

## NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT CHẤT KHÁNG SINH TỪ CHÙNG XẠ KHUẨN *STREPTOMYCES OLIVACEUS TT1.2* PHÂN LẬP TẠI THÁI NGUYÊN

Nguyễn Thị Vân<sup>1</sup>, Phạm Thị Ngọc Diệp<sup>2</sup>, Nguyễn Vũ Thanh Thanh<sup>1</sup>, Đỗ Thị Tuyết<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Khoa học - ĐH Thái Nguyên

<sup>2</sup>Trường Cao đẳng Y Thái Nguyên

### TÓM TẮT

Mặc dù không phải là một lĩnh vực mới hiện nay nhưng công nghệ lén men chất kháng sinh đang ngày càng phát triển và khẳng định được vai trò của nó trong nền y học hiện đại với hàng loạt các loại bệnh dịch bị loại bỏ bởi công dụng của chất kháng sinh (CKS). Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả liên quan đến một số điều kiện tối ưu để nuôi cấy và tách chiết CKS từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces olivaceus* TT1.2 phân lập tại Thái Nguyên. Kết quả cho thấy chủng TT1.2 có khả năng lén men sinh CKS tốt nhất trên môi trường A4-H sau 168 giờ ở điều kiện pH =7. Chất kháng sinh chiết từ chủng TT1.2 có khả năng tan được trong nhiều loại dung môi khác nhau, tan tốt hơn trong một số dung môi như chloroform, ethyl acetate, toluen, 3-methyl butanol. Có thể sử dụng môi trường axit, bazơ hay trung tính để tách chiết CKS từ chủng TT1.2. Kết quả nghiên cứu ti lệ dung môi 3-methyl butanol thích hợp để tách chiết CKS là 1 dung môi: 3 dịch lén men cho hiệu quả cao nhất. CKS tách từ chủng TT1.2 thuộc loại chịu nhiệt khá cao, ở 100°C trong 60 phút vẫn giữ được hoạt tính kháng sinh (HTKS) tới 94,4% (đối với chủng kiểm định là *Salmonella typhi*) và 72,7% (đối với chủng kiểm định là *Shigella flexneri*) so với đối chứng. Đồng thời, CKS của chủng TT1.2 cũng tương đối bền trong khoảng pH từ 4 đến 9, đặc biệt HTKS đạt cực đại tại pH = 7 trên cả 3 chủng kiểm định dùng trong nghiên cứu.

Từ khóa: Chất kháng sinh, dung môi, hoạt tính kháng sinh, tách chiết, *Streptomyces olivaceus*

### ĐẶT VĂN ĐÈ

Xã hội ngày càng phát triển, nhu cầu bảo vệ và chăm sóc sức khỏe ngày càng cao, cùng với những thái độ sử dụng thuốc kháng sinh chưa đúng phương cách thi hiện tượng kháng thuốc, nhờn thuốc ngày càng phổ biến, nhiều dịch bệnh nguy hiểm vẫn luôn dinh dập để bùng phát hàng ngày, hàng giờ. Trên thế giới đã có công bố về việc xuất hiện các vi khuẩn kháng với hầu hết kháng sinh, còn gọi là vi khuẩn siêu kháng thuốc. Thực tế cho thấy, kháng thuốc không phải là vấn đề mới, nhưng đã trở nên nguy hiểm, cấp bách, đòi hỏi phải có sự nỗ lực tổng hợp nhằm giúp nhân loại tránh khỏi nguy cơ quay trở lại thời kỳ chưa có kháng sinh [7]. Tổ chức Y tế thế giới nhận định, chúng ta đang sống trong kỷ nguyên phụ thuộc kháng sinh và yêu cầu toàn cầu có trách nhiệm bảo vệ nguồn thuốc kháng sinh quý giá cho thế hệ sau. Do đó việc xây dựng kế hoạch phòng chống kháng thuốc mang tính toàn diện, tổng thể, dài hạn là hết sức cần thiết đối với Việt Nam trong giai đoạn hiện nay.

Mới đây, theo kết quả nghiên cứu của Chương trình Quốc gia giám sát tình hình kháng thuốc của các vi khuẩn gây bệnh thường gặp ở nước ta, trực khuẩn ly (*S.flexneri*) là một trong số các vi khuẩn có tỷ lệ kháng kháng sinh rất cao, có tới hơn 80% các chủng *S.flexneri* kháng lại ampicillin, chloramphenicol và co-trimoxazol - là những kháng sinh thường dùng trong điều trị, có hơn 40% trực khuẩn thương hàn (*S.entericatyphi*) kháng lại với ampicillin và 62% kháng lại với chloramphenicol [7]. Điều này gây khó khăn cho các bác sĩ lâm sàng trong điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn gây ra. Với mục tiêu nghiên cứu tìm ra các loại kháng sinh mới, có hoạt lực cao, hoạt phổ rộng để chống lại vi khuẩn gây bệnh nguy hiểm cho con người nói trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tách chiết chất kháng sinh kháng vi khuẩn gây bệnh trên người từ chủng xạ khuẩn *S.olivaceus* TT1.2 phân lập từ đất tại Thái Nguyên.

### NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### Nguyên liệu

\* Tel: 0974 056 143. Email: tuyendodhkh@gmail.com

- Chủng xạ khuẩn *S. olivaceus* TT1.2 có khả năng sinh CKS có hoạt tính cao, có hoạt phổ rộng, kháng được cả 2 nhóm vi khuẩn Gram dương và Gram âm, được chọn ra trong số các chủng xạ khuẩn có HTKS cao phân lập được ở Thái Nguyên [3].

VSV kiềm định: Vi khuẩn Gram dương: *Shigella flexneri* VTCC-B-479; *Salmonella entericatypiph* VTCC-B-480; Vi khuẩn Gram âm: *Micrococcus luteus* VTCC-B-644 Viện Bảo tàng giống chuẩn VSV Việt Nam cung cấp [3].

### Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp lên men xạ khuẩn trong môi trường dịch thể* [2]

- *Xác định HTKS*: theo các phương pháp đục lỗ thạch và khoanh giấy lọc [2]

- *Tách chiết CKS từ sinh khối và dịch lên men bằng các dung môi hữu cơ*: Xạ khuẩn được nuôi lác trong môi trường lên men thích hợp, sau 168 giờ tiến hành ly tâm thu dịch lên men và sinh khối, bỏ sung dung môi hữu cơ vào sinh khối và dịch lên men theo tỷ lệ 1 : 1. Xác định hoạt tính của dịch kháng sinh bằng phương pháp khoanh giấy lọc

- *Phương pháp xác định khả năng bền trong pH của chất kháng sinh*: Dịch lên men được chỉnh pH về các mức pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 bằng NaOH 0,5M và CH<sub>3</sub>COOH 0,4M và giữ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Sau đó chỉnh tiếp dịch kháng sinh thô trên về mức pH = 7 rồi tiến hành thử hoạt tính kháng sinh bằng phương pháp đục lỗ thạch.

- *Phương pháp xác định khả năng bền với nhiệt độ của chất kháng sinh*: Dịch kháng sinh thô được đun cách thủy ở 40°C, 60°C, 80°C, 100°C kéo dài 20, 40 và 60 phút, sau đó để nguội về nhiệt độ phòng và xác định hoạt tính kháng sinh bằng phương pháp đục lỗ thạch.

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### Lựa chọn môi trường và thời gian lên men thích hợp

Môi trường lên men được coi là tốt ngoài việc đảm bảo cho chủng xạ khuẩn sinh trưởng tốt

thì đồng thời cũng phải cho hiệu suất sinh kháng sinh tối ưu nhất. Để lựa chọn được môi trường lên men đáp ứng được cả 2 điều kiện nói trên, và đồng thời xác định thời gian lên men thu dịch kháng sinh mang lại hiệu quả cao nhất, chúng tôi đã tiến hành khảo sát sự lên men CKS từ chủng xạ khuẩn TT1.2 trên 6 loại môi trường lên men cơ sở và xác định HTKS của dịch lên men bằng phương pháp đục lỗ thạch với dịch kháng sinh thu tại các mốc thời gian là sau 72, 96, 120, 144, 168, 192 giờ lên men. Kết quả thể hiện ở bảng 1.

Kết quả được thể hiện trên bảng 1 cho thấy môi trường và thời gian lên men có ảnh hưởng rất rõ rệt đến khả năng sinh tổng hợp CKS của chủng TT1.2. Trong 5 loại môi trường được sử dụng để lên men, HTKS biểu hiện mạnh nhất trên môi trường A-4H, tiếp đó là môi trường A-4, thể hiện ở kích thước vòng vỗ khuỷn đạt từ 24 – 42mm. Trên môi trường 79 và Gause 2 dịch lên men có hoạt tính yếu hoặc không thể hiện hoạt tính.

Đồng thời kết quả bảng 1 cũng chứng tỏ HTKS ở các thời điểm lên men khác nhau có sự khác nhau đáng kể. Nhìn chung, HTKS có xu hướng tăng dần ở thời gian đầu lên men, đặc biệt dịch lên men thu được sau 168 giờ nghiên cứu trên môi trường A-4H cho HTKS mạnh nhất, kích thước vòng vỗ khuỷn dao động từ 31 – 42mm. Sau 168 giờ lên men, HTKS có xu hướng giảm dần. Điều này cũng phù hợp với tính toán lý thuyết, trong những thời gian đầu lên men, do CKS chỉ là sản phẩm trao đổi bậc 2 nên chúng sản sinh ra một lượng thấp hơn, đến khoảng cuối pha sinh trưởng đầu pha cân bằng thì CKS mới được tích lũy ngày càng nhiều và do đó chúng có hoạt lực cao hơn. Khi kéo dài thời gian lên men, HTKS giảm do dinh dưỡng cạn kiệt, sinh khối tế bào bị già hóa và phân hủy. Cân cứ từ kết quả trên, chúng tôi đã lựa chọn môi trường A-4H và thời gian lên men là 168 giờ để lên men CKS cho các nghiên cứu tiếp theo.

**Bảng 1. HTKS của chủng *S. olivaceus TT1.2* trên các môi trường lên men tại các mốc thời gian lên men khác nhau**

VSV KD	Thời gian (giờ)	Hoạt tính kháng sinh (D-d,mm)					
		A4 - H	G1	ISP	A4	G2	79
<i>M.luteus</i>	72	25 ± 0,19	18 ± 0,26	15 ± 0,6	24 ± 0,21	-	-
	96	24 ± 0,32	19 ± 0,18	20 ± 0,16	25 ± 0,34	-	-
	120	26 ± 0,67	23 ± 0,29	26 ± 0,82	24 ± 0,18	-	-
	144	30 ± 0,63	18 ± 0,71	31 ± 0,19	30 ± 0,7	-	+
	168	31 ± 0,15	19 ± 0,19	20 ± 0,28	31 ± 0,67	+	-
	192	25 ± 0,43	18 ± 0,35	18 ± 0,37	24 ± 0,33	-	-
<i>S.typhi</i>	72	30 ± 0,12	26 ± 0,34	21 ± 0,27	29 ± 0,78	-	-
	96	30 ± 0,6	24 ± 0,1	26 ± 0,15	29 ± 0,55	-	-
	120	31 ± 0,48	27 ± 0,13	26 ± 0,29	30 ± 0,18	-	-
	144	33 ± 0,79	27 ± 0,27	29 ± 0,22	38 ± 0,35	-	-
	168	38 ± 0,21	25 ± 0,41	39 ± 0,18	29 ± 0,29	+	-
	192	32 ± 0,81	23 ± 0,82	24 ± 0,68	25 ± 0,44	+	-
<i>S.flexneri</i>	72	34 ± 0,16	28 ± 0,38	20 ± 0,43	30 ± 0,23	-	-
	96	30 ± 0,27	30 ± 0,19	24 ± 0,26	30 ± 0,77	-	-
	120	40 ± 0,41	34 ± 0,26	30 ± 0,14	38 ± 0,14	-	-
	144	40 ± 0,37	30 ± 0,12	32 ± 0,17	42 ± 4,66	+	-
	168	42 ± 0,29	30 ± 0,46	34 ± 0,33	40 ± 0,3	+	-
	192	32 ± 0,31	27 ± 0,25	30 ± 0,92	28 ± 0,58	-	-

Chú thích: D: đường kính vòng vỏ khuân, d: đường kính lỗ thạch  
(+): hoạt tính yếu ( $\leq 5\text{mm}$ ), (-): Không có hoạt tính

#### Lựa chọn pH thích hợp cho lên men

Chủng xà khuân được nuôi trong môi trường A4 - H dịch thiê, ở các pH ban đầu từ 4 - 10, sau 168 giờ tiến hành thu dịch lên men và khảo sát khả năng kháng khuân bằng phương pháp lỗ thạch. Kết quả được trình bày ở bảng 2. Kết quả trên bảng 2 cho thấy, khi lên men chủng TT1.2 trên cùng loại môi trường nhưng ở pH khác nhau thì khả năng sinh CKS kháng các chủng kiềm định là rất khác nhau. HTKS đạt mạnh nhất ở môi trường có pH = 7, thể hiện ở kích thước vòng vỏ khuân dao động từ 29 - 38mm. Khi tăng hay giảm pH theo hướng axit hóa hay kiềm hóa môi trường thì HTKS có xu hướng giảm dần, tuy nhiên trong khoảng pH mà chúng tôi khảo sát thì sự giảm này không nhiều. Điều này cho thấy khả năng thích nghi với dải pH tương đối rộng của chủng TT1.2. Kết quả này của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với đặc điểm sinh học của xà khuân nói chung và cũng phù hợp với các kết quả đã công bố [1], [5], [6], [7] khi nghiên cứu ảnh hưởng của pH ban đầu đến sinh tổng hợp CKS của XK. Trong thí nghiệm này, chúng tôi chọn pH = 7 cho các nghiên cứu tiếp theo.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của pH đến khả năng tổng hợp CKS**

pH ban đầu	pH sau lên men	Hoạt tính kháng sinh (D-d,mm)		
		<i>M.luteus</i>	<i>S.entericatyphi</i>	<i>S.flexneri</i>
4	4,1±0,09	-	-	-
5	6,16±0,11	20 ± 0,21	31 ± 0,5	32 ± 0,33
6	6,25±0,07	21 ± 0,16	34 ± 0,25	32 ± 0,5
7	7,14±0,1	29 ± 0,75	38 ± 0,25	38 ± 0,33
8	6,75±0,14	20 ± 0,2	36 ± 0,14	35 ± 0,25
9	6,85±0,08	23 ± 0,18	34 ± 0,12	29 ± 0,2
10	6,38±0,13	18 ± 0,24	21 ± 0,21	20 ± 0,3

## Tách chiết chất kháng sinh

### Khảo sát khả năng hòa tan của CKS trong dung môi

Để lựa chọn được dung môi thích hợp cho việc tách chiết CKS, chúng tôi đã sử dụng 10 loại dung môi để khảo sát khả năng hòa tan CKS từ sinh khối và dịch ngoại bào. Kết quả được thể hiện ở bảng 3 cho thấy, CKS của chủng TT1.2 có khả năng tan tốt trong tất cả các dung môi sử dụng. Và đặc biệt HTKS thể hiện cả trong dịch chiết kháng sinh từ sinh khối và dịch lên men. Điều này chứng tỏ chủng TT1.2 có khả năng sinh cả kháng sinh nội bào và kháng sinh ngoại bào. Trong đó, CKS tích lũy trong sinh khối có hoạt lực nhìn chung cao hơn so với CKS tích lũy trong dịch lên men.

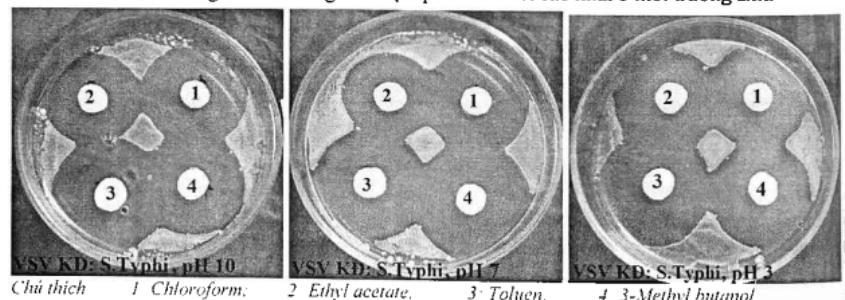
Bảng 3. HTKS của chủng TT1.2 khi tách từ sinh khối và dịch ngoại bào bằng dung môi

Dung môi	Hoạt tính kháng sinh (D-d, mm)					
	Dịch ngoại bào			Sinh khối		
	M.luteus	S.typhi	S.flexneri	M.luteus	S.typhi	S.flexneri
Acetone	21±0,25	22±0,14	21±0,45	35±0,66	34±0,24	35±0,18
Benzen	21±0,15	25±18	25±0,72	28±0,25	28±0,32	28±0,42
Chloroform	23±0,33	33±0,20	32±0,33	33±0,33	32±0,40	34±0,21
Ethyl acetate	22±0,21	31±0,36	30±0,81	36±0,50	30±0,63	36±0,62
Iso-amyl alcohol	29±0,48	28±0,12	23±0,35	32±0,42	34±0,48	36±0,35
Iso-butyl alcohol	31±0,27	27±0,62	27±0,54	32±0,18	33±0,28	34±0,56
p-Xylene	25±0,30	25±0,27	31±0,90	32±0,24	30±0,70	30±0,63
Toluene	29±0,18	32±0,32	30±0,28	33±0,82	32±0,36	34±0,24
Xylene	29±0,36	32±0,50	32±0,72	35±0,29	30±0,50	33±0,50
3-Methyl butanol	29±0,42	35±0,48	24±0,36	35±0,75	35±0,25	35±0,33

Căn cứ các kết quả trên, chúng tôi đã lựa chọn 4 loại dung môi thích hợp nhất là chloroform, ethyl acetate, toluen, 3-methyl butanol để tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của pH tới khả năng hòa tan của CKS trong dung môi.

### Lựa chọn pH thích hợp cho tách chiết CKS

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH tới HTKS của dịch chiết ở các mức pH = 3, 7, 10 thể hiện ở hình 1 cho thấy cả 3 dải pH nghiên cứu đều thích hợp cho việc tách chiết CKS, trong đó ở pH = 3 cho hiệu quả tách chiết cao nhất. Như vậy, có thể sử dụng môi trường axit, bazơ hay trung tính để tách chiết CKS từ chủng TT1.2 nhưng cho hiệu quả tách chiết cao nhất ở môi trường axit.



Hình 1. HTKS của chủng TT1.2 khi tách chiết tại pH khác nhau

**Lựa chọn tỉ lệ dung môi thích hợp cho tách chiết CKS****Bảng 4. HTKS của chủng TT1.2 khi tách chiết với thể tích dung môi cố định**

Dung môi	Hoạt tính kháng sinh (D - d, mm)								
	1:1			1:2			1:3		
	<i>M.luteus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>S.flexneri</i>	<i>M.luteus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>S.flexneri</i>	<i>M.luteus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>S.flexneri</i>
Chloroform	30±0,35	30±0,42	30±0,20	29±0,55	28±0,64	30±0,72	26±0,64	28±0,81	30±0,25
Ethyl acetate	23±0,66	29±0,54	30±0,27	25±0,18	26±0,62	25±0,45	32±0,32	25±0,74	22±0,62
Toluene	31±0,30	31±0,50	31±0,16	31±0,40	31±0,50	28±0,60	25±0,54	30±0,14	25±0,36
3-Methyl butanol	32±0,33	32±0,24	33±0,68	32±0,38	30±0,14	30±0,24	29±0,20	30±0,35	28±0,48

Từ bảng số liệu trên có thể thấy được khả năng hòa tan của chất kháng sinh có sự phụ thuộc vào tỉ lệ dung môi/dịch lén men. Tuy nhiên đối với chất kháng sinh chiết từ chủng *S.olivaceus* thì phần lớn chúng có hoạt tính khá cao và ổn định, mức độ chênh lệch giữa các loại tỉ lệ khác nhau là không nhiều. Từ các kết quả trên, cùng với sự xem xét một số tiêu chí liên quan chúng tôi đã quyết định chọn 3-methyl butanol để tách chiết với tỉ lệ dung môi: dịch lén men là 1:3 để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

**Bước đầu xác định khả năng bền trong pH của chất kháng sinh**

Tiến hành tách chiết CKS bằng dung môi 3- methyl butanol với tỉ lệ dung môi: dịch lén men là 1:3 để thu lấy kháng sinh. Điều chỉnh dịch kháng sinh về các mức pH từ 3 đến 9 và giữ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút, sau đó tiếp tục điều chỉnh về pH = 7. Xác định HTKS bằng phương pháp khoanh giấy lọc. Kết quả được thể hiện ở bảng 5. Các kết quả trên cho thấy, dịch kháng sinh của chủng TT1.2 vẫn giữ được hoạt tính trong dải pH từ 4 đến 9 trong thời gian 10 phút và thể hiện HTKS mạnh ở pH axit yếu (pH = 5 - 6) và pH trung tính (pH = 7). Đây là một đặc điểm cần được quan tâm trong công nghệ thu hồi, tinh chế chất kháng sinh, đặc biệt trong việc mở rộng khả năng ứng dụng của chất kháng sinh này.

**Bảng 5. Khả năng bền của chất kháng sinh trong pH**

pH	Hoạt tính kháng sinh (D - d, mm)		
	<i>M.luteus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>S.flexneri</i>
4	19 ± 0,57	38 ± 0,23	14 ± 0,76
5	22 ± 0,68	46 ± 0,57	17 ± 0,84
6	22 ± 0,34	44 ± 0,25	26 ± 0,49
7	30 ± 0,21	36 ± 0,18	32 ± 0,64
8	19 ± 0,29	34 ± 0,52	18 ± 0,89
9	20 ± 0,33	38 ± 0,37	18 ± 0,28

**Bảng 6. Hoạt tính kháng sinh của dịch kháng sinh thô sau khi đã xử lý ở các nhiệt độ khác nhau**

Nhiệt độ xử lý (°C)	Thời gian xử lý (phút)	Hoạt tính kháng sinh (D - d, mm)		
		<i>M.luteus</i>	<i>S.typhi</i>	<i>S.flexneri</i>
40°C	20	15±0,21	44±0,34	25±0,45
	40	20±0,56	39±0,50	25±0,39
	60	15±0,37	40±0,23	25±0,25
60°C	20	17±0,83	35±0,29	20±0,36
	40	17±0,31	32±0,22	24±0,50
	60	15±0,18	32±0,27	24±0,33
80°C	20	16±0,49	35±0,30	20±0,35
	40	15±0,90	35±0,35	25±0,20
	60	16±0,15	32±0,2	22±0,30
100°C	20	14±0,28	32±0,38	23±0,45
	40	15±0,25	34±0,43	24±0,12
	60	15±0,32	34±0,52	24±0,24
<b>Đối chứng (ĐC)</b>		37±0,18	36±0,27	33±0,58

*Chú thích: Đối chứng: dịch kháng sinh thô chưa qua xử lý nhiệt độ*

## Bước đầu xác định khả năng bền nhiệt của chất kháng sinh

Dịch kháng sinh thô được đun cách thủy ở  $40^{\circ}\text{C}$ ,  $60^{\circ}\text{C}$ ,  $80^{\circ}\text{C}$ ,  $100^{\circ}\text{C}$  kéo dài 20, 40 và 60 phút, sau đó để nguội và xác định hoạt tính kháng sinh bằng phương pháp đục lỗ thạch. Kết quả được thể hiện trong bảng 6.

Kết quả cho thấy, nhìn chung khả năng bền nhiệt của CKS tách chiết từ chủng xạ khuẩn *S. Olivaceus* là khá cao, ở  $100^{\circ}\text{C}$  trong 60 phút, HTKS vẫn giữ được 40,5% (đối với chủng *M. luteus*), 94,4% (đối với *S. typhi*) và 72,7% (đối với chủng *S. flexneri*) so với đối chứng. Đây là một trong những đặc điểm thuận lợi và rất có ý nghĩa trong việc tinh chế và sản xuất CKS.

## KẾT LUẬN

- Chủng *S. Olivaceus* TT1.2 có khả năng lên men sinh CKS tốt nhất trên môi trường A4-H sau 168 giờ và pH thích hợp cho lên men là pH = 7.
- Chất kháng sinh của chủng *S. Olivaceus* TT1.2 có khả năng tan được trong nhiều loại dung môi khác nhau, tan tốt hơn trong một số dung môi như chloroform, ethyl acetate,toluen, 3-methyl butanol. Tỉ lệ tách chiết với dung môi 3-Methyl butanol cho hiệu quả cao nhất là 1 dung môi: 3 dịch lên men.
- Có thể sử dụng môi trường axit, bazơ hay trung tính để tách chiết CKS từ chủng TT1.2 nhưng cho hiệu quả tách chiết cao nhất ở môi trường axit (pH = 3).

4. CKS tách từ chủng *S. Olivaceus* TT1.2<sup>\*</sup> tương đối bền nhiệt và bền pH. CKS vẫn giữ được HTKS tốt ở pH = 4 - 9. Ở  $100^{\circ}\text{C}$  trong 60 phút hoạt tính vẫn giữ được 94,4% (đối với chủng kiểm định là *Salmonella typhi*) và 72,7% (đối với chủng kiểm định là *Shigella flexneri*) so với đối chứng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Vũ Thị Đoan Chính (2011), *Tuyển chọn và nghiên cứu xạ khuẩn có khả năng đối kháng với một số chủng vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện*, Báo cáo tổng kết đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ, Mã số B2009 - TN07 - 02.
- Nguyễn Lan Dũng, Đoàn Xuân Mươn, Nguyễn Phùng Tiên, Đặng Đức Trạch, Phạm Văn Ty (1972), *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*, Tập I, NXB KHTN Hà Nội.
- Phạm Thị Ngọc Diệp (2013), "Tuyển chọn một số chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng sinh cao thuộc chi *Streptomyces*", Luận văn thạc sĩ sinh học, Đại Học Sư Phạm Thái Nguyên
- Bùi Thị Việt Hà (2006), *Nghiên cứu xạ khuẩn sinh chất kháng sinh chống nấm gây bệnh thực vật ở Việt Nam*, Luận án Tiến sĩ Sinh học, Hà Nội.
- Nguyễn Hoàng Minh Huy (2006), *Khảo sát đặc điểm và vai trò của chủng xạ khuẩn Streptomyces dicklowii*, Luận văn Thạc sĩ Khoa học, Thành phố Hồ Chí Minh.
- Đào Thị Lương, Lê Hạ Long Hải, Trần Lê Quyên (2008), "Nghiên cứu xạ khuẩn sinh kháng sinh kháng vi khuẩn gây bệnh lậu (*Neisseria gonorrhoeae*)", Dì truyền học và ứng dụng - Chuyên san Công nghệ sinh học, số 4.
- Nguyễn Khang (2005), *Kháng sinh học ứng dụng*, NXB Y học, Hà Nội.

**SUMMARY****STUDY ON EXTRACTION ANTIBIOTIC FROM ACTINOMYCETES STRAINS  
*STREPTOMYCES OLIVACEUS TT1.2* ISOLATED IN THAI NGUYEN**

Nguyen Thi Van<sup>1</sup>, Pham Thi Ngoc Diep<sup>2</sup>, Nguyen Vu Thanh Thanh<sup>1</sup>, Do Thi Tuyen<sup>1\*</sup>

<sup>2</sup>College of Sciences – TNU, <sup>2</sup>Thai Nguyen Medical College

Although it is not a new field nowadays but fermentation technology of antibiotics has developed robustly and played an important role in modern medicine which has been using antibiotics for diseases treatment. In our study, we described the results which related to the optimal conditions for the antibiotic extraction from strain of actinomycetes *Streptomyces olivaceus* TT1.2. As the result, this strain showed the best fermentation possibility in A4-H medium and 168 hours were suitable for antibiotic biosynthesis at pH = 7. The antibiotic extracted from TT1.2 strain could be soluble well in different solvents and much better in some solvents such as Chloroform, ethyl acetate, toluene, 3 - methyl butanol. The pH values for extraction of antibiotics ranged from 3 to 10 and the most suitable pH was about pH = 3. According to practical conditions, experimental purposes and standards of safety, we selected 3 - methyl butanol for further studies. The results showed that the ratio of solvent and fermented solution as 1:3 respectively was the best choice for antibiotic extraction. The antibiotic extracted from TT1.2 strain seem to be unaffected much by high heat, especially heated at 100°C for 60 minutes the activity of antibiotic remained 94.4% (for *Salmonella typhi*) and and 72.7 % (for *Shigella flexneri* ) compared to negative controls. Moreover, this antibiotic was stable in the range of pH variations from 4 to 9, antimicrobial activity increased maximally at pH = 7 in all cases of using 3 examined microorganism strains.

**Key words:** Antibiotic, solvents, antibiotic activity, extraction, *Streptomyces olivaceus*

Ngày nhận bài: 30/9/2015, Ngày phản biện: 24/11/2015, Ngày duyệt đăng: 15/3/2016

Phản biện khoa học: TS. Vi Thị Đoan Chính – Trường Đại học Khoa học - ĐHTN

\* Tel: 0974 056 143, Email: tuyendodhkh@gmail.com