Nghiên cứu nguyên bản

SẢN XUẤT ECTOIN BẰNG CÔNG NGHỆ TÁI TỔ HỢP ỨNG DỤNG TRONG DƯỢC MỸ PHẨM

Production of ectoine by recombinant technology for cosmeceutical and pharmaceutical applications

Trần Thị Minh Châu[1], Nguyễn Minh Thái[1*]

[1]Trường Dược, Đại Học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ | Corresponding author: minhthai2511@ump.edu.vn

TÓM TẮT

Ectoin là chất điều hòa thẩm thấu do vi sinh vật ưa mặn tổng hợp để chống lại áp lực thẩm thấu do nồng độ muối cao. Nhờ khả năng bảo vệ tế bào và duy trì độ ẩm, ectoin được ứng dụng rộng rãi trong dược mỹ phẩm. Quy trình sản xuất truyền thống từ *Halomonas elongata* theo phương pháp "bacterial milking" còn hạn chế do hiện tượng ăn mòn thiết bị và chi phí cao. Nghiên cứu này với mục tiêu sản xuất ectoin trong *Escherichia coli* bằng công nghệ tái tổ hợp và so sánh năng suất giữa chủng hoang dã và chủng đột biến. Plasmid chứa cụm gen *ectABC* được đưa vào 2 chủng *E. coli* W3110 (hoang dã) và *E. coli ΔOmpC* (mất protein porin OmpC). Vi khuẩn sau khi chuyển gen được nuôi trong môi trường LB bổ sung ampicillin trong 24 giờ. Cảm ứng biểu hiện gen bằng IPTG và nuôi ở 20–22 °C trong 20 giờ. Sau đó, tinh chế ectoin bằng nhựa trao đổi cation và cô quay ở 60 °C, thu sản phẩm dạng tinh thể. Phân tích kết quả bằng phương pháp HPLC ở 210 nm và FTIR để đánh giá chất lượng sản phẩm. Kết quả cho thấy hai chủng *E. coli W3110* và *E. coli ΔOmpC* đều sản xuất ectoin sau 24 giờ nuôi cấy. Tuy nhiên, *E. coli ΔOmpC* thu được 8,0 g/L, cao hơn so với *E.coli* W3110 thu được 4,1 g/L. Kết quả phân tích HPLC và FTIR xác nhận sản phẩm là ectoin, với các đỉnh đặc trưng trong phổ. Nghiên cứu cho thấy công nghệ tái tổ hợp là phương pháp hiệu quả trong sản xuất ectoin từ *E. coli.* Đột biến mất OmpC giúp tăng năng suất, cải tiến chủng phục vụ ngành dược mỹ phẩm.

Từ khóa: Ectoin, *E. coli* W3110, *E. coli ΔOmpC*, công nghệ tái tổ hợp, HPLC, FTIR.

ABSTRACT

Ectoine is an osmolyte synthesized by halophilic microorganisms to counteract osmotic stress caused by high salt concentrations. Due to its cell-protective and moisturizing properties, ectoine is widely used in pharmaceuticals and cosmetics. Traditional production from *Halomonas elongata* using the "bacterial milking" method has limitations, including equipment corrosion and high costs. This study aims to produce ectoine in *Escherichia coli* using recombinant technology and compare the yield between wild-type and mutant strains. A plasmid containing the *ectABC*

gene cluster was introduced into two *E. coli* strains: W3110 (wild type) and *ΔOmpC* (lacking the porin protein OmpC). The transformed bacteria were cultured in LB medium supplemented with ampicillin for 24 hours. Gene expression was induced with IPTG, followed by incubation at 20–22 °C for 20 hours. Ectoine was purified using cation exchange resin and rotary evaporation at 60 °C to obtain crystalline products. The product was analyzed by using HPLC at 210 nm and FTIR for quality evaluation. Both *E. coli* W3110 and *E. coli ΔOmpC* produced ectoine after 24 hours of cultivation. However, *E. coli ΔOmpC* yielded 8.0 g/L, higher than *E. coli* W3110 (4.1 g/L). HPLC and FTIR analyses confirmed the products as ectoine, showing characteristic peaks. The study demonstrates that recombinant technology is an efficient approach for ectoin production in *E. coli.* The *ΔOmpC* mutation enhances yield, offering potential for strain improvement in large scale cosmeceutical production.

Keywords: Ectoine, E. coli W3110, E. coli ΔOmpC, recombinant technology, HPLC, FTIR.

Received: 08/07//2026 |	Accepted: 08/09/2026 |	Online first: 16/09/2026 |

©The authors. This **open-access** work is licensed under a CC BY 4.0 License

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ectoin lần đầu tiên được phát hiện trong vi khuẩn *Ectothiorhodospira halochloris* bởi Galinski vào năm 1985. Ectoin (1,4,5,6-tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid) là một dẫn xuất acid amin dị vòng của aspartate, lần đầu tiên được phát hiện ở vi khuẩn ưa muối *Ectothiorhodospira halochloris* sống ở những điều kiện vô cùng khắc nghiệt như hồ muối, sa mạc...[1] Ectoin có khả năng hấp thụ và duy trì nước trong các tế bào, từ đó hình thành lớp màng bảo vệ tế bào khỏi các tác nhân gây stress như nhiệt độ cao, áp suất thẩm thấu, tác nhân gây oxy hóa giúp duy trì sự toàn vẹn cấu trúc tế bào.[2-4]

Cơ chế bảo vệ tế bào của ectoin đem lại nhiều ứng dụng tiềm năng trong lĩnh vực y sinh, chăm sóc da và dược mỹ phẩm. Những nghiên cứu đã chứng minh khả năng giữ ẩm, giảm lão hóa và bảo vệ mô khỏi các tổn thương do tia UVB, xạ trị hoặc hóa trị của chất này, khiến nó trở thành một ứng viên lý tưởng cho các sản phẩm chăm sóc sức khỏe.[3] Một số nghiên cứu còn cho thấy ectoin có khả năng ức chế các cytokine tiền viêm như TNF-α, IL-6 và IL-1β, qua đó giúp giảm viêm ở mức độ tế bào.[3,5,6] Điều này rất quan trọng trong việc giảm phản ứng viêm trong các bệnh lý như viêm da, viêm niêm mạc miệng và viêm mũi xoang cấp tính.

Ectoin hiện đang được sản xuất trên quy mô công nghiệp dựa vào một quy trình truyền thống có tên gọi "tạo sữa ở vi khuẩn - Bacterial milking". Trong quy trình này, chủng vi khuẩn *Halomonas elongata* được nuôi trong môi trường có nồng độ muối cao để kích thích tổng hợp ectoin, sau đó trải qua sốc thẩm thấu để giải phóng ectoin vào môi trường nồng độ muối thấp.[7] Tuy nhiên, thời gian lên men thường kéo dài, sản lượng ectoin tương đối thấp và nồng độ muối cao ăn mòn thiết bị. Tính chất ion hóa mạnh của muối phản ứng điện hóa với kim loại

trong thiết bị gây ra hiện tượng ăn mòn điện hóa. Hơn nữa, việc tăng giảm nồng độ muối liên tục tạo ra sự thay đổi môi trường, làm cho lớp bảo vệ kim loại mất ổn định và dễ bị phá vỡ. Để khắc phục những hạn chế do độ mặn cao trong quy trình sản xuất truyền thống bằng vi khuẩn ưa mặn, nhiều nỗ lực đã được thực hiện nhằm thiết kế lại quá trình sinh tổng hợp ectoin trong các vi khuẩn không ưa mặn. Trong đó, vi khuẩn *Escherichia coli* được lựa chọn để sản xuất ectoin thông qua tái tổ hợp, biểu hiện cụm gen *ectABC* từ *Halomonas elongata* vào *E. coli*.

Nhiều nghiên cứu trước đây tập trung vào tối ưu hóa sản xuất Ectoin ở *Halomonas elongata* hoặc cải tiến biểu hiện Ectoin trong dòng *E. coli* chuẩn (ví dụ như BL21 hoặc W3110). Tuy nhiên, số lượng nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của các đột biến liên quan đến hệ thống vận chuyển chất qua màng tế bào đến hiệu suất tổng hợp Ectoin vẫn còn hạn chế. Gen *OmpC* mã hóa cho kênh porin màng ngoài, đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa áp suất thẩm thấu và vận chuyển các phân tử nhỏ qua màng tế bào vi khuẩn.[2,3,8] Việc loại bỏ *OmpC* có thể làm suy giảm khả năng thích nghi của vi khuẩn với sự biến đổi áp suất thẩm thấu, kể cả trong điều kiện nồng độ muối thấp. Sự suy yếu này kích thích cơ chế bảo vệ nội bào, bao gồm tăng cường tổng hợp Ectoin, nhằm bảo vệ cấu trúc và chức năng của tế bào.[4] Mục tiêu của nghiên cứu này là sản xuất Ectoin từ chủng *E. coli* biến đổi gen và đánh giá sự khác biệt về năng suất giữa chủng hoang dại *E. coli* W3110 và chủng đột biến *E. coli ΔompC.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Vi khuẩn *Escherichia coli* là vi khuẩn không ưa mặn, được lựa chọn để sản xuất ectoin bằng công nghệ tái tổ hợp. *E. coli* có ưu thế đơn giản về mặt di truyền, kích thước bộ gen tương đối nhỏ cùng tốc độ phát triển nhanh chóng với thời gian một thế hệ chỉ trong khoảng 20 phút, nên cho khả năng sản xuất tốt trong các quy trình lên men. Chủng *E. coli* mang các đột biến khác nhau là món quà từ nhóm nghiên cứu của Hosni Sassi và cộng sự trong công trình "Segregostat: một khái niệm mới để kiểm soát động lực đa dạng hóa kiểu hình trên ví dụ về vi khuẩn Gram âm".[9]

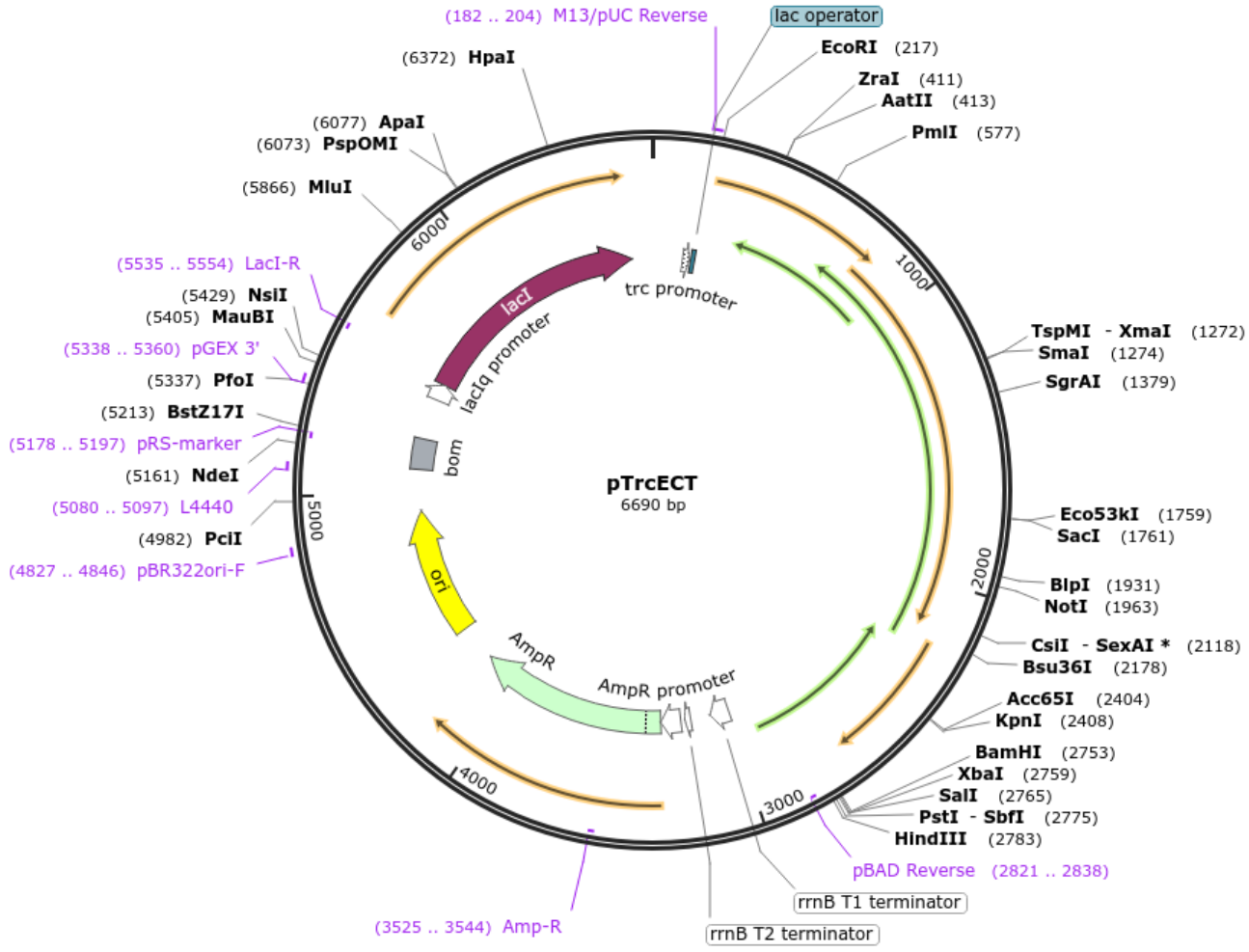
Bảng 1. Thành phần đối tượng nghiên cứu

Chủng	Đặc điểm sinh học
E. coli DH5α	Chủng tạo dòng, nhân bản plasmid
E. coli hoang dã W3110	Dòng không đột biến, làm đối chứng chuẩn, khỏe mạnh, biểu hiện ổn định
E. coli đột biến ΔOmpC	Giảm tính thấm màng ngoài

2. Vật liệu

Plasmid pTrcECT (Addgene #75477) có kích thước 6690 bp, mang trình tự gen mã hóa enzym tổng hợp ectoin từ tiền chất aspartate. Plasmid pTrcECT được phát triển bởi phòng thí nghiệm của GS. Xixian Xie, được sử dụng trong nghiên cứu sản xuất ectoin lên men ở E. coli.10

Ngoài ra, thay thế promoter tự nhiên ppc bằng trc nhằm tối ưu hóa hiệu suất biểu hiện protein tái tổ hợp trong E. coli. Promoter trc là một promoter lai giữa promoter trp và lac, được cảm ứng bởi IPTG. Trong khi promoter ppc là promoter tự nhiên, thường hoạt động liên tục và không có khả năng điều hòa bằng IPTG, đồng thời có thể không được RNA polymerase của E. coli nhận diện hiệu quả, dẫn đến biểu hiện yếu hoặc không ổn định. Trong khi đó, promoter trc không chỉ tương thích tốt với E. coli mà còn cho phép kiểm soát mức độ biểu hiện gen mục tiêu, giảm gánh nặng chuyển hóa và hạn chế độc tính do biểu hiện quá mức protein. Nhờ đó, promoter trc được ưa chuộng trong các ứng dụng công nghiệp và nghiên cứu sinh học phân tử, đặc biệt khi cần biểu hiện các protein ngoại lai như cụm gen ectABC để sản xuất các hợp chất có giá trị ectoin (Hình 1).



Hình 1. Plasmid pTrcECT

2. Môi trường nuôi cấy

Môi trường Luria-Bertani (LB) được sử dụng để nuôi cấy và tăng sinh *E. coli* trước khi chuyển sang giai đoạn sản xuất Ectoin. Môi trường LB được cung cấp bởi hãng Himedia, xuất xứ Ấn Độ. Môi trường M9 được sử dụng cho giai đoạn nuôi cấy sản xuất Ectoin. Thành phần môi trường M9 gồm K_2HPO_4 0,7 g; KH_2PO_4 0,54 g; $MgSO_4.7H_2O$ 1 g; $CaCl_2.2H_2O$ 0,2 g; $FeSO_4.7H_2O$ 4 mg; NH_4Cl 0,5 g; $ZnSO_4.7H_2O$

100 µg; $MnCl_2.4H_2O$ 30 µg; H_3BO_3 300 µg; $CoCl_2.6H_2O$ 200 µg; $CuCl_2.2H_2O$ 10 µg; $NiCl_2.6H_2O$ 20 µg; $Na_2MoO_4.2H_2O$ 15 µg; Glucose 5 g; Chloramphenicol 100 µg và ước khử khoáng vừa đủ 1 L.

4. Phương pháp

Tạo tế bào khả nạp

Tạo tế bào khả nạp các dòng *E. coli* ở Bảng 1 bằng phương pháp tiếp xúc với ion Ca2+ gây trung hòa điện tích và tạo những lỗ hổng tạm thời khiến màng tế bào có thể nhận plasmid tái tổ hợp. Thực hiện tạo tế bào khả nạp theo các bước: Cấy một khuẩn lạc riêng rẽ *E. coli* vào môi trường chứa 10 mL LB, lắc 200 vòng/phút ở 37 °C qua đêm. Sau đó, pha loãng dịch nuôi cấy tỷ lệ 1:100 (0,1 mL → 10 mL) trong môi trường LB và tiếp tục lắc ở 37 °C đến khi OD600 đạt 0,45–0,55. Hút 1 mL dịch nuôi cấy vào eppendorf, ly tâm 10.000 rpm ở 4 °C trong 1 phút để thu tế bào. Đổ bỏ môi trường và phân tán nhẹ tế bào trong 1/10 thể tích (0,1 mL) CaCl2 0,1 M lạnh, ly tâm 5.000 rpm ở 4 °C trong 1 phút để thu tế bào. Đổ bỏ dịch nổi và phân tán nhẹ tế bào trong 1/2 thể tích (0,5 mL) CaCl2 0,1 M lạnh, đặt eppendorf trong đá bào ít nhất 30 phút. Ly tâm 2.500 rpm ở 4 °C trong 2 phút để lắng tế bào. Phân tán nhẹ tế bào vào 1/10 thể tích (0,1 mL) CaCl2/glycerol 0,1 M/12,5% lạnh. Các tế bào khả nạp hoàn thành có thể sử dụng ngay hoặc bảo quản ở -80 °C. Tránh gây sốc nhiệt tế bào vì sau quá trình xử lý, thành tế bào dễ vỡ.

Biến nạp plasmid vào các chủng *E. coli* bằng phương pháp hóa biến nạp

Trước tiên, plasmid pTrcECT (Addgene #75477) có kích thước 6690 bp, mang trình tự gen mã hóa enzym tổng hợp ectoin được chiết bằng bộ kit chiết plasmid DNA-spinTM Plasmid DNA Purification. Sau đó, plasmid pTrcECT được biến nạp vào chủng tạo dòng *E. coli* DH5α nhằm nhân bản số lượng lớn plasmid. Quy trình thực hiện phương pháp hóa biến nạp như sau: Rã đông eppendorf chứa tế bào khả nạp trong đá. Sau đó, hút 10 µl plasmid vào 50 µl tế bào khả nạp. Khuấy nhẹ bằng đầu tip, không được vortex. Sau đó, ủ eppendorf trong đá 2 phút. Sốc nhiệt trên máy ủ nhiệt khô ở 42 °C trong đúng 30 giây. Đặt eppendorf lại vào đá, ủ 2 phút. Tiếp theo, hút 950 µl môi trường LB vào eppendorf. Lắc ủ ở 37 °C trong 1 giờ để tế bào được phục hồi. Sau 1 giờ, hút 500 µl tế bào lên đĩa thạch LB có bổ sung kháng sinh ampicillin nồng độ 100 µg/mL (lưu ý đĩa thạch phải thật khô mặt trước đó). Trải đều đến khi mặt thạch khô. Các thao tác được thực hiện trong tủ an toàn sinh học. Cuối cùng, ủ đĩa thạch ở 37 °C qua đêm. Tiếp theo, tiến hành chiết plasmid tái tổ hợp pTrcECT từ chủng *E. coli* DH5α bằng bộ kit chiết plasmid DNA-spinTM Plasmid DNA Purification. Plasmid sau khi chiết được kiểm tra kích thước bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1%, điện thế không đổi 100–120 V trong khoảng 30–45 phút. Sử dụng thang đối chiếu SiZerTM -1,000 DNA Marker. Tiếp theo, thực hiện quy trình biến nạp plasmid pTrcECT vào *E. coli* W3110 và *E. Coli* Δ*OmpC* tương tự như quy trình biến nạp plasmid vào *E. coli* DH5α.

Nuôi cấy sản xuất ectoin

Chủng *E. coli* sẽ được hoạt hóa trong môi trường LB (kèm ampicillin) trong 24 giờ. Sau đó, huyền dịch vi khuẩn được chuyển vào môi trường M9 với mật độ tế bào ban đầu OD600

đạt khoảng 0.5, lắc với tốc độ 150 vòng/phút. Sau 4 tiếng, cảm ứng bằng IPTG. Tiếp tục ủ vi khuẩn ở 20–22 °C trong khoảng thời gian 20 giờ để quá trình sản xuất ectoin diễn ra.

Tinh chế ectoin bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion

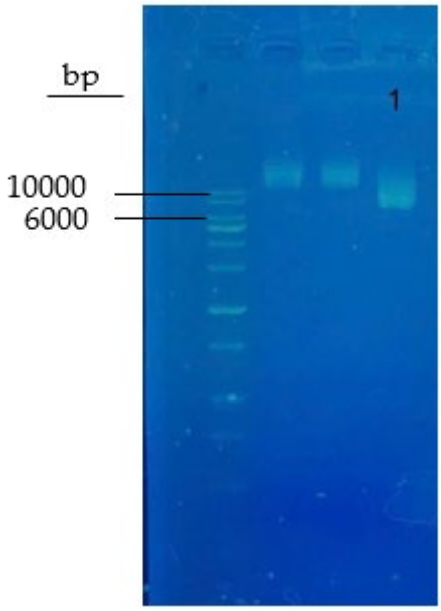
Sau khi nuôi cấy, vi khuẩn sẽ được ly tâm ở 10.000 rpm trong 10 phút để thu tế bào. Tế bào sẽ được phá bằng phương pháp siêu âm để thu lượng ectoin nội bào, đồng thời có thể được sử dụng để kiểm tra bằng SDS-PAGE, phát hiện 3 enzym ectA (~25 kDa), ectB (~45 kDa), ectC (~16 kDa)[11]. Quy trình phân tích SDS-PAGE như sau: Dịch nổi được trộn với dung dịch tải mẫu (gồm 125 mM Tris-HCl, pH 6,8; 20% glycerol; 4% SDS; 10% β-mercaptoethanol và 0,5 mg/mL bromophenol blue) theo tỷ lệ 4:1, sau đó được đun sôi trong 5 phút nhằm biến tính protein. Hỗn hợp sau đó được ly tâm ở 10.000 × g trong 1 phút, và 20 µL dịch thu được được nạp vào gel polyacrylamide. Quá trình điện di được tiến hành ở hiệu điện thế không đổi 120 V trong 80 phút. Sau điện di, gel được nhuộm trong 12 giờ bằng dung dịch nhuộm (100 mL) bao gồm 45 mL methanol, 45 mL nước cất hai lần (ddH_2O), 10 mL acid acetic băng và 0,25 g Coomassie Brilliant Blue. Tiếp theo, gel được tẩy màu trong hơn 4 giờ bằng dung dịch tẩy màu (100 mL) chứa 45 mL methanol, 45 mL ddH_2O và 10 mL acid acetic băng cho đến khi nền gel đạt độ trong mong muốn.[11] Mẫu dịch chiết ectoin được tinh chế bằng phương pháp sắc ký lỏng trao đổi ion trên hệ thống sắc ký AKTA Start sử dụng cột trao đổi cation, tham khảo các phương pháp tinh sạch ectoin bằng sắc ký trao đổi cation đã được công bố trước đây.[12] Quy trình thực hiện tinh chế như sau: Chuẩn bị mẫu dịch ectoin được lọc qua màng lọc 0,22 µm. Sau đó, pha loãng 10 lần với đệm liên kết trước khi tiến hành sắc ký. Lưu ý luôn giữ lạnh mẫu ở 4 °C. Chuẩn bị thành phần đệm bao gồm: đệm liên kết (binding buffer) Tris-HCl 20 mM, điều chỉnh đến pH= 8 bằng dung dịch HCl đậm đặc, lọc áp suất giảm qua màng lọc 0,45 µm, đệm rửa giải (elution buffer) Tris-HCl 20 mM, NaCl 1 M, pH= 8, điều chỉnh đến pH= 8 bằng dung dịch HCl đậm đặc, lọc áp suất giảm qua màng lọc 0,45 µm.

Phương pháp phân tích số liệu

Phân tích dữ liệu HPLC: Dữ liệu từ phương pháp HPLC sẽ được phân tích để xác định nồng độ ectoin trong các mẫu, từ đó đánh giá hiệu suất sản xuất ectoin của từng chủng vi khuẩn. Sử dụng cột TSK-GEL C18 và pha động là hệ dung môi nước/acetonitril (95/5, thể tích/thể tích). Chế độ đẳng dòng, với tốc độ dòng 1 mL/phút ở nhiệt độ 20 °C. Sử dụng đầu dò UV sẽ phát hiện ectoin ở bước sóng 210 nm. Dựa vào diện tích peak từ biểu đồ HPLC, đối chiếu với đường chuẩn ectoin. Tính nồng độ ectoin theo thể tích dịch nuôi, từ đó quy đổi ra sản lượng g/L. Sau đó, lựa chọn được dòng *E. coli* đột biến cho hiệu suất sản xuất ectoin cao nhất. Kỹ thuật sử dụng phần mềm Excel hoặc phần mềm GraphPad. Ngoài phân tích HPLC, phổ UV và FTIR được sử dụng để xác nhận đặc tính hóa học của ectoin. Phổ UV ghi nhận tín hiệu hấp thụ đặc trưng tại 210 nm, phù hợp với cấu trúc vòng imidazolidone. Phổ IR cho thấy các dải hấp thụ đặc trưng: C=O, N–H và C–N, xác nhận sự hiện diện và độ tinh khiết của ectoin sau khi tinh chế.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

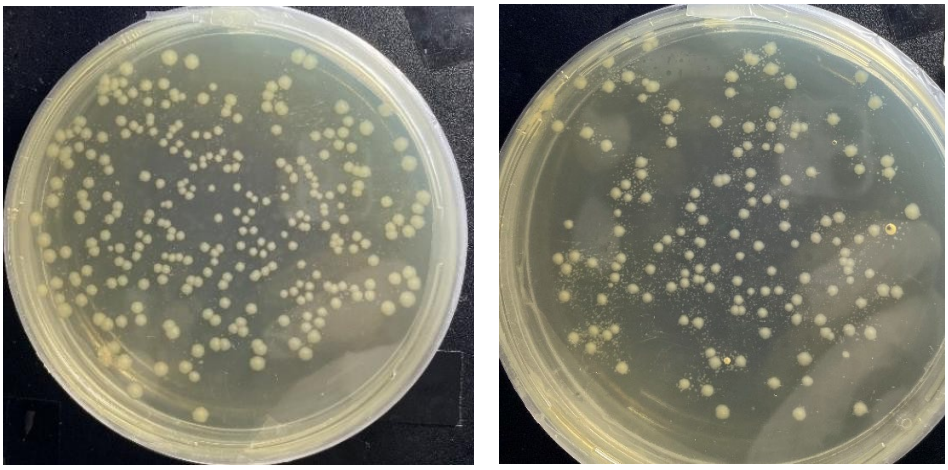
1. Chiết plasmid tái tổ hợp từ chủng tạo dòng E. coli DH5α và biến nạp vào chủng sản xuất E. coli W3110



Hình 2. Kết quả điện di plasmid pTrcECT.

(Giếng 1: mẫu chiết plasmid pTrcECT)

Hình 2 thể hiện kết quả điện di gel agarose 1% cho thấy giếng 1 có băng DNA tương đương với kích thước 6690 bp. Kết quả được so với băng trên thang chuẩn 1.000 bp.

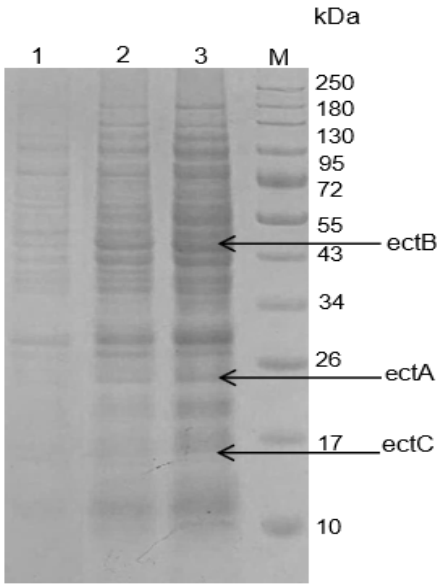


Hình 3. Kết quả đĩa biến nạp plasmid pTrcECT vào chủng E. coli W3110 (trái)

và E. coli ΔOmpC (phải)

2. Kết quả điện di SDS-PAGE

Sự biểu hiện của cụm gen ectoin (*ectABC*) trong *E. coli* W3110 *và E. coli ΔOmpC* tạo ra ba băng rõ ràng, với khối lượng phân tử ước tính khoảng ectA (~25 kDa), ectB (~45 kDa), ectC (~16 kDa) như được quan sát qua phân tích SDS-PAGE (Hình 4).



Hình 4. Phân tích SDS-PAGE của các protein *ectA*, *ectB* và *ectC* được biểu hiện trong *E. coli*.

M: thang chuẩn khối lượng phân tử protein;

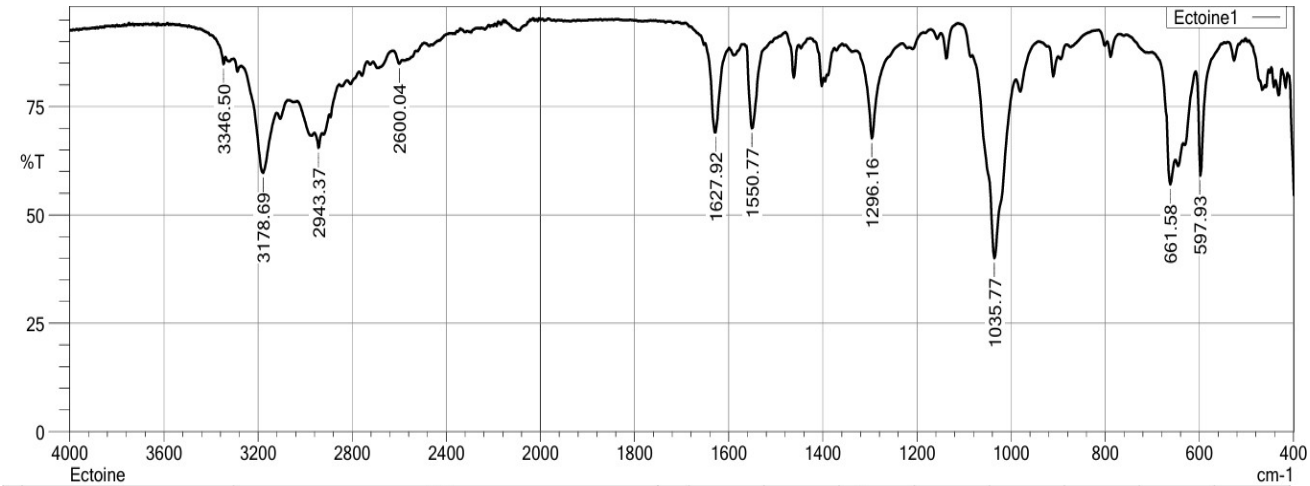
Giếng 1: dịch nổi của dịch chiết tế bào từ *E. coli* tái tổ hợp chưa được cảm ứng;

Giếng 2: dịch nổi của dịch chiết tế bào từ *E. coli* W3110 (WT) đã được cảm ứng;

Giếng 3: dịch nổi của dịch chiết tế bào từ *E. coli ΔOmpC* đã được cảm ứng.

3. Kết quả phân tích phổ hồng ngoại

Phổ hồng ngoại (FTIR) của mẫu cho thấy các đỉnh hấp thụ đặc trưng phù hợp với cấu trúc của ectoin. Dải rộng ở 3346,50 cm^{-1} và 3178,69 cm^{-1} biểu thị dao động kéo giãn liên kết N–H, đặc trưng cho nhóm amin và amide trong vòng pyrimidin của ectoin. Dải tại 2943,37 cm^{-1} liên quan đến dao động C–H của nhóm methylene (-CH_2-). Đỉnh rõ nét ở 1627,92 cm^{-1} và 1550,77 cm^{-1} tương ứng với dao động C=O (amide I) và N–H uốn (amide II), xác nhận sự hiện diện của nhóm amide. Ngoài ra, các đỉnh tại 1296,16 cm^{-1} và 1035,77 cm^{-1} phản ánh dao động C–N và C–O, trong khi các tín hiệu ở 661,58 cm^{-1} và 597,93 cm^{-1} gợi ý dao động ngoài mặt phẳng của vòng dị vòng. Sự tương đồng giữa các vị trí và hình dạng đỉnh so với phổ IR chuẩn của ectoin khẳng định sản phẩm ectoin thu được có độ tinh khiết cao (Hình 5).



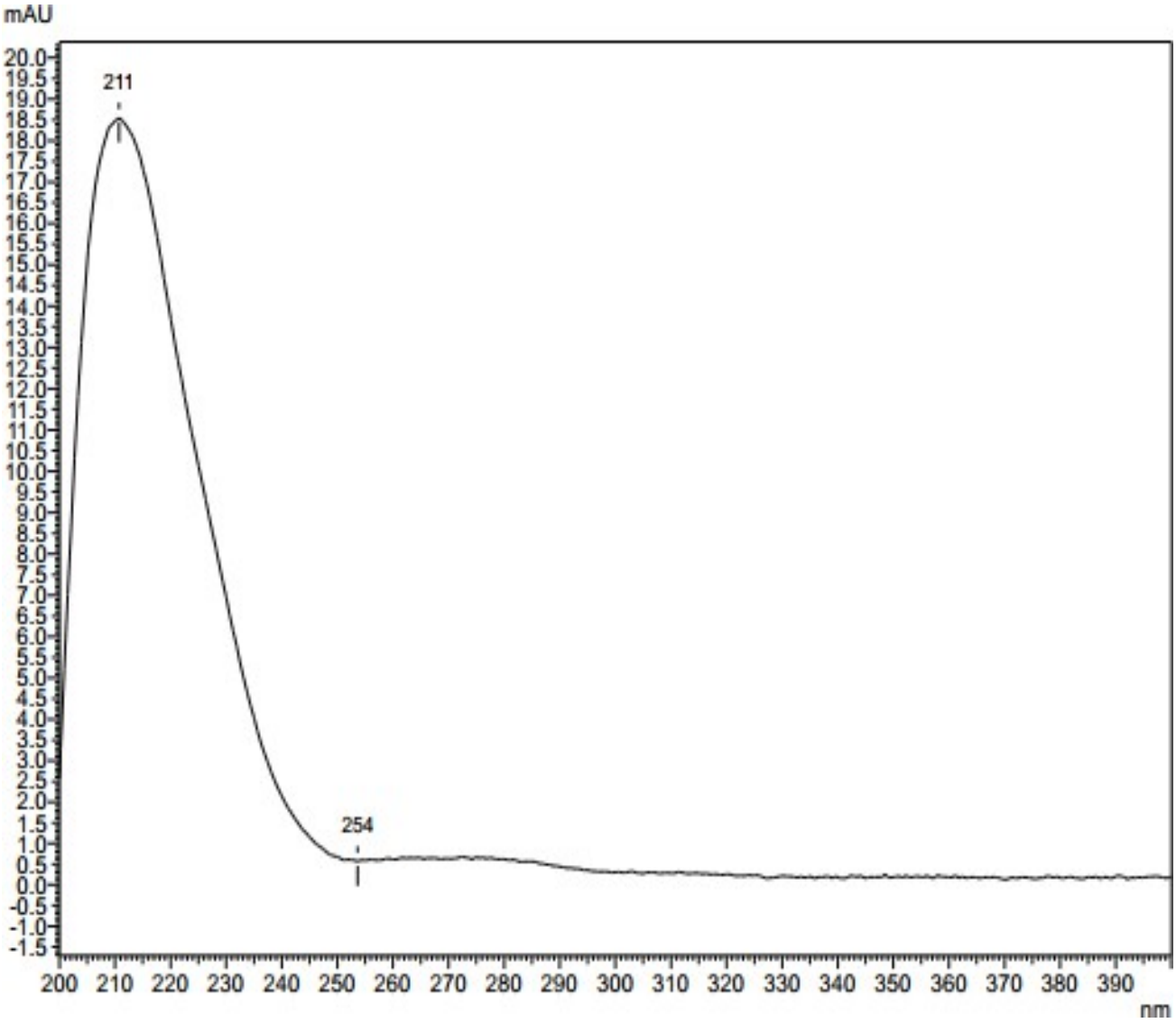
Item	Value
Spectrum name	Ectoine1
Sample name	Ectoine
Sample ID	Ectoine
No. of Scans	36
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel

	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area	Comment
1	597.93	59.08	25.16	607.58	553.57	1048.769	308.680	
2	661.58	57.07	11.35	700.16	650.01	1257.456	9.866	
3	1035.77	40.02	43.99	1082.07	989.48	3180.416	1700.151	
4	1296.16	67.65	20.78	1328.95	1230.58	1659.380	548.916	
5	1550.77	70.02	19.20	1562.34	1510.26	914.446	366.834	
6	1627.92	69.07	20.10	1651.07	1598.99	968.100	400.834	
7	2600.04	84.91	1.47	2625.12	2588.47	506.324	21.644	
8	2943.37	65.50	3.38	2960.73	2927.94	1061.739	41.290	
9	3178.69	59.75	17.78	3273.20	3122.75	4221.722	1051.227	
10	3346.50	84.82	2.41	3381.21	3338.78	508.727	25.006	

Hình 5. Phổ hồng ngoại (FTIR) của mẫu có các đỉnh hấp thụ đặc trưng phù hợp với cấu trúc của ectoin

4. Kết quả phân tích phổ UV

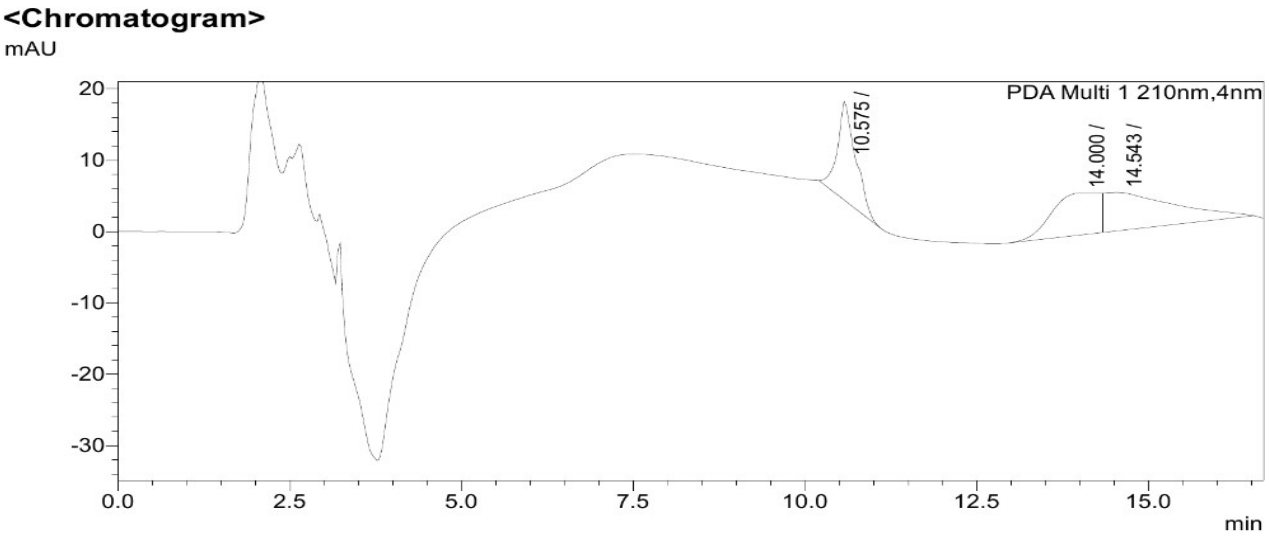
Phổ hấp thụ UV (Hình 6) cho thấy ectoin có đỉnh hấp thụ cực đại tại 211 nm và một vai hấp thụ nhỏ ở 254 nm, phù hợp với đặc tính phổ của ectoin đã được công bố trong nghiên cứu của Meyer và cộng sự (2017) trên Scientific Reports.[13]



Hình 6. Phổ hấp thụ UV của ectoin của nghiên cứu này

5. Kết quả phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Phân tích HPLC (Hình 7) của mẫu ectoin cho thấy trên sắc ký đồ xuất hiện ba peak tại các thời gian lưu 10,575 phút, 14,000 phút và 14,543 phút. Trong đó, peak tại 10,575 phút có diện tích lớn và cường độ ổn định, trùng khớp với thời gian lưu của mẫu ectoin chuẩn, xác nhận sự hiện diện của ectoin trong mẫu thử. Các peak còn lại có diện tích nhỏ hơn, có thể là tạp chất hoặc sản phẩm phụ, nhưng tỷ lệ so với peak chính thấp, cho thấy mẫu có độ tinh khiết cao sau tinh chế. Giá trị Tailing factor xấp xỉ 1,1 cho thấy peak đối xứng, chứng tỏ điều kiện tách và hiệu suất cột ổn định.



<Peak Table>
PDA Ch1 210nm

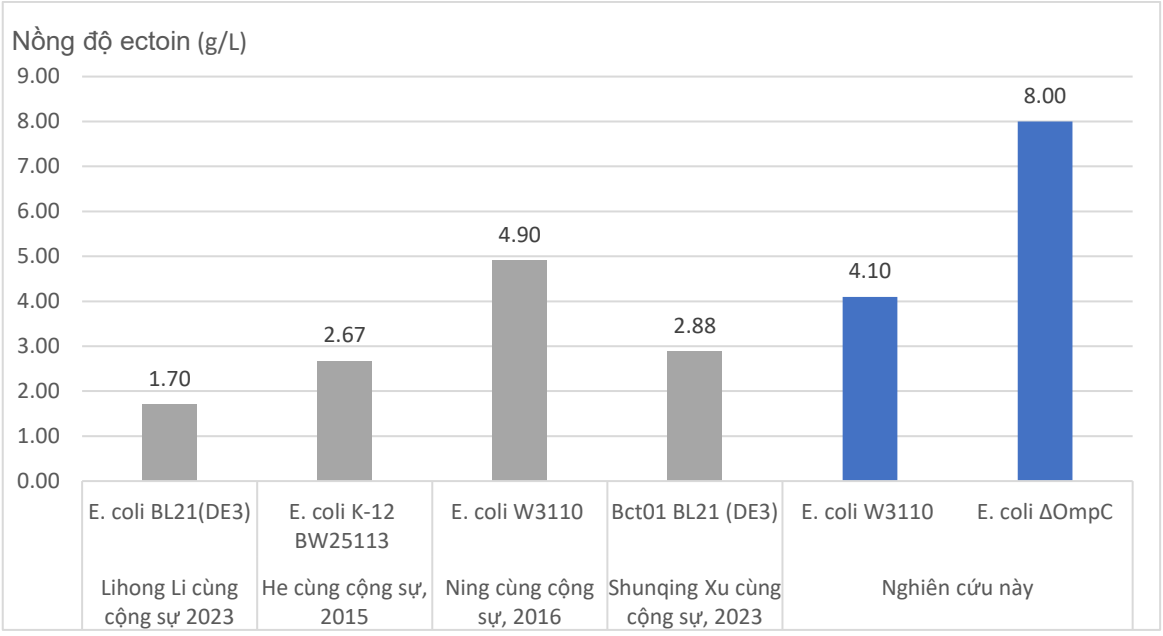
Name	Ret. Time	Area	Height	Plate	Tailing Factor	Resolution
	10.575	248545	13827	6745	1.151	--
	14.000	288030	5875	98	--	1.108
	14.543	366514	5385	--	--	--
		903089	25087			

Hình 7. Kết quả phân tích HPLC mẫu ectoin – Sắc ký đồ và bảng thông số peak

Sản lượng ectoin tạo ra

Kết quả định lượng cho thấy chủng *W3110* đạt 4,1 g/L, trong khi chủng đột biến *ΔOmpC* đạt 8,0 g/L, cao gần gấp đôi so với chủng hoang dại. Điều này khẳng định rằng việc loại bỏ gen *OmpC* đã cải thiện đáng kể hiệu suất sản xuất ectoin.

6. Thảo luận



Hình 8. Biểu đồ so sánh sản lượng ectoin giữa các nghiên cứu.

(Các cột màu xám thể hiện kết quả lần lượt từ các nghiên cứu.[10, 14-16] Các cột màu xanh thể hiện kết quả của nghiên cứu này trên chủng W3110 và ΔompC)

Ectoin là một hợp chất có khả năng bảo vệ tế bào khỏi các tác nhân gây căng thẳng, với nhiều ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm và mỹ phẩm như giữ ẩm, chống viêm và bảo vệ da khỏi tổn thương do tia UV. Việc sử dụng chủng *E. coli* đột biến xóa gen *OmpC* giúp giảm bớt các điều kiện khắc nghiệt của môi trường nuôi cấy, đồng thời nâng cao khả năng sản xuất ectoin. Tuy nhiên, thách thức hiện nay là cần tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy, duy trì sự ổn định của chủng và thực hiện mở rộng quy mô để sản xuất công nghiệp. Nghiên cứu này mở ra tiềm năng lớn cho việc sản xuất ectoin quy mô lớn, giúp giảm chi phí, nâng cao hiệu quả và đóng góp vào sự phát triển của ngành công nghiệp dược phẩm và mỹ phẩm tại Việt Nam.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã thành công trong việc sử dụng *E. coli* để sản xuất ectoin, đồng thời khẳng định vai trò quan trọng của gen *OmpC* đối với năng suất sản xuất. Hướng phát triển tiếp theo của nghiên cứu tập trung vào tối ưu hóa quá trình sản xuất ectoin quy mô công nghiệp, bao gồm hai nội dung chính. Thứ nhất là khảo sát các đột biến gen khác ảnh hưởng đến năng suất, bao gồm việc thay đổi các gen liên quan đến chuyển hóa năng lượng, cải thiện khả năng chịu căng thẳng hoặc tối ưu hóa hệ thống điều khiển sinh học, nhằm xác định thêm các yếu tố giúp tối ưu hóa quá trình sản xuất ectoin. Thứ hai là nâng cao điều kiện môi trường nuôi cấy như bổ sung các hợp chất thiết yếu trong quá trình tổng hợp ectoin và nghiên cứu khả năng chuyển đổi từ nguồn nguyên liệu ban đầu bổ sung thành thành phẩm, qua đó nâng cao hiệu quả và khả năng ứng dụng ở quy mô lớn phục vụ ngành dược mỹ phẩm.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh theo Hợp đồng số 513/2025/HĐ-ĐHYD, ngày 30 tháng 09 năm 2025.

TUYÊN BỐ CỦA TÁC GIẢ

Nguồn tài trợ:

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh theo Hợp đồng số 513/2025/HĐ-ĐHYD, ngày 30 tháng 09 năm 2025.

Xung đột lợi ích:

Các tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu này.

Công bố trước đó (nếu có):

Không.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Galinski EA, Pfeiffer HP, Trüper HG. 1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid. A novel cyclic amino acid from halophilic phototrophic bacteria of the genus *Ectothiorhodospira*. *European Journal of Biochemistry*. 1985;149(1):135-139. DOI:10.1111/j.1432-1033.1985.tb08903.x
2. Bethlehem L, van Echten-Deckert G. Ectoines as novel anti-inflammatory and tissue protective lead compounds with special focus on inflammatory bowel disease and lung inflammation. *Pharmacological Research*. 2021;164:105389. DOI:10.1016/j.phrs.2020.105389
3. Czech L, Hermann L, Stöveken N, et al. Role of the Extremolytes Ectoine and Hydroxyectoine as Stress Protectants and Nutrients: Genetics, Phylogenomics,

Biochemistry, and Structural Analysis. *Genes*. 2018;9(4):177. DOI:10.3390/genes9040177

4. Jebbar M, Talibart R, Gloux K, Bernard T, Blanco C. Osmoprotection of *Escherichia coli* by ectoine: uptake and accumulation characteristics. *Journal of Bacteriology*. 1992;174(15):5027-5035. DOI:10.1128/jb.174.15.5027-5035.1992
5. Marini A, Reinelt K, Krutmann J, Bilstein A. Ectoine-containing cream in the treatment of mild to moderate atopic dermatitis: a randomised, comparator-controlled, intra-individual double-blind, multi-center trial. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2014;27(2):57-65. DOI:10.1159/000351381
6. Werkhäuser N, Bilstein A, Mahlstedt K, Sonnemann U. Observational study investigating Ectoin® Rhinitis Nasal Spray as natural treatment option of acute rhinosinusitis compared to treatment with Xylometazoline. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology: Official Journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): Affiliated With the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*. 2022;279(3):1371-1381. DOI:10.1007/s00405-021-06916-0
7. Liu M, Liu H, Shi M, Jiang M, Li L, Zheng Y. Microbial production of ectoine and hydroxyectoine as high-value chemicals. *Microbial Cell Factories*. 2021;20(1):76. DOI:10.1186/s12934-021-01567-6
8. Kojima S, Nikaido H. High salt concentrations increase permeability through OmpC channels of *Escherichia coli*. *The Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(38):26464-26473. DOI:10.1074/jbc.M114.585869
9. Sassi H, Nguyen TM, Telek S, Gosset G, Grünberger A, Delvigne F. Segregostat: a novel concept to control phenotypic diversification dynamics on the example of Gram-negative bacteria. *Microbial Biotechnology*. 2019;12(5):1064-1075. DOI:10.1111/1751-7915.13442
10. Ning Y, Wu X, Zhang C, Xu Q, Chen N, Xie X. Pathway construction and metabolic engineering for fermentative production of ectoine in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering*. 2016;36:10-18. DOI:10.1016/j.ymben.2016.02.013
11. Parwata IP, Wahyuningrum D, Suhandono S, Hertadi R. Heterologous Ectoine Production in *Escherichia coli*: Optimization Using Response Surface Methodology. *International Journal of Microbiology*. 2019;2019:5475361. DOI:10.1155/2019/5475361
12. Orhan F, Akıncıoğlu A, Ceyran E. Ectoine production from a novel bacterial strain and high-purity purification with a cost-effective and single-step method. *Journal of Biotechnology*. 2024;388:24-34. DOI:10.1016/j.jbiotec.2024.04.003
13. Meyer S, Schröter MA, Hahn M, Solomun T, Sturm H. Ectoine can enhance structural changes in DNA in vitro. *Scientific Reports*. 2017;7: Article number: 7170. DOI:10.1038/s41598-017-07441-z
14. Li L, Li N, Wang X, et al. Metabolic engineering combined with enzyme engineering for overproduction of ectoine in

Escherichia coli. *Bioresource Technology*. 2023;390:129862. DOI:10.1016/j.biortech.2023.129862

15. He YZ, Gong J, Yu HY, Tao Y, Zhang S, Dong ZY. High production of ectoine from aspartate and glycerol by use of whole-cell biocatalysis in recombinant *Escherichia coli*. *Microbial Cell Factories*. 2015;14:55. DOI:10.1186/s12934-015-0238-016
16. Xu S, Zhang B, Chen W, et al. Highly efficient production of ectoine via an optimized combination of precursor metabolic modules in *Escherichia coli* BL21. *Bioresource Technology*. 2023;390:129803. DOI:10.1016/j.biortech.2023.129803