

TỐI ƯU THÔNG SỐ LÊN MEN SINH TỔNG HỢP α -L-RHAMNOSIDASE BỞI *Aspergillus niger* ĐH51 SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP ĐÁP ỨNG BỀ MẶT

ĐINH THỊ THU TRANG ⁽¹⁾, NGUYỄN THU HOÀI ⁽¹⁾, ĐỖ TẤT THỊNH ⁽¹⁾,
LÊ THỊ HUỆ ⁽¹⁾, VŨ THỊ HẠNH NGUYỄN ⁽²⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Enzyme α -L-rhamnosidase (EC 3.2.1.40) (Rha) xúc tác phân cắt đặc hiệu đầu α -L-rhamnose của nhiều hợp chất tự nhiên như naringin, rutin, quercitrin, hesperidin và các glycoside khác chứa α -L-rhamnose [1]. Rha được sử dụng trong nhiều ngành công nghiệp, đặc biệt là công nghiệp thực phẩm. Trong số các loại nấm, *Aspergillus niger* được coi là nguồn vi sinh vật tiềm năng cho quá trình sinh tổng hợp enzyme Rha không chỉ bởi khả năng sinh enzyme cao mà còn do được liệt kê trong danh mục vi sinh vật an toàn cho thực phẩm và dược phẩm [2]. Quá trình lên men chìm sản xuất Rha ngoại bào bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như thành phần môi trường, nồng độ các chất cảm ứng, pH ban đầu, ion kim loại, thời gian và nhiệt độ lên men. Vì vậy, để quá trình lên men được hiệu quả và ổn định, việc tối ưu hóa các điều kiện là cần thiết. Phương pháp tối ưu hóa truyền thống thực hiện với từng yếu tố, tuy đơn giản, dễ thực hiện nhưng tốn kém chi phí và thời gian do đòi hỏi bộ dữ liệu thử nghiệm lớn. Ngoài ra, do khảo sát đơn lẻ không phản ánh tương tác giữa các yếu tố, phương pháp tối ưu truyền thống thường có sự sai lệch lớn giữa thực nghiệm và mô hình. Để khắc phục nhược điểm của phương pháp tối ưu truyền thống, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng thiết kế tối ưu đa yếu tố theo Plackett - Burman nhằm sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng [3, 4] tới khả năng sinh tổng hợp Rha bởi *A. niger* ĐH51. Sau bước sàng lọc ban đầu, phương pháp đáp ứng bề mặt theo mô hình Box - Behnken được thực hiện để xác định giá trị tối ưu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng vi sinh vật và môi trường nuôi cấy

Chủng *A. niger* ĐH51 sử dụng trong nghiên cứu được tiếp nhận từ bộ sưu tập của Phân viện Công nghệ sinh học, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga ở dạng ống đông khô. Sau khi hoạt hóa trên môi trường dinh dưỡng, bào tử nấm được thu hồi và nuôi cấy trên môi trường sinh tổng hợp Rha (thành phần (g/L): KCl - 0,5; KH₂PO₄ - 15; NH₄Cl - 4; yeast extract - 5; dung dịch Vishniac - 1 mL; MgSO₄.7H₂O 10 % (w/v) - 5 mL; rhamnose - 1%; rutin 0,5%; pH 5,5 [5]) ở nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 250 vòng/phút trong 7 ngày.

Xác định hoạt độ enzyme Rha

Hoạt độ enzyme được xác định dựa trên phương pháp của Romero và cs. [6] với một số cải tiến. Cụ thể, hút lần lượt 0,4 ml p-nitrophenyl- α -L-rhamnopyranoside

(pNPR) (Sigma) 3,5 mM; 0,5 ml đệm axetat 0,1 M; 0,1 ml dịch enzyme thô vào ống nghiệm 5 ml. Ủ hỗn hợp này ở 50°C trong 10 phút. Sau đó bổ sung 3 ml NaOH 0,5 M để dừng phản ứng. Mẫu đối chứng sử dụng là dịch enzyme thô được bất hoạt ở 95°C trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng của mẫu thí nghiệm và đối chứng được đo mật độ quang tại bước sóng 400 nm. Dựa vào đường chuẩn p-nitrophenolat tính được hoạt độ enzyme α -L-rhamnosidase trong dịch thô. Một đơn vị hoạt độ của enzyme là lượng enzyme cần thiết để thủy phân cơ chất pNPR tạo thành 1 μ mol p-nitrophenol trong một phút ở điều kiện thí nghiệm.

Xác định và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến sinh tổng hợp Rha

Hàm mục tiêu theo thiết kế Plackett-Burman được sử dụng để thực hiện 12 thí nghiệm với sự thay đổi của 11 yếu tố bao gồm các điều kiện và thành phần môi trường nhằm xác định yếu tố ảnh hưởng tới sinh tổng hợp Rha [4]. Thiết kế Box-Behnken và phương pháp đáp ứng bề mặt được áp dụng để xây dựng các thí nghiệm xác định giá trị tối ưu cho các thông số lựa chọn [5].

Hàm đáp ứng được chọn hoạt tính enzyme Rha (U/ml): $y = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{23}BC + b_{13}AC + b_{11}A^2 + b_{22}B^2 + b_{33}C^2$. Trong đó, b_1, b_2, b_3 là các bậc hệ số 1; b_{11}, b_{22}, b_{33} là các bậc hệ số 2; b_{12}, b_{23}, b_{13} là các hệ số tương tác; A, B, C, AB, BC, AC là các biến độc lập (các yếu tố tối ưu). Số liệu được phân tích bằng phần mềm Design Expert 12.0.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA).

Ảnh hưởng tốc độ cấp khí

Thí nghiệm trên thiết bị lên men 10 lít (chứa 5 lít môi trường) với các tốc độ cấp khí khác nhau (0,2; 0,4; 0,6; 0,7; 0,8; 1; 1,2 thể tích khí/thể tích môi trường/phút (vvm)). Các điều kiện lên men khác cố định theo thông số đã được tối ưu trên bình tam giác như môi trường thích hợp, tỷ lệ tiếp giống 5%; nhiệt độ lên men 30°C; pH = 5,7; thời gian lên men 7 ngày.

Ảnh hưởng của tốc độ khuấy

Thí nghiệm trên thiết bị lên men 10 lít (chứa 5 lít môi trường) với các tốc độ khuấy khác nhau (50; 100; 150; 200; 250; 300 rpm) ở thể tích môi trường ban đầu là 5 lít. Các điều kiện lên men khác được cố định như môi trường thích hợp; tỷ lệ tiếp giống 5%; nhiệt độ lên men 30°C; độ sục khí ban đầu là 100% thể tích; tốc độ cấp khí 0,8 vvm; pH bắt đầu lên men là 5,7.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp Rha

Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố về điều kiện và thành phần môi trường nuôi cấy chủng nấm *Aspergillus niger* DH51 đến sinh tổng hợp enzyme Rha đã lựa chọn 11 yếu tố với các giá trị khác nhau thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Mức độ ảnh hưởng của các yếu tố thiết kế trong ma trận Plackett-Burman

Biến số	Tên yếu tố	Đơn vị	Giá trị của các yếu tố		Mức độ ảnh hưởng	
			Thấp (-1)	Cao (+1)	Ảnh hưởng	Độ tin cậy
X1	KCl	g/L	0,1	1,0	-0,12	0,0413
X2	Rutin	%	0,1	1,0	0,535	0,0099
X3	NH ₄ Cl	g/L	1,0	10	-0,458	0,0116
X4	Yeast extract	g/L	1,0	10	0,528	0,01
X5	Rhamnose	%	0,5	1,5	0,645	0,0082
X6	Dung dịch Vishniac	ml/L	0,5	1,5	-0,008	
X7	KH ₂ PO ₄	g/L	5	20	0,32	0,0165
X8	MgSO ₄ .7H ₂ O 10%	ml/L	1	15	-0,155	0,0342
X9	Tỷ lệ giống	%	3	7	-0,178	0,0297
X10	Nhiệt độ	°C	28	32	-0,44	0,012
X11	pH		4,5	6	0,61	0,0086

Bảng 2. Ma trận thiết kế thí nghiệm Plackett-Burman trên các biến số ảnh hưởng

Thí nghiệm	Biến số											Rha (U/ml)	
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	Thực nghiệm	Mô hình
1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	0,27	0,262
2	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	0,41	0,4
3	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	0,97	0,962
4	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	0,36	0,352
5	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	2,77	2,762
6	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	0,68	0,67
7	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	0,99	0,982
8	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	0,69	0,681
9	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	1,7	1,692
10	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	0,46	0,452
11	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	1,12	1,112
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	+1	0,25	0,241

Kết quả phân tích mức độ ảnh hưởng trên 11 yếu tố cho thấy, 3 yếu tố ảnh hưởng lớn (giá trị dương) đến quá trình sinh tổng hợp Rha là nồng độ rutin, rhamnose và pH ban đầu với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ ($p\text{-value} < 0,05$). Căn cứ vào hệ số ảnh hưởng, nhận thấy rằng nồng độ rhamnose có tác động mạnh nhất đến hoạt độ Rha (0,645), tiếp đến là pH ban đầu của môi trường (0,61) và cuối cùng là nồng độ rutin (0,535) (bảng 1). Vì vậy nồng độ rhamnose, rutin và pH là những yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến hoạt độ enzyme Rha của chủng *A. niger* ĐH51 theo phương pháp đáp ứng bề mặt Box-Behnken.

3.2. Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp Rha

Trên cơ sở khảo sát thực nghiệm các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp Rha cho thấy nồng độ rhamnose, nồng độ rutin và pH ban đầu là những yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sinh tổng hợp Rha. Nhằm lựa chọn các thông số tối ưu cho các yếu tố này chúng tôi chọn quy hoạch bậc hai Box-Behnken, sử dụng tối ưu 3 yếu tố với 17 thí nghiệm trong đó 5 thí nghiệm lặp lại tại tâm (bảng 3).

Bảng 3. Ma trận thực nghiệm Box-Behnken ba yếu tố và hoạt độ Rha trong các điều kiện khác nhau

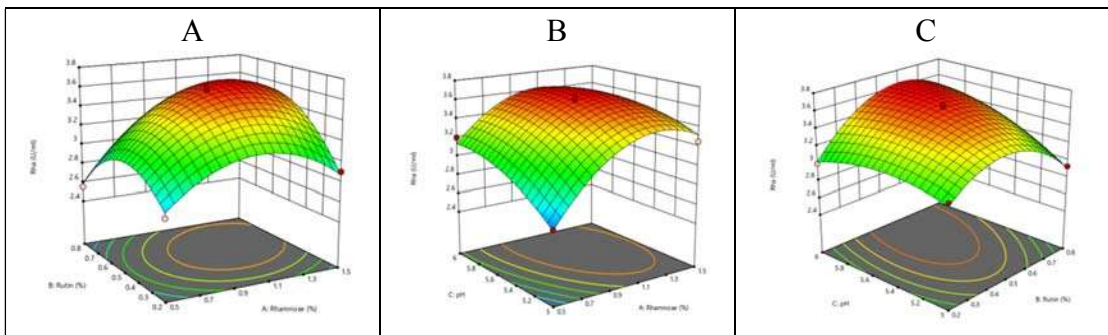
TN	Rhamnose (%)	Rutin (%)	pH	Hoạt độ Rha (U/ml)
1	0,5	0,2	5,5	2,72
2	1,5	0,2	5,5	2,9
3	0,5	0,8	5,5	2,55
4	1,5	0,8	5,5	3,42
5	0,5	0,5	5	2,68
6	1,5	0,5	5	3,25
7	0,5	0,5	6	3,2
8	1,5	0,5	6	3,37
9	1	0,2	5	3,11
10	1	0,8	5	2,93
11	1	0,2	6	3,0
12	1	0,8	6	3,45
13	1	0,5	5,5	3,57
14	1	0,5	5,5	3,6
15	1	0,5	5,5	3,63
16	1	0,5	5,5	3,61
17	1	0,5	5,5	3,66

Kết quả cho thấy hoạt độ Rha trong môi trường nuôi cấy đạt được trong khoảng 2,55 đến 3,66 U/ml, tương ứng với thí nghiệm số 3 và 17. Kết quả phân tích phương sai của mô hình tối ưu bằng phần mềm DX 12.0.0.6 trình bày trong bảng 4 cũng cho thấy yếu tố nồng độ rhamnose và pH ảnh hưởng mạnh đến quá trình sinh tổng hợp enzym. Giá trị F của mô hình là 68,55 với $p < 0,0001$ ($p < 0,05$) cho thấy dạng mô hình đã lựa chọn đúng. Giá trị p của “không tương thích” là 0,0624 ($p > 0,05$) cho thấy mô hình này phù hợp với thực nghiệm.

Bảng 4. Kết quả phân tích phương sai của mô hình

Thông số	Tổng bình phương	Bậc tự do	Sai số chuẩn	Ảnh hưởng	Chuẩn F	Mức có nghĩa p
Mô hình	2,11	9		3,61	68,55	< 0,0001
A-Rhamnose	0,4005	1	0,0207	0,2237	117,08	< 0,0001
B-Rutin	0,0480	1	0,0207	0,0775	14,05	0,0072
C-pH	0,1378	1	0,0207	0,1313	40,29	0,0004
AB	0,1190	1	0,0292	0,1725	34,80	0,0006
AC	0,0400	1	0,0292	-0,1	11,69	0,0111
BC	0,0992	1	0,0292	0,1575	29,01	0,0010
A ²	0,5427	1	0,0285	-0,357	156,88	< 0,0001
B ²	0,5502	1	0,0285	-0,3595	159,08	< 0,0001
C ²	0,0756	1	0,0285	-0,132	21,45	0,0024
Residual	0,0213	7				
Không tương thích	0,0194	3			5,73	0,0624
Sai số	0,0045	4				
Tổng	2,13	16				

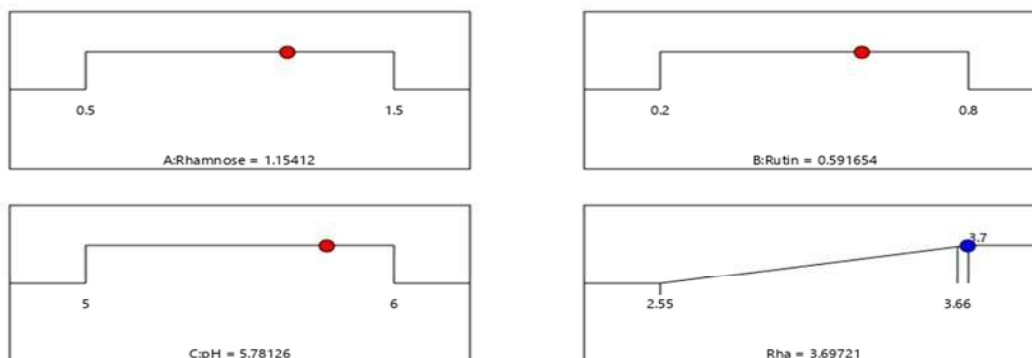
Phương trình hồi quy biểu hiện α -L-rhamnosidase mô tả ảnh hưởng của các yếu tố độc lập (A, B và C) và các mối tương tác giữa chúng được biểu diễn như sau: Rha (U/ml) = 3,61 + 0,2237A + 0,0775B + 0,1313C + 0,1725AB - 0,1AC + 0,1575BC - 0,357A² - 0,3595B² - 0,132C².



Hình 1. Bề mặt đáp ứng của hoạt độ Rha. A - thay đổi nồng độ Rhamnose và rutin môi trường (pH 5,5); B - thay đổi nồng độ rhamnose và pH của môi trường (nồng độ rutin - 0,5%); C - pH và nồng độ rutin thay đổi (nồng độ rhamnose - 1,0%)

Mô hình được kiểm chứng khi tiến hành thực nghiệm ở giá trị tối ưu, hoạt tính Rha đạt được $3,67 \pm 0,02$ U/ml sau 7 ngày nuôi cấy. Kết quả thu nhận được có độ tương thích cao so với lý thuyết và điều này cho thấy, phương pháp đáp ứng bề mặt được lựa chọn để tối ưu các điều kiện lên men là phù hợp, có độ ổn định cao. Phương pháp tương tự (thiết kế Box-Behnken) đã được sử dụng để tối ưu hóa quá trình lên men rắn sinh Rha bởi *A. niger* và giúp tăng hiệu quả lên 37% [7]. Yadav và cộng sự sử dụng phương pháp Taguchi DOE để tối ưu điều kiện sản xuất α -L-rhamnosidase từ *Aspergillus flavus* khi lên men chìm. Trong đó, 5 yếu tố quan trọng bao gồm chất cảm ứng (naringin), thời gian lên men, nhiệt độ lên men, pH môi trường và ion kim loại được xác định và ở điều kiện tối ưu hoạt tính α -L-rhamnosidase đạt 3,88 U/ml [1].

Sử dụng phương pháp hàm kỳ vọng để tối ưu hóa hoạt độ Rha thu được trong môi trường nuôi cấy chủng *A.niger* ĐH51 bằng phần mềm Design-Expert (DX 12.0.0.6) cho thấy phương án để cực đại hàm mục tiêu là: nồng độ rhamnose 1,15%, nồng độ rutin 0,59 % và pH 5,78. Khi đó hoạt độ Rha đạt được trong các điều kiện trên theo tính toán là 3,697 U/ml (hình 2).



Hình 2. Hàm kỳ vọng và điều kiện tối ưu lên men thu Rha từ *A.niger* ĐH51

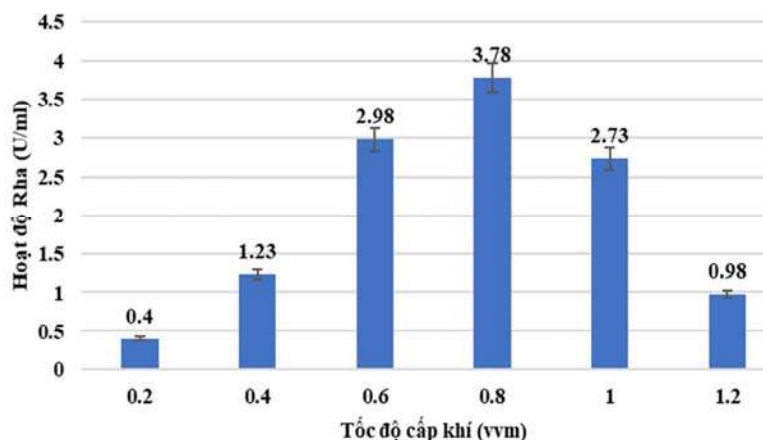
Thành phần môi trường lên men tối ưu MT3: KCl - 0,5 (g/L); KH_2PO_4 - 15 (g/L); NH_4Cl - 4 (g/L); yeast extract - 5 (g/L); dung dịch Vishniac - 1 mL; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10% - 5 mL; Rhamnose - 1,1 (%); rutin - 0,6 (%); pH 5,7 và các điều kiện lên men: nhiệt độ 30°C ; tỷ lệ giống 5%; thời gian nuôi cấy 7 ngày.

3.3. Tối ưu các điều kiện sinh tổng hợp Rha trên thiết bị lên men 10 lít

Khảo sát độ cấp khí

Trong quá trình lên men hiếu khí, tốc độ cấp khí đóng vai trò quan trọng đối với khả năng hòa tan oxy, khả năng chảy rối và tốc độ tuần hoàn của khối dịch, và do đó sẽ tác động đến khả năng trao đổi chất của vi sinh vật.

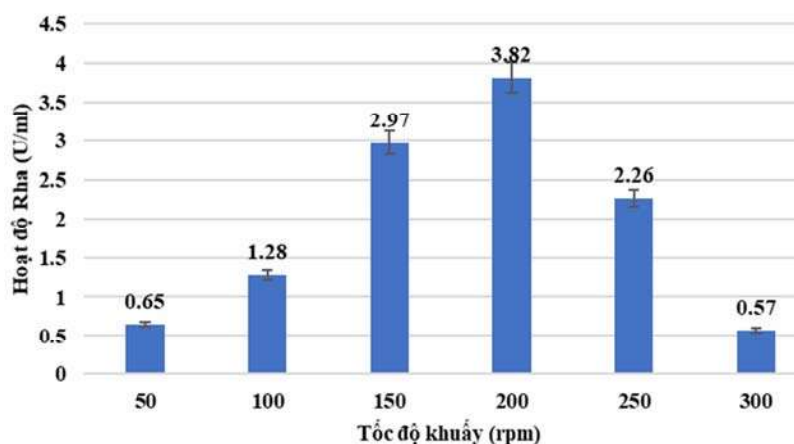
Kết quả khảo sát cho thấy tốc độ sục khí có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng sinh tổng hợp Rha của *A. niger* ĐH51. Hoạt độ enzym Rha tăng nhanh khi tăng tốc độ cấp khí từ 0,2 vvm lên 0,8 vvm. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng tốc độ cấp khí (1,0 và 1,2 vvm) hoạt tính Rha có xu hướng giảm dần (hình 3). Với kết quả trên, chúng tôi lựa chọn tốc độ cấp khí 0,8 vvm cho các nghiên cứu tiếp theo của quá trình lên men.



Hình 3. Ảnh hưởng của tốc độ cấp khí đến khả năng sinh Rha

Khảo sát tốc độ khuấy

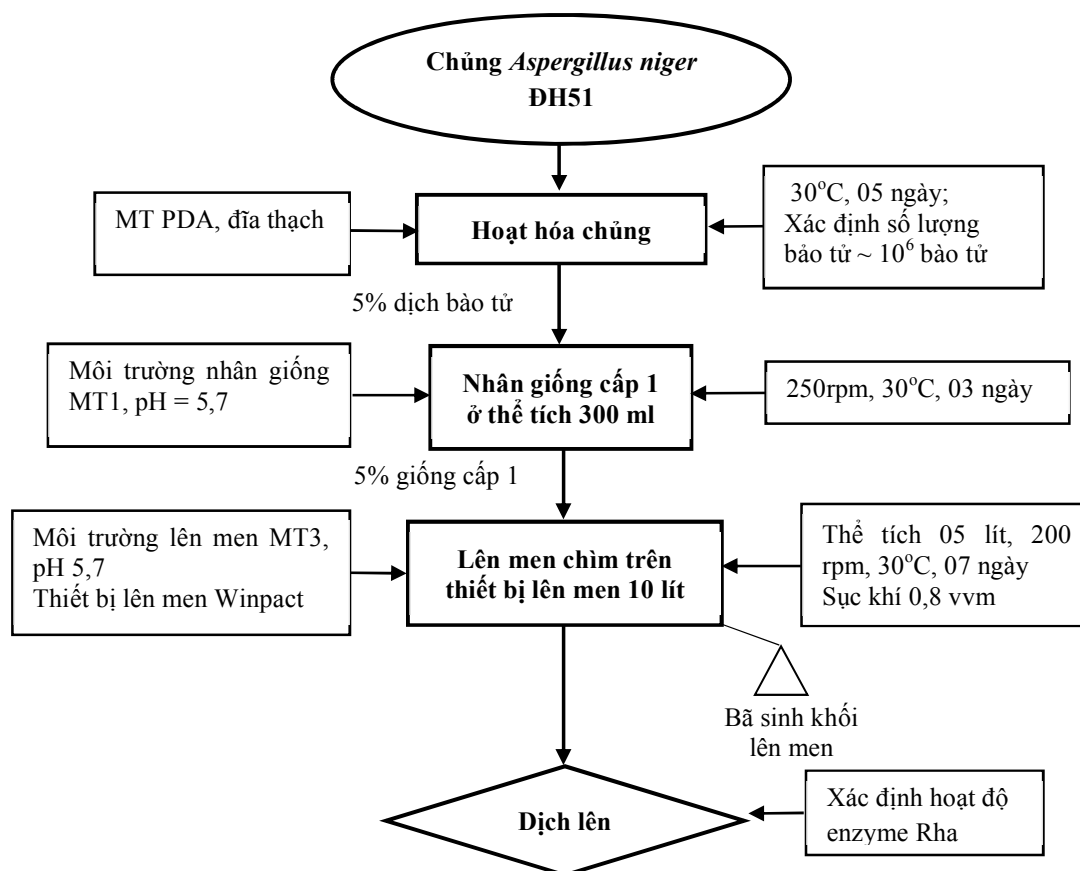
Trong quá trình sinh trưởng của chủng nấm *A.niger* ĐH51 trong hệ thống lên men, tốc độ cấp khí và tốc độ khuấy cùng hỗ trợ nâng cao khả năng sinh tổng hợp enzyme Rha. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tốc độ khuấy được mô tả trên hình 4. Với tốc độ khuấy 50 rpm, hoạt độ enzym thu được đạt 0,65 U/ml. Khi tốc độ khuấy tăng lên 200 rpm, hoạt độ enzyme sinh ra cũng tăng mạnh và đạt 3,82 U/ml. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tốc độ khuấy (250 rpm và 300 rpm) quá trình sinh tổng hợp Rha giảm đi đáng kể (hình 4). Điều này có thể lý giải bởi tốc độ khuấy cao có thể dẫn tới sự phân cắt sợi nấm và làm giảm số lượng tế bào sống. Tốc độ khuấy 200 rpm, cấp khí 0,8 vvm được lựa chọn làm thông số cho quá trình lên men trên thiết bị lên men 10 lít.



Hình 4. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến khả năng sinh Rha

Sơ đồ lên men sinh Rha từ chủng *A.niger* ĐH51 trên thiết bị lên men 10 lít

Với những điều kiện tối ưu đã được thiết lập qua các nghiên cứu tối ưu, để thu dịch enzyme thô Rha từ chủng *A.niger* ĐH51 trên thiết bị lên men 10 lít, nhóm nghiên cứu đã xây dựng sơ đồ như sau:



Sơ đồ 1. Sơ đồ lên men và thu dịch enzyme α -L-rhamnosidase từ chủng *Aspergillus niger* DH51 trên thiết bị lên men 10L Winpact



Hình 5. Lên men trên thiết bị lên men 10 lít Winpact

4. KẾT LUẬN

Từ 11 yếu tố ban đầu đã sàng lọc và chọn được 3 yếu tố ảnh hưởng chính là nồng độ rhamnose, nồng độ rutin và pH bằng thiết kế ma trận Plackett-Burman. Sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt Box-Behnken đã tối ưu được thành phần môi trường và điều kiện lên men. Hoạt tính enzyme α -L-rhamnosidase cao nhất thu nhận được là 3,67 U/ml sau 7 ngày lên men với các thông số lên men ban đầu 1,1% rhamnose; 0,6% rutin và pH 5,7. Kết quả tối ưu trong điều kiện lên men bình tam giác đã được áp dụng cho lên men trên thiết bị 10 lít Winpact với các thông số phù hợp là tốc độ sục khí (0,8 vvm) và tốc độ khuấy (200 rpm). Quy trình cho hiệu quả lên men cao, ổn định và tạo tiền đề cho nghiên cứu thu nhận enzyme α -L-rhamnosidase ở quy mô công nghiệp.

Lời cảm ơn: Công trình được hỗ trợ kinh phí từ đề tài thuộc Đề án phát triển và ứng dụng Công nghệ sinh học trong lĩnh vực chế biến đến năm 2020, Hợp đồng số 07/HĐ-ĐT.07.18/CNSHCB.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yadav P., Chauhan A.K., Al-Sebaei M.A., Yadav S., *Production of α -L-Rhamnosidase from Aspergillus flavus: Optimization of Submerged Culture Conditions by Taguchi DOE Methodology*, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2017, **6**(3):110-118.
2. Pel H.J., de Winde J.H., Archer D.B., Dyer P.S., Hofmann G., Schaap P.J., Turner G., de Vries R.P., Albang R., Albermann K., *Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory Aspergillus niger CBS 513.88*, Nat. Biotechnol, 2007, **25**:221-231.
3. Plackett R.L., Burman J.P., *The design of optimum multifactorial experiments*. Biometrika, 1946, **33**:305-325.
4. Vanaja K., Shobha Rani R.H., *Design of Experiments: Concept and Applications of Plackett Burman Design*, Clinical Research and Regulatory Affairs, 2017, **24**(1):1-23.
5. Abbate E., Palmeri R., Todaro A., Blanco R.M., Spagna G., *Production of α -L-Rhamnosidase from Aspergillus terreus Using Citrus Solid Waste as Inducer for Application in Juice Industry*, Chemical engineering transactions, 2012, **27**:253-258.
6. Romero C., Manjón A., Bastida J., Iborra J.L., *A method for assaying the rhamnosidase activity of naringinase*, Analytical Biochemistry, 1985, **149**(2):566-571.
7. Petri A.C., Buzato J.B., Celligoi M.A.P.C., Borsato D., *Optimization of the Production of α -L-Rhamnosidase by Aspergillus niger in Solid State Fermentation Using Agro-Industrial Residues*, British Microbiology Research Journal, 2014, **4**(11):1198-1210.

SUMMARY

OPTIMIZATION OF FERMENTATION PARAMETERS FOR PRODUCTION α -L-RHAMNOSIDASE BY *ASPERGILLUS NIGER* ĐH51 USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

The Response Surface Methodology (RSM) was used to optimize the fermentation condition for the production of α -L-rhamnosidase by *Aspergillus niger* ĐH51. RSM reflects the interaction and impact of different variables at a given moment. Among 11 surveyed factors by Plackett-Burman design, the concentrations of rhamnose, rutin, and pH were identified as the 3 most influencing factors on the α -L-rhamnosidase production ($p < 0.05$). The optimal conditions derived from Box-Behnken design were: rhamnose = 1.1%, rutin = 0.6% and pH = 5.7. Under this condition, the highest α -L-rhamnosidase activity obtained was 3.67 U/ml. When switching to fermentation in the Winpact 10 L fermentor, α -L-rhamnosidase activity of 3.85 U/ml was obtained at an agitation speed of 200 rpm and aeration rate of 0.8 vvm.

Keywords: α -L-rhamnosidase, Plackett-Burman, isoquercetin, fermentation.

Nhận bài ngày 29 tháng 8 năm 2019

Phản biện xong ngày 16 tháng 10 năm 2019

Hoàn thiện ngày 17 tháng 10 năm 2019

⁽¹⁾ *Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga*

⁽²⁾ *Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*