

PST2025 Proceedings

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN LÊN MEN BÁN RẮN KHÔ DẦU ĐẬU NÀNH NHẪM NÂNG CAO KHẢ NĂNG SINH PROTEASE CỦA CHỦNG *Bacillus subtilis* N6 BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐÁP ỨNG BỀ MẶT QUY MÔ PILOT

Phạm Huỳnh Ninh¹, Vũ Minh^{1*}, Nguyễn Thị Hà¹, Bùi Thị Hồng Chiên, Trần Quốc Tuấn²

¹Phân Viện Chăn Nuôi Nam Bộ

²Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên Tp. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: vuminhvt1991@gmail.com

TÓM TẮT

Mục tiêu: tối ưu hóa điều kiện lên men bán rắn khô dầu đậu nành sử dụng vi khuẩn *Bacillus subtilis* N6 nhằm nâng cao khả năng sản sinh protease, góp phần phân giải các loại protein gây dị ứng trong khô dầu đậu nành.

Phương pháp: Xác định hoạt tính protease: dịch tăng sinh chủng *B. subtilis* được cấy vào cơ chất khô dầu đậu nành ẩm độ 40% với tỷ lệ 3% và ủ ở 37°C. Khô dầu đậu nành sau khi lên men được xác định hoạt tính protease theo phương pháp Anson cải tiến. Điện di polyacrylamide: để đánh giá mức độ phân hủy các protein kháng dinh dưỡng. Định lượng glycinin và β -conglycinin: hàm lượng glycinin và β -conglycinin trong khô dầu đậu nành được phân tích bằng glycinin ELISA Kit và β -conglycinin ELISA Kit của Hãng Wuhan Unibiotest Co., Ltd, Trung Quốc. Tối ưu hóa và thiết kế thí nghiệm: sàng lọc yếu tố thí nghiệm bằng thiết kế Plackett-Burman, tối ưu hóa bằng phương pháp đáp ứng bề mặt với mô hình Box-Behnken.

Kết quả: Trong năm điều kiện lên men khảo sát thì nhiệt độ, độ dày khối cơ chất và thời gian lên men là ba yếu tố tác động đáng kể nhất ($P < 0,05$). Thí nghiệm tối ưu hóa được thiết kế theo phương pháp đáp ứng bề mặt (response surface methodology-RSM). Kết quả cho thấy, điều kiện lên men thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp protease là: nhiệt độ 35°C, độ dày cơ chất là 1 cm và thời gian lên men là 35 giờ. Với các điều kiện lên men tối ưu, hoạt tính protease đạt 632U/g, cao hơn trước khi tối ưu 1,65 lần. Sau khi lên men không

OPTIMISATION OF SEMI-SOLID-STATE FERMENTATION CONDITIONS FOR SOYBEAN MEAL TO IMPROVE PROTEASE PRODUCTION OF *Bacillus subtilis* N6 BY RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Huynh Ninh Pham¹, Minh Vu¹, Thi Ha Nguyen¹,
Thi Hong Chien Bui¹, Quoc Tuan Tran²

¹Institute of Animal Husbandry in South Vietnam

²University of Sciences, National University of Ho Chi Minh City

*Corresponding author: vuminhvt1991@gmail.com

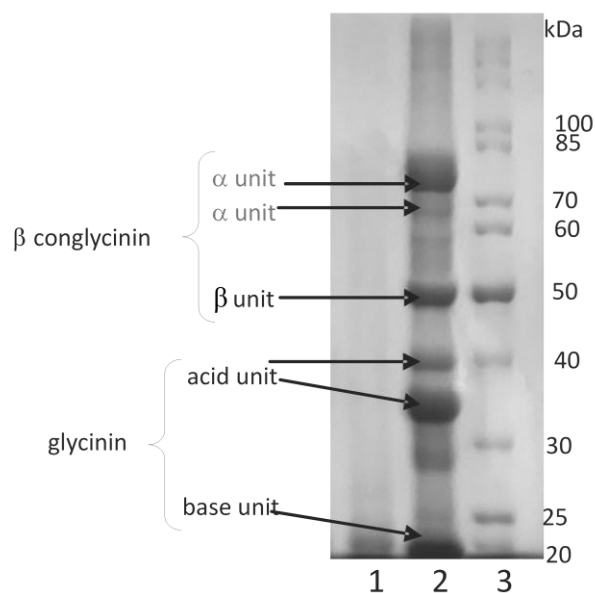
ABSTRACT

Objective: optimization of solid-state fermentation conditions for soybean meal using *Bacillus subtilis* N6 to enhance protease production, contributing to the degradation of allergenic proteins in soybean meal.

Methods: Protease activity was determined by inoculating *Bacillus subtilis* culture supernatant into a soybean meal substrate with 40% moisture content at a 3% inoculum rate, followed by incubation at 37°C. After fermentation, protease activity in the fermented soybean meal was measured using a modified Anson method. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was performed to assess the degradation of antinutritional proteins. The levels of glycinin and β -conglycinin in the fermented soybean meal were quantified using Glycinin and β -Conglycinin ELISA Kits (Wuhan Unibiotest Co., Ltd, China). Experimental factors were screened using the Plackett-Burman design and optimized using the Box-Behnken model with response surface methodology (RSM).

Results: Among the five fermentation conditions studied, temperature, substrate thickness, and fermentation time were the three most significant factors ($P < 0.05$). The optimization experiment was designed using response surface methodology (RSM). The results indicated that the optimal conditions for protease biosynthesis were: a temperature of 35°C, substrate thickness of 1 cm, and a fermentation time of 35 hours. Under these optimal conditions, protease activity reached 632 U/g, which was 1.65 times higher than before optimization. After fermentation, SDS-PAGE analysis showed no visible bands corresponding to the two allergenic protein subunits, glycinin and β -

còn thấy vạch của các tiểu phần hai protein gây dị ứng là glycinin và β -conglycinin trong kết quả chạy SDS PAGE, các protein có trọng lượng phân tử lớn đã bị phân giải gần hết, chỉ còn lại các protein ở mức 20 kDa.



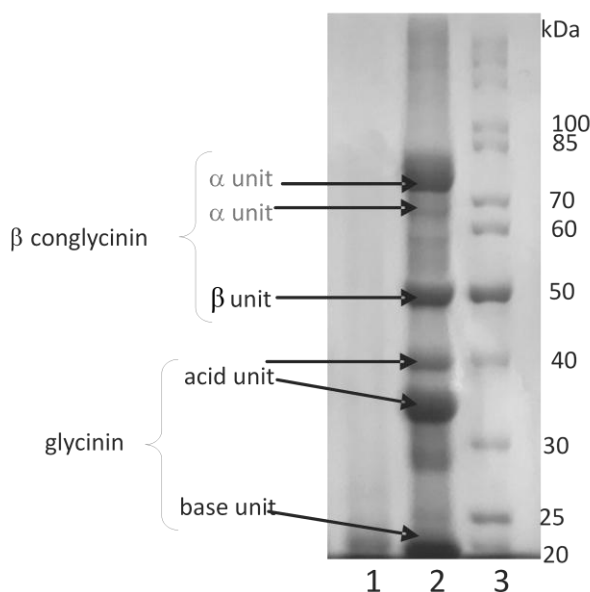
Điều kiện lên men này đã phân giải 94,94% glycinin và 97,33% β -conglycinin gây dị ứng trong khô dầu đậu nành.

Kết luận: nghiên cứu cho thấy tiềm năng sử dụng chủng *B. subtilis* N6 để lên men phân giải các protein gây dị ứng trong khô dầu đậu nành làm nguyên liệu thức ăn chăn nuôi cho heo con và các đối tượng dị ứng với protein trong khô dầu đậu nành.

Từ khóa: *Bacillus subtilis*, lên men bán rắn, khô dầu đậu nành.

Cited as: Pham.H.N, Vu.M, Nguyen.T.H, Bui.T.H.C and Tran.Q.T. (2025) Optimisation of semi-solid-state fermentation conditions for soybean meal to improve protease production of *Bacillus subtilis* N6 by response surface methodology. *PST2025 proceedings, Vietnam*.

conglycinin. High molecular weight proteins had been almost completely hydrolyzed, leaving only proteins around 20 kDa.



These fermentation conditions resulted in the degradation of 94.94% of glycinin and 97.33% of β -conglycinin, the allergenic proteins in soybean meal.

Conclusions: The study demonstrates the potential of using *Bacillus subtilis* N6 for fermentative degradation of allergenic proteins in soybean meal, making it a suitable feed ingredient for piglets and other subjects sensitive to soybean meal proteins.

Keywords: *Bacillus subtilis*, Solid-state fermentation, Soybean meal