấy Bãi Bằng, Phù Ninh, Phú Thọ, được mô tả và định danh bởi Phòng Vi sinh vật đất - Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam. Chủng theo sáng chế có trình tự đoạn 16S-rARN được nêu trong SEQ ID NO:1 đã được đăng ký trên ngân hàng GenBank với mã số đăng ký MT534042.

Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 được phân lập như sau: Bãi dăm mảnh gỗ lớn tại nhà máy Giấy Bãi Bằng, Phù Ninh, Phú Thọ, được máy xúc ủi phần dăm sâu trong đồng có nhiệt độ 40 - 60°C được thu nhận và tiến hành phân lập ngay. Mẫu gỗ sau thu thập (100 gam dăm mảnh cho vào bình tam giác có chứa 200ml nước muối sinh lý và lắc trong 30 phút ở nhiệt độ 50°C, dịch pha loãng này được hút và cho vào đĩa petri có môi trường thạch muối khoáng Czapek (g/L: NaNO₃ 3g; K₂HPO₄ 1g; MgSO₄.7H₂O 0,5g; KCl 0,5g; FeSO₄. 7H₂O 0,01g; pH 7) và 100 µM stigmas sterol. Nuôi cấy ở 50°C trong 3 ÷ 7 ngày và phân lập xạ khuẩn xuất hiện. Các chủng xạ khuẩn tách và phân lập được đánh số và cấy chuyển sang môi trường khoáng Czapek lỏng có bổ sung 100 µM stigmasterol để kiểm tra sự sinh trưởng trên môi trường có cơ chất các bon duy nhất là stigmasterol và môi trường khoáng Czapek bổ sung 0,5% chất chiết nhựa cây từ gỗ keo. Dịch nuôi cấy của chủng CXD2-17 sau 4 ngày được sử dụng để ngâm ngập với dăm mảnh gỗ (0,5 kg mảnh ngâm ngập với 1 lít dịch nuôi của chủng xạ khuẩn) để kiểm tra khả năng giảm chất chiết nhựa cây trong dăm mảnh gỗ. Sau 24 giờ, chất trích ly nhựa cây trong gỗ sau ngâm giảm trên 40%. Chủng *Streptomyces* sp. CXD2-17 thu nhận từ nhà máy giấy Bãi Bằng được đánh số CXD2-17 (CX là xạ khuẩn chịu nhiệt, D là mẫu dăm mảnh số 2 trên bãi và chủng vi sinh phân lập số 17). Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 được lựa chọn phân loại dựa trên đặc điểm hình thái và trình tự gen 16S rARN dựa trên dựa trên cặp mồi 27F (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1492R (5'-

GG(C/T)TACCTTGTTACGACTT-3') theo chu trình nhiệt: 94°C trong 5 phút, 30 chu trình (94°C trong 60 giây, 60°C trong 60 giây, 72°C trong 90 giây), 72°C trong 10 phút, giữ mẫu ở 4°C. Tác giả tiến hành, nghiên cứu đặc điểm sinh học của xạ khuẩn CXD2-17 và thử khả năng sinh trưởng, sinh tổng hợp enzym phân hủy nhựa cây sterol esteraza, laccaza, lignin peroxidaza, xenluloza và giảm nhựa cây trong dăm mảnh gỗ bằng phương pháp đánh giá trích ly trong axeton. Hiện tại, chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 này đang được lưu giữ tại Phòng Vi sinh vật đất, Viện Công nghệ sinh học. Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 là chủng xạ khuẩn được xếp vào nhóm xám, chuỗi bào tử dạng chuỗi ngắn, xoắn nhẹ. Trên các chuỗi bào tử chứa các bào tử hình trụ bề mặt nhẵn, kích thước bào tử khoảng 10 - 12 μ m. Trên môi trường thạch, khuẩn lạc *Streptomyces* sp. CXD2-17 có kích thước 2 - 5 mm, dạng bột, khô và vôi lấm tấm có các khuẩn ty khí sinh trắng xen lẫn xám khuẩn lạc có phóng xạ rõ trên môi trường thạch Bennet kiểm tra; trong môi trường lỏng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 tạo thành các pillet mịn, kích thước dưới 0,5 mm. Sinh sắc tố vàng nhạt đến vàng nâu nhạt trên môi trường nuôi Bennet sau 3-5 ngày ở nhiệt độ 35-37°C. Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt sinh trưởng trong khoảng từ 25-55°C, sinh trưởng tốt trong khoảng từ 37-45°C. Nuôi cấy chủng trên môi trường khoáng Czapek bổ sung 0,5% chất chiết nhựa cây từ gỗ keo và bạch đàn sau 84 giờ chủng sinh hoạt tính sterol esteraza trên 5654 U/L, không có hoạt tính phân hủy xenluloza và hoạt tính laccaza, sinh tổng hợp Lignin peroxidaza 158,13 U/L, chủng sinh trưởng tốt trên dăm mảnh gỗ. Theo sáng chế chủng *Streptomyces* sp. CXD2-17 khác biệt ở chỗ, là chủng xạ khuẩn chịu nhiệt phân lập tại đồng ủ bãi dăm mảnh gỗ của nhà máy giấy Bãi Bằng, Phù Ninh, Phú Thọ, Việt Nam, làm giảm hàm lượng nhựa trong nguyên liệu gỗ keo và bạch đàn 46-60% (trong điều kiện xử lý tỷ lệ bào tử *Streptomyces* sp. CXD2-17 bổ sung 50 g/tấn nguyên liệu (Chế phẩm có mật độ bào tử $> 10^9$ CFU/g), điều kiện ủ có độ ẩm 50 - 60%, ở nhiệt độ (37-45°C) sau 14-21 ngày).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây chỉ nhằm minh họa các phương án thực hiện sáng chế mà không làm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

Ví dụ 1: Phân lập và chụp ảnh SEM bào tử chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17

+ Phân lập xạ khuẩn chịu nhiệt CXD2-17

Bãi dăm mảnh gỗ lớn tại nhà máy Giấy bãi Bằng, Phù Ninh, Phú Thọ, được máy xúc ủi phần dăm sâu trong đồng có nhiệt độ khoảng trên 40 - 60°C được chúng tôi thu nhận và bảo quản ở nhiệt độ phòng và tiến hành phân lập ngay. Mẫu gỗ sau thu thập (100 gam dăm mảnh cho vào bình tam giác có chứa 100 ml nước muối sinh lý và lắc trong 30 phút ở nhiệt độ 50°C, dịch pha loãng này được hút và cho vào đĩa petri có môi trường thạch khoáng Czapek (g/L: NaNO₃ 3g; K₂HPO₄ 1g; MgSO₄.7H₂O 0,5g; KCl 0,5g; FeSO₄. 7H₂O 0,01g; pH 7) và bổ sung 100µM stigmas sterol. Các đĩa môi trường được nuôi cấy ở 50°C trong 3 ÷ 7 ngày. Khuẩn lạc các chủng xạ khuẩn phân lập được đánh số và được cấy chuyển sang môi trường khoáng Czapek lỏng có bổ sung 100 µM stigmas sterol hoặc 0,5% chất chiết nhựa cây từ gỗ keo để kiểm tra sự sinh trưởng và tách làm sạch giữ giống trên môi trường Bennet (g/L: cao nấm men: 1g; cao thịt: 1g; N-Z amin type A: 2g, glucoza: 10g; pH=7). Thu được chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17.

+ *Kiểm tra đặc điểm sinh học* theo khóa phân loại ISP. và Bergey, chụp kính hiển vi điện tử quét SEM. Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 là chủng xạ khuẩn được xếp vào nhóm xám, chuỗi bào tử dạng chuỗi ngắn, xoắn nhẹ. Trên các chuỗi bào tử chứa các bào tử hình trụ bề mặt nhẵn, kích thước bào tử khoảng 10 - 12 µm. Trên môi trường thạch, khuẩn lạc *Streptomyces* sp. CXD2-17 có kích thước 2 - 5 mm, dạng bột, khô và vôi lấm tấm có các khuẩn ty khí sinh trắng xen lẫn xám, khuẩn lạc có tia phóng xạ rõ trên môi trường thạch Bennet; trong môi trường lỏng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 tạo thành các pillet mịn đường kính dưới 0,5 mm. Sinh sắc tố vàng nhạt đến vàng nâu nhạt trên môi trường nuôi Bennet sau 3-5 ngày ở nhiệt độ 37°C. Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt sinh trưởng trong khoảng từ 25-55°C, sinh trưởng tốt trong khoảng từ 37-45°C. Kết quả chụp Sem của bào tử (a) và chuỗi sinh bào tử (b) của xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 được thể hiện trên hình 1.

+ *Xác định trình tự gen của chủng xạ khuẩn chịu nhiệt Streptomyces sp. CXD2-17:*

ADN tổng số của chủng CXD2-17 được tách chiết theo kit tách chiết ADN tổng số (NucleoSpin® Tissue extraction kit, Macherey-Nagel, Germany) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Gen mã hóa 16S rARN của chủng xạ khuẩn được khuếch đại bằng phản ứng PCR từ ADN tổng số sử dụng cặp mồi 27F (5'-TAACACATGCAAGTCGAACG-3') và 1492R (5'-GG(C/T)TACCTTGTTACGACTT-3') theo chu trình nhiệt: 94°C trong 5 phút, 30 chu trình (94°C trong 60 giây, 60°C trong 60 giây, 72°C trong 90 giây), 72°C trong 10 phút, giữ mẫu ở 4°C. Sản phẩm của phản ứng PCR được phân tích trên máy đọc trình

tự ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer, xử lý bằng phần mềm SeqAssem version 01/2005 và Sequencher version 4.0.5. Gen 16S rARN của chủng xạ khuẩn chịu nhiệt CXD2-17 có độ tương đồng cao trên 98 – 99% với các gen tương ứng của một số xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces*: Dựa trên đặc điểm sinh học và phân tích trình tự gen 16S rARN được nêu trong SEQ ID NO:1, chủng xạ khuẩn chịu nhiệt CXD2-17 có đặc điểm rất gần gũi và có độ tương đồng cao với các loài thuộc chi *Streptomyces* và được đặt tên là *Streptomyces* sp. CXD2-17, mã số đăng ký trên GenBank MT534042.

Trình tự gen đoạn bảo thủ 16S rARN của chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học được thể hiện trên hình 2 và SEQ ID NO:1. Ví dụ 2: Xác định khả năng làm giảm chất trích ly nhựa cây trong dăm mảnh gỗ

+ Một lít dịch nuôi cấy của chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 sau 84 nuôi cấy được sử dụng để ngâm ngập 500 g dăm mảnh gỗ. Đối chứng ngâm bằng nước máy. Sau 24 giờ rửa, phơi khô mảnh và trích ly nhựa cây trong axeton cho thấy hàm lượng nhựa trong mẫu ngâm với dịch lên men của chủng *Streptomyces* sp. CXD2-17 đã làm giảm khoảng 40% chất trích ly nhựa so với mẫu mảnh ban đầu, mẫu ngâm nước giảm khoảng 16%.

+ Dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn mới chặt hoặc thu mua của nhà máy giấy Bãi Bằng được cho bổ sung bào tử xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 tỷ lệ 50 g/tấn dăm mảnh (mật độ xạ khuẩn $\geq 10^9$ CFU/g), độ ẩm bổ sung 50-60% và ủ ở nhiệt độ 30 - 55°C. Kiểm tra sự phát triển của xạ khuẩn trên gỗ, trích ly kiểm tra hàm lượng nhựa cây còn lại trong nguyên liệu bằng phương pháp trích ly trong axeton và nấu đánh giá hiệu suất thu hồi xenluloza, đánh giá hàm lượng lignin thông qua chỉ số Kappa. Xạ khuẩn phát triển và tăng mật độ 10-20 lần sau 5 ngày ủ. Hàm lượng nhựa cây được kiểm tra bằng phương pháp trích ly nhựa trong axeton giảm trong nguyên liệu gỗ keo 46-60% sau 14-21 ngày, chủng không làm giảm hiệu suất thu hồi xenluloza sau 21 ngày ủ và chất lượng bột giấy không bị ảnh hưởng (hiệu suất thu hồi bột là 48,15% tương đương với đối chứng là 47,99; hệ số kappa của đồng xử lý là 17,18 so với gỗ ban đầu là 18,07). Mẫu đối chứng hàm lượng nhựa giảm 12-17% so với ban đầu.

Những hiệu quả có thể đạt được của sáng chế

Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học theo sáng chế được phân lập từ bãi dăm mảnh ủ có nhiệt độ 40-60°C, tại nhà máy giấy Bãi Bằng, Phù Ninh, Phú Thọ, Việt Nam có khả năng làm giảm chất trích ly nhựa cây trong dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn từ 46-60% sau ủ 14-21 ngày. Việc làm giảm hàm lượng nhựa cây trên dăm mảnh khi ủ chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp.

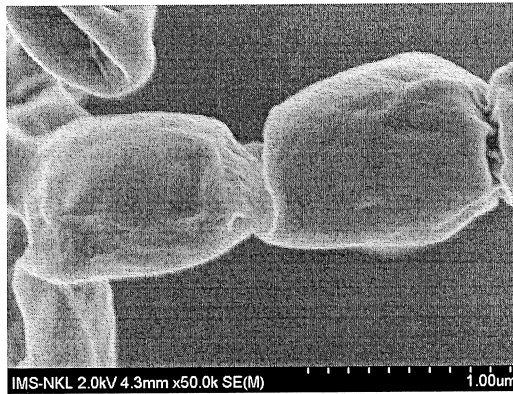
CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học với dăm mảnh đưa ra khả năng ứng dụng chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 để tiền xử lý dăm mảnh để phân hủy nhựa cây ứng dụng trong công nghiệp sản xuất bột giấy, giúp giảm ảnh hưởng nhựa cây trong nguyên liệu đến quá trình sản xuất bột giấy. Chế phẩm sinh học từ chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 có thể sản xuất đại trà để áp dụng cho các nhà máy giấy sản xuất bột giấy từ nguyên liệu gỗ cứng trong nước.

Danh mục tài liệu tham khảo

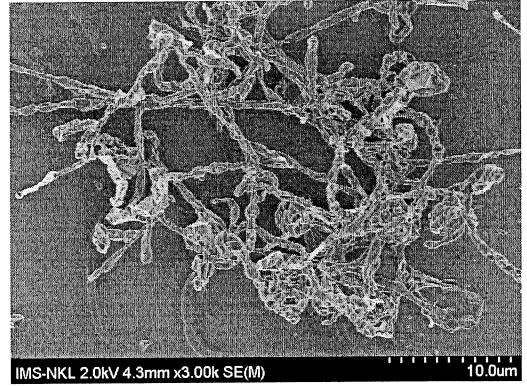
1. Gutiérrez A., del Río J. C., Martínez A. T. (2009). Microbial and enzymatic control of pitch in the pulp and paper industry. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 82: 1005–1018.
2. Gutiérrez A., del Río J. C., Martínez A. T. (2010). Fungi and Their Enzymes for Pitch Control in the Pulp and Paper Industry (chapter 17), Industrial Applications, 2nd Edition, M. Hofrichter (Ed.), Berlin.
3. Poletto M. (2016) Effect of extractive content on the thermal stability of two wood species from Brazil, *Maderas. Ciencia y tecnología* 18(3): 435 – 442.
4. He W., Hu H. (2013) Prediction of hot-water-soluble extractive, pentosan and cellulose content of various wood species using FT-NIR spectroscopy, *Bioresource Technology* 140 (2013) 299–305.
5. Morais M. S. M.; Pereira H. (2012). Variation of extractives content in heartwood and sapwood of Eucalyptus globulus trees. *Wood Science and Technology*, v.46, n.4, p.709-719.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học có khả năng làm giảm nhựa cây trong dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn, chủng này được lưu giữ tại Viện Công nghệ sinh học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với số nộp lưu CXD2-17, khác biệt ở chỗ chủng này là xạ khuẩn chịu nhiệt được phân lập từ đồng ủ dăm mảnh có nhiệt độ 40-60°C của nhà máy Giấy, Bãi Bằng, Phú Ninh, Phú Thọ, Việt Nam, có trình tự đoạn gen mã hoá 16S-rARN được nêu trong SEQ ID NO:1, mã số đăng ký trên ngân hàng GenBank là MT534042, và sau 14 - 21 ngày ủ chủng xạ khuẩn chịu nhiệt với mảnh gỗ hàm lượng nhựa giảm từ 46-60% trong điều kiện ủ dăm mảnh với độ ẩm 50 - 60% và nhiệt độ 30-45°C nhờ khả năng sinh tổng hợp enzym sterol esteraza ở lượng 5654U/L và lignin peroxydaza ở lượng 158,13U/L.

Hình 1.

a



b

Hình 2.

Nguồn gốc

```

1  ccccntgttt tttgggggaa aattccggcg ggccaggatn nccccgggcc nntcagcttg
61  ttgggggaggt aacgggttcac caagggggaan acnggtagcc gccctgagag gcgaccggcc
121 annctgggac tgagacccgg cccagattcc tacgggaggc agcagtgggg aatattgcac
181 aatgggcgca agcctgatgc agcgacggcg cgtgagggat gacggccttc gggttgtaaa
241 cctctttcag cagggaagaa gcgaaagtga cggtaacctgc agaagaagcg cgggctaact
301 acgtgccagc agccgcggta atacgtaggg cgcaagcgtt gtccggaatt attgggcgta
361 aagagctcgt aggcggccttgc tgcgctcgggt tgtgaaagcc cggggcctaa ccccgggctt
421 gcagtcgata cgggcaggct agagttcgggt aggggagatc ggaattcctg gtgtagcgggt
481 gaaatgcgca gatatacaggga ggaacaccgg tggcgaaggc ggatctcttg gccgatactg
541 acgctgagga gcgaaagcgt ggggagcgaa caggattaga tacccttgta gtccacgccg
601 taaacgggtgg gcaactagggt tgggcaacat tccacgttgt ccgtgccgca gctaacgcat
661 taagtgtccc gcctggggag tacggccgca aggctaaaac tcaaaggaat tgacgggggc
721 ccgcacaagc ggccggagcat gtggcttaat tcgacgcaac gcgaagaacc ttaccaaggc
781 ttgacataca ccggaaacat ccagagatgg gtgccccctt gtggtcgggtg tacagggtggt
841 gcatggctgt cgtcagctcg tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccgcaa cgagcgcaac
901 ccttgtcccg tgttgccagc aggccttgtt ggtgctgggg actcacggga gaccgccggg
961 gtcaactcgg aggaagggtg ggacgacgtc aagtcacat gccccttatg tcttgggctg
1021 cacacgtgct acaatggccg gtacaatgag ctgcgatacc gtgaggtgga gcgaatctca
1081 aaaagccgggt ctcaattcgg attgggggtct gcaactcgac cccatgaagt cggagtcgct
1141 agtaatcgca gatcagcatt gctgcgggtga atacgttccc gggccttgta cacaccgccc
1201 gtcacgtcac gaaagtcgggt aacacccgaa gccgggtg

```

//

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Viện Công nghiệp Giấy và Xenlulo

<120> Chủng xạ khuẩn chịu nhiệt *Streptomyces* sp. CXD2-17 thuần khiết về mặt sinh học có khả năng làm giảm nhựa cây trong dăm mảnh gỗ keo và bạch đàn

<160> 1

<210> 1

<211> 1237

<212> ADN

<213> *Streptomyces* sp.

<400> 1

```

1  ccccntgttt  tttgggggaa  aattccggcg  ggccaggatn  nccccggggc  nntcagcttg  60
61  ttggggaggt  aacggttcac  caaggggaan  acnggtagcc  gccctgagag  gcgaccggcc  120
121  annctgggac  tgagaccggg  cccagattcc  tacgggaggc  agcagtgggg  aatattgcac  180
181  aatgggcgca  agcctgatgc  agcgacgcgc  cgtgagggat  gacggccttc  gggttgtaaa  240
241  cctctttcag  cagggaaaga  gcgaaagtga  cggtagctgc  agaagaagcg  ccggctaact  300
301  acgtgccagc  agccgcggta  atacgtaggg  cgcaagcggt  gtccggaatt  attgggcgta  360
361  aagagctcgt  aggcggcttg  tcgcgtcggg  tgtgaaagcc  cggggcttaa  ccccggtct  420
421  gcagtcgata  cgggcaggct  agagtccggg  aggggagatc  ggaattcctg  gtgtagcggg  480
481  gaaatgcgca  gatatcagga  ggaacaccgg  tggcgaaggc  ggatctcttg  gccgatactg  540
541  acgctgagga  gcgaaagcgt  ggggagcgaa  caggattaga  taccctggta  gtccacgccg  600
601  taaacgggtg  gcaactaggt  tgggcaacat  tccacgttgt  ccgtgccgca  gctaacgcat  660
661  taagtgcgcc  gcctggggag  tacggccgca  aggctaaaac  tcaaaggaat  tgacgggggc  720
721  ccgcacaagc  ggccggagcat  gtggcttaat  tcgacgcaac  gcgaagaacc  ttaccaaggc  780
781  ttgacataca  ccggaaacat  ccagagatgg  gtgccccctt  gtggtcgggt  tacaggtggt  840
841  gcatggctgt  cgtcagctcg  tgtcgtgaga  tggtgggtta  agtcccgcaa  cgagcgcaac  900
901  ccttgtoocg  tggtgccagc  aggcccttgt  ggtgctgggg  actcacggga  gaccgccggg  960
961  gtcaactcgg  aggaaggtgg  ggacgacgto  aagtcatcat  gccccttatg  tcttgggctg  1020
1021  cacacgtgct  acaatggccg  gtacaatgag  ctgcgatacc  gtgaggtgga  gcgaatctca  1080
1081  aaaagccggg  ctgagttcgg  attggggtct  gcaactcgac  cccatgaagt  cggagtcgct  1140
1141  agtaatcgca  gatcagcatt  gctgcgggtg  atacgttccc  gggccttgta  cacaccgcc  1200
1201  gtcacgtcac  gaaagtcggt  aacacccgaa  gccgggtg  1237

```