

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP.HCM  
TRUNG TÂM THÔNG TIN VÀ THỐNG KÊ KH&CN



## **BÁO CÁO PHÂN TÍCH XU HƯỚNG CÔNG NGHỆ**

Chuyên đề:

### **XU HƯỚNG PHÁT TRIỂN SẢN PHẨM CELLULOSE SINH HỌC TẠI VIỆT NAM**



***Biên soạn:*** Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ

***Với sự cộng tác của:***

- **TS. Phan Mỹ Hạnh**

*Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh*

*TP.Hồ Chí Minh, 08/2019*

## MỤC LỤC

### **I. TỔNG QUAN VỀ TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG CELLULOSE SINH HỌC TRÊN THẾ GIỚI VÀ TẠI VIỆT NAM. .... 1**

1. Tình hình nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học trên thế giới..... 2
2. Các sản phẩm từ cellulose sinh học hiện có tại Việt Nam và xu hướng sắp tới 15

### **II. PHÂN TÍCH XU HƯỚNG VỀ NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG CELLULOSE SINH HỌC TRÊN CƠ SỞ SỐ LIỆU SÁNG CHẾ QUỐC TẾ. 18**

1. Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo thời gian..... 18
  2. Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học tại các quốc gia..... 20
  3. Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo các hướng nghiên cứu..... 22
  4. Các đơn vị dẫn đầu sở hữu số lượng công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học ..... 23
  5. Một số sáng chế tiêu biểu..... 24
- Kết luận ..... 25

### **III. QUY TRÌNH SẢN XUẤT CELLULOSE SINH HỌC TỪ CHỦNG K. NATAICOLA TẠI TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ SINH HỌC TP. HỒ CHÍ MINH..... 26**

1. Quy trình sản xuất cellulose sinh học: Chủng K. nataicola, môi trường BC NUTRI, khay BC NUTRI và giải pháp nuôi cấy tạo màng thô ở quy mô công nghiệp. .... 27
2. Ứng dụng tạo mặt nạ dưỡng da, màng trị bỏng, bao bì tự phân hủy, thạch dừa và các ứng dụng tiềm năng khác trong ngành thực phẩm, y dược, mỹ phẩm, dệt may, bao bì,... ..... 30
3. Lợi ích của việc sản xuất cellulose sinh học trên quy mô công nghiệp sử dụng môi trường BC NUTRI 02 ..... 32

# XU HƯỚNG PHÁT TRIỂN SẢN PHẨM CELLULOSE SINH HỌC TẠI VIỆT NAM

\*\*\*\*\*

## I. TỔNG QUAN VỀ TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG CELLULOSE SINH HỌC TRÊN THẾ GIỚI VÀ TẠI VIỆT NAM.

Cellulose sinh học, còn được gọi là cellulose vi khuẩn hay cellulose vi sinh, là cellulose do vi khuẩn sinh tổng hợp. Bản chất của nó là một polysaccharit mạch thẳng được hình thành nhờ các đơn phân glucose liên kết với nhau theo liên kết  $\beta$ -1,4 glycosid. Trong công nghiệp, cellulose sinh học thường được sản xuất bởi *Acetobacter xylinum*. So với sợi thực vật, cellulose sinh học có đường kính nhỏ hơn (khoảng 25nm - 100nm) và có cấu trúc chặt chẽ. Thành phần hóa học tinh khiết hơn sợi thực vật chưa qua xử lý vì sợi thực vật thường có chứa hemicellulose và lignin. Ngoài ra, so với sợi thực vật nói chung, khả năng chịu kéo, độ dẻo và khả năng giữ nước của cellulose sinh học tốt rất phong phú, tốt hơn và cao hơn. Do đó, cellulose sinh học phù hợp hơn để sử dụng làm vật liệu y tế như băng vết thương, da nhân tạo, mặt nạ...

Hiện nay, khái niệm cellulose sinh học còn xa lạ với nhiều người, tuy nhiên sản phẩm từ cellulose sinh học từ lâu đã đi vào đời sống và được sử dụng trong nhiều lĩnh vực, một trong những sản phẩm truyền thống phổ biến từ chúng tại Việt Nam chính là thạch dừa. Các cơ sở sản xuất thạch dừa thô (màng cellulose sinh học thô chưa qua xử lý) được xem là một ngành nghề truyền thống, tập trung chủ yếu tại Bến Tre và chủ yếu sản xuất ở quy mô nhỏ lẻ, sử dụng nước dừa làm môi trường chính để nuôi cấy thu sinh khối nên sản lượng không cao, phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện tự nhiên.

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu ứng dụng cellulose sinh học bắt đầu đi dần vào cuộc sống tại Việt Nam. Nhờ khả năng hấp thụ, giữ nước cao (trên 80%), độ bền kéo đứt lớn, độ co giãn, đàn hồi tốt, là một polymer hoàn toàn không độc hại, trợ với các quá trình trao đổi chất của con người, đẹp về mặt thẩm mỹ nên ngoài thạch dừa, cellulose sinh học được tập trung nghiên cứu để làm các sản phẩm như mặt nạ dừa, miếng thấm dầu.... Tuy nhiên, xét về tiềm

năng thì những sản phẩm này chỉ là phần nổi của tảng băng chìm cần tiếp tục khám phá.

## **1. Tình hình nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học trên thế giới**

### **1.1 Các chủng sinh tổng hợp cellulose sinh học**

Các nghiên cứu về cellulose sinh học đã bắt đầu từ lâu. Năm 1886 nhà bác học Brown phát hiện vi khuẩn Aceti có khả năng sinh tổng hợp một lớp màng cellulose tinh khiết cứng màu vàng. Vi khuẩn này lúc đó còn được gọi là “nhà máy sản xuất dấm”, vì chúng được sử dụng để sản xuất acid acetic. Đến năm 1954, S. Hestrin và M. Schramm nhắc đến lần nữa khi phát hiện chủng *Acetobacter xylinum* (nay được gọi là *Komagataeibacter xylinus*) có khả năng sinh tổng hợp lớp màng cellulose trong môi trường có glucose và oxy (S. Hestrin và M. Schramm, 1954). Kể từ thời điểm đó, một loạt các nghiên cứu cơ bản về con đường sinh tổng hợp cellulose sinh học, gene mã hóa quá trình tổng hợp cellulose, các chủng sinh tổng hợp cellulose sinh học, đặc điểm lý hóa của cellulose đã được tiến hành, đồng thời, các nghiên cứu ứng dụng từ cellulose sinh học bắt đầu được báo cáo trên toàn thế giới.

Theo hệ thống phân loại Bergey (2005), chi *Gluconacetobacter* thuộc họ vi khuẩn *Acetobacteraceae*, có khoảng 17 loài. Tuy nhiên theo Yamada và cộng sự, trong chi này có sự khác biệt về kiểu gen và kiểu hình giữa các loài, nhóm đại diện *Gluconacetobacter liquefaciens* có khả năng di động và tạo sắc tố nâu trong khi nhóm đại diện *Gluconacetobacter xylinus* không có khả năng này. Do vậy năm 2012, Yamada và cộng sự chia chi *Gluconacetobacter* thành hai chi mới là chi *Komagataeibacter* (đại diện là *Komagataeibacter xylinus*) và chi *Gluconacetobacter* (đại diện là *Gluconacetobacter liquefaciens*) (Yamada và cs, 2012).

Chi mới *Komagataeibacter* đến nay có 14 loài, gồm:

- *Komagataeibacter xylinus* (Brown, 1886);
- *Komagataeibacter hansenii* (Gossele, 1983);
- *Komagataeibacter europaeus* (Sievers, 1992);
- *Komagataeibacter sucrofermentans* (Toyosaki, 1996);
- *Komagataeibacter oboediens* (Sokollek, 1998);

- *Komagataeibacter intermedius* (Boesch, 1998);
- *Komagataeibacter rhaeticus* (Dellaglio, 2005);
- *Komagataeibacter swingsii* (Dellaglio, 2005);
- *Komagataeibacter saccharivorans* (Lisdiyanti, 2006);
- *Komagataeibacter nataicola* (Lisdiyanti, 2006);
- *Komagataeibacter kombuchae* (Dutta và Gachhui, 2007);
- *Komagataeibacter kakiaceti* (Iino, 2012);
- *Komagataeibacter maltaceti* (Slapšak, 2013);
- *Komagataeibacter medellinensis* (Castro, 2013).

## **1.2 Vai trò sinh lý của cellulose sinh học**

Trong các tài liệu khoa học cũng có một số quan điểm về vai trò sinh lý của cellulose sinh học trong các hoạt động sống của vi khuẩn. Trong môi trường sống tự nhiên phần lớn vi khuẩn sinh tổng hợp polysacharides ngoại bào tạo thành lớp vỏ bao bọc bên ngoài tế bào (Costeron, 1999). Giả thiết khác là vi khuẩn tổng hợp polymer ngoại bào để giữ cố định tế bào trong môi trường hiếu khí. Các tế bào vi khuẩn sinh tổng hợp cellulose được giữ cố định trong mạng lưới polymer, mạng lưới này dễ dàng di chuyển đến khu vực không gian có sự giao nhau giữa pha khí và lỏng (Williams W.S., 1989). Đây cũng là lý do tại sao các vi khuẩn này có thể sống được trong môi trường nước thải (Jonas R., 1998).

Một nguyên nhân khác có thể là vì vấn đề dinh dưỡng: tạo ra một mạng lưới cần thiết giúp hấp thụ chất dinh dưỡng từ môi trường và giữ lại ở đó. Như vậy, vi khuẩn sẽ dễ dàng tiếp cận nguồn dinh dưỡng hơn do nồng độ các chất trong mạng lưới sẽ tăng lên nhiều lần nếu so với khu vực xung quanh nhờ khả năng hấp thụ của mạng cellulose (Jonas R., 1998; Costeron, 1999).

Một số tác giả cho rằng cellulose do *A. xylinum* sinh tổng hợp còn đóng vai trò là chất dự trữ và có thể sẽ được vi khuẩn sử dụng nếu rơi vào tình trạng bị chết đói. Trong trường hợp này, việc phân hủy sẽ diễn ra nhờ enzyme exo- và endoglucanases, người ta đã phát hiện sự tồn tại của các enzyme này trong dịch nuôi cấy của một vài chủng sinh tổng hợp cellulose (Okamoto T., 1994).

Một vai trò sinh lý khác của cellulose theo giả thuyết – ngăn chặn các đối thủ tiềm năng nhờ độ kết dính và tính ưa nước của màng cellulose. Ma trận polymer giúp tăng khả năng chống chọi của các tế bào vi khuẩn đối với những thay đổi không mong muốn (như mất nước, thay đổi pH môi trường, xuất hiện chất độc, có các vi sinh vật gây bệnh,...), trong môi trường này các tế bào vẫn có thể sinh sôi nảy nở và phát triển trong ma trận.

Ngoài ra, cellulose còn có thể có một vai trò rất quan trọng là bảo vệ tế bào khỏi tia bức xạ cực tím. Những nghiên cứu của H.M. Koo và cộng sự trên môi trường nuôi cấy *A. xylinum* cho thấy cellulose bảo vệ tế bào khỏi ảnh hưởng của tia cực tím nhờ khả năng ngăn ánh sáng (Koo H.M., 1991). Các nghiên cứu cũng chứng minh rằng khi các vi khuẩn sinh axit acetic bị chiếu tia cực tím trong vòng 1 giờ, các tế bào có màng cellulose bao xung quanh có khả năng sống sót đến 23%, trong khi những tế bào có màng bảo vệ là polysaccharides chỉ có khả năng sống sót đến 3 % (Ross P., 1991).

Cellulose sinh học giúp giữ ẩm cho tế bào vi khuẩn. Các nghiên cứu đã chứng minh rằng trong các môi trường trên các cơ chất khô tự nhiên có nuôi cấy *A. xylinum* thì độ ẩm của môi trường đó sẽ cao hơn nhiều so với cùng loại nhưng không cấy *A. xylinum* (Ross P., 1991).

Như vậy có thể thấy, tổng hợp cellulose trong các chủng vi sinh này đóng vai trò sinh lý cực kỳ quan trọng và đa dạng, là cơ chế sinh tồn tiến hóa quan trọng của những chủng có khả năng sinh tổng hợp cellulose sinh học.

Năm 2008, các nhà khoa học Malcolm Brown và David Nobles thuộc Đại học bang Texac đã tạo ra chủng vi khuẩn lam (Cyanobacteria) biến đổi gen, có khả năng sinh tổng hợp cellulose mạch ngắn – là loại cellulose có thể dễ dàng chuyển hóa thành ethanol và các nguồn nhiên liệu sinh học khác. Theo các nhà nghiên cứu này, nếu sử dụng chủng để sản xuất ở quy mô lớn có thể sẽ đáp ứng được đáng kể nhu cầu nhiên liệu trong nước. Hơn nữa, các gen sinh tổng hợp cellulose của chủng *A.xylinum* có thể được đưa vào (tái tổ hợp) với những loại vi sinh vật khác, ví dụ như *E. Coli* để sản xuất nguồn nhiên liệu sinh học mới. Ngoài ra, năm 2008, D. R. Nobles và R. M. Brown đã chuyển gen sinh tổng hợp

cellulose từ *G. xylinus* vào khuẩn lam để tạo dòng khuẩn lam mới có khả năng tổng hợp cellulose (công bố sáng chế: US2008085520-A1; US7803601-B2).

Các nghiên cứu chuyên sâu về quá trình tổng hợp cellulose sinh học dựa trên chủng *A. xylinum* (*G. xylinus*) được S. Hestrin và cs thực hiện trong giai đoạn từ năm 1946 đến 1963. Nhóm nghiên cứu do S. Hestrin tại Đại học (Hebrew) Châu Âu đã công bố một số công trình nghiên cứu liên quan đến chủng sinh tổng hợp cellulose sinh học và các đặc điểm của chủng (Hestrin S., 1952).

### **1.3 Đặc điểm của cellulose sinh học**

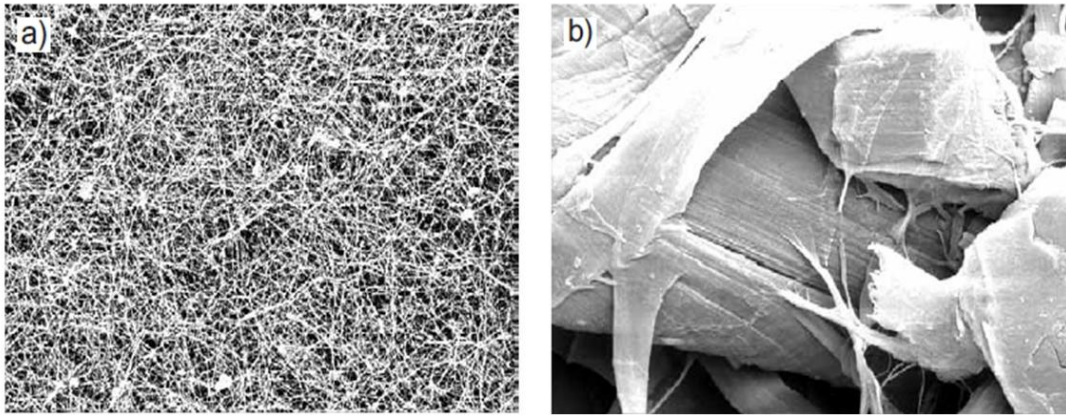
Cellulose sinh học rất hiếm gặp ở Prokaryote. Trong cấu trúc tế bào vi khuẩn, thành phần cơ bản của thành tế bào thường gặp là peptidoglycan (gram dương) và lipopolysaccharide (gram âm).

Cellulose là thành phần chính của thành tế bào thực vật, tạo và được cấu tạo từ các đơn phân D-glucose, nối với nhau bằng liên kết 1,4- $\beta$ -glucoside tạo thành mạch thẳng không phân nhánh.

Cấu trúc cellulose sinh học rất giống với cấu trúc cellulose thực vật, tuy nhiên chúng khác biệt ở số lượng đơn phân D-glucose trong một chuỗi dẫn đến khác biệt về mức độ polymer hóa (degree of polymerization).

Ví dụ, cellulose trong sợi bông có mức độ polymer hóa trên thành tế bào bậc một khoảng 2000 - 6000, bậc hai - 13000 - 14000, cellulose từ *Gluconacetobacter xylinus* - 2000 - 6000; cellulose trong gỗ - 8000 - 10000 đơn phân (Neverova O.A., 2007).

Phân tích cấu trúc bằng tia X cho thấy phân tử cellulose sinh học có dạng vi sợi, các vi sợi này kết hợp với nhau tạo thành các bó sợi, các bó sợi kết hợp tạo các thớ sợi có đường kính từ 1,5 - 2nm với chiều dài microfibrill tầm 50-100  $\mu$ m. Các sợi macrofibrill cellulose có kích thước nhỏ hơn nhiều nếu so với kích thước của các sợi cellulose thực vật (W. Czaja, 2006) (Hình 1). Độ kết tinh là một trong những tính chất quan trọng của cellulose.

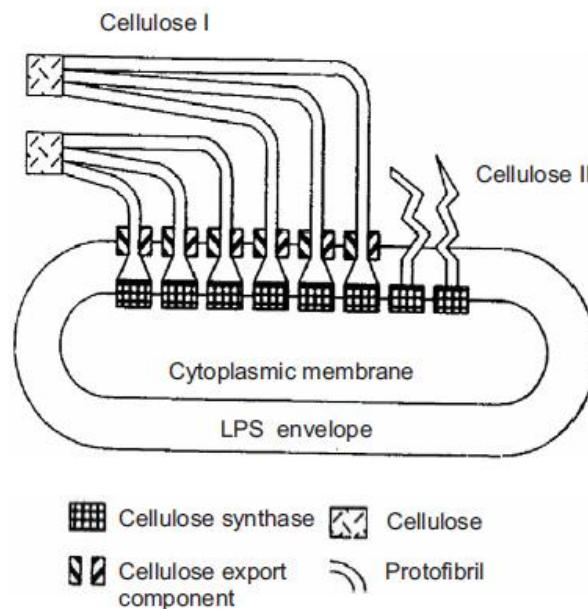


*a – cellulose sinh học*

*b – cellulose thực vật (W. Czaja, 2006)*

**Hình 1: So sánh cellulose sinh học và cellulose thực vật.**

Khả năng ngậm nước của cellulose sinh học cao từ 96 – 98,2 %. Khi nuôi cấy ở môi trường tĩnh sẽ tạo màng, nuôi cấy lắc sẽ tạo thành các hạt với kích thước tùy thuộc tốc độ khuấy. Các sợi cellulose có thể ở dạng I $\alpha$  và I $\beta$ , đây là loại cellulose có trong thành tế bào thực vật và tảo. Màng thu được bằng phương pháp nuôi cấy tĩnh có chứa nhiều I $\alpha$  hơn là nuôi cấy lắc (Hình 2). Cellulose I $\alpha$  tạo cấu trúc bền hơn I $\beta$ . Cellulose sinh học có chứa đến gần 60% là I $\alpha$  trong khi ở thực vật chỉ tầm 30 %. Ở thực vật cellulose I $\beta$  chiếm phần lớn (Sugiyama J., 1991).



**Hình 2: Cấu trúc cellulose I $\alpha$  (Cellulose I) và I $\beta$  (Cellulose II) (M. Iguchi., 2000)**

Cellulose trong thành tế bào thực vật chiếm khoảng 32 – 56 % tổng trọng lượng tế bào, tuy nhiên trong thành phần tế bào thực vật còn có hemicellulose và lignin và các chất khác (Bảng 1) còn polymer thu nhận bằng phương pháp nuôi



cây tñnh các vi khuẩn nhóm Komagataeibacter chỉ chứa cellulose ở dạng tinh chất. Đây là một trong những yếu tố quan trọng để sử dụng cellulose trong nhiều ngành công nghiệp khác nhau.

**Bảng 1: Thành phần hóa học của một vài loại vật liệu có chứa cellulose**  
(Peter Zugenmaier, 2008)

Nguồn		Thành phần polymer trong các loại vật liệu có chứa cellulose (%)			
Tên tiếng việt	Tên tiếng anh	Cellulose	Hemicellulose	Lignin	Dịch chiết
Gỗ cứng	Hardwood	43-47	25-35	16-24	2-8
Gỗ mềm	Softwood	40-44	25-29	25-31	1-5
Bã mía	Bagasse	40	30	20	10
Xơ dừa	Coir	32-43	10-20	43-49	4
Bắp ngô	Corn cobs	45	35	15	5
Thân ngô	Corn stalks	35	25	35	5
Cotton	Cotton	95	2	1	0.4
Lanh (đã giã)	Flax (retted)	71	21	2	6
Lanh (chưa giã)	Flax (unretted)	63	12	2	6
Cây gai dầu	Hemp	70	22	6	2
Cây thùa sợi	Henequen	78	4-8	13	4
Sợi thùa	Istle	73	4-8	17	2
Sợi đay	Jute	71	14	13	2
Cây dâm bụt	Kenaf	36	21	18	2
Cây gai	Ramie	76	17	1	6
Cây xizan	Sisal	73	14	11	2

Nguồn		Thành phần polymer trong các loại vật liệu có chứa cellulose (%)			
Tên tiếng việt	Tên tiếng anh	Cellulose	Hemicellulose	Lignin	Dịch chiết
Cây lục lạc	Sunn	80	10	6	3
Rơm lúa mì	Wheat straw	30	50	15	5

Cellulose sinh học có khả năng hút nước mạnh, trợ về mặt hóa học, độ bền vật lý cao (khi độ ẩm không quá 30%), hình dạng linh hoạt. Độ trong suốt của cellulose sinh học được xác định chủ yếu dựa vào lượng cellulose I $\alpha$  có trong cấu trúc, làm cho màng cellulose sinh học đục hơn so với cellulose thực vật.

Màng thu được trên môi trường nuôi cấy tĩnh có mạng lưới các sợi đan xen nhau, các bó sợi microfibrill này có chiều dài khoảng 500 nm và độ dày 10 nm. Các bó sợi này được cấu tạo từ các vi sợi có đường kính cắt ngang 16 x 58 Å, dày 3-4 nm với đường kính 24-86 nm. Kích thước đường kính fibrils trong khoảng từ 72-175 nm và 70-130 nm.

Do cellulose sinh học được cấu tạo từ các sợi cellulose có kích thước nano, do vậy tính chất của sản phẩm thu được phụ thuộc vào cấu trúc của sợi nano, cũng chính vì lý do này mà polymer cellulose còn được gọi là nanocellulose. Theo tính chất, cellulose sinh học khác biệt so với cellulose thực vật (Bảng 2)

**Bảng 2: So sánh giữa cellulose thực vật và cellulose sinh học**

Tính chất	Cellulose thực vật	Cellulose sinh học	Nguồn trích dẫn
Bề ngang của sợi	1.4-4.0x 10 <sup>-2</sup> mm	70 – 80 nm	Pecoraro và cs 2008 Bielecki và cs 2004;
Độ kết tinh	56-65%	65-79%	Yamanaka và cs 1998;
Mức độ polymer hóa	13000-14000	2000-6000	Sakurada và cs 1962; Eichhorn và cs 2010

Young's module	Cotton	5.5-13 Pa	lá 15 – 30 GPa	
	Đay	27 GPa	sợi ~120 GPa	
	Lanh	28 GPa	tinh thể ~138 GPa	
% nước	60%		98.5%	Pecoraro và cs 2008

So sánh cellulose tinh thể với các vật liệu khác cho thấy cellulose tinh thể rất cứng và hoàn toàn có tiềm năng thay thế một số loại vật liệu từ kim loại đang được sử dụng rộng rãi hiện nay.

**Bảng 3: So sánh cellulose tinh thể với các loại vật liệu khác**

*(S. J. Eichhorn, January 2010)*

Vật liệu	Modulus (GPa)	Mật độ (Mg m <sup>-3</sup> )	Tỷ trọng riêng (GPa Mg <sup>-1</sup> m <sup>3</sup> )
Nhôm	69	2,7	26
Thép	200	7,8	26
Thủy tinh	69	2,5	28
Cellulose kết tinh	138	1,5	92

Theo S. Bielecki (2002), cellulose sinh học có những tính chất vô cùng độc đáo như nó có độ tinh khiết rất cao, độ tinh thể hóa cao, mật độ đạt 300-900 kg/m<sup>3</sup>, độ bền kéo đứt lớn, khả năng hấp thụ, khả năng giữ nước cao, đồng thời có độ co giãn, đàn hồi và độ dẻo tốt. Ngoài ra, cellulose sinh học hoàn toàn không độc hại, là một polymer phân hủy sinh học, trợ đời với các quá trình trao đổi chất của con người.

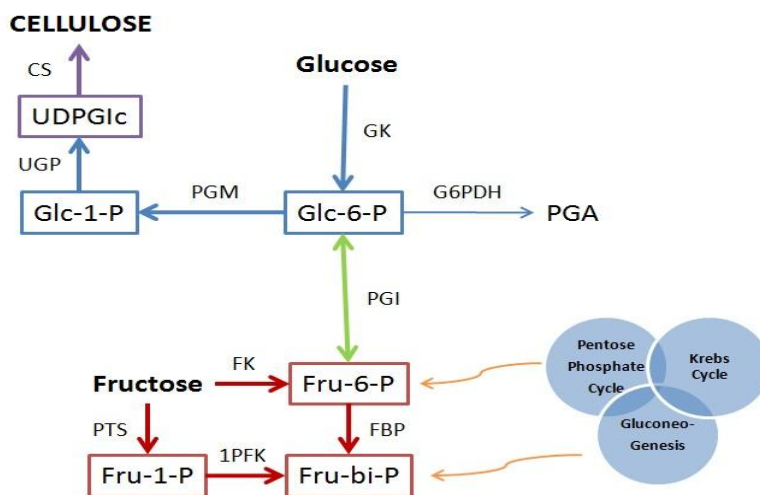
#### **1.4 Cơ chế sinh tổng hợp cellulose sinh học**

Tất cả các vi khuẩn hiếu khí bắt buộc thuộc chi *Actetobacter* và *Komagataeibacter* spp. đều có hai con đường chuyển hóa chính: con đường pentozophosphat để oxy hóa carbonhydrates và con đường glycolysis hoạt động yếu hơn. Có các enzyme thuộc chu trình Krebs để oxy hóa các acid hữu cơ và các chất sinh tổng hợp từ chúng. Các gen và cấu trúc của các protein tham gia và quá trình sinh tổng hợp cellulose đã được rất nhiều nhà khoa học nghiên cứu và đến nay đã tương đối hoàn chỉnh. Các con đường sinh hóa và mô hình điều tiết sinh tổng hợp cellulose từ chủng *A. xylinum* đã được nghiên cứu kỹ (Brown

A.J., 1886; Ross P., 1991; Standal R., 1994; Saxena I.M.; 1994; Delmer D.P., 1995, Tonouchi N., 1994; De Wulf P., 1996,...)

Các loài *Komagataeibacter* spp. có khả năng sử dụng nhiều nguồn carbon khác nhau, chẳng hạn như hexoses, glycerol, dihydroxyacetone, pyruvate và axit dicarboxylic. Trong trường hợp này chúng sinh tổng hợp cellulose với hiệu suất chuyển hóa là gần 50 % (Cannon R. E., 1991).

Chu trình sinh tổng hợp cellulose sinh học từ glucose và fructose (Hình 3).



*CS: cellulose synthase*

*GK: glucokinase*

*FBP: fructose-1,6-biphosphate phosphatase*

*FK: fructokinase, 1PFK - fructose-1-phosphate kinase*

*PGI: phosphoglucoisomerase,*

*PMG: phosphoglucomutase*

*PTS: system of phosphotransferases*

*UGP: pyrophosphorylase uridine diphosphoglucose*

*UDPGlc: uridine diphosphoglucose*

*G6PDH: glucose-6-phosphate dehydrogenase*

*NAD: nicotinamide adenine dinucleotide*

*NADP: nicotinamide adenine dinucleotide*

*Phosphate*

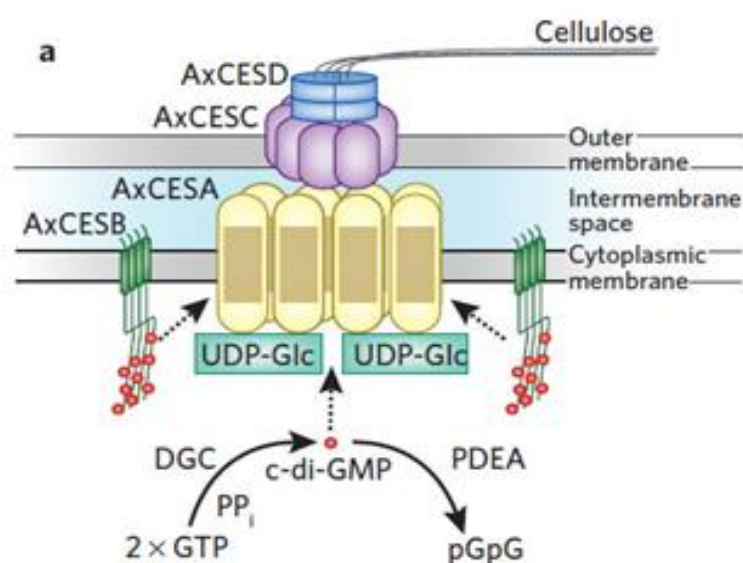
**Hình 3: Quy trình sinh tổng hợp cellulose sinh học (Chawla P.R., 2009)**

Đặc điểm của các gen nằm trên operon sinh tổng hợp cellulose (cellulose-synthesizing operon - bcs operon) ở *Acetobacter xylinum* được I.M. Saxena, K. Kudlicka, K. Okuda và R.M. Brown công bố vào năm 1994 (Saxena I.M., 1994).

Phân tích trình tự các nucleotide cho thấy operon quy định sinh tổng hợp cellulose có chứa 9217 cặp bazơ, bao gồm 3 đoạn gen (*axcesAB*, *axcesC*, và *axcesD*) hoặc 4 đoạn gen (*axcesA*, *axcesB*, *axcesC*, và *axcesD*) (Wong H.C., 1990; Kawano S., 2002). Ngoài ra, 2 gen *cmcax* và *ccpax* nằm trước khu vực

chứa operon này (Standal R., 1994). Phân tử lượng của các protein do các gen *axcesA* (*bcsA*), *axcesB* (*bcsB*), *axcesC* (*bcsC*), và *axcesD* (*bcsD*) quy định lần lượt là 84.4, 85.3, 141.0 và 17.3 kDa. Các gen *AxcesA* (*bcsA*) và *AxcesB* (*bcsB*) tham gia vào quá trình xúc tác và điều hòa quá trình polymer hóa của các mạch đơn glucan và nằm trên màng tế bào chất.

Cấu trúc phân bố của hệ cellulose synthase và chức năng của các tiểu đơn vị như (Hình 4).



**Hình 4: Mô hình hệ thống sinh tổng hợp cellulose trong tế bào *Acetobacter xylinum* (Endler A., 2010)**

Năng suất sinh tổng hợp cellulose sinh học phụ thuộc rất nhiều vào bộ gen của các chủng và sự hình thành các tế bào không có khả năng sinh tổng hợp cellulose. Vào năm 1954, S. Hestrin và M. Schramm đã công bố phát hiện về sự xuất hiện của các tế bào *A. xylinum* bị đột biến không có khả năng sinh tổng hợp cellulose. Chúng được gọi chung là Cell + nếu có khả năng tổng hợp cellulose và Cell – nếu bị đột biến mất khả năng này. Đã có những giả thiết về mặt di truyền về sự suy giảm khả năng sinh tổng hợp cellulose sinh học. Khi các chủng sinh tổng hợp cellulose được nuôi cấy trong một thời gian dài ở điều kiện lắc khuấy thì có sự hình thành một cách tự phát các tế bào đột biến không có khả năng sinh tổng hợp cellulose (Cell -). R. Steel và T.K. Walker (1958) phát hiện sự xuất hiện của các Cell – khi môi trường bị sục khí. Sau đó phát hiện vẫn có thể duy trì

sản lượng cellulose trong điều kiện môi trường khuấy đảo mà không có sự hình thành Cell – nếu sử dụng môi trường có chứa ethanol.

Năm 1995, Bio Polymer Research (BPR) Co. Ltd. đã phân lập được chủng có năng suất tạo cellulose cao - *A. xylinum* subsp. *sucrofermentans* BPR2001 trong điều kiện khuấy đảo liên tục (Toyosaki H., 1995). Năng suất của các chủng khác sinh tổng hợp cellulose được trình bày trong **Bảng 1** Bảng 4

**Bảng 4: Năng suất của một số chủng sinh tổng hợp cellulose sinh học (Chawla P.R., 2009; Hutchens S.A., 2007; Sáng chế RU 2189394, 2002)**

Tên chủng	Nguồn carbon, chất kích thích	Thời gian nuôi cấy	Khối lượng cellulose khô tạo thành (g/l)
<i>Acetobacter xylinum</i> BKM B880	Dịch thủy phân thực vật, protein	5 ngày	11.3
<i>Acetobacter</i> sp. V6	Glucose, ethanol	8 ngày	4.16
<i>Acetobacter</i> sp. A9	Glucose, ethanol	8 ngày	15.20
<i>Acetobacter xylinum</i> BPR2001	Fructose, agar	56 giờ	12.00
<i>Acetobacter xylinum</i> E25	Glucose	7 ngày	3.50
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> (K3)	Mannitol, trà xanh	7 ngày	3.34
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> IFO 13773	Glucose, lignosulfonate	7 ngày	10.10
<i>Acetobacter xylinum</i> NUST4.1	Glucose, sodium alginate	5 ngày	6.00
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> IFO 13773	Mật ri	7 ngày	5.76
<i>Gluconacetobacter</i> sp. RKY5	Glycerol	144 giờ	5.63
Co-culture <i>Gluconacetobacter</i> sp. st-60–12 и <i>Lactobacillus mali</i> JCM1116	sucrose	72 giờ	4.20
<i>Acetobacter xylinum</i> BRC 5	Glucose, ethanol, oxy	50 giờ	15.30

<b>Tên chủng</b>	<b>Nguồn carbon, chất kích thích</b>	<b>Thời gian nuôi cấy</b>	<b>Khối lượng cellulose khô tạo thành (g/l)</b>
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> PJK (KCTC 10505 BP)	Glucose, ethanol	72 tiếng	2.50
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> ATCC 10821	Glucose, mannitol	22 ngày	16
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> GH-1/2008 (*)	H5, Sucrose	7 ngày	28.8
<i>Komagaitaieibacter nataicola</i> BC-B0007 (**)	BC NUTRI 02, sucrose	7 ngày	26-30

*Chú thích:*

\* Chủng của Đại học Tổng hợp Y khoa 1 Quốc gia Mátxcova mang tên I.M. Sechenov

\*\* Chủng của Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

### **1.5 Nghiên cứu ứng dụng cellulose sinh học trên thế giới**

Có thể thấy, từ năm 1954 đến nay có rất nhiều các nghiên cứu chuyên sâu liên quan đến các chủng sinh tổng hợp cellulose sinh học, môi trường nuôi cấy và cách tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy, cơ chế sinh tổng hợp, cấu trúc màng, các phương pháp gây biến tính và nghiên cứu ứng dụng cellulose vi sinh.

Liên quan đến các sản phẩm đã được bán thương mại trên thị trường từ cellulose sinh học có thể kể đến như Nata de Coco (Thạch dừa), sản phẩm của công ty Xylos Corp. (Mỹ) - Prima Cel™, sản phẩm Biofill™ và Bioprocess™ của công ty Fzmb GmbH Đức (P.R. Chawla và cs., 2009), BASYC® (Bacterial Synthesised Cellulose) của Friedrich Schiller University Jena (Đức), Cellulon® của Weyerhaeuser Co. (Tacoma, Washington, Mỹ), Cetus Co. (Emeryville, California, Mỹ), sản phẩm dệt may của công ty Nanollose,....

Liên quan đến mặt nạ từ cellulose sinh học, sản phẩm này đã tương đối phổ biến tại một số nước như Trung Quốc, Hàn Quốc và các nước thuộc khu vực Đông Nam Á.

Ngoài những sản phẩm thương mại đã hoàn thiện kể trên, một loạt các nghiên cứu ứng dụng cellulose sinh học đang tiếp tục được nghiên cứu và đưa vào thực tế, đặc biệt là các dạng nanocomposite mới từ cellulose sinh học phục

vụ trong lĩnh vực công nghệ cao, các hướng nghiên cứu rất đa dạng, bao gồm các hướng chính như (M. Iguchi và cs, 2000; Bielecki S. 2005; Klemm D. và cs, 2005; Hernán Charreau và cs, 2013; Campano, 2015):

- Mỹ phẩm: chất ổn định, mặt nạ dưỡng ẩm
- Công nghiệp dệt may: vải, tơ lót
- Vật liệu thấm hút nước
- Du lịch và thể thao: quần áo thể thao, lều bạt và thiết bị cắm trại
- Tái chế chất thải: bột để loại bỏ chất bẩn, vật liệu để hấp phụ độc tố, chế biến khoáng sản và dầu
- Công nghệ dầu khí: lọc dầu
- Xử lý nước thải: bằng phương pháp siêu lọc
- Phát thanh truyền hình: màng cảm ứng cho tai nghe
- Lâm nghiệp: gỗ nhân tạo, ván ép và container
- Công nghiệp chế biến giấy: giấy chất lượng cao, sửa chữa giấy tờ lưu trữ, giấy lau, khăn tay...
- Công nghiệp ô tô: thân xe, các bộ phận máy bay...
- Công nghệ cao: màn hình điện thoại thông minh (smartphone)
- Công nghiệp thực phẩm: thạch dừa, thực phẩm chức năng bổ sung chất xơ...
- Y dược: da nhân tạo, băng cá nhân, vật liệu làm răng giả, implant...
- Sử dụng trong phòng thí nghiệm: màng cố định protein, thành phần môi trường, cố định enzym, vi khuẩn....

Nói tóm lại, ở đâu ứng dụng cellulose thực vật thì ở đó có thể dùng cellulose sinh học để thay thế.

Tháng 06 năm 2014, một nhóm các nhà nghiên cứu làm việc tại viện công nghệ hoàng gia KTH, Stockholm, Thụy Điển đã phát triển một phương pháp khiến các sợi cellulose trở nên cứng như thép về tỉ lệ độ cứng/trọng lượng từ cellulose gỗ và muối ăn (Karl M. O., 2014). Ý tưởng của phương pháp này là nén các sợi cellulose ngắn dưới áp suất rất cao để tạo thành bó cellulose cứng, các mạch cellulose càng nhỏ thì độ bền, cứng của vật liệu thu được càng cao.



Như vậy, khi thay thế cellulose gỗ bằng các sợi nano cellulose vi sinh thì các đặc điểm vật lý của sợi “thép cellulose vi sinh” thu được sẽ có bước nhảy vọt.

Danh sách các ứng dụng này vẫn đang tiếp tục phát triển và ngày càng nhiều nhà khoa học quan tâm hơn đến cellulose vi sinh ở mức độ nano (bacterial nanocellulose – BNC) do một loạt đặc tính ưu việt của nó: sạch (không lẫn tạp chất, không chứa hemicellulose, lignin như cellulose thực vật), bền, dai, tuyệt đối an toàn cho người sử dụng, có thể phân rã theo chu trình tự nhiên, mạch ngắn hơn so với cellulose thực vật do vậy dễ sử dụng trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm, có tính trợ, sản xuất được ở quy mô công nghiệp v.v.

## **2. Các sản phẩm từ cellulose sinh học hiện có tại Việt Nam và xu hướng sắp tới**

Các nghiên cứu về cellulose sinh học bắt đầu khá sớm tại Việt Nam (trước năm 2006), có thể kể đến các công trình nghiên cứu của tác giả Phạm Thành Hồ, Nguyễn Thúy Hương trong việc phân lập và tuyển chọn các chủng có khả năng tổng hợp cellulose cao, nghiên cứu tối ưu điều kiện nuôi cấy và một số hướng ứng dụng của cellulose sinh học như làm chất mang,.....

Ngoài ra còn có nhóm tác giả Vũ Thị Lan Hương (Đại học Khoa học tự nhiên TP.HCM), nghiên cứu chuyên sâu mảng định danh, sinh học phân tử các chủng sinh tổng hợp cellulose, năm 2012, Vũ Thị Lan Hương cùng với nhóm nghiên cứu của giáo sư Yamada đã chia chi *Gluconacetobacter* thành hai chi mới là chi *Komagataeibacter* spp. và chi *Gluconacetobacter* spp.

Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu vẫn dừng lại ở khâu phân lập, sàng lọc, định danh, tìm điều kiện nhân sinh khối tối ưu chứ chưa đi sâu vào ứng dụng. Trên thị trường hiện nay, có các sản phẩm từ cellulose sinh học như sau:

### **2.1 Mặt nạ dừa**

Về các sản phẩm mặt nạ dừa xuất hiện trên thị trường trong nước hiện chủ yếu do 3 công ty sản xuất: hợp tác xã Cửu Long (sản phẩm mặt nạ dừa, mặt nạ dừa 2 trong 1, mặt nạ dừa collagen, mặt nạ dưỡng môi từ dừa – chủ yếu là mặt nạ từ cellulose sinh học thêm tinh dầu dừa và collagen), công ty Trương Phú Vinh (sản phẩm TV Coconut Mask, TV Bio Cellulose, TV Cucumber Mask –

các sản phẩm này bổ sung thêm collagen, chiết xuất rau má, dầu dừa, rễ dâu tằm, cam thảo, men bia pháp, dâu gấu, dưa leo, v.v. tùy theo loại sản phẩm), công ty HnB (Hàn Quốc): dòng sản phẩm theo thương hiệu COKO NANOCELL MASK, bổ sung tùy sản phẩm các hoạt chất như: saponin chiết xuất từ nhân sâm, Alpaflor-Gigawhite, Niacinamide, gel lô hội/nha đam, chamoplex: Chiết xuất từ hoa kim sa, rễ cây Long Đờm, Dương Kỳ Thảo, hoa Cúc và ngải cứu (*Artemisia vulgaris*), Sepitoni M3, Pepha, Nectapure chiết xuất từ *Buddleja davidii* và cỏ xạ hương, AP organic bud extract: chiết xuất từ rất nhiều các búp/đọt non của các loại thực vật khác nhau (được trồng theo phương pháp hữu cơ), Hyaluronan (Hyaluronic acid), Hydrolyzed collagen, Aquaxyl, Cellactor, Pentavitin R, v.v. Gần đây có sự góp mặt của công ty CoKo Việt Nam. Tuy nhiên, số lượng sản phẩm và độ đa dạng của các sản phẩm mặt nạ từ cellulose sinh học vẫn còn rất ít so với tiềm năng thực sự của ngành công nghiệp này.

## **2.2 Thạch dừa thô và Thạch dừa**

Theo thống kê của Hiệp Hội Dừa tỉnh Bến Tre, thời điểm năm 2010, sản lượng thạch dừa sản xuất trên địa bàn tỉnh ước tính đạt 3.000 tấn/năm, trong đó chủ yếu là xuất khẩu (2.100 tấn), thị trường tiêu thụ chủ yếu ở các thành phố lớn trong cả nước, Trung Quốc, Campuchia, Lào, Thái Lan, tại thời điểm này gần như chưa có khái niệm mặt nạ nước dừa. Đến năm 2015, sản lượng xuất khẩu thạch dừa tăng lên 10.545 tấn, kim ngạch xuất khẩu đạt trên 837 triệu USD, còn sản lượng màng thạch dừa thô (mặt nạ thô) xuất khẩu để làm mặt nạ đã đạt hơn 1,8 tỷ cái, kim ngạch xuất khẩu ước tính trên 84 triệu USD, sản phẩm thạch dừa và mặt nạ thô xuất khẩu trên 20 nước trên thế giới trong đó có EU, Mỹ, các tiểu vương quốc Ả Rập ....

Theo thống kê mới nhất trên website của Sở Công Thương Bến Tre năm 2016, sản lượng thạch dừa thô và tinh ước tính đạt 101.460 tấn (trong đó có 16.000 tấn thạch tinh), như vậy sản lượng thạch dừa thô (trong đó có tạo màng mặt nạ thô) đã tăng lên đáng kể - đạt con số 85.460 tấn.

Có thể thấy, sản lượng tăng nhanh từ năm 2010 đến nay (từ 3000 tấn lên 101.460 tấn) dù thị trường có nhiều biến động, từ việc chưa có khái niệm màng mặt nạ thô đến sản lượng màng thô đạt trên 1.8 tỷ cái. Như vậy xu hướng làm mặt nạ từ màng cellulose sinh học đang dần trở thành xu hướng thịnh hành, tuy nhiên tại Việt Nam mới dừng ở việc xuất khẩu màng thô, thiếu quy chuẩn kỹ thuật cho màng, phụ thuộc vào nguồn nước dừa già do đó khả năng sản xuất nhỏ lẻ và không ổn định, số lượng mặt nạ thành phẩm còn rất ít, chưa đa dạng. Việc nghiên cứu chuyên sâu để tạo màng thô có đầy đủ các tiêu chí kỹ thuật, sản xuất được trên quy mô công nghiệp và đa dạng hóa các sản phẩm mặt nạ từ cellulose sinh học là vấn đề vô cùng cấp thiết và mang lại giá trị kinh tế cao.

### **2.3 Màng trị bỏng**

Ngoài thạch dừa, mặt nạ, giấy thấm dầu, hướng nghiên cứu làm màng trị bỏng từ cellulose sinh học cũng là một hướng được quan tâm khá nhiều nhờ tính chất độc đáo của màng. Nghiên cứu chuyên sâu nhất về màng cellulose trị bỏng có thể kể đến là nghiên cứu của nhóm tác giả Nguyễn Văn Thanh, Huỳnh Thị Ngọc Lan thuộc trường Đại học Y dược TP.HCM bắt đầu từ những năm 2006. Nhóm tác giả đã nghiên cứu thành công màng trị bỏng từ cellulose sinh học do *Acetobacter xylinum* tổng hợp có bổ sung các hoạt chất tái sinh và chiết xuất dầu mù u (Nguyễn Văn Thanh, 2006; Huỳnh Thị Ngọc Lan, 2012), màng trị bỏng này có tên là màng Acetul. Theo tác giả, màng Acetul có nhiều ưu điểm như khả năng hút dịch tốt, độ bền cơ học cao, thông thoáng, có khả năng cản khuẩn 100%, không gây kích ứng da, có khả năng bám dính vào vết thương trong quá trình điều trị (đặc điểm của màng cellulose sinh học). Đây là công trình đầu tiên ở Việt Nam nghiên cứu một cách có hệ thống từ nuôi cấy vi khuẩn, thu và tinh chế cellulose từ *Acetobacter xylinum*, tạo sản phẩm để áp dụng vào lĩnh vực Y học điều trị bỏng và vết thương mất da. Việc kết hợp với hoạt chất tái sinh mô, tinh dầu trà trà Úc giúp đẩy nhanh quá trình liền vết thương, tạo cảm giác dễ chịu khi sử dụng. Thử lâm sàng màng Acetul tại Viện Bỏng Quốc gia cho kết quả tốt với tác dụng gần tương đương băng nano bạc là một màng có tính sát khuẩn mạnh được nhập ngoại, nhờ vậy thời gian liền vết thương chỉ còn 2 - 3

ngày so với 7 ngày khi dùng băng gạc tẩm thuốc (trích tóm tắt thông tin luận án tiến sĩ “Nghiên cứu chế tạo màng trị bỏng từ cellulose của *Acetobacter xylinum* phối hợp với hoạt chất tái sinh mô từ dầu Mù u và tinh dầu trầm” của TS. Huỳnh Thị Ngọc Lan). Đây là kết quả rất khích lệ của các nhà khoa học Việt Nam, tạo tiền đề đưa các sản phẩm từ cellulose sinh học đến gần với người tiêu dùng, dần tạo thêm nhiều sản phẩm từ nguồn nguyên liệu thiên nhiên quý giá này.

Cuối năm 2018, băng vết thương dạng gel BC-A gel chứa tế bào gốc nhưng hưu do Trung tâm Nghiên cứu triển khai Khu Công nghệ cao TP. HCM (SHTPLabs) kết hợp với Công ty TNHH Thế Giới Gen thực hiện theo dự án “Hoàn thiện quy trình tạo vật liệu Nanocellulose kết hợp với chiết xuất nhung hươu định hướng ứng dụng trong quá trình làm lành vết thương” đã được Bộ Y tế cấp phép lưu hành. Đây là sản phẩm trị bỏng trong nước đầu tiên có cellulose sinh học trong thành phần được thương mại hóa tại Việt Nam. BC-A gel đã được đánh giá tính an toàn của sản phẩm (độc tính cấp, bán trường diễn trên động vật thực nghiệm). Sản phẩm cũng đã được thử nghiệm lâm sàng tại Khoa điều trị bỏng người lớn - Viện bỏng quốc gia cho thấy sản phẩm an toàn, không gây rối loạn toàn thân hay tại chỗ, rối loạn sinh hóa huyết học; có tác dụng tạo màng che phủ tạm thời tổn thương ở vết bỏng nông, vết bỏng chàm liền, vết thương khâu kín và giảm đau, kích thích liền vết thương, hạn chế nhiễm khuẩn. Tuy nhiên, trong thành phần sản phẩm chỉ chứa 0,1% cellulose sinh học, ngoài ra còn gelatin, chitin là những polymer có khả năng tạo màng khác, do vậy hiệu quả tạo màng của cellulose sinh học trong sản phẩm này chưa rõ.

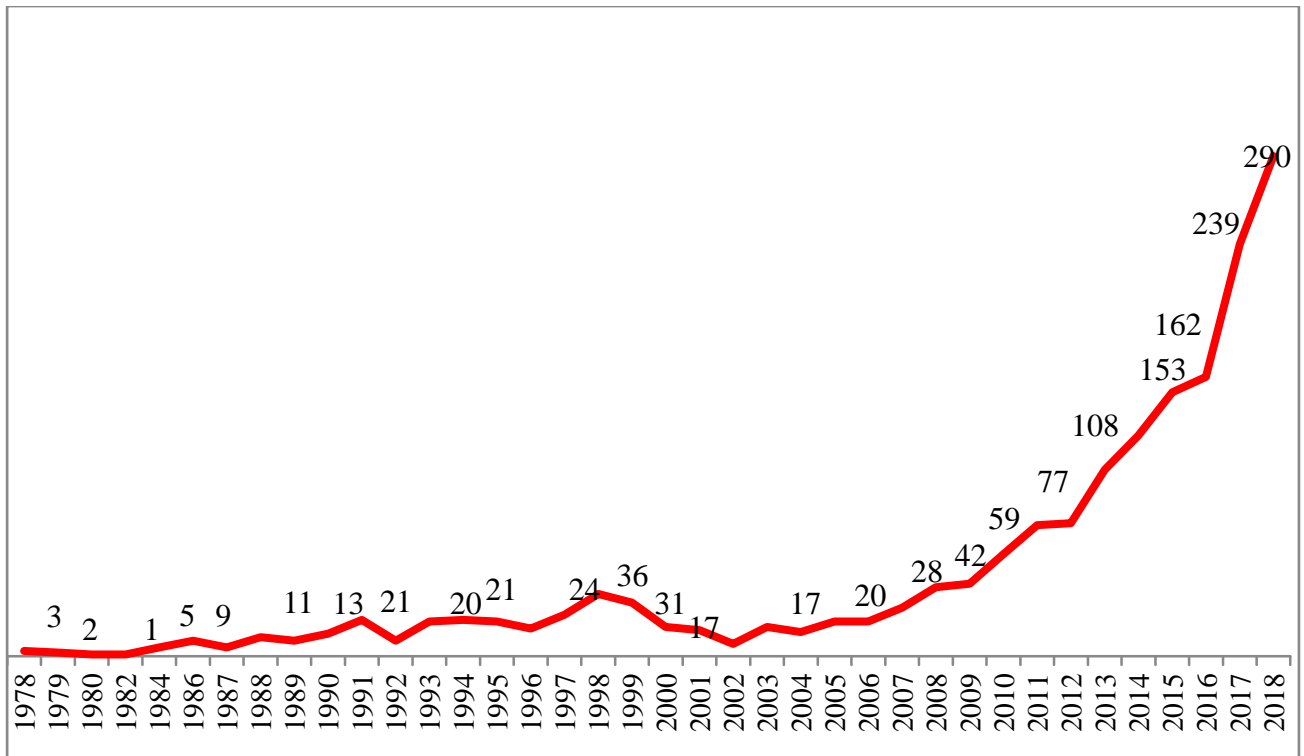
Tuy vậy, đến thời điểm hiện tại, vẫn chưa có sản phẩm màng trị bỏng nào từ cellulose sinh học nội địa được thương mại hóa rộng rãi trên thị trường.

## **II. PHÂN TÍCH XU HƯỚNG VỀ NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG CELLULOSE SINH HỌC TRÊN CƠ SỞ SỐ LIỆU SÁNG CHẾ QUỐC TẾ**

### **1. Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo thời gian**

Theo cơ sở dữ liệu sáng chế quốc tế tiếp cận được, đến tháng 8/2019, có 1941 sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học được công bố. Sáng

chế đầu tiên được công bố vào năm 1978 tại Mỹ đề cập đến quy trình lên men và tạo màng cellulose sinh học.



***Biểu đồ 1: Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo thời gian***

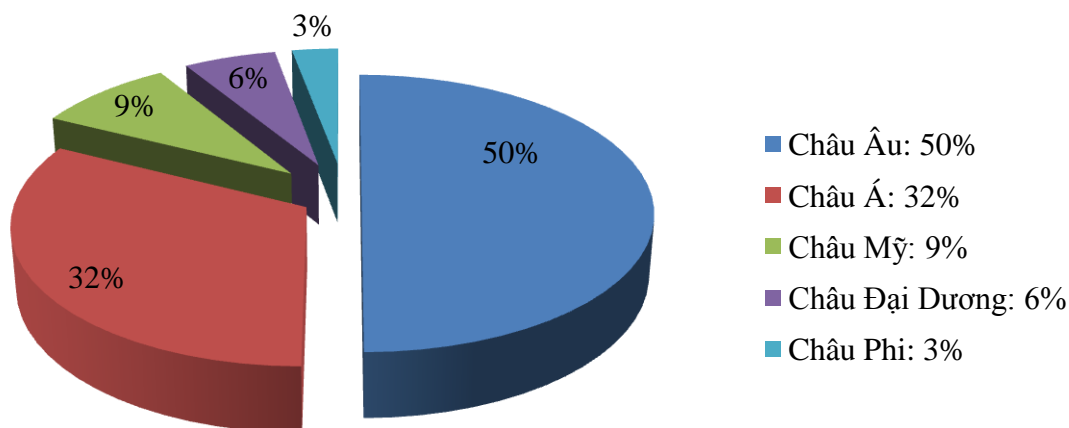
Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo thời gian được chia làm 02 giai đoạn:

- Giai đoạn từ năm 1978 đến 2010: số lượng công bố sáng chế ít, khoảng 359 sáng chế. Tập trung nhiều tại các quốc gia: Nhật, Trung Quốc, Mỹ, Canada, Pháp, Úc. Trong đó, Nhật và Trung Quốc là hai quốc gia dẫn đầu về số lượng công bố sáng chế.

- Giai đoạn từ 2011 đến nay: số lượng công bố sáng chế bắt đầu tăng nhanh, đạt 1582 sáng chế, tăng gấp 3,9 lần so với giai đoạn đầu và chiếm 78% tổng số lượng công bố sáng chế. Đặc biệt, năm 2018 là năm có số lượng sáng chế được công bố cao nhất so với các năm, đạt 290 sáng chế. Tập trung nhiều tại quốc gia: Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật, Mỹ, Ấn Độ, Úc, Tây Ban Nha, Canada,.... Điều đó chứng tỏ, cellulose sinh học đang được quan tâm và nghiên cứu trên thế giới trong những năm gần đây.

## 2. Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học tại các quốc gia

Các sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học được công bố tại 34 quốc gia và 2 tổ chức WO, EP và được phân bố tại 05 châu lục:



**Biểu đồ 4: Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo châu lục**

- Châu Âu: 17 quốc gia có công bố sáng chế, chiếm 50% tổng số lượng quốc gia có công bố sáng chế.

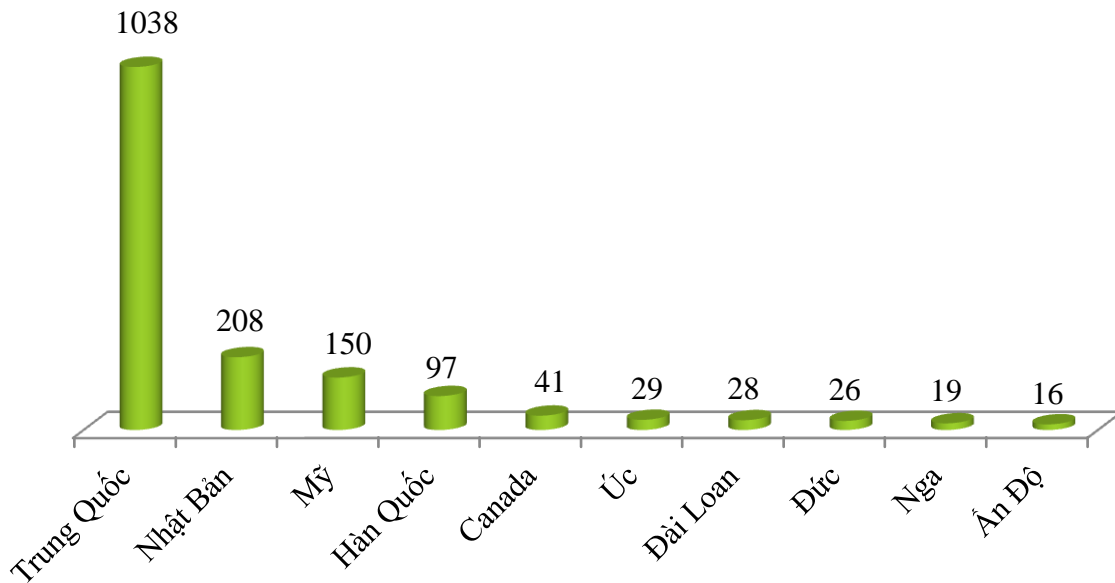
- Châu Á: 11 quốc gia có công bố sáng chế, chiếm 32% tổng số lượng quốc gia có công bố sáng chế.

- Châu Mỹ: 03 quốc gia có công bố sáng chế, chiếm 9% tổng số lượng quốc gia có công bố sáng chế.

- Châu Đại Dương: 02 quốc gia có công bố sáng chế, chiếm 6% tổng số lượng quốc gia có công bố sáng chế.

- Châu Phi: 01 quốc gia có sáng chế công bố, chiếm 3% tổng số lượng quốc gia có công bố sáng chế.

Trong 34 quốc gia có công bố sáng chế thì Trung Quốc, Nhật Bản, Mỹ, Hàn Quốc, Canada, Úc, Đài Loan, Đức, Nga, Ấn Độ là 10 quốc gia dẫn đầu về số lượng công bố sáng chế này.



**Biểu đồ 5: 10 quốc gia dẫn đầu số lượng công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học**

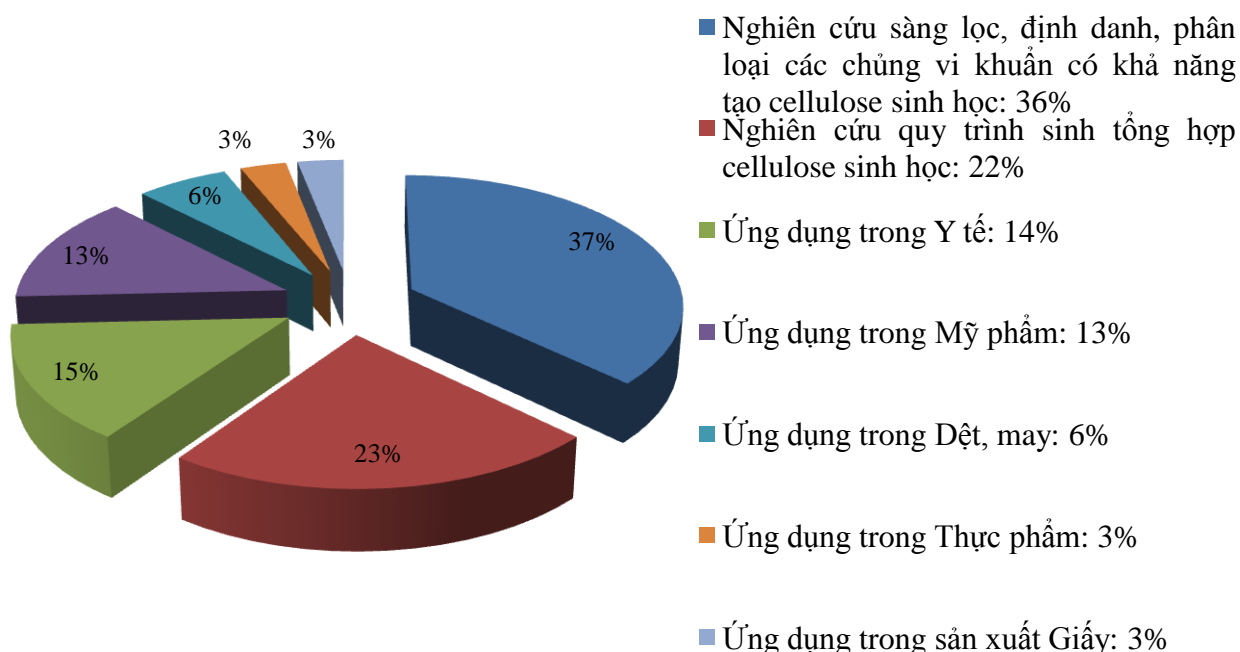
- Trung Quốc là quốc gia có số lượng công bố sáng chế cao nhất với 1038 sáng chế, chiếm khoảng 53,4% trên tổng số lượng sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học. Sáng chế đầu tiên được công bố vào năm 1992. Giai đoạn từ 1992 – 2007, số lượng công bố sáng chế còn ít. Đến giai đoạn từ năm 2008 - 2010, số lượng sáng chế bắt đầu tăng và Trung Quốc vươn lên nhóm 2 quốc gia có số lượng sáng chế công bố nhiều nhất. Từ giai đoạn 2011 đến hiện tại, số lượng sáng chế công bố tăng nhanh đã giúp Trung Quốc vươn lên đứng nhất thế giới. Năm 2018 là năm có số lượng sáng chế được công bố cao nhất so với các năm, đạt 242 sáng chế.

- Nhật là quốc gia có công bố sáng chế đầu tiên trên thế giới, vào năm 1983, tổng số lượng đạt 208 sáng chế, chiếm khoảng 10,5% trên tổng số lượng sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học. Giai đoạn từ 1983 đến 1992, Nhật thường xuyên nằm trong nhóm 2 thế giới. Từ năm 1993 đến 2007, Số lượng sáng chế tăng mạnh đã đưa Nhật vươn lên vị trí số một và thường xuyên dẫn đầu về số lượng sáng chế nhiều nhất thế giới trong suốt giai đoạn này. Từ năm 2008 đến hiện nay, số lượng sáng chế công bố tiếp tục tăng, nhưng Nhật chỉ nằm trong nhóm 4 quốc gia sở hữu số lượng sáng chế nhiều nhất thế giới.

- Mỹ là quốc gia có công bố sáng chế đầu tiên trên thế giới về nghiên cứu cellulose sinh học, vào năm 1978, tổng số lượng sáng chế đạt được là 105 sáng chế. Giai đoạn từ 1978 đến năm 2007, số lượng sáng chế tăng ít và không ổn định, thường nằm trong nhóm 05 quốc gia có số lượng sáng chế nhiều nhất thế giới. Đến giai đoạn từ 2008 đến 2012, số lượng sáng chế tăng nhanh, giúp Mỹ vươn lên vị trí số 02 thế giới. Đến năm 2013 đến hiện nay, số lượng sáng chế vẫn tiếp tục tăng và nằm trong nhóm 3 quốc gia sở hữu số lượng sáng chế nhiều nhất thế giới, xếp sau Trung Quốc và Hàn Quốc.

Trong số các quốc gia sở hữu công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học trên, Trung Quốc là quốc gia sở hữu số lượng công bố sáng chế nhiều nhất tại thời điểm hiện nay, với 1038 sáng chế, chiếm khoảng 53,4% trên tổng số lượng sáng chế của thế giới, gấp 4,9 lần số lượng sáng chế của Nhật và gấp 9,8 lần số lượng sáng chế của Mỹ. Chứng tỏ việc nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học đang được quan tâm nhiều tại quốc gia này.

### 3. Tình hình công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo các hướng nghiên cứu



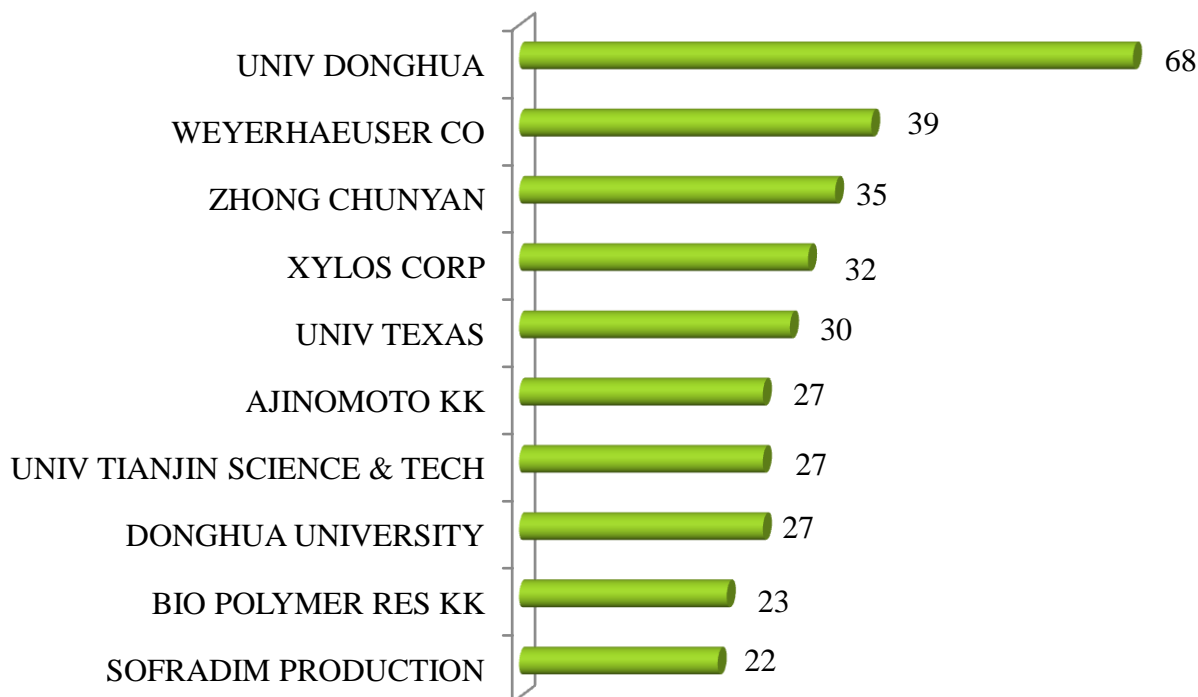
**Biểu đồ 6: Tình hình công bố sáng chế nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học theo các hướng nghiên cứu**



Trên cơ sở dữ liệu sáng chế công bố, nghiên cứu cellulose sinh học tập trung vào 7 hướng nghiên cứu chính, đó là: Nghiên cứu sàng lọc, định danh, phân loại các chủng vi khuẩn có khả năng tạo cellulose sinh học; Nghiên cứu quy trình sinh tổng hợp cellulose sinh học; Ứng dụng cellulose sinh học trong Y tế; Mỹ phẩm; Dệt, may; Thực phẩm và sản xuất Giấy. Trong đó, hướng nghiên cứu sàng lọc, định danh, phân loại các chủng vi khuẩn có khả năng tạo cellulose sinh học là hướng nghiên cứu được các nhà sáng chế quan tâm nhiều nhất hiện nay.

#### 4. Các đơn vị dẫn đầu sở hữu số lượng công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học

10 đơn vị dẫn đầu sở hữu sáng chế nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học, như sau:



**Biểu đồ 7: 10 đơn vị dẫn đầu sở hữu công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học**

Các đơn vị dẫn đầu số lượng công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học, gồm: Univ Donghua, Weyerhaeuser Co, Zhong Chunyan, Xylos Corp., Univ Texas, Ajinomoto, Univ Tianjin Science & Tech, Donghua University, Bio Polymer Res Kk.. Các đơn vị này chuyên hoạt động trong lĩnh vực thực phẩm (Ajinomoto Kk,...), công nghệ sinh học (Bio Polymer Res Kk,

Xylos Corp.,...) và lĩnh vực nghiên cứu đào tạo (Univ Texas, Univ Donghua, Univ Tianjin Science & Tech,...). Đây là các đơn vị sở hữu số lượng sáng chế nhiều nhất hiện nay và tập trung công bố nhiều tại các quốc gia: Mỹ, Nhật, Canada, Trung Quốc, Hàn Quốc,....

## **5. Một số sáng chế tiêu biểu**

### **- Màng cellulose sinh học và phương pháp sản xuất**

Số công bố: US10307347B2

Thời điểm công bố: 2019

Quốc gia cấp bằng: Mỹ

Đơn vị sở hữu: AT&T INC

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất màng biocellulose, màng được sử dụng làm mặt nạ dưỡng da, gồm một lớp màng lỏng sắp xếp xen kẽ và phía dưới lớp màng được thiết kế nhiều lỗ thấm thấu có kích thước trung bình.

### **- Băng cellulose sinh học xử lý vết thương mãn tính**

Số công bố: CA2484953C

Thời điểm công bố: 2011

Quốc gia cấp bằng: Canada

Đơn vị sở hữu: AT&T INC XYLOS CORP

Sáng chế đề cập đến việc điều trị các vết thương mãn tính bằng phương pháp sử dụng băng cellulose có nguồn gốc từ vi khuẩn. Băng được đặt vào vị trí vết thương và nên thay băng 02 lần 01 ngày.

### **- Băng cellulose vi khuẩn để điều trị vết thương**

Số công bố: EP1356831B1

Thời điểm công bố: 2005

Đơn vị sở hữu: XYLOS CORP

Sáng chế đề cập đến băng cellulose có nguồn gốc từ vi khuẩn hữu ích để điều trị các vết thương mãn tính như loét tĩnh mạch, loét do tư thế nằm lâu và loét do tiểu đường.

### **- Vật liệu đóng gói thực phẩm tổng hợp và phương pháp sản xuất**

Số công bố: CN107474296A

Thời điểm công bố: 2017

Quốc gia cấp bằng: Trung Quốc

Đơn vị sở hữu: UNIV TIANJIN SCI & TECHNOLOGY

Sáng chế đề cập đến việc sản xuất vật liệu đóng gói thực phẩm. Vật liệu từ cellulose vi khuẩn chitosan được điều chế trong môi trường nuôi cấy *Acetobacter xylinum*, tiếp tục kích hoạt chủng vi khuẩn và đặt vào môi trường nuôi cấy với nhiệt độ không đổi.

**- Phương pháp điều chế cellulose vi khuẩn bằng cách lấy chất lỏng lignocellulose làm nguồn carbon**

Số công bố: CN107164428A

Thời điểm công bố: 2017

Quốc gia cấp bằng: Trung Quốc

Đơn vị sở hữu: UNIV TIANJIN SCI & TECHNOLOGY

Sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế cellulose vi khuẩn bằng cách thực hiện tiền xử lý kiềm của lignocelluloses, thêm dung dịch natri hydroxit, thủy phân, thực hiện giải độc, lên men và loại bỏ màng cellulose bằng nước khử ion

**Kết luận**

- Đến 8/2019, có 1941 sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học được công bố tại 34 quốc gia và 2 tổ chức WO và EP. Số lượng sáng chế tăng mạnh từ năm 2011 đến nay chứng tỏ vấn đề này hiện nay đang rất được quan tâm trên thế giới.

- Trung Quốc, Nhật Bản, Mỹ, Hàn Quốc, Canada là các quốc gia dẫn đầu công bố sáng chế về nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học .

- Univ Donghua, Weyerhaeuser Co, Zhong Chunyan, Xylos Corp, Univ Texas, Ajinomoto Kk. là 05 đơn vị dẫn đầu công bố sáng chế về nghiên cứu cellulose sinh học. Các sáng chế được công bố nhiều tại các quốc gia: Mỹ, Nhật, Canada, Trung Quốc, Hàn Quốc.

- Nghiên cứu cellulose sinh học tập trung vào 7 hướng nghiên cứu chính, đó là: nghiên cứu sàng lọc, định danh, phân loại các chủng vi khuẩn có khả năng tạo cellulose sinh học; Nghiên cứu quy trình sinh tổng hợp cellulose sinh học;

ứng dụng cellulose sinh học trong Y tế; Mỹ phẩm; Dệt, may; Thực phẩm và sản xuất Giấy. Trong đó, hướng nghiên cứu sàng lọc, định danh, phân loại các chủng vi khuẩn có khả năng tạo cellulose sinh học là hướng nghiên cứu được các nhà sáng chế quan tâm nhiều nhất.

### **III. QUY TRÌNH SẢN XUẤT CELLULOSE SINH HỌC TỪ CHỦNG K. NATAICOLA TẠI TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ SINH HỌC TP. HỒ CHÍ MINH**

Tính đến thời điểm này, sản phẩm cellulose sinh học tại Việt Nam có thạch dừa thô, màng thạch dừa sau lạnh, thạch dừa tinh mặt nạ dừa và màng trị bông (chưa thương mại hóa), số lượng các sản phẩm như vậy vẫn còn quá ít so với tiềm năng ứng dụng của cellulose sinh học. Ngoài ra, một vấn đề lớn là việc tạo ra cellulose sinh học phụ thuộc rất lớn vào nước dừa, việc sản xuất chỉ có thể triển khai tại Bến Tre là xứ dừa của cả nước, chưa thể sản xuất ở quy mô công nghiệp do vậy chưa thúc đẩy các ngành khác sử dụng cellulose sinh học để phát triển các sản phẩm có giá trị gia tăng cao.

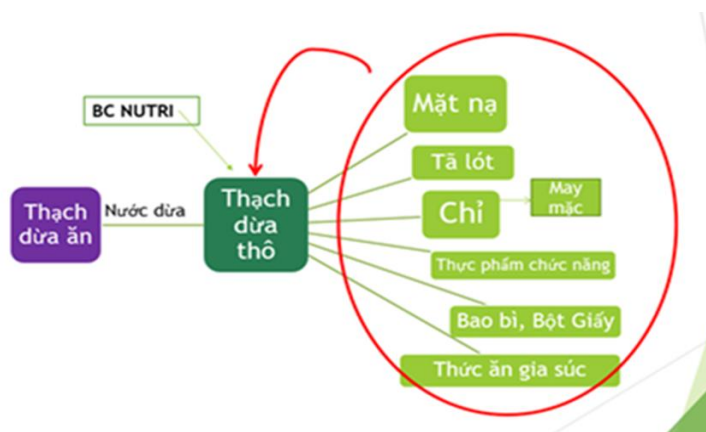
Nhận thấy vấn đề này, Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp. Hồ Chí Minh liên tục triển khai các đề tài nghiên cứu chuyên sâu về cellulose sinh học, trong đó có thể kể đến các đề tài như: “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ vi sinh để sản xuất màng cellulose sinh học”, “Nghiên cứu khả năng tạo chỉ cellulose sinh học từ chủng *Gluconacetobacter* spp.”, “Nghiên cứu và thử nghiệm sản xuất trên quy mô pilot môi trường dinh dưỡng nhân tạo BC-NUTRI 01 thay thế nước dừa phục vụ cho công nghiệp sản xuất màng sinh học” cũng như các nghiên cứu ứng dụng tạo sản phẩm khác từ cellulose sinh học.

Hiện nay, Trung tâm có bộ chủng sinh tổng hợp cellulose sinh học mạnh, trong đó có chủng *Komagataeibacter nataicola* BC-B0007 cho năng suất tạo cellulose cao, đã phát triển được quy trình nuôi cấy riêng tạo màng thô có khả năng tự động hóa để sản xuất ở quy mô công nghiệp, phát triển môi trường nuôi cấy BC-NUTRI 01, BC-NUTRI 02 giúp tạo màng số lượng lớn, an toàn, hợp vệ sinh, chất lượng cao và ổn định, phù hợp cho ngành công nghiệp mỹ phẩm mà không cần phụ thuộc vào nguồn nước dừa. Trung tâm đã tạo được các sản phẩm

mô hình như mặt nạ, xơ sợi, màng trị bông, bao bì phân hủy sinh học, màng bọc trái cây, thức ăn cho gia súc....

### 1. Quy trình sản xuất cellulose sinh học: *Chủng K. nataicola*, môi trường BC NUTRI, khay BC NUTRI và giải pháp nuôi cấy tạo màng thô ở quy mô công nghiệp.

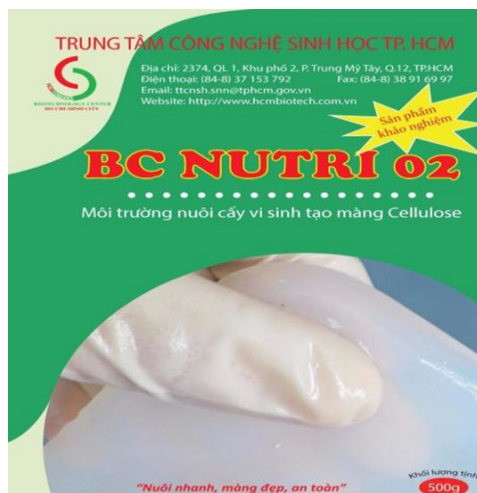
Như đã đề cập ở trên, từ thạch dừa thô thu được sau nuôi cấy, chúng ta có thể phát triển rất nhiều ứng dụng khác nhau, một trong số các ứng dụng (Hình )



Hình 6: Một số ứng dụng từ cellulose sinh học

Những ứng dụng này không dùng trong thực phẩm, cũng không cần dùng đến nước dừa, chính vì vậy, việc có một môi trường nuôi cấy thu sinh khối cao, giá cả không thay đổi trong một thời gian dài, không phụ thuộc vào nước dừa, giúp sản xuất tại bất kỳ đâu với số lượng bất kỳ là bài toán đặt ra. Giải được, chúng ta sẽ gỡ được nút thắt về giá thành nguyên liệu cellulose sinh học đầu vào.

Để giải bài toán này, nhóm nghiên cứu của Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh đã tiến hành sàng lọc một loạt môi trường nuôi cấy thay thế trong gần 02 năm để tìm ra BC NUTRI 02 (Hình )



**Hình 7: Hình ảnh sản phẩm BC NUTRI 02**

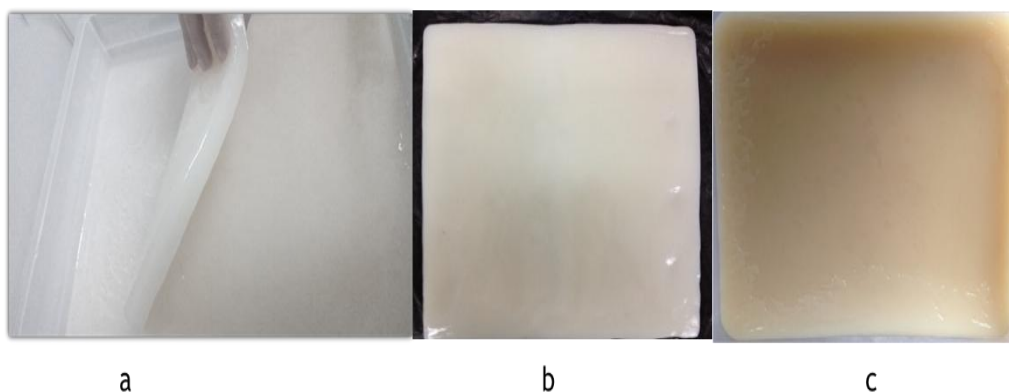
BC NUTRI 02 giúp tạo màng số lượng lớn, an toàn, hợp vệ sinh, giá thành rẻ, chất lượng cao và ổn định, đặc biệt, do không còn phụ thuộc vào nước dừa nên việc sản xuất cellulose sinh học với BC NUTRI 02 có thể thực hiện tại bất kỳ đâu. Sản phẩm này đã được thử nghiệm tại Bến Tre và tương thích với các chủng vi sinh vật đang được sử dụng tại đây. Ngoài ra, khi sử dụng phối hợp cùng với 12% nước dừa theo công thức cũ thì cơ sở sản xuất thạch dừa thô gần như không còn màng bị loại. Hiện nay sản phẩm đã được sử dụng thường xuyên để tạo màng thô xuất sang Trung Quốc làm tã lót cho người già, dùng riêng BC NUTRI 02 hoặc phối trộn chung với nước dừa khi giá nước dừa rẻ để thu được lợi nhuận kinh tế lớn nhất có thể.

Để tránh sử dụng BC NUTRI 02 ngoài mục đích mong muốn (ví dụ sản xuất thạch dừa ăn), Trung tâm chỉ chuyển sản phẩm cho một số xưởng quen và hướng dẫn rõ các mục đích sản xuất khi đưa BC NUTRI 02 vào sử dụng. Các sản phẩm dùng trong thực phẩm như thạch dừa truyền thống, Trung tâm vẫn khuyến cáo nhà sản xuất vẫn nên sử dụng nước dừa nhằm duy trì các sản phẩm có chất lượng, đảm bảo thương hiệu và duy trì hoạt động cho các ngành nghề truyền thống.

Ngoài vấn đề môi trường nuôi cấy, Trung tâm tiến hành phân lập, sàng lọc, định danh các chủng quý và đến nay đã có một bộ sưu tập *Komagataeibacter* spp. tương đối phong phú. Hiện các chủng đang được lưu giữ trong Bộ chủng giống vi sinh vật HBCM của Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp. Hồ Chí Minh.

Trong đó, chủng *Komagataeibacter nataicola* BC-B0007 là một chủng được chú ý nhiều vì khả năng tạo cellulose và sử dụng hiệu quả nguồn đường.

Sử dụng chủng thuần *Komagataeibacter nataicola* BC-B0007 trên môi trường BC NUTRI 02 giúp màng tạo ra có màu trắng đến hơi vàng, bề mặt láng bóng, hình thức đẹp, do vậy đỡ phải xử lý tẩy trắng nhiều bước cũng như giữ được màng luôn ổn định.



*a. BC NUTRI 02 + K. nataicola BC-B0007*

*b. BC NUTRI 02 + chủng Bền Tre*

*c. Môi trường nước dừa + chủng Bền Tre*

**Hình 8: Sự khác biệt về màu sắc giữa các sản phẩm**

Đối với chủng giống thuần kết hợp với môi trường nuôi cấy BC NUTRI, nhóm nghiên cứu tiếp tục các nghiên cứu liên quan đến tự động hóa quy trình sản xuất. Để giảm giá thành cellulose sinh học, cần phát triển, xây dựng các nhà máy ở quy mô công nghiệp, tự động hóa các khâu, trong đó việc thay đổi tư duy từ “đổ nóng” sang “đổ nguội” là quan trọng nhất.

Trong công nghệ “đổ nóng” môi trường nuôi cấy được thanh trùng sau đó đổ vào các khay bọc báo xếp chồng lên nhau. Việc đổ môi trường khi còn nóng có tác dụng thanh trùng các khay. Đến ngày hôm sau khi môi trường đã nguội, công nhân bắt đầu gỡ giấy báo từng khay để bơm giống. Việc này làm mất thời gian sản xuất và phải mở từng khay, do vậy rất tốn nhân công. Để giải quyết, trung tâm đã đề nghị quy trình “đổ nguội” đi qua hệ thống khép kín hoàn toàn từ khâu phối trộn BC NUTRI 02, thanh trùng môi trường, đi qua hệ thống làm nguội, đi qua hệ thống chiết rót tự động vào các khay BC NUTRI, các khay BC NUTRI trước khi đến hệ thống chiết rót đi qua hệ thống rửa và sấy khô, sau khi

được chiết rót xong tiếp tục theo dây chuyền vào phòng ủ, tại đây chúng được xếp chồng lên nhau lần lượt từ ngoài vào trong. Các khay BC NUTRI đã đủ thời gian nuôi cấy sẽ được lấy ra từ cửa phía ngoài và lấy theo quy tắc từ ngoài vào trong cho đến khi hết từng ô.

Để thực hiện được việc này cần có 03 yếu tố: đầu tư hệ thống trang thiết bị khép kín; đầu tư nhà xưởng đạt chuẩn; hệ thống khay BC NUTRI. Hiện nay trung tâm có thể tư vấn và tính toán chi tiết chi phí để thực hiện dựa trên từng trường hợp cụ thể.

Riêng đối với khay BC NUTRI, cách xếp chồng các khay BC NUTRI sẽ bỏ hẳn khâu bọc báo như đối với các khay thông thường, màng lên tốt hơn, giảm nhiễm, có thể chiết rót tự động (chuẩn bị cho khâu tự động hóa), giá thành rẻ, dễ sử dụng, hợp lý.



*Hình 9: Khay BC NUTRI (A) và khay đang sử dụng tại Bến Tre (B)*

**2. Ứng dụng tạo mặt nạ dưỡng da, màng trị bỏng, bao bì tự phân hủy, thạch dừa và các ứng dụng tiềm năng khác trong ngành thực phẩm, y dược, mỹ phẩm, dệt may, bao bì,...**

### **2.1 Mặt nạ dưỡng da**

Quy trình tạo mặt nạ dưỡng da từ cellulose sinh học (Hình )





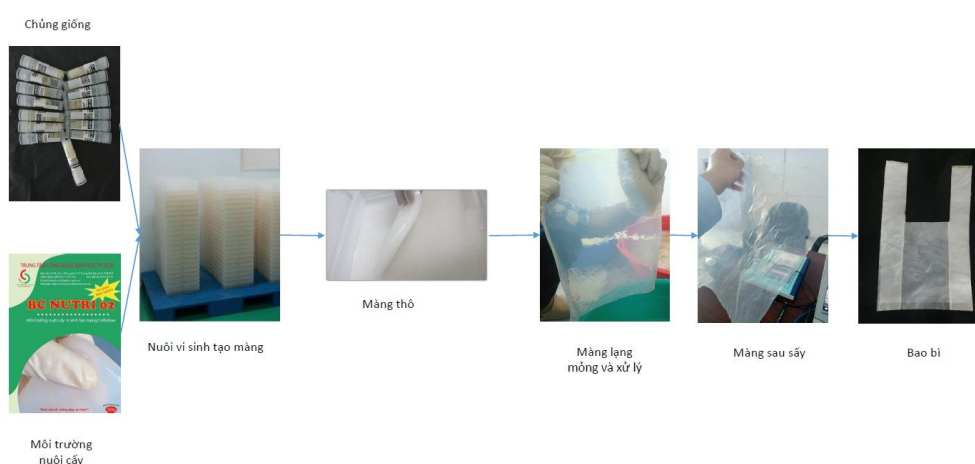
### **Hình 10: Quy trình sản xuất mặt nạ dưỡng da từ cellulose sinh học**

Quy trình này sử dụng chủng *K. nataicola* BC-0007, BC NUTRI 02 để tạo màng thô. Màng sau khi xử lý được lạng mỏng và xử lý, định hình mặt nạ, sau đó được tẩm hoạt chất.

Hiện Trung tâm đã phát triển 03 công thức trắng da, dưỡng ẩm và chống lão hóa có thể chuyển giao. Các đơn vị quan tâm cũng có thể liên hệ trung tâm cung cấp mặt nạ đã định hình sẵn.

## **2.2 Bao bì tự phân hủy**

Quy trình tạo bao bì tự phân hủy (Hình 11)



### **Hình 5: Quy trình sản xuất bao bì phân hủy sinh học**





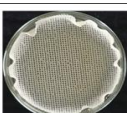
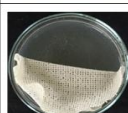

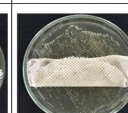
Quy trình này sử dụng chủng *K. nataicola* BC-0007, BC NUTRI 02 để tạo màng thô. Màng thô thu được sẽ được xử lý khô, sau đó tạo thành các túi giống bịch nylon thông thường. Các túi này có độ bền gấp 4 lần so với nylon PE (khoảng 300 MPa so với khoảng 70 Mpa).

## **2.3 Màng trị bỏng**

Cellulose sinh học có các đặc tính rất phù hợp để làm vật liệu hỗ trợ điều trị bỏng như: cấu trúc vi sợi nano với độ kết tinh cao, khả năng thấm hút và độ thông thoáng tốt, độ bền cơ học lớn, có khả năng ngăn cản sự xâm nhập của vi sinh vật, tính tương thích sinh học cao và không độc với cơ thể người. Màng cellulose sinh học sau xử lý kết hợp với Sulphadiazin bạc (SSD) cho kết quả kháng khuẩn tương đương với Urgotul SSD 1% nhập ngoại nhưng chỉ cần dùng với hàm lượng thấp hơn, khả năng giữ ẩm bề mặt vết thương tốt và giúp vết

thương nhanh lành. Màng có khả năng ngăn cản vi sinh vật thâm nhập vào vết thương tuy nhiên vẫn giữ bề mặt thạch đủ độ ẩm ướt, trao đổi khí tốt (Hình 12). Trong hình chụp chuột thí nghiệm, phía trên là vết thương được đắp màng tẩm thuốc, phía dưới là vết thương hở đối chứng không điều trị. Rõ ràng sau cùng một khoảng thời gian, điều trị bằng màng cellulose sinh học cho kết quả tốt hơn.

## MÀNG TRỊ BÔNG

Loại màng	Sau 1 ngày		Sau 5 ngày	
	Phía trên màng	Phía dưới màng	Phía trên màng	Phía dưới màng
BC				
Urgotul SSD 1%				



**Hình 12. Màng trị bông BC NUTRI MASK**

Ngoài chủng giống, môi trường BC NUTRI, quy trình sản xuất thạch thô, khay BC NUTRI, quy trình sản xuất mặt nạ, bao bì,...Trung tâm còn chuyên giao quy trình xử lý màng cellulose, quy trình tạo màng bảo quản trái cây, ứng dụng cellulose sinh học làm thức ăn gia súc,... hoặc nghiên cứu theo nhu cầu của các đơn vị.

### **3. Lợi ích của việc sản xuất cellulose sinh học trên quy mô công nghiệp sử dụng môi trường BC NUTRI 02**

Lợi ích của việc sản xuất cellulose sinh học sử dụng môi trường BC NUTRI 02, đó là có thể sản xuất theo quy mô công nghiệp, tạo ra lượng sản phẩm lớn đáp ứng nhu cầu thị trường. Với phương pháp này sẽ giúp nhà sản xuất chủ động được nguồn nguyên liệu sản xuất, không phụ thuộc vào điều kiện tự nhiên, không phụ thuộc vào sự lên xuống về giá và sản lượng của nước dừa, đảm bảo duy trì hoạt động trong quá trình sản xuất.

Hiện nay, ngành công nghiệp cellulose sinh học của Việt Nam chỉ đang ở bước sơ khai và Việt Nam có khả năng bắt kịp xu hướng này nếu được mọi người quan tâm và tập trung đầu tư xây dựng các nhà máy sản xuất cellulose

sinh học để phát triển một loạt các sản phẩm có giá trị gia tăng cao, các sản phẩm tạo ra từ cellulose sinh học đảm bảo chất lượng, an toàn và thân thiện với môi trường và phát triển bền vững.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đinh Thị Kim Nhung, Nguyễn Thị Thuỳ Vân, Trần Như Quỳnh, Nghiên cứu vi khuẩn *Acetobacter Xylinum* tạo màng *Bacterial Cellulose* ứng dụng trong điều trị bỏng, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 50 (4), 2012, trang 453-462, 10 trang
2. TS. Phan Mỹ Hạnh, Cơ hội phát triển ngành công nghiệp cellulose vi sinh tại Việt Nam, *Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh*, 2019, 3 trang
3. TS. Phan Mỹ Hạnh, Cây xanh trong nhà máy - Công nghiệp cellulose vi sinh và tiềm năng ứng dụng tại Việt Nam, *Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh*, 2019, 1 trang
4. TS. Phan Mỹ Hạnh, Tổng quan về tình hình nghiên cứu và ứng dụng cellulose sinh học trên thế giới và tại Việt Nam, *Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh*, 2019, 18 trang
5. TS. Phan Mỹ Hạnh, Quy trình sản xuất cellulose sinh học từ chủng *K. nataicola* tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh, *Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh*, 2019, 7 trang
6. Phan Thị Thu Hồng, Lương Thị Mỹ Ngân, Vũ Tiến Trung, Phạm Thành Hồ, Hà Thúc Huy, Sử dụng cellulose tổng hợp từ vi khuẩn *Acetobacter xylinum* để chế tạo vật liệu nhựa composite sinh học trên nền nhựa polyvinyl alcohol, *Science & Technology Development Vol 18, No.T4-2015*, trang 114 – 125, 12 trang
7. A.J. Brown, *J. Chem. Soc. Trans*, On an acetic ferment which forms cellulose., 1886, 49.- p. 432–439.
8. S. Hestrin, M. Schramann, Hestrin S., Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*: 2. Preparation of Freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose, *Biochemical Journal*, 1952, 58.- p.345-352.

9. J.W. Costeron, *Costeron J.W. The role of bacterial cellulose exopolysaccharides in nature and disease, J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, 22.- p.551-563.
10. Williams W.S., R.E. Cannon, *Alternative environmental roles of cellulose produced by Acetobacter xylinum, Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, 55.- p.2448-2452.
11. R. Jonas, L.F. Farad, *Production and application microbial cellulose, Polymer. Degrad. Stabil.*, 1998, 59.- p.101-106.
12. T. Okamoto, S. Yamano, H. Ikeaga and K. Nakamura, *Cloning of the Acetobacter xylinum cellulase gene and its expression in E. coli and Zymomonas mobilis, Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1994, 42.- p. 563 – 568.
13. Koo H.M, S.H. Sony, Y.R. Pyun, Y.S. Kim, *Evidence that a Beta-1,4-endoglucanase secreted by Acetobacter xylinum plays an essential role for the formation of cellulose fiber, Biosci. Biotech. Bioeng.*, 1991, 62.- p.2257 – 2259.
14. P. Ross, R. Mayer and M. Benziman, *Cellulose biosynthesis and fuction in bacteria, Microbiol. Rev.*, 1991, 55.- p.35-58.
15. W. Czaja, A. Krystynowicz, S. Bielecki, R.M. Brown Jr., *Microbial cellulose – The natural power to heal wounds, Biomaterials*, 27, 2006, 145–151
16. A. Steinbüchel, Robert H. Marchessault, *Biopolymers for Medical and Pharmaceutical Applications: Humic Substances, Polyisoprenoids, Polyesters, and Polysaccharides, Wiley*, 2005.-p.31-84.
17. J. Sugiyama, R. Vuong, H. Chanzy, *Electron diffraction study on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall, Macromolecules*, 1991, 24.- p. 4168 - 4175.
18. M. Iguchi. *Bacterial cellulose –A masterpiece of nature’s arts/ M. Iguchi, S. Yamanaka, A. Budhiono, J. Mater. Sci.*, 2000, 35.- p.261–270.
19. Дудкин М.С. Гемиицеллюлозы/ М.С. Дудкин, В.С. Громов, Ведерников Н.А. и др. – Рига: Зинатне, 1991 – с. 7-10.

20. Peter Zugenmaier, *Crystalline Cellulose and Derivatives: Characterization and Structures*, Springer, 2008, 285. – p. 2
21. D. Klemm, B. Heublein, H-P. Fink, A. Bohn, *Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material*, *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44.- p.3358 - 3393.
22. D. Klemm, B. Heublein, H-P. Fink, A. Bohn, *Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material*, *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44.- p.3358 - 3393.
23. S. J. Eichhorn, A. Dufresne, M. Aranguren et al., *Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites*, *Journal of Material Science*, 2010, 45.- p.1-33.
24. S. Bielecki, A. Krystinowicz, M. B. C., Turkiewicz, and H. Kalinowska, *Bacterial cellulose*, in: *Polysaccharides and polyamide in the food industry: Properties, production and patents*, Wiley VCH, Weinheim, 2005.- p.31-84
25. D. Klemm, D. Schumann, F. Kramer, N. Hebler, M. Hornung, H. P. Schmauder and S. Marrsch, *Nanocellulose innovative polymers in research and application*, *Advance of Polymer Science*, 2006, 205.- p. 49-96.
26. S. J. Eichhorn, A. Dufresne, M. Aranguren, N. E. Marcovich, J. R. Capadona, S. J. Rowan, C. Weder, W. Thielemans, M. Roman, S. Renneckar, W. Gindl, S. Veigel, J. Keckes, H. Yano, K. Abe, M. Nogi, A. N. Nakagaito, A. Mangalam, J. Simonsen, A. S. Benight, A. Bismarck, L. A. Berglund, T. Peijs, *Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites*, *Journal of Materials Science*, January 2010, Volume 45, Issue 1, pp 1-33
27. Noel R. Krieg, James T. Staley, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology – second edition – volume 2 – part C- The Alpha -, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*, Springer, 2005.- p.41- 96.
28. D.P. Delmer, Y. Amoy, Delmer D.P. *Cellulose biosynthesis*, *Plant cell*, 1995, 7.- p.987.

- 29.N. Tonouchi, T. Tsuchida, F. Yoshinaga, S. Horinouchi, T. Beppu, A host-vector system for a cellulose-producing *Acetobacter* strain, *Biosci Biotechnol Biochem*, 1994, 58(10).- p.1899-901.
- 30.De Wulf P. Improved cellulose formation by *Acetobacter xylinum* mutant limited in (keto) gluconate synthesis/ P.De Wulf, K. Joris and E.J. Vandamme// *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 1996, 67.- p.376-380.
- 31.Chawla P.R. et al. Fermentative Production of Microbial Cellulose, *Food Technol. Biotechnol*, 2009, 47 (2).- p.107–124.
- 32.I.M. Saxena, K. Kudlicka, K. Okuda, R.M. Brown, Characterization of genes in the cellulose-synthesizing operon (*acs operon*) of *Acetobacter xylinum*: implications for cellulose crystallization, *Jr. J Bacteriol.*, 1994, 176(18).- p.5735-52.
- 33.H.C. Wong, A.L. Fear, R.D. Calhoon, G.H. Eichinger, R. Mayer, D. Amikam, M. Benziman, D.H. Gelfand, J.H. Meade, A.W. Emerick, R. Bruner, A. Ben-Bassat, R. Tal, Genetic organization of the cellulose synthase operon in *Acetobacter xylinum*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87.- p. 8130–8134.
- 34.S. Kawano, K. Tajima, H. Kono, T. Erata, M. Munekata, M.Takai, Effects of endogenous endo- $\beta$ -1,4-gluconase on cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum* ATCC23769, *J.Biosci. Bioeng.*, 2002, 94.- p.275–281.
- 35.R. Standal, T.G. Iversen, D.H. Coucheron, E. Fjaervik, J.M. Blatny, S. Valla, A new gene required for cellulose production and a gene encoding cellulolytic activity in *Acetobacter xylinum* are colocalized with the *bcs* operon,*J. Bacteriol.*, 1994, 176.- p.665–672.
- 36.A. Endler, C. Sánchez-Rodríguez, S. Persson, Cellulose squeezes through *Glycobiology*, *Nat Chem Biol.*, 2010, 6(12).- p.883-4.
- 37.R.Steel, T.K. Walker, Studies on the Antibacterial Activity of Certain Strains of *Acetobacter*, *J. gen. Microbiol.*, 1958, 18.- p.369-376.
- 38.J. K. Park, T. Khan and J. Y. Jung, Structural studies of the glucuronic acid oligomers produced by *Gluconacetobacter hansenii* strain, *Carbohydr. Polym.*, 2006, 63.- p.482–486.

39. T. Khan, J. Kon Park, *The structure and physical properties of glucuronic acid oligomers produced by a Gluconacetobacter hansenii strain using the waste from beer fermentation broth*, *Carbohydrate Polymers*, 2008, 73.- p.438–445.
40. H. Toyosaki, T. Naritomi, A. Seto, M. Matsuoka, T. Tsuchida and F. Yoshinaga, *Screening of bacterial cellulose – producing Acetobacter strains suitable for agitated culture*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1995, 59.- p.1498-1502.
41. S.A. Hutchens, R.V. Leon, H.M. O’Neill and B.R. Evans, *Statistical analysis of optimal culture conditions for Gluconacetobacter hansenii cellulose production*, *Lett Appl Microbiol.*, 2007, 44(2).- p.175-80.
42. Патент РФ № 2189394 - Состав питательной среды культивирования *Acetobacter xylinum* для получения бактериальной целлюлозы. Авторы Хрипунов А.К., Ткаченко А.А., 2002.
43. Campano, C., Balea, A., Blanco, A., & Negro, C.,. *Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review*. *Cellulose*, 23(1), 2015, 57–91. doi:10.1007/s10570-015-0802-0
44. Lee, S.-H., An, S.-J., Lim, Y.-M., & Huh, J.-B.. *The Efficacy of Electron Beam Irradiated Bacterial Cellulose Membranes as Compared with Collagen Membranes on Guided Bone Regeneration in Peri-Implant Bone Defects*. *Materials*, 10(9), 1018, 2017.
45. <http://www.congthuongbentre.gov.vn/home/tinh-hinh-san-xuat-keo-dua-thach-dua-2016-Print3716.htm>