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

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

(11) **2-0001751**

(51)[7] **C07K 1/00**

(13) **Y**

(21) 2-2015-00296
(22) 29.09.2015
(45) 25.07.2018 364
(43) 25.04.2016 337

(73) VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC - VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM (VN)
18 Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Nguyễn Phương Nhuệ (VN), Đặng Tuyết Phương (VN), Lê Gia Hy (VN), Vũ Thị Hạnh Nguyên (VN), Phạm Thanh Huyền (VN), Hồ Tuyên (VN), Bạch Thị Mai Hoa (VN), Phí Quyết Tiến (VN)

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT VANCOMYXIN HYDROCLORIT

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất vancomyxin hydroclorit, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) hoạt hóa chủng giống gốc, b) thích nghi chủng giống gốc; c) nhân giống sản xuất, d) lên men sản xuất; và e) thu vancomyxin hydroclorit. Bằng cách cải tiến môi trường nuôi cấy, quy trình theo giải pháp hữu ích cho phép lên men thu được vancomyxin hydroclorit từ chủng xạ khuẩn Streptomyces orientalis 4912 lên tới 4,16 mg/ml với thời gian lên men được rút ngắn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất vancomyxin hydroclorit từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Chất kháng sinh vancomyxin được tổng hợp bởi xạ khuẩn *Streptomyces orientalis*. Vancomyxin được đưa vào thử nghiệm chữa bệnh từ năm 1958 và Bộ Y tế Hoa Kỳ cho phép sử dụng vào năm 1964. Dạng vancomyxin thương phẩm được đóng 500 mg vancomyxin.HCl/lọ, tương đương 0,34 mmol. Vancomyxin chỉ nên dùng để điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm trùng do vi khuẩn nghi ngờ đã nhờn thuốc gây nên. Hiện nay, vancomyxin vẫn đang được nghiên cứu hoàn thiện sản xuất, tăng độ tinh khiết và giảm độ độc, nâng cao hoạt tính và phổ tác dụng điều trị.

Theo công bố mới nhất, hiệu suất chủng đột biến của xạ khuẩn *Streptomyces. orientalis* (nhận được nhờ xử lý bằng tia UV) đạt 11,5 g/l sau 120 giờ lên men trên quy mô pilot. Tuy nhiên, việc sản xuất vancomyxin ở quy mô công nghiệp cho hiệu suất còn thấp, chỉ đạt khoảng 3,7 g/l, làm cho giá thành của chất kháng sinh này khá cao, gấp 10 đến 20 lần so với các thuốc kháng sinh nhóm penixilin hoặc cephalosporin. Để giải quyết vấn đề này, cần có cải tiến về quy trình nuôi cấy để thu được vancomyxin có hiệu suất cao. Rất nhiều nghiên cứu đã được tiến hành trong điều kiện lên men theo mẻ hoặc lên men liên tục, lên men sử dụng sinh khối tái sinh hoặc tế bào cố định.

Vancomyxin có trong danh mục thuốc thiết yếu Việt Nam ban hành lần thứ 5, năm 2005. Hiện đang có nhu cầu sử dụng vancomyxin và giá bán khá cao là 180 nghìn đồng/1g. Do đó, Tổng Công ty Dược Việt Nam đặt yêu cầu nghiên cứu sản xuất kháng sinh này ở quy mô nhỏ, từ 500 đến 1000 kg/năm. Đã có nhiều đề tài

nghiên cứu tiếp cận đến việc sản xuất kháng sinh ở Việt Nam, nhưng chưa tiếp cận được đến công nghiệp sản xuất. Một yếu tố quan trọng trong sản xuất kháng sinh là hiệu suất chủng giống, nguồn nguyên liệu môi trường và điều kiện lên men thích hợp. Năm 2011, Viện Công nghệ Sinh học đã phân lập được biến chủng *Streptomyces orientalis* 4912 có khả năng sinh tổng hợp vancomyxin, tuy nhiên việc nuôi cấy xạ khuẩn này trong môi trường nuôi cấy cơ bản thu được lượng vancomyxin thấp (2,983 mg/ml) và thời gian lên men dài (120 giờ). Do thời gian nuôi cấy kéo dài và lượng vancomyxin tích tụ đã ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất nuôi cấy, đồng thời quá trình tinh chế cũng gây thất thoát lượng vancomyxin. Do đó, cần có cải tiến về quy trình nuôi cấy, môi trường lên men và kỹ thuật tinh chế để tăng hiệu suất thu hồi vancomyxin.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là nhằm cải tiến môi trường lên men, điều kiện nuôi cấy và kỹ thuật tinh chế để tăng hiệu suất thu hồi vancomyxin. Để đạt được mục đích này, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất vancomyxin từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912 có cải tiến thành phần môi trường nuôi cấy giúp giảm thời gian lên men và tăng hàm lượng vancomyxin.

Theo đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất vancomyxin hydroclorit từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) hoạt hóa chủng giống gốc bằng cách nuôi cấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912 từ bộ sưu tập chủng giống gốc của Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam trên môi trường thạch chứa từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ trong thời gian từ 4 đến 5 ngày, tiếp đó cấy chuyển khuẩn lạc thu được vào môi trường lỏng chứa từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l

$CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ và nuôi trên máy lắc với tốc độ 220 vòng/phút, nhiệt độ 28°C trong thời gian 48 giờ thu được chủng giống được hoạt hóa;

b) thích nghi chủng giống gốc bằng cách cấy chuyển giống gốc được hoạt hóa với tỉ lệ 5% (v/v) sang môi trường thích nghi chứa: 10 g/l bột đao, từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7 và nuôi cấy trong thời gian 48 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được chủng giống thích nghi;

c) nhân giống sản xuất bằng cách cấy chuyển giống thích nghi với tỉ lệ 5% (v/v) sang môi trường nhân giống chứa: 50 g/l bột đao, 10 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7 và nuôi cấy trong thời gian 60 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được chủng giống sản xuất;

d) lên men sản xuất bằng cách cấp chủng giống sản xuất theo tỷ lệ 10% (v/v) sang môi trường lên men chứa: 110 g/l bột đao, 30 g/l bột đậu tương, 0,75 g/l $MgSO_4$, 1 g/l NaCl, 0,5 g/l KCl, dung dịch muối vi lượng 10 ml, pH 7, trong đó dung dịch muối vi lượng chứa: 1 g/l $FeSO_4.7H_2O$, 1 g/l $ZnSO_4.7H_2O$, 0,5 g/l $MnSO_4.4H_2O$, 0,2 g/l $CaCl_2.6H_2O$, 0,2 g/l $CuSO_4.5H_2O$, 0,1 g/l $CoCl_2$ và 0,1 g/l $NaMoO_4.2H_2O$ và nuôi cấy trong thời gian 84 giờ ở nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút, tốc độ khuấy 150 vòng/phút thu được môi trường lên men chứa vancomyxin; và

e) thu vancomyxin hydroclorit bằng cách lọc loại bỏ tế bào với chất trợ lọc diatomit, tiếp đó điều chỉnh pH = 3 bằng HCl và chiết lần lượt bằng NH_4OH 0,2N và axeton 1/5 (v/v), sau đó để ổn định dịch chiết ở nhiệt độ 3°C trong 40 giờ, lọc thu được vancomyxin hydroclorit dạng tinh thể kết tinh.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ quy trình sản xuất vancomyxin từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết các phương án thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết giải pháp hữu ích, chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Các thành phần, hóa chất hoặc thiết bị sử dụng trong quy trình theo giải pháp hữu ích có thể tìm thấy hoặc mua được trên thị trường. Chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912 được sử dụng để lên men kháng sinh vancomyxin được lấy từ Bộ sưu tập giống vi sinh vật của Phòng Công nghệ lên men, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Theo các phương pháp lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis*, môi trường để sản xuất kháng sinh vancomyxin đã biết và đã được công bố, tuy nhiên, việc bổ sung môi trường chứa sacaroza, glucoza, bột đậu tương, NaCl, $CaCO_3$, $CaCl_2$ và $CuSO_4$ giúp xạ khuẩn phát triển mạnh trong giai đoạn đầu, nhưng đến giai đoạn tích lũy vancomyxin, chúng nhanh chóng bị ức chế bởi sự có mặt của vancomyxin tích tụ. Do đó, khi kéo dài thời gian nuôi cấy, lượng vancomyxin tích tụ nhiều sẽ ức chế sự phát triển và do đó hiệu suất thu vancomyxin không cao, chỉ đạt 2,983 mg/ml.

Theo đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất vancomyxin hydroclorit từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) hoạt hóa chủng giống gốc, b) thích nghi chủng giống gốc; c) nhân giống sản xuất, d) lên men sản xuất; và e) thu vancomyxin hydroclorit.

Trong bước hoạt hóa chủng giống gốc, chủng giống gốc là chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912 từ bộ sưu tập chủng giống gốc của Viện Công nghệ

sinh học, Việc Hàn Lâm Khoa học Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. Chủng giống gốc này sau khi được tan đông, được nuôi cấy trên môi trường thạch chứa từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ trong thời gian từ 4 đến 5 ngày. Sau khi hình thành khuẩn lạc, tiến hành lựa chọn khuẩn lạc và cấy chuyển khuẩn lạc thu được này vào môi trường lỏng chứa từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ và nuôi trên máy lắc với tốc độ 220 vòng/phút, nhiệt độ 28°C trong thời gian 48 giờ thu được chủng giống được hoạt hóa.

Trong bước thích nghi chủng giống gốc, cấy chuyển giống gốc được hoạt hóa ở trên với tỉ lệ 5% (v/v) sang môi trường thích nghi chứa: 10 g/l bột đao, từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7. Tiến hành nuôi cấy trong thời gian 48 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được chủng giống thích nghi.

Trong bước nhân giống sản xuất, tiến hành cấy chuyển giống thích nghi với tỉ lệ 5% (v/v) sang môi trường nhân giống chứa: 50 g/l bột đao, 10 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7. Tiến hành nuôi cấy trong thời gian 60 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được chủng giống sản xuất.

Trong bước lên men sản xuất, tiến hành cấp chủng giống sản xuất theo tỷ lệ 10% (v/v) sang môi trường lên men chứa: 110 g/l bột đao, 30 g/l bột đậu tương, 0,75 g/l $MgSO_4$, 1 g/l NaCl, 0,5 g/l KCl, dung dịch muối vi lượng 10 ml, pH 7. Việc bổ sung dung dịch muối vi lượng với hàm lượng gấp 100 lần môi trường bình thường nhằm kích thích chủng xạ khuẩn tích tụ vancomyxin. Theo đó môi dung dịch muối vi lượng được bổ sung chứa: 1 g/l $FeSO_4.7H_2O$, 1 g/l $ZnSO_4.7H_2O$, 0,5 g/l $MnSO_4.4H_2O$, 0,2 g/l $CaCl_2.6H_2O$, 0,2 g/l $CuSO_4.5H_2O$, 0,1 g/l $CoCl_2$ và 0,1 g/l $NaMoO_4.2H_2O$ và nuôi cấy trong thời gian 84 giờ ở nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1

lít/1 lít môi trường/1phút, tốc độ khuấy 150 vòng/phút thu được môi trường lên men chứa vancomyxin.

Theo đó, trong quá trình thích nghi và lên men sản xuất, việc bổ sung thành phần bột đao giúp hấp thụ vancomyxin và bổ sung dung dịch muối vi lượng với hàm lượng gấp 100 lần nhu cầu giúp kích thích chủng xạ khuẩn tích tụ vancomyxin sớm, đồng thời giảm được tác động của vancomyxin lên chủng xạ khuẩn này. Điều này giúp tăng được hiệu suất thu hồi vancomyxin.

Trong bước thu vancomyxin hydroclorit, tiến hành lọc loại bỏ tế bào với chất trợ lọc diatomit, tiếp đó điều chỉnh pH = 3 bằng HCl và chiết lần lượt bằng NH_4OH 0,2N và axeton 1/5 (v/v). Tiếp đó, để ổn định dịch chiết ở nhiệt độ 3°C trong 40 giờ, lọc thu được vancomyxin hydroclorit dạng tinh thể kết tinh.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Sản xuất vancomyxin từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912

Chủng giống *Streptomyces orientalis* 4912 thu được từ chủng giống gốc trong Bộ sưu tập giống vi sinh vật của Phòng Công nghệ lên men, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam được cấy trên môi trường thạch nghiêng chứa 15 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, 5 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, nuôi trong 4 ngày. Thu khuẩn lạc và cấy vào bình tam giác chứa 250 ml môi trường lỏng bao gồm 15 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, 5 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ và nuôi trên máy lắc với tốc độ 220 vòng/phút, nhiệt độ 28°C trong thời gian 48 giờ thu được chủng giống được hoạt hóa.

Cấy 5 ml chủng giống hoạt hóa vào 100 ml môi trường thích nghi chứa 10 g/l bột đao, từ 15 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7 và nuôi cấy trong thời gian 48 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được chủng giống thích nghi.

Cấy 100 ml chủng thích nghi vào 5 lít môi trường nhân giống chứa: 50 g/l bột đao, 10 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7 và nuôi cấy trong thời gian 60 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được 5 lít chủng giống sản xuất.

Cấp 5 lít chủng giống sản xuất này vào 50 lít môi trường lên men chứa: 110 g/l bột đao, 30 g/l bột đậu tương, 0,75 g/l $MgSO_4$, 1 g/l NaCl, 0,5 g/l KCl, dung dịch muối vi lượng 10 ml, pH 7, trong đó dung dịch muối vi lượng chứa: 1 g/l $FeSO_4.7H_2O$, 1 g/l $ZnSO_4.7H_2O$, 0,5 g/l $MnSO_4.4H_2O$, 0,2 g/l $CaCl_2.6H_2O$, 0,2 g/l $CuSO_4.5H_2O$, 0,1 g/l $CoCl_2$ và 0,1 g/l $NaMoO_4.2H_2O$ và nuôi cấy trong thời gian 84 giờ ở nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút, tốc độ khuấy 150 vòng/phút thu được môi trường lên men chứa vancomyxin.

Lọc loại bỏ tế bào bằng thiết bị lọc khung bản với chất trợ lọc diatomit, tiếp đó cô phần dịch đến tỷ lệ 1/50 (v/v) điều chỉnh pH = 3 bằng HCl và chiết lần lượt bằng NH_4OH 0,2N và axeton 1/5 (v/v), sau đó để ổn định dịch chiết ở nhiệt độ 3°C trong 40 giờ, lọc thu được vancomyxin hydroclorit dạng tinh thể kết tinh.

Hiệu suất vancomyxin tích lũy trong dịch lọc tế bào được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn, kết quả dịch lọc chứa vancomyxin có hoạt tính 4,16 mg/ml.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất vancomyxin hydroclorit bởi chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912 theo giải pháp hữu ích đơn giản, bằng cách cải tiến môi trường lên men có bổ sung bột đao và hàm lượng vi lượng gấp 100 lần nhu cầu bình thường của chủng xạ khuẩn giúp giảm thời gian lên men và tăng hàm lượng vancomyxin tích tụ, từ đó đưa ra hiệu suất thu hồi vancomyxin lên tới 4,16 mg/ml mở ra một hướng phát triển nguồn nguyên liệu cung cấp cho ngành dược.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất vancomyxin hydroclorit, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) hoạt hóa chủng giống gốc bằng cách nuôi cấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces orientalis* 4912 từ bộ sưu tập chủng giống gốc của Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam trên môi trường thạch chứa từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ trong thời gian từ 4 đến 5 ngày, tiếp đó cấy chuyển khuẩn lạc thu được vào môi trường lỏng chứa từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$ và nuôi trên máy lắc với tốc độ 220 vòng/phút, nhiệt độ 28°C trong thời gian 48 giờ thu được chủng giống được hoạt hóa;

b) thích nghi chủng giống gốc bằng cách cấy chuyển giống gốc được hoạt hóa với tỉ lệ 5% (v/v) sang môi trường thích nghi chứa: 10 g/l bột đao, từ 14 đến 16 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7 và nuôi cấy trong thời gian 48 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được chủng giống thích nghi;

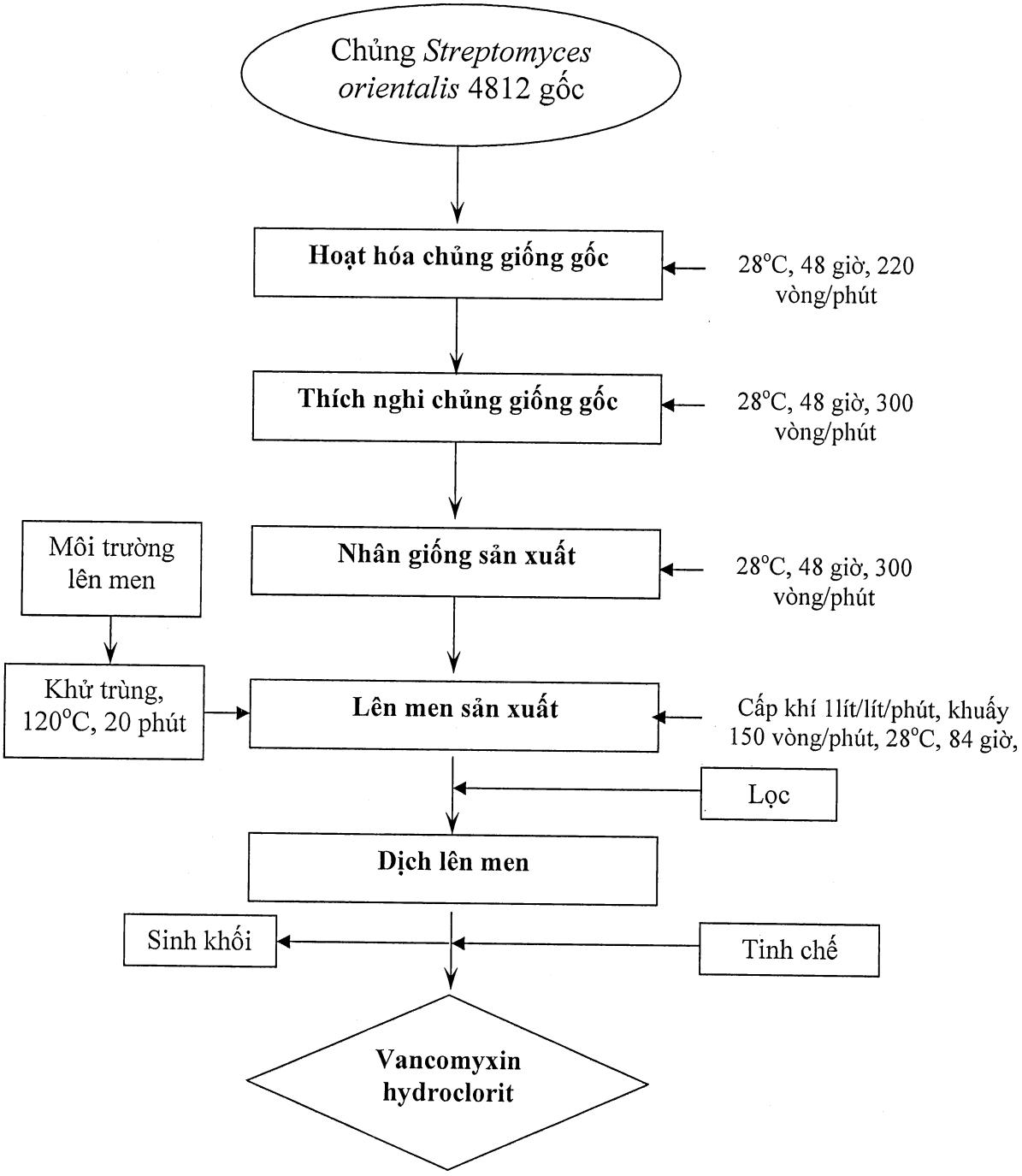
c) nhân giống sản xuất bằng cách cấy chuyển giống thích nghi với tỉ lệ 5% (v/v) sang môi trường nhân giống chứa: 50 g/l bột đao, 10 g/l glucoza, 5 g/l cao nấm men, từ 6 đến 7 g/l pepton, 5 g/l $CaCO_3$, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH 7 và nuôi cấy trong thời gian 60 giờ với tốc độ khuấy 300 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi trường/1phút thu được chủng giống sản xuất;

d) lên men sản xuất bằng cách cấp chủng giống sản xuất theo tỷ lệ 10% (v/v) sang môi trường lên men chứa: 110 g/l bột đao, 30 g/l bột đậu tương, 0,75 g/l $MgSO_4$, 1 g/l NaCl, 0,5 g/l KCl, dung dịch muối vi lượng 10 ml, pH 7, trong đó dung dịch muối vi lượng chứa: 1 g/l $FeSO_4.7H_2O$, 1 g/l $ZnSO_4.7H_2O$, 0,5 g/l $MnSO_4.4H_2O$, 0,2 g/l $CaCl_2.6H_2O$, 0,2 g/l $CuSO_4.5H_2O$, 0,1 g/l $CoCl_2$ và 0,1 g/l $NaMoO_4.2H_2O$ và nuôi cấy trong thời gian 84 giờ ở nhiệt độ 28°C, tốc độ thổi khí 1 lít/1 lít môi

trường/1phút, tốc độ khuấy 150 vòng/phút thu được môi trường lên men chứa vancomyxin; và

e) thu vancomyxin hydroclorit bằng cách lọc loại bỏ tế bào với chất trợ lọc diatomit, tiếp đó điều chỉnh pH = 3 bằng HCl và chiết lần lượt bằng NH_4OH 0,2N và axeton 1/5 (v/v), sau đó để ổn định dịch chiết ở nhiệt độ 3°C trong 40 giờ, lọc thu được vancomyxin hydroclorit dạng tinh thể kết tinh.

HÌNH 1


Chủng *Streptomyces orientalis* 4812 gốc
Hoạt hóa chủng giống gốc
28°C, 48 giờ, 220 vòng/phút
Thích nghi chủng giống gốc
28°C, 48 giờ, 300 vòng/phút
Môi trường lên men
Nhân giống sản xuất
28°C, 48 giờ, 300 vòng/phút
Khử trùng, 120°C, 20 phút
Lên men sản xuất
Cấp khí 1lít/lít/phút, khuấy 150 vòng/phút, 28°C, 84 giờ,
Lọc
Dịch lên men
Sinh khối
Tinh chế
Vancomyxin hydroclorit