

**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**

Báo cáo: TS. Nguyễn Văn Hợp

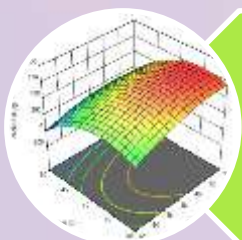
Đồng Nai, 25/5/2025



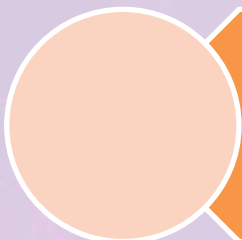
ĐẶT VẤN ĐỀ



VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

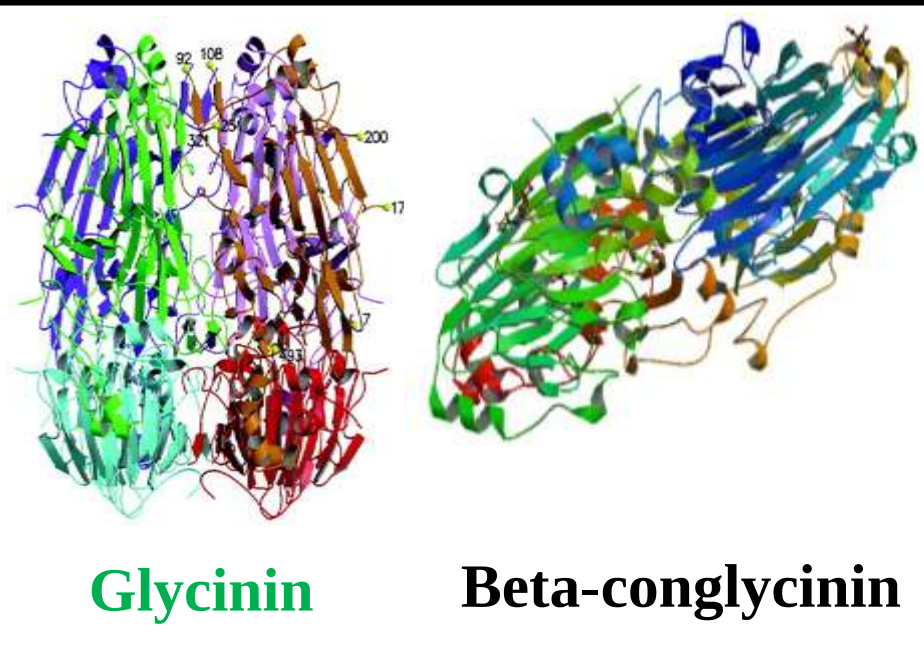


KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN



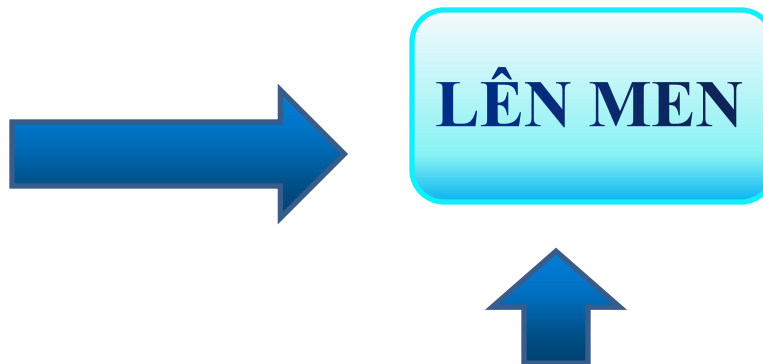
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

ĐẶT VẤN ĐỀ





Hình 1: *B. subtilis* N6



Hình 2: Khô dầu đậu nành

► Lên men bán rắn khô dầu đậu nành làm giảm hàm lượng protein gây dị ứng

Sàng lọc yếu tố ảnh hưởng thông qua ma trận Plackett-Burman

Bảng 1: Các biến trong ma trận Plackett-Burman.

Yếu tố	Đơn vị	Ký hiệu	Mức	
			Thấp (-1)	Cao (+1)
Nhiệt độ	°C	X1	30	50
Độ dày cơ chất	cm	X2	1	5
Thời gian	H	X3	24	72
Tỷ lệ giống	%	X4	1	5
pH	-	X5	6	9

Bảng 2: Ma trận thiết kế thí nghiệm Plackett-Burman.

Thí nghiệm	Yếu tố				
	X1	X2	X3	X4	X5
1	-1	1	1	-1	1
2	-1	-1	1	-1	1
3	-1	-1	-1	-1	-1
4	1	-1	1	1	-1
5	1	-1	-1	-1	1
6	1	1	1	-1	-1
7	-1	1	-1	1	1
8	1	-1	1	1	1
9	-1	1	1	1	-1
10	1	1	-1	-1	-1
11	1	1	-1	1	1
12	-1	-1	-1	1	-1

► **Thiết kế Plackett-Burman giúp phân tích các biến có ảnh hưởng**

Tối ưu hóa các yếu tố thí nghiệm bằng mô hình Box Behnken

Bảng 3: Các yếu tố sử dụng trong mô hình Box Behnken

Yếu tố	Đơn vị	Ký hiệu	Mức		
			-1	0	1
Nhiệt độ	C	X1	30	40	50
Độ dày cơ chất	cm	X2	1	3	5
Thời gian	H	X3	24	48	72

Bảng 4: Thiết kế Box Behnken

Thí nghiệm	Các biến		
	X1	X2	X3
1	-1	-1	0
2	0	1	-1
3	1	0	1
4	-1	0	1
5	1	0	-1
6	0	0	0
7	1	1	0
8	1	-1	0
9	0	-1	1
10	0	0	0
11	-1	1	0
12	0	-1	-1
13	0	1	1
14	-1	0	-1
15	0	0	0

Thiết kế Box - Behnken được sử dụng để tìm ra giá trị tối ưu của các yếu tố.

1. Plackett Burman

Bảng 5: Kết quả mô hình Plackett Burman

Thí nghiệm	Hoạt tính protease (U/g)	
	Thực nghiệm	Mô hình
1	84	110.00
2	398	383.67
3	506	544.00
4	198	213.00
5	437	422.00
6	70	0.67
7	234	202.67
8	188	206.67
9	31	55.00
10	120	154.67
11	71	87.00
12	525	482.67

Bảng 6: P-value và mức ảnh hưởng của các yếu tố trong mô hình Plackett Burman

Yếu tố	Đơn vị	Ảnh hưởng	P value
Nhiệt độ	°C	-57.83 ^a	0.0048
Độ dày cơ chất	cm	-136.83 ^a	<0.0001
Thời gian	h	-77.00 ^a	0.0012
tỷ lệ giống	%	-30.67 ^b	0.0606
pH	-	-3.17 ^b	0.8197

2. Box - Behnken

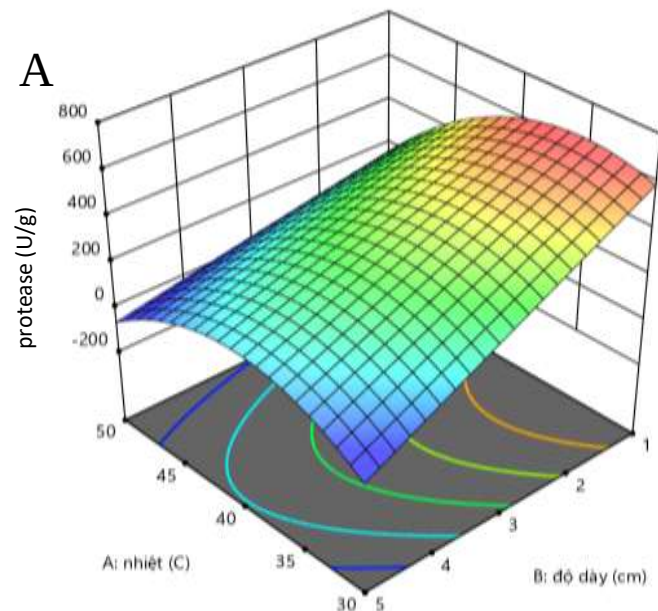
Bảng 7: kết quả mô hình Box - Behnken

Thí nghiệm	Protease activity U/g	
	Thực nghiệm	Mô hình
1	508	517.38
2	139	143.38
3	36	15.75
4	108	103.00
5	33	38.00
6	412	403.33
7	57	47.63
8	132	156.62
9	362	357.63
10	401	403.33
11	32	7.38
12	620	590.38
13	156	185.63
14	251	271.25
15	397	403.33

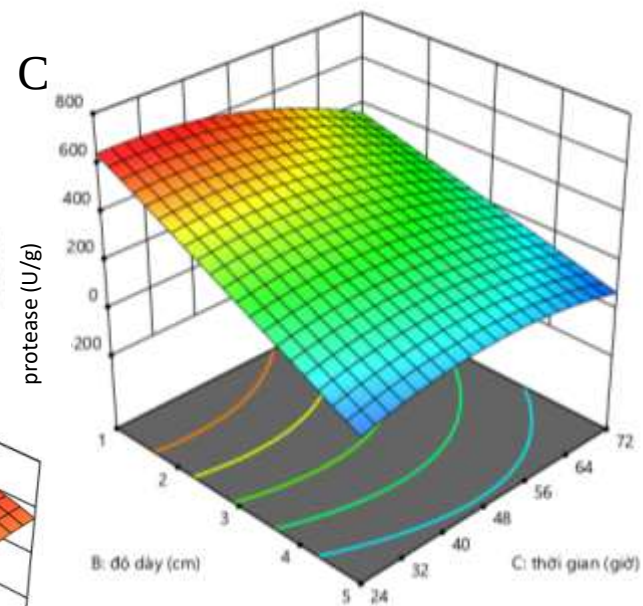
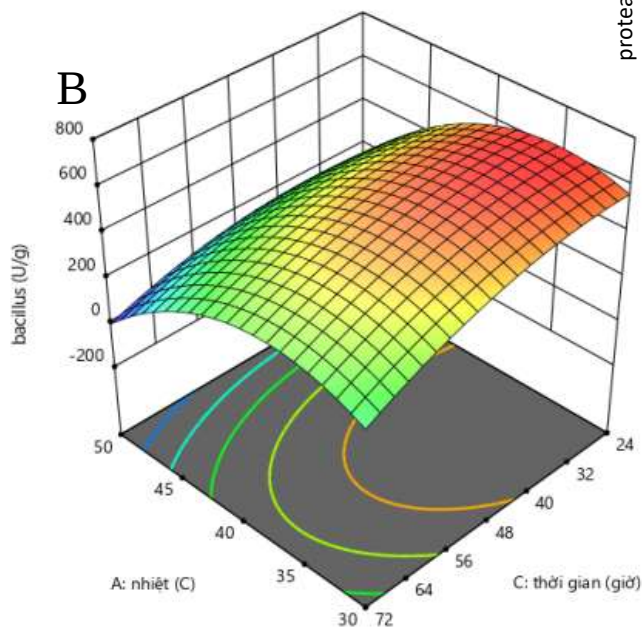
Bảng 8: F-value và P-value của mô hình Box - Behnken

Nguồn biến thiên	F – value	P - value
Mô hình	68.52	0.0001
X_1	61.54	0.0005
X_2	299.55	<0.0001
X_3	21.74	0.0055
X_1X_2	48.17	0.0010
X_1X_3	6.39	0.0527
X_2X_3	22.65	0.0051
X_1^2	207.69	<0.0001
X_2^2	0.0863	0.7807
X_3^2	28.08	0.0032
Lack of Fit	22.39	0.0431

$R^2=0,9920$; CV=11,89%;
adjust $R^2=0,9775$; predicts $R^2=0,8745$.



2. Box - Behnken



Hình 3: Mặt đáp ứng hoạt tính protease theo hai yếu tố: A. Nhiệt độ lên men (X1) - Độ dày cơ chất (X2) với thời gian lên men là 30 giờ; B. Nhiệt độ lên men (X1) - Thời gian lên men (X3) với độ dày khối cơ chất 1cm; C. Độ dày cơ chất (X2) - Thời gian lên men (X3) với nhiệt độ lên men 35°C.

$$Y = 403.33 - 80.13X_1 - 154.75X_2 - 47.63X_3 + 100.25X_1X_2 + 36.50X_1X_3 - 216.67X_1^2 - 79.67X_3^2$$

Factors

	Factor	Name	Level	Low Level	High Level	Std. Dev.	Coding
	A	nhiệt	35.00	30.00	50.00	0.0000	Actual
	B	độ dày	1.0000	1.0000	5.00	0.0000	Actual
	C	thời gian	35.00	24.00	72.00	0.0000	Actual

Point Prediction

Two-sided Confidence = 95% Population = 99%

	Response	Predicted Mean	Predicted Median	Observed	Std Dev	SE Mean	95% CI low for Mean	95% CI high for Mean	95% TI low for 99% Pop	95% TI high for 99% Pop
	bacillus	632.209	632.209		29.5533	21.6357	576.593	687.825	429.569	834.849

Hình 4: Các mức giá trị tối ưu

The optimization levels: Cultivation temperature: 35°C, medium thickness: 1cm, cultivation time: 35h

3. SDS-page và định lượng glycinin, beta-conglycinin

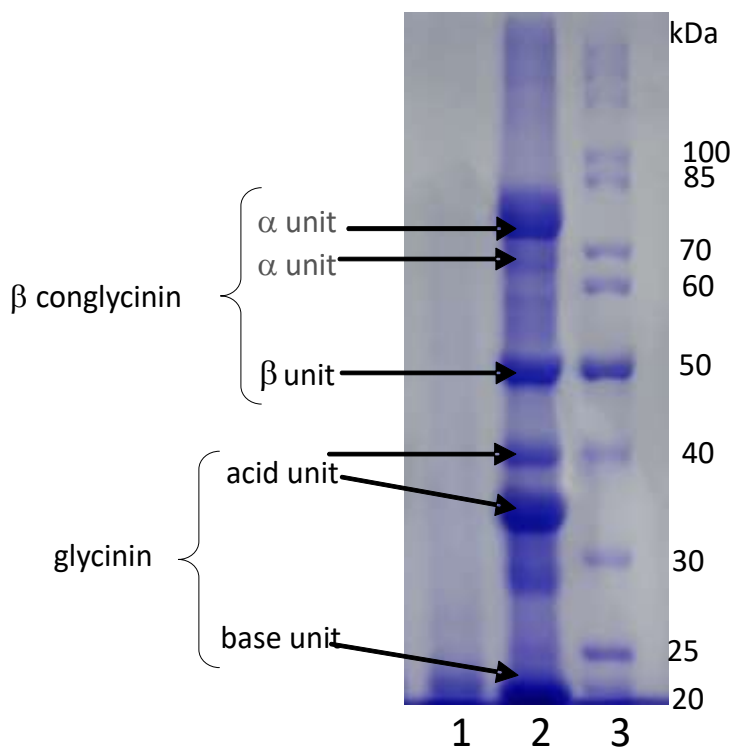


Table 9: Kết quả định lượng glycinin và -conglycinin sau khi lên men

Protein gây dị ứng	Khô dầu đậu nành chưa lên men	Khô dầu đậu nành lên men với <i>B.subtilis</i> N6	Mức giảm (%)
Glycinin (mg/g)	87.33	4.42	94.94
Beta-conglycinin (mg/g)	121.56	3.25	97.33

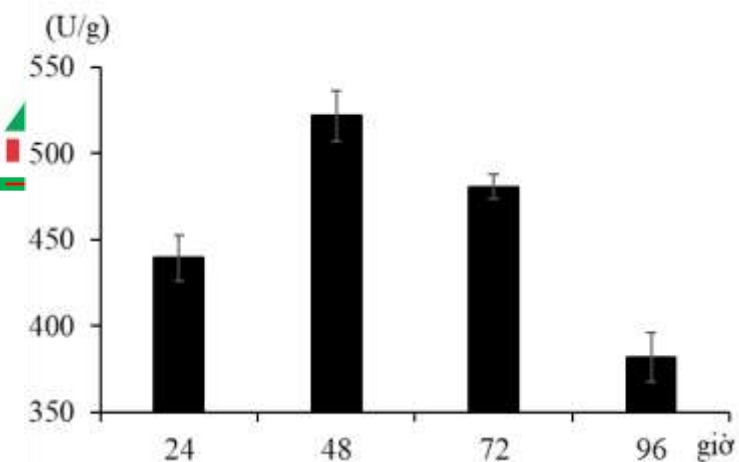
Hình 5: Kết quả chạy SDS-PAGE với 3 mức tối ưu của 3 yếu tố khảo sát

Glycinin và beta-conglycinin contents were significantly decreased 94.94% and 97.33% after fermentation, respectively.

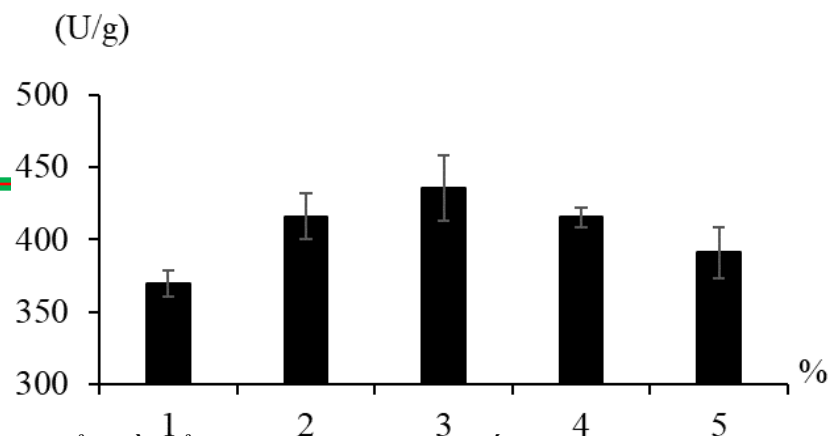
- ➡ Có 3 yếu tố ảnh hưởng tới hoạt lực protease của chủng *B. subtilis* N6 là nhiệt độ, thời gian lên men và độ dày cơ chất.
- ➡ Nhiệt độ = **35°C**, độ dày cơ chất = **1cm**, thời gian lên men = **35h** là điều kiện tối ưu cho hoạt lực protease sao nhất
- ➡ Với các điều kiện lên men tối ưu hoạt lực protease đạt **632U/g** tăng **1.65** lần.
- ➡ Glycinin và beta-conglycinin giảm lần lượt **94.94%** và **97.33%** sau khi lên men.

THANK YOU FOR YOUR ATTENTION!

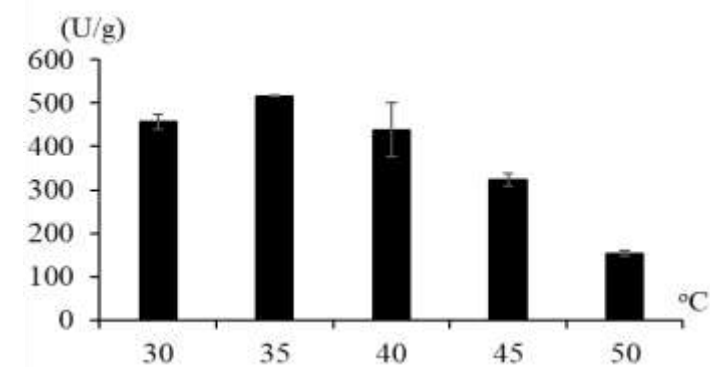




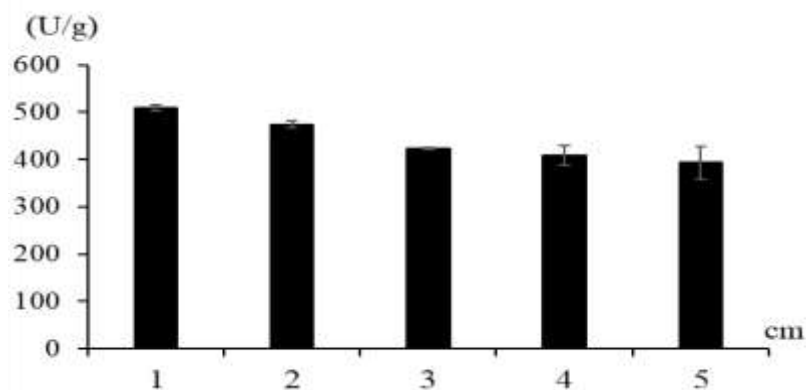
Biểu đồ : Ảnh hưởng của thời gian lên men tới hoạt tính protease.



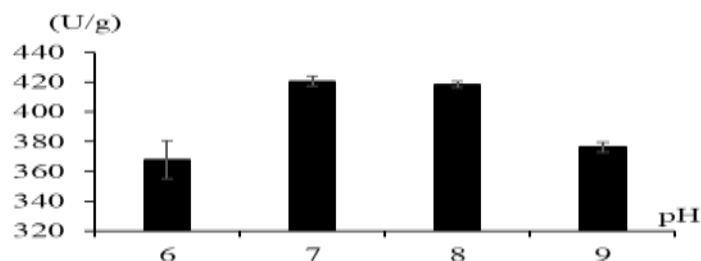
Biểu đồ : Ảnh hưởng của tỉ lệ giống tới hoạt lực protease của chủng *B. subtilis* N6.



Biểu đồ : Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến hoạt tính protease.



Biểu đồ : Ảnh hưởng của độ dày cơ chất đến hoạt tính protease.



Biểu đồ: Ảnh hưởng của pH cơ chất đến hoạt tính protease.