

# SỬ DỤNG CÁC BIỆN PHÁP SINH HỌC ĐỂ SẢN XUẤT NƯỚC MẮM NHANH, ĐẠT CHẤT LƯỢNG XUẤT KHẨU

(Phần I)

Cán bộ phối hợp nghiên cứu:

Lê Thanh Hùng  
Nguyễn Văn Thành  
Lý Đại Đức  
Trần Phước Đường

Cần Thơ, ngày      tháng      năm 1996

Chủ nhiệm đề tài      Chủ tịch Hội đồng nghiệm thu      Thủ Trưởng cơ quan chủ trì

2660

9/7/96

## MỤC LỤC

Trang

TÓM TẮT KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	4
ABSTRACT	5
BÁO CÁO TỔNG QUAN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	
I. Mở đầu:	6
II. Nội dung nghiên cứu:	7
II. 1. Mật số vi khuẩn ưa muối ở giai đoạn đầu lên men trong nước muối theo phương pháp cổ truyền.	7
II. 2. Thủy phân protein cá trong quá trình sản xuất nước mắm cổ truyền và cải tiến.	9
III. Kết luận và đề nghị	16
TÀI LIỆU THAM KHẢO	17
PHỤ LỤC	20

## TÓM TẮT KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Ở Việt nam, nước mắm được sản xuất theo nhiều qui trình cổ truyền khác nhau. Khuyết điểm của phương pháp cổ truyền là thời gian sản xuất quá dài ( 9 - 12 tháng ).

Nhiều tác giả cho rằng quá trình lên men cá trong nước muối thông qua giai đoạn thủy phân bằng enzym cho ra peptid và acid amin kết hợp với giai đoạn chượp chín tác động bởi vi khuẩn tạo nên mùi vị đặc trưng của sản phẩm.

Mục đích của đề tài là:

1. Đếm và sưu tầm tồn trữ vi khuẩn ưa muối (halophilic bacteria) trong nước muối và nội tạng cá lên men nước mắm cổ truyền để nghiên cứu ứng dụng sau này.

2. Đánh giá tác dụng của bromelin và chế phẩm proteaz nấm sợi trong quá trình thủy phân protein cá để áp dụng làm nước mắm nhanh.

Kết quả cho thấy, mật số vi khuẩn ưa muối trong nước muối ủ cá lên men theo phương pháp cổ truyền ở mức cao ( $10^6$  /ml) vào ngày thứ 7-10 tùy theo loại cá, sau đó mật số vi khuẩn ưa muối giảm dần.

Tốc độ thủy phân nhanh nhất ở mẫu cá cơm đỏ có bổ sung 10% chế phẩm proteaz nấm sợi so với đối chứng (không bổ sung proteaz) và các mẫu bổ sung 1% bromelin, 5% chế phẩm nấm sợi. Nước muối cá cơm đỏ có bổ sung 10% chế phẩm nấm sợi đạt hàm lượng đạm tổng số hòa tan cao (37 g/l), đạm amin cao (12 g/l) và đạm amôn thấp (5,8 g/l).

Kết quả thủy phân protein cá cơm đỏ ngắn hơn 7 tuần khi sử dụng chế phẩm proteaz nấm sợi đã cho thấy khả năng áp dụng để sản xuất nước mắm nhanh.

**Từ khóa:** nước mắm, lên men trong nước muối, vi khuẩn ưa muối, bổ sung proteaz.

## ABSTRACT

Several traditional processes are being applied for making nuoc mam (fish sauce) in Vietnam. The main disadvantage in traditional methods is that the fermentation time is too long ( 9 - 12 months).

Some authors indicated that nuoc mam is produced through a combination of enzymatic process (digestion stage) and bacterial process (ripening stage).

The objectives of this study were to:

1. Enumerate and collect the halophilic bacteria in the sauce and fish viscera derived from the traditional process for future use.
2. Test the effect of the ratio and kind of protease products (bromelain and mold protease mass) for accelerating the fermentation.

The results shown that the population of halophilic bacteria in the sauce reached to a maximal concentration of  $10^6$ /ml from 7<sup>th</sup> to 10<sup>th</sup> day depending on the kind of fish in traditional fish sauce fermentation and then decreased afterwards.

The highest rate of digestion occurred in the sample with 10% mold protease mass added as compared to those of the control (without protease added) and other samples. An increase in total soluble nitrogen content (37 g/l) and amino nitrogen content (12 g/l) and a decrease in ammonia nitrogen content (5.8 g/l) were noted.

The shorter digestion result ( 7 weeks ) achieved through the use of mold proteaz mass, indicates the feasibility of accelerating the nuoc mam production.

**Keywords:** fish sauce, brine fermentation, halobacteria, protease supplementation.

# BÁO CÁO TỔNG QUAN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

## I. Mở đầu:

Nước mắm là một trong các loại nước chấm và gia vị rất quen thuộc của người Việt nam. Từ "nước mắm" đã được quốc tế hoá vào đầu thế kỷ thứ 20 nhờ các công trình nghiên cứu của một số nhà khoa học Pháp [ 14 ]. *Ngan-pya-ye* (Miền điện), *Nampla* (Thái Lan), *Shotttsuru* (Nhật), *Ju-lu* (Trung quốc) là tên địa phương của sản phẩm cùng loại ở các nước Đông Á.

Qui trình sản xuất nước mắm cổ truyền đã được áp dụng từ lâu đời. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa phân biệt rõ tầm quan trọng của sự thoái biến vi sinh vật (microbial degradation) và sự thủy phân của enzym trong sự lên men của cá trong nước muối (brine fermentation). Mackie & csv, 1971, cho rằng vật chất hữu cơ, cụ thể là protein cá được chuyển đổi thành các chất đơn giản (peptid và acid amin) nhờ tác động của enzym và vi sinh vật trong "sự lên men nước mắm" (fish sauce fermentation).

Khuyết điểm của phương pháp lên men nước mắm cổ truyền là thời gian sản xuất quá dài (9 tháng - 12 tháng).

Nhiều công trình nghiên cứu làm nước mắm nhanh bằng cách sử dụng proteaz (bromelain) từ khóm (*Ananas comosus* (L.) Merr.) (Beddows & Ardeshir, 1979), và chế phẩm proteaz từ nấm sợi, "koji", (*Aspergillus oryzae* - Minh Dieu Huynh, 1982) [ 5 ], cũng có thể cho thêm acid và giảm lượng muối (Gildberg & csv, 1984). Mabesa & csv, 1989 [ 11 ] đã rút ngắn thời gian lên men nước mắm từ 12 tháng xuống còn 2 tháng bằng cách nâng nhiệt (45 - 50°C) và thổi khí, khuấy trộn. Thongthai & csv, 1989 [ 17 ] đã theo dõi tác động proteaz từ nội tạng cá trên nước bổi (nước muối ủ cá) và cá ủ lên men trong nước muối với hàm lượng muối cao thấp khác nhau.

Từ năm 1963, Bộ môn Chế biến Trường Đại Học Thủy Sản và Bộ Môn Vi sinh Trường Đại Học Tổng Hợp Hà Nội đã sử dụng *A.oryzae* và *A. niger* để rút ngắn thời gian thủy phân, kết quả cho thấy tốc độ thủy phân nhanh, nhưng mùi vị kém.

Vấn đề cần nghiên cứu giải quyết:

1. Theo dõi tốc độ thủy phân protein cá trong quá trình lên men trong nước muối theo phương pháp cổ truyền.
2. Đánh giá khả năng áp dụng chế phẩm proteaz nấm sợi (*Aspergillus oryzae*) trong sự thủy phân protein cá lên men trong nước muối.
3. Theo dõi sự phát triển của vi khuẩn ưa muối (halophilic bacteria) trong nước bổi và nội tạng cá lên men nước mắm theo phương pháp cổ truyền.

4. Tìm điều kiện nuôi cấy tối ưu để sản xuất chế phẩm proteaz nấm sợi.

5. Chọn lọc vi khuẩn ưa muối, nấm men, vi khuẩn lactic ... nuôi cấy sản xuất và kết hợp sử dụng với chế phẩm proteaz nấm sợi trong quá trình thủy phân protein cá và tạo hương trong sản xuất nước mắm cải tiến.

Sau đây là kết quả bước đầu ghi nhận được qua nghiên cứu điều tra và đánh giá sơ bộ.

## II. Nội dung nghiên cứu:

### II. 1. Một số vi khuẩn ưa muối ở giai đoạn đầu lên men trong nước muối theo phương pháp cổ truyền:

Các công trình nghiên cứu về nước mắm và vai trò của vi sinh vật trong quá trình sản xuất nước mắm đã được công bố vào đầu thế kỷ thứ 19.

Năm 1910, phòng thí nghiệm Sinh hoá, Viện Pasteur Sài Gòn đã xác định là trong nước bổi có nhiều vi khuẩn và các loại enzym thủy phân.

Năm 1924, Krempf cho biết sản phẩm thủy phân từ cá trong điều kiện vô trùng thì thiếu hẳn hương vị đặc biệt của nước mắm.

Năm 1965, Saisithi nghiên cứu nước mắm ở Thái Lan đã tìm thấy 5 nhóm vi khuẩn có trong nước mắm là *Bacillus* ( 10 loài), *Streptococcus* (2 loài), *Corynebacterium* (1 loài), *Micrococcus* (1 loài), *Staphylococcus* (1 loài). Trong đó *Staphylococcus* chiếm đa số và sinh ra nhiều acid béo bay hơi, góp phần tạo mùi cho nước mắm.

Năm 1989, Thongthai & csv [ 18 ] đã khẳng định là có ít nhất 2 loại vi khuẩn trong quá trình lên men nước mắm cổ truyền ở Thái Lan. Vi khuẩn ưa muối *Halobacterium* dòng OR chiếm đa số được phân lập từ mẫu ủ nước mắm khoảng 1 tháng và được nghiên cứu đặc điểm sinh lý hoá để nuôi cấy sản xuất.

Vi khuẩn ưa muối lên men nước mắm theo phương pháp cổ truyền ở xí nghiệp Chế biến Thủy, Hải sản Cần Thơ được điều tra theo dõi.

#### II. 1. 1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu.

##### a. Vật liệu:

- Mẫu vật: Mẫu cá ủ và nước bổi được thu thập một hoặc nhiều tuần một lần tại xí nghiệp Chế biến Thủy, Hải sản Cần thơ.

- Môi trường: cải tiến phỏng theo môi trường của Sehgal và Gibbons, 1965:

. Vitamin - free casamino acids ( Difco )            0,75%

. Natri citrate	0,3%
. KCl	0,2%
. MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	2%
. NaCl	23%
. FeCl <sub>2</sub>	0,002%
. Nước trích nấm men	200 ml
. Nước mắm loại I	100 ml
. Nước sôi	14 ml
. Nước cất	686 ml
. Agar	1,5%

b. Phương pháp nghiên cứu:

Dùng phương pháp ước lượng MPN ( Most Probable Number ) để nuôi cấy vi khuẩn ưa muối ở 37°C trong thời gian 14 ngày, đếm và tính ra mật số vi khuẩn, lấy log mật số vi khuẩn.

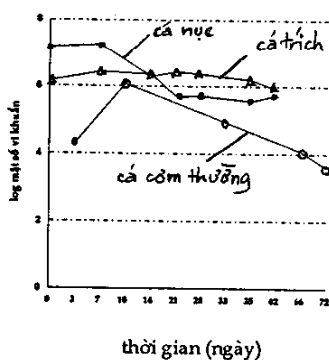
Kết quả của các lần lặp lại về mật số vi khuẩn được phân tích thống kê và vẽ biểu đồ bằng chương trình Statgraphics và Harvard graphic.

II. 1. 2. Kết quả và thảo luận:

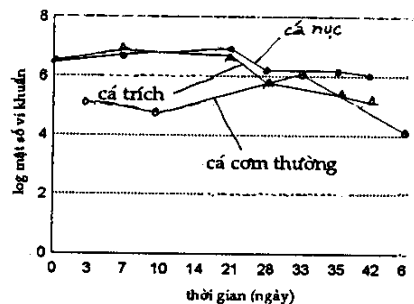
Vi khuẩn ưa muối phát triển chậm trên môi trường cải tiến, đến ngày thứ 10 - 14 mới xuất hiện khuẩn lạc tròn, dạng bìa nguyên, màu hồng nhạt hoặc đỏ. Ở trên môi trường cải tiến 14 ngày ở nhiệt độ 37°C đã tỏ ra thích hợp.

Mật số vi khuẩn ưa muối ở da và cơ cá không nhiều, mật số vi khuẩn trong nước bơi và trong nội tạng của cùng loại cá thì khác biệt không có ý nghĩa, tuy nhiên mật số vi khuẩn theo thời gian thì khác biệt có ý nghĩa (phụ lục trang 22-25). Đặc biệt, mật số vi khuẩn ở mức cao (10<sup>6</sup>) vào ngày thứ 21

trong nội tạng cá trích và cá nục, tương tự ở ngày thứ 33 trong nội tạng cá cơm thường, sau đó mật số giảm dần (hình 2 và phụ lục trang 20 - 25).



H.1: Vi khuẩn ưa muối trong nước bơi các loại cá theo thời gian ủ



H.2: Vi khuẩn ưa muối trong nội tạng các loại cá theo thời gian ủ

Trong nước muối cá trích, cá nục thì mật số vi khuẩn tăng tối đa rất sớm ( $10^6 - 10^7$  ở ngày thứ 7), và tương tự ở ngày thứ 7-10 trong nước muối cá cơm thường (hình 1 và phụ lục trang 21), sau đó mật số giảm dần. Trong nước muối và trong nội tạng cá trích, cá nục thì mật số vi khuẩn cao hơn ở cá cơm thường, và cao hơn mật số vi khuẩn ở nước muối cá cơm ở Hàn quốc ( $10^3$  - Lee & csv, 1986) [ 9 ] và cũng cao hơn mật số vi khuẩn trong nước muối từ chất thải cá ú ( $10^2$  - Minh Dieu Huynh, 1982)[ 5 ]. Lý do làm mật số vi khuẩn ưa muối trong nước muối từ chất thải cá giảm thấp có thể vì môi trường nuôi vi khuẩn có hàm lượng NaCl thấp (4 - 10%) trong khi môi trường thích hợp của Gibbons & csv cần phải có hàm lượng NaCl cao (25%). Tuy nhiên, mật số vi khuẩn ưa muối này ( $10^6$ ) cũng chưa phải là cao lắm mặc dù tương đương với mật số vi khuẩn ưa muối trong nước muối và cá ú ở Thái Lan (Thongthai & csv, 1989) [ 18 ].

Điều xin lưu ý là thời gian được tính ở đây kể từ khi cá bắt đầu lên bờ ú, không kể thời gian từ khi đánh bắt và vận chuyển đến xí nghiệp.

Kết quả về mật số vi khuẩn trong nội tạng cá và trong nước muối giúp ta khẳng định thêm ruột cá là nguồn cung cấp vi khuẩn ưa muối và nước muối là môi trường dinh dưỡng giúp cho vi khuẩn phát triển. Vi khuẩn ưa muối chỉ phát triển và gia tăng mật số khoảng một đến hai tháng trong giai đoạn đầu, sau đó, do điều kiện môi trường không còn phù hợp nữa, một vài loại vi khuẩn thành lập bào tử (*Bacillus*) [ 9 ], và mật số giảm dần.

## II. 2. Thủy phân protein cá trong quá trình sản xuất nước mắm cổ truyền và cải tiến:

Nguyên liệu dùng trong sản xuất nước mắm là các loại cá nhỏ như cá cơm thường (*Stelophorus commersonii* Lacépède), cá cơm đỏ (*Stelophorus zollingeri* Bleeker), cá trích xương (*Sardinella jussieu*) cá nục thường (*Decapterus lajang*)... cá linh báng (*Thynnichthys thynoides*). Hàm lượng protein thô của cá thay đổi tùy theo loại cá và chứa trên dưới 50% CP (crude protein) tính trên trọng lượng khô. Actomyosin (actin + myosin) chiếm khoảng 67 - 75% tổng lượng protein có trong cơ cá được thủy phân bởi các enzym cho ra đạm hòa tan qua quá trình lên men trong nước muối. Muối với hàm lượng 20 - 30% (so với trọng lượng cá) có vai trò bảo quản trong chế biến cũng như trong thành phẩm. Tuy nhiên, muối đã có tác dụng ức chế hoạt động của một số enzym thủy phân làm kéo dài thời gian sản xuất nước mắm.

Theo Nguyễn Trọng Căn, 1980 [ 3 ], tham gia vào quá trình thủy phân protein cá là các hệ enzym metallo-proteaz, serin - proteaz, acid - proteaz có sẵn trong nội tạng cá (viscera) [ 17 ], trong cơ cá hoặc được cung cấp từ vi sinh vật trong sự lên men nước mắm cổ truyền. Các loại enzym khác như papain,

bromelain, proteaz nấm sợi cũng có khả năng thủy phân protein cá trong quá trình chế biến nước mắm [ 5, 10, 13 ].

Bromelain trích từ nước bã trái khóm chứa apo-protein có tính acid, pH thích hợp bằng 5. Sản phẩm thủy phân chính của protein tác động bởi bromelain có gốc  $-NH_2$  cuối cùng là alanin, ngoài ra còn có valin, serin và glycin [ 12 ].

Proteaz nấm sợi thủy phân protein mạnh gấp nhiều lần papain (trích từ mú trái Đu đủ - *Carica papaya* L.) nhất là trong sự thủy phân casein. Proteaz nấm sợi có khả năng cắt cầu nối  $-Tyr - Glu (NH_2)$  hoàn toàn và nhanh hơn cầu nối  $-Tyr-CySO_3H$  cho ra các peptid chứa tyrosin - [ 16 ].

Sự biến đổi của các thành phần đạm trong nước bối và cá ú theo thời gian ở phương pháp lên men nước mắm cổ truyền và theo phương pháp cải tiến được nghiên cứu theo dõi.

## II. 2. 1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu.

### a. Vật liệu:

- Mẫu vật: Nước bối và cá ú được lấy mẫu 1 - 2 tuần một lần ở Xí nghiệp Chế biến Thủy, Hải sản Cần thơ.

- Bromelain, chế phẩm proteaz nấm sợi được cung cấp bởi Viện nghiên cứu & phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần thơ. Bromelain ở dạng bột khô kết tủa với sulphat amôn 70% và trữ ở  $5^{\circ}C$ . Chế phẩm proteaz nấm sợi cũng có dạng bột khô, trữ ở nhiệt độ thường.

### b. Phương pháp nghiên cứu:

- Đạm tổng số (N g/l) của nước bối được xác định bằng phương pháp Kjeldahl.

- Đạm formol được định lượng theo phương pháp nitơ formol.

- Đạm amôn được xác định theo phương pháp cất kéo hơi nước của Bremner.

- Đạm amin được tính theo công thức:  $N. \text{amin} = N. \text{formol} - N. \text{amôn}$ .

Kết quả các lần lặp lại của các dạng đạm được phân tích thống kê và vẽ biểu đồ theo chương trình Statgraphics và Harvard graphic.

## II. 2. 2. Kết quả và thảo luận:

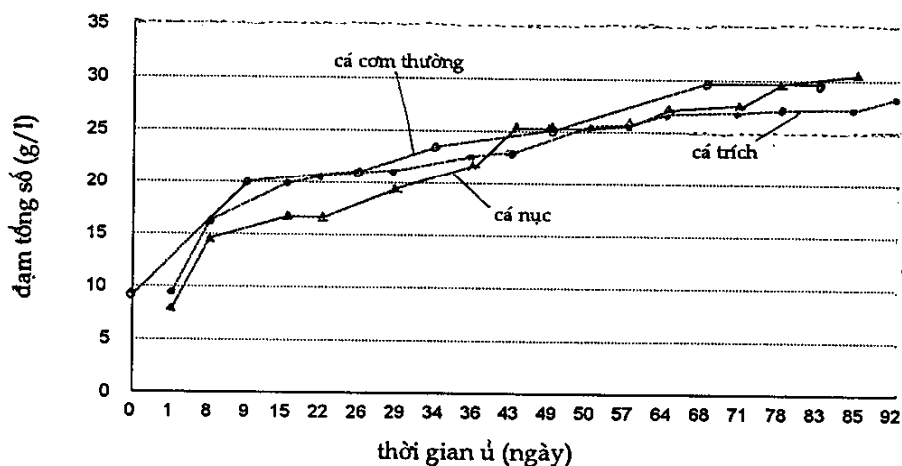
Do nguồn cá luôn biến động và trải qua một thời gian vận chuyển từ khi đánh bắt đến xí nghiệp nên hàm lượng protein thô trong cá không còn cao như lúc ban đầu:

STT	Tên cá	% đạm tổng số <sup>1</sup> / trọng lượng khô	% đạm tổng số <sup>2</sup> / trọng lượng khô
1	Nục	87,44	52,14
2	Trích xương	81,75	55,83
3	Cơm	79,5	54,28

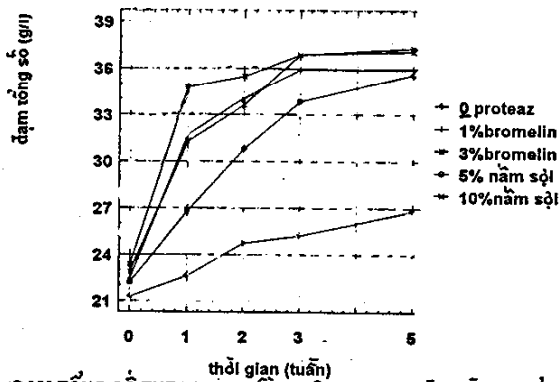
1- Lương Hữu Đồng, 1977.

2- Xí nghiệp Chế biến Thủy, Hải sản Cần thơ.

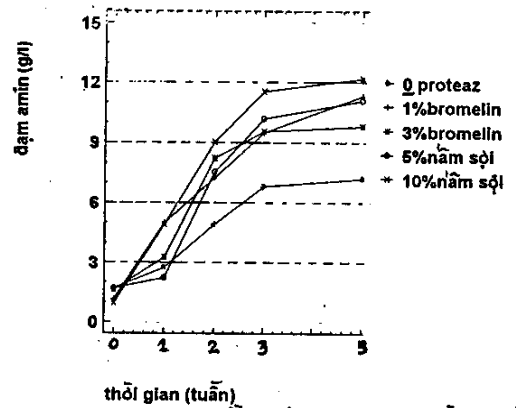
Hình 3, hình 4, hình 5 và phụ lục trang 29 - 31 cho thấy đạm tổng số, đạm amin trong nước bởi tăng nhanh theo thời gian. Khi lên men nước mắm theo phương pháp cổ truyền, muốn đạt hàm lượng đạm tổng số (>30 g/l), và đạm amin (>12g/l) tương đương với các dạng đạm này ở nước mắm thương phẩm, thì thời gian kéo dài khoảng 12 tuần (3 tháng). Lý do không phải chờ đến 6 tháng là vì ở Xí nghiệp Chế biến Thủy, Hải sản Cần thơ có áp dụng phương pháp cải tiến. Đó là việc dùng nước bởi của mẻ ủ cá trước đó đã lấy nước mắm để chạy lại mẻ ủ mới. Biện pháp này có 2 điểm lợi, thứ nhất là tận thu được lượng đạm hoà tan còn lại trong mẻ ủ cũ, thứ nhì đây cũng là một cách chủng vi khuẩn ưa muối từ mẻ ủ cũ sang mẻ ủ mới. Đó cũng là lý do giải thích tạo sao trong nước bởi của Xí nghiệp lúc khởi điểm đã có hàm lượng đạm tổng số đáng kể (8-23g/l). Trong mẻ lên men cá cơm đó có bổ sung proteaz, để đạt được hàm lượng đạm tổng số 36 - 37g/l và đạm amin 12g/l thì chỉ cần ủ đến hết tuần thứ 5 (35 ngày).



H. 3: ĐẠM TỔNG SỐ TRONG NƯỚC BỞI CÁC LOẠI CÁ THEO THỜI GIAN

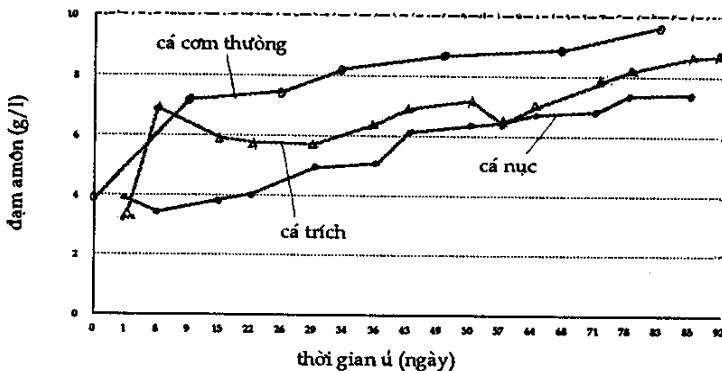


H.4: ĐẠM TỔNG SỐ THEO LOẠI, NỒNG ĐỘ PROTEAZ VÀ THỜI GIAN Ủ



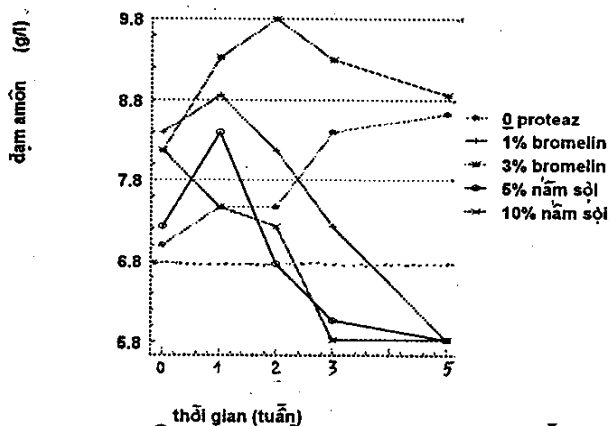
H.5: ĐẠM AMIN THEO LOẠI, NỒNG ĐỘ PROTEAZ VÀ THỜI GIAN Ủ

Riêng đạm amôn trong nước bởi lên men theo phương pháp cổ truyền thì tăng chậm, sau 12 tuần ủ (3 tháng) hàm lượng đạm amôn khá cao 7,4 - 9,6g/l (hình 7). Trong sự lên men cá cơm đỏ có bổ sung proteaz, đạm amôn tăng đến mức 8,9g/l nếu bổ sung 3% bromelain, trong khi không bổ sung proteaz là 8,6g/l sau 5 tuần ủ. Trái lại bổ sung 1% bromelain và 5 - 10% chế phẩm nấm sọt



H.6: ĐẠM AMÔN TRONG NƯỚC BỞI CÁC LOẠI CÁ THEO THỜI GIAN

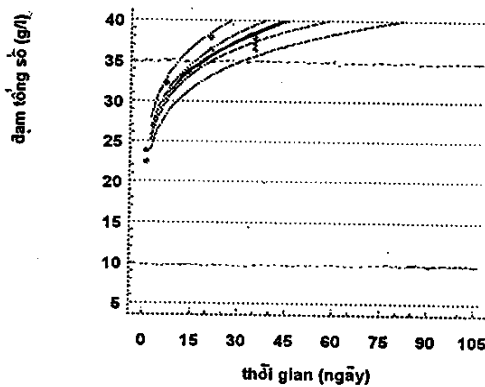
hàm lượng đạm amôn trong nước bởi lại giảm thấp tới mức 5,8g/l ở cuối tuần thứ 5, hạ được tỷ lệ đạm amôn so với đạm amin từ 54,43% xuống còn 32,26%.



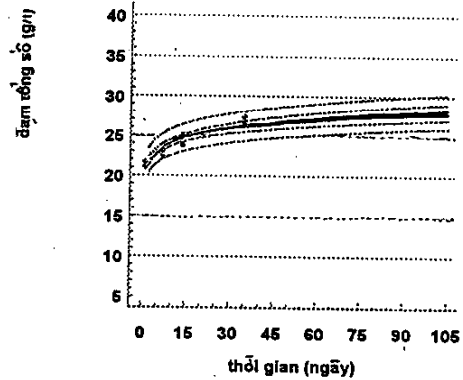
H.7: ĐẠM AMÔN THEO NỒNG ĐỘ, LOẠI PROTEAZ VÀ THỜI GIAN

Kết quả này cũng cho thấy khả năng mất đạm dưới dạng đạm amôn trong lên men nước mắm nhanh sẽ giảm và nước mắm thương phẩm sẽ có mùi dễ chấp nhận hơn, đặc biệt để xuất khẩu (ít có mùi khai và hắt). Trong khi làm mắm cá, bà con nông dân có bổ sung chất bột đường (thức và chao), ít nhiều đã giúp cho vi khuẩn lactic phát triển, tạo khả năng sử dụng đạm amôn, kết quả làm giảm đạm amôn thủy phân. Do không theo dõi mật số vi khuẩn ưa muối và vi khuẩn lactic khi bổ sung chế phẩm proteaz nấm sợi (có chất bột đường), nên ở đây chúng tôi chưa có kết luận gì về vấn đề này.

Đường tương quan (hàm mũ  $y = ax^2$ ) của các dạng đạm theo thời gian với hệ số tương quan  $R > 90\%$  cho thấy  $a$  thay đổi tùy theo mức ú do mức độ thủy phân của cá cũng như nước bối cũ có đạm hòa tan ít hay nhiều,  $b$  (còn gọi là độ dốc của đường biểu diễn hay hệ số góc) lớn nhỏ tùy theo tốc độ thủy phân nhanh hay chậm,  $a = 0,14$  ở đường tương quan của mẻ ú có bổ sung 1% bromelain hoặc 10% chế phẩm proteaz nấm sợi chứng tỏ tốc độ thủy phân nhanh hơn  $a = 0,06$  ở đường tương quan mẻ ú đối chứng (không có bổ sung proteaz) (hình 8, hình 9 và phụ lục trang 32, 34-36).



H.8: Tương quan đạm tổng số và thời gian (10% nấm sợi)  
 $Y = 3.1426X^{0.1424}$

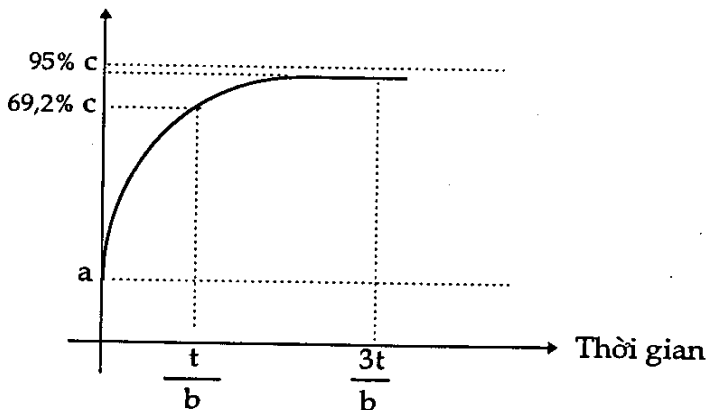


H.9: Tương quan đạm tổng số và thời gian (Q proteaz)  
 $Y = 3.0364X^{0.0641}$

Tuy nhiên, đường tương quan sẽ không còn phù hợp khi hàm lượng đạm các loại gần đạt đến mức bão hòa. Đường biểu diễn thích hợp hơn được điều chỉnh theo phương trình đề nghị như sau:

$$y = (c - a) \left(1 - e^{-\frac{t}{b}}\right) + a \quad (1)$$

hàm lượng các dạng đạm

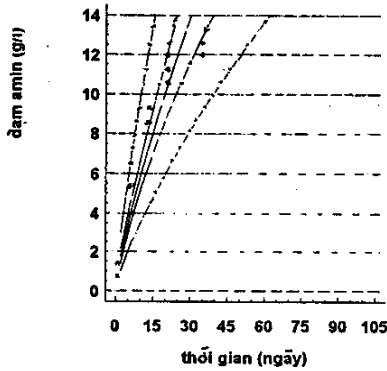


H.10: Đường tương quan theo y

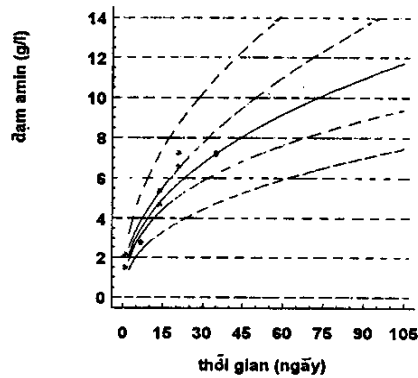
Tốc độ thủy phân protein cá thay đổi cụ thể theo từng mẻ ủ (loại cá, mức độ thủy phân của cá ủ, có hay không có bổ sung proteaz). Nếu biết a, b và c ta sẽ tính được t là thời gian thủy phân cần thiết theo phương trình (1) đối với từng mẻ ủ để chuyển qua giai đoạn kế tiếp là chượp chín để tạo hương cho nước mắm. Cụ thể, đối với từng mẻ ủ, trước hết ta chỉ cần định lượng đạm tổng

số lúc bắt đầu ủ là a, dự kiến mức c sẽ đạt được, biết b và y (đối với từng loại cá và kiểu lên men), ta suy ra thời gian cần thiết t để thủy phân là bao lâu.

Đối với đạm amin, kết quả cũng tương tự, ở mẻ ủ có bổ sung 1% bromelain và 10% chế phẩm proteaz nấm sợi, độ dốc b = 0,67 và 0,78 lớn hơn b = 0,44 ở mẻ ủ đối chứng (không có bổ sung proteaz), điều này chứng tỏ tốc độ thủy phân cho ra đạm amin nhanh và nhiều khi có bổ sung 1% bromelain hoặc 10% chế phẩm proteaz nấm sợi (hình 11, 12 và phụ lục trang 33,37,38).

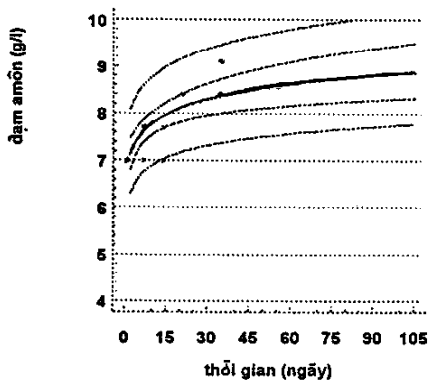


H.11: Tương quan đạm amin và thời gian (10% nấm sợi)  
 $Y = -0.0257X^{0.7806}$

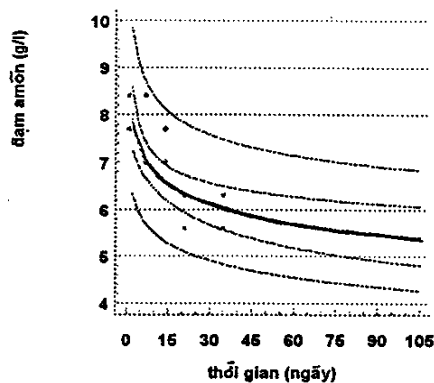


H.12: Tương quan đạm amin và thời gian (0 proteaz)  
 $Y = 0.4087X^{0.4413}$

Đặc biệt, đối với đạm amôn, đường tương quan khác biệt rõ rệt giữa đối chứng và có bổ sung 10% chế phẩm proteaz nấm sợi, r = - 80,54% và hệ số góc b = - 0,0967 ở mẫu nước bởi có bổ sung nấm sợi (tương quan nghịch), chứng tỏ hàm lượng đạm amôn giảm theo thời gian lên men; trái lại ở mẫu nước bởi không bổ sung proteaz (đối chứng), đạm amôn lại tăng theo thời gian (tương quan thuận, r = 81,16% và b = 0,0563) (hình 13, 14 và phụ lục trang 37).



H.13: Tương quan đạm amôn và thời gian (0 proteaz)  
 $Y = 1.9238X^{0.0563}$



H.14: Tương quan đạm amôn và thời gian (10% nấm sợi)  
 $Y = 2.1378X^{-0.0967}$

### III. Kết luận và đề nghị:

Căn cứ trên các kết quả thu được, chúng tôi có những đánh giá tổng quát như sau:

1. Vi khuẩn ưa muối có mật số cao trong nước bối ở tháng đầu tiên lên men cá trong nước muối theo phương pháp cổ truyền. Tuy nhiên, sau đó mật số vi khuẩn giảm dần do điều kiện môi trường không còn thích hợp như lúc ban đầu.

2. Tốc độ thủy phân protein cá ở Xí nghiệp Chế biến Thủy, Hải sản Cần thơ khá nhanh (12 tuần) nhờ dùng biện pháp chạy lại nước bối của mẻ ủ cũ cho mẻ ủ cá mới. Tốc độ thủy phân khác nhau một ít đối với từng loại cá.

3. Bổ sung 1% bromelain hoặc 10% chế phẩm proteaz nấm sợi làm tăng tốc độ thủy phân. Đạm tổng số và đạm amin trong nước bối tăng cao đạt đến mức bão hòa nhanh ( chỉ cần 5 tuần thay vì phải mất 12 tuần), và giảm đạm amôn đáng kể (22,17%).

Đề nghị nghiên cứu đưa chế phẩm proteaz nấm sợi kết hợp với bromelain vào thực tiễn sản xuất nước mắm riêng biệt đối với các loại cá khác nhau và nghiên cứu đưa vi khuẩn ưa muối, vi khuẩn lactic, nấm men ... vào chượp chín để tạo hương cho nước mắm.

---

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Bộ Giáo dục & Đào tạo, các bộ phận chức năng của Bộ và của Trường Đại học Cần thơ, đặc biệt cảm ơn Bà Nguyễn thị Phương, Giám đốc Xí nghiệp Chế biến Thủy, Hải sản Cần thơ, đã hỗ trợ và tạo điều kiện thuận lợi, giúp cho việc nghiên cứu đạt kết quả.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Việt Anh, & Nguyễn Văn Bá, 1995. Ước lượng số khả hữu (Most Probable Number) vi khuẩn ưa muối trong giai đoạn đầu lên men nước mắm theo phương pháp cổ truyền. Báo cáo tốt nghiệp Kỹ sư Công nghệ thực phẩm, Đại học Cần Thơ.
2. Boez, L. & Guillermin, J., 1930a. Le facteur microbien dans la fabrication de la saumure Indochinoise (nuoc-mam). C.R. Hebd. Séances Acad. Sci., 190: 534.
3. Nguyễn Trọng Cán, 1980. Công nghệ chế biến thực phẩm thủy sản, tập 2, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Collins, C. H. & Lyne, M., 1989. Collins and Lyne 's Microbiological Method. 6<sup>th</sup> ed.. Butterworths Co.
5. Minh Dieu Huynh, 1982. Fish sauce production through fermentation: A Method to utilize fishery waste. Fisheries Technology Division. Technical Report No 8. British Columbia Research. Canada.
6. Nguyễn Văn Đức, Lê Thanh Hùng, & Nguyễn Văn Bá, 1994. Bước đầu đánh giá tốc độ thủy phân protein cá trong lên men nước mắm cổ truyền. Báo cáo tốt nghiệp Kỹ sư Công nghệ thực phẩm, Đại học Cần Thơ.
7. Dundas, I. D., Srinivasan, V. R. & Halvorson, H. O., 1963. A chemically defined medium for *Halobacterium salinarum* strain 1. *Canadian Journal of Microbiology*, 9: 619-624.
8. Kumalaningsih, S., 1989. Accelerated method of fish sauce production from *lemuru* fish (*Sardinella* sp.). Post-harvest technology preservation and quality of fish in SouthEast Asia, Bangkok, Thailand, November 13-17, 1989: 21.
9. Lee, Cheryl-Ho, 1989. Fish fermentation technology - A review. Post-harvest technology, preservation and quality of fish in SouthEast Asia, Bangkok, Thailand, November 13-17, 1989: 1-11.

10. Trần thị Loan, Lê thanh Hùng & Nguyễn văn Bá. Sử dụng chế phẩm proteaz nấm sợi *Aspergillus oryzae* để làm tăng tốc độ thủy phân protein cá trong lên men nước mắm nhanh (chưa báo cáo).
11. Mabesa, R. C., Carpio, E. V. & Mabesa, L. B., 1989. An accelerated process for fish sauce (*Patis*) production. Post-harvest technology, preservation and quality of fish in SouthEast Asia, Bangkok, Thailand, November 13-17, 1989: 45-49.
12. Mettrione, R. M., Neves, A. G. & Fruton, J. S., 1966. *Biochemistry* 5 : 1597.
13. Raa, J., 1984. The use of enzymes in processing of marine food products. Proc. of a Symp. held in conjunction with the Sixth Session of the Indo-Pacific Fishery Commission. Australia, October 23-26, 1984.
14. Rose, E., 1918. Recherche sur la fabrication et la composition chimique du nuoc-mam. *Bull. Econ. Indochine*, 129: 155.
15. Subasinghe, S., Mohideen, M. S. & Vidanapathirana, S., 1989. Microbiological and Biochemical changes in *Amblygaster sirm* during high - salt fermentation. Post-harvest technology, preservation and quality of fish in SouthEast Asia, Bangkok, Thailand. November 13-17, 1989: 29-33.
16. Thompson, E. O P., 1990. The selective degradation of proteins. In: "Advances in organic chemistry: Methods and Results ". Raphael, R. A., Taylor, E. C. & Wynberg, H. eds. InterScience Publishers.
17. Thongthai, C. Panbangred, W. Khoprasert, C. & Dhaveetianond, S., 1989. Protease activities in the traditional process of fish sauce fermentation. Post-harvest technology, preservation and quality of fish in SouthEast Asia, Bangkok, Thailand, November 13-17, 1989: 61-65.
18. Thongthai, C. & Siriwongpairat, M., 1989. The Sequential quantitation of microorganisms in traditionally fermented fish sauce (*Nam - pla*). Post-harvest technology, preservation and quality of fish in SouthEast Asia, Bangkok, Thailand, November 13-17, 1989: 51-59.

19. Đái thị Xuân Trang, Nguyễn văn Thành & Nguyễn văn Bá. Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy *Aspergillus oryzae* để sản xuất chế phẩm proteaz nấm sợi (*chưa báo cáo*).
20. Tyn, M. T., 1989. Traditional and modified methods of fish sauce production in Myanmar. Post-harvest technology, preservation and quality of fish in SouthEast Asia, Bangkok, Thailand, November 13-17, 1989: 15-19.
21. Phạm văn Vinh, 1989. Nghề mắm gia truyền và chế biến một số hải sản, Nxb Tổng hợp Phú Khánh.
22. Lê ngọc Vũ & Nguyễn văn Bá, 1994. Mật số vi khuẩn ưa muối ở giai đoạn đầu lên men nước mắm cổ truyền. Báo cáo tốt nghiệp Kỹ sư Công nghệ thực phẩm, Đại học Cần thơ.

FILE: VU

01/22/96

03:18:46 PM

Row	MAU	NGAYU	VIKHUAN
1	RUOT	3.	5.1335
2	RUOT	3.	5.0792
3	RUOT	3.	5.1072
4	RUOT	10.	4.0792
5	RUOT	10.	4.6021
6	RUOT	10.	5.6021
7	RUOT	33.	4.8062
8	RUOT	33.	4.8062
9	RUOT	33.	8.6021
10	RUOT	66.	4.0792
11	RUOT	66.	4.6021
12	RUOT	66.	4.0792
13	BOI	3.	4.3010
14	BOI	3.	4.6021
15	BOI	3.	4.3010
16	BOI	10.	5.9619
17	BOI	10.	5.9823
18	BOI	10.	6.3010
19	BOI	66.	4.0792
20	BOI	66.	4.8062
21	BOI	66.	4.0792
22	BOI	72.	3.6021
23	BOI	72.	3.2000
24	BOI	72.	3.6021

Row	MAU	NGAYU	VIKHUAN
1	RUOTNUC	1.	6.07482
2	RUOTNUC	1.	6.14620
3	RUOTNUC	8.	6.80890
4	RUOTNUC	8.	6.63950
5	RUOTNUC	15.	7.02750
6	RUOTNUC	15.	6.66280
7	RUOTNUC	22.	6.80890
8	RUOTNUC	22.	7.07770
9	RUOTNUC	29.	6.30100
10	RUOTNUC	29.	6.07920
11	RUOTNUC	36.	6.50510
12	RUOTNUC	36.	5.90310
13	RUOTNUC	43.	5.77820
14	RUOTNUC	43.	6.30100
15	RUOTTRICH	1.	6.99120
16	RUOTTRICH	1.	6.00000
17	RUOTTRICH	8.	6.90310
18	RUOTTRICH	8.	6.80620
19	RUOTTRICH	15.	6.91650
20	RUOTTRICH	15.	6.56820
21	RUOTTRICH	22.	6.80620
22	RUOTTRICH	22.	6.61350
23	RUOTTRICH	29.	5.80620
24	RUOTTRICH	29.	5.77820
25	RUOTTRICH	36.	5.14620
26	RUOTTRICH	36.	5.60210
27	RUOTTRICH	43.	5.07920
28	RUOTTRICH	43.	5.14620
29	BOINUC	1.	7.29670
30	BOINUC	1.	7.08630
31	BOINUC	8.	7.30100
32	BOINUC	8.	7.20410
33	BOINUC	15.	6.30100
34	BOINUC	15.	6.30820
35	BOINUC	22.	6.44090
36	BOINUC	22.	6.45330
37	BOINUC	29.	6.54410
38	BOINUC	29.	6.17610
39	BOINUC	36.	6.38020
40	BOINUC	36.	6.00000
41	BOINUC	43.	6.36170
42	BOINUC	43.	5.47710
43	BOITRICH	1.	6.00000
44	BOITRICH	1.	6.34240
45	BOITRICH	8.	6.39790
46	BOITRICH	8.	6.46240
47	BOITRICH	15.	6.25530
48	BOITRICH	15.	6.47710
49	BOITRICH	22.	5.69550
50	BOITRICH	22.	5.70240
51	BOITRICH	29.	5.57520
52	BOITRICH	29.	5.84760
53	BOITRICH	36.	5.81950
54	BOITRICH	36.	5.30100
55	BOITRICH	43.	5.50510
56	BOITRICH	43.	6.00000

Analysis of Variance for VU.VIKHUAN - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. lev
MAIN EFFECTS					
A:VU.MAU	.233495	1	.2334950	.286	.6052
B:VU.NGAYU	12.927275	4	3.2318188	3.953	.0179
RESIDUAL	14.715646	18	.8175359		
TOTAL (CORRECTED)	29.025417	23			

0 missing values have been excluded.  
 All F-ratios are based on the residual mean square error.

CV=18,84%

Table of Least Squares Means for VU.VIKHUAN

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
GRAND MEAN	24	4.8005033	.1953245	4.3900413	5.21096
A:VU.MAU					
RUOT	12	4.6866089	.2890853	4.0791145	5.29410
BOI	12	4.9143978	.2890853	4.3069034	5.52189
B:VU.NGAYU					
3	6	4.7540000	.3691287	3.9782996	5.52970
10	6	5.4214333	.3691287	4.6457330	6.19713
33	3	6.1853944	.5638534	5.0004926	7.37029
66	6	4.2875167	.3691287	3.5118163	5.06321
72	3	3.3541722	.5638534	2.1692703	4.53907

Multiple range analysis for VU.VIKHUAN by VU.MAU

Method: 95 Percent Duncan					
Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups		
RUOT	12	4.6866089	X		
BOI	12	4.9143978	X		
contrast			difference		
RUOT - BOI			-0.22779		

\* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for VU.VIKHUAN by VU.NGAYU

Method: 95 Percent Duncan

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
72	3	3.3541722	X
66	6	4.2875167	XX
3	6	4.7540000	X
10	6	5.4214333	XX
33	3	6.1853944	X

contrast	difference
3 - 10	-0.66743
3 - 33	-1.43139 *
3 - 66	0.46648
3 - 72	1.39983 *
10 - 33	-0.76396
10 - 66	1.13392
10 - 72	2.06726 *
33 - 66	1.89788 *

\* denotes a statistically significant difference.

Analysis of Variance for ANH.VIKUAN - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. lev
<b>MAIN EFFECTS</b>					
A:ANH.MAU	2.8580525	3	.9526842	12.817	.0000
B:ANH.NGAYU	8.3315335	6	1.3885889	18.682	.0000
<b>INTERACTIONS</b>					
AB	4.2061061	18	.2336726	3.144	.0032
RESIDUAL	2.0811843	28	.0743280		
TOTAL (CORRECTED)	17.476876	55			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

CV=4,35%

Table of Least Squares Means for ANH.VIKUAN

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
GRAND MEAN	56	6.2676611	.0364319	6.1930161	6.34230
A:ANH.MAU					
RUOTNUC	14	6.4367086	.0728639	6.2874185	6.58599
RUOTTRICH	14	6.1545000	.0728639	6.0052100	6.30379
BOINUC	14	6.5236214	.0728639	6.3743314	6.67291
BOITRICH	14	5.9558143	.0728639	5.8065243	6.10510

B:ANH.NGAYU

1	8	6.4922025	.0963898	6.2947104	6.68969
8	8	6.8153875	.0963898	6.6178954	7.01287
15	8	6.5645750	.0963898	6.3670829	6.76206
22	8	6.4498000	.0963898	6.2523079	6.64729
29	8	6.0134500	.0963898	5.8159579	6.21094
36	8	5.8321500	.0963898	5.6346579	6.02964
43	8	5.7060625	.0963898	5.5085704	5.90355

Table of Least Squares Means for ANH.VIKUAN

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
RUOTNUC 1	2	6.1105100	.1927797	5.7155257	6.50549
RUOTNUC 8	2	6.7242000	.1927797	6.3292157	7.11918
RUOTNUC 15	2	6.8451500	.1927797	6.4501657	7.24013
RUOTNUC 22	2	6.9433000	.1927797	6.5483157	7.33828
RUOTNUC 29	2	6.1901000	.1927797	5.7951157	6.58508
RUOTNUC 36	2	6.2041000	.1927797	5.8091157	6.59908
RUOTNUC 43	2	6.0396000	.1927797	5.6446157	6.43458
RUOTTRICH 1	2	6.4956000	.1927797	6.1006157	6.89058
RUOTTRICH 8	2	6.8546500	.1927797	6.4596657	7.24963
RUOTTRICH 15	2	6.7423500	.1927797	6.3473657	7.13733
RUOTTRICH 22	2	6.7098500	.1927797	6.3148657	7.10483
RUOTTRICH 29	2	5.7922000	.1927797	5.3972157	6.18718
RUOTTRICH 36	2	5.3741500	.1927797	4.9791657	5.76913
RUOTTRICH 43	2	5.1127000	.1927797	4.7177157	5.50768
BOINUC 1	2	7.1915000	.1927797	6.7965157	7.58648

Table of Least Squares Means for ANH.VIKUAN

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
BOINUC 8	2	7.2525500	.1927797	6.8575657	7.64753
BOINUC 15	2	6.3046000	.1927797	5.9096157	6.69958
BOINUC 22	2	6.4471000	.1927797	6.0521157	6.84208
BOINUC 29	2	6.3601000	.1927797	5.9651157	6.75508
BOINUC 36	2	6.1901000	.1927797	5.7951157	6.58508
BOINUC 43	2	5.9194000	.1927797	5.5244157	6.31438
BOITRICH 1	2	6.1712000	.1927797	5.7762157	6.56618
BOITRICH 8	2	6.4301500	.1927797	6.0351657	6.82513
BOITRICH 15	2	6.3662000	.1927797	5.9712157	6.76118
BOITRICH 22	2	5.6989500	.1927797	5.3039657	6.09393
BOITRICH 29	2	5.7114000	.1927797	5.3164157	6.10638
BOITRICH 36	2	5.5602500	.1927797	5.1652657	5.95523
BOITRICH 43	2	5.7525500	.1927797	5.3575657	6.14753

Multiple range analysis for ANH.VIKUAN by ANH.MAU

Method: 95 Percent Duncan  
 Level Count LS Mean Homogeneous Groups

BOITRICH	14	5.9558143	X
RUOTTRIC	14	6.1545000	X
RUOTNUC	14	6.4367086	X
BOINUC	14	6.5236214	X

Contrast		difference
RUOTNUC - RUOTTRICH		0.28221 *
RUOTNUC - BOINUC		-0.08691
RUOTNUC - BOITRICH		0.48089 *
RUOTTRICH - BOINUC		-0.36912 *
RUOTTRICH - BOITRICH		0.19869
BOINUC - BOITRICH		0.56781 *

\* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for ANH.VIKUAN by ANH.NGAYU

Method: 95 Percent Duncan

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
43	8	5.7060625	X
36	8	5.8321500	XX
29	8	6.0134500	X
22	8	6.4498000	X
1	8	6.4922025	X
15	8	6.5645750	XX
8	8	6.8153875	X

Contrast		difference
1 - 8		-0.32319 *
1 - 15		-0.07237
1 - 22		0.04240
1 - 29		0.47875 *
1 - 36		0.66005 *
1 - 43		0.78614 *

\* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for ANH.VIKUAN by ANH.MAU

Method: 95 Percent Duncan

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
BOITRICH	14	5.9558143	X
RUOTTRIC	14	6.1545000	X
RUOTNUC	14	6.4367086	X
BOINUC	14	6.5236214	X

Contrast		difference
RUOTNUC - RUOTTRICH		0.28221 *
RUOTNUC - BOINUC		-0.08691
RUOTNUC - BOITRICH		0.48089 *
RUOTTRICH - BOINUC		-0.36912 *
RUOTTRICH - BOITRICH		0.19869
BOINUC - BOITRICH		0.56781 *

\* denotes a statistically significant difference.

FILE: DUCCA

12/21/95

09:10:41 AM

Row	botca	nts	namon	namin
1	15.	86.85	3.66	18.34
2	15.	86.80	3.67	18.29
3	15.	87.12	3.65	18.26
4	49.	79.61	6.69	16.39
5	49.	78.34	6.04	17.04
6	49.	80.03	6.28	16.80
7	64.	68.52	8.46	9.44
8	64.	67.22	8.46	10.25
9	64.	66.36	8.46	9.78
10	83.	65.87	8.48	7.30
11	83.	67.06	10.06	5.09
12	83.	66.66	8.09	7.53
13	98.	61.41	7.72	4.69
14	98.	62.54	8.48	4.08
15	98.	63.29	8.85	3.56

FILE: DUC

12/21/95

09:08:28 AM

Row	boi	NTOTAL	NAMIN	NAMON
1	15.	9.26	0.82	3.98
2	15.	9.09	0.80	4.14
3	15.	9.26	2.00	3.49
4	24.	20.30	2.82	7.06
5	24.	19.98	2.65	7.23
6	24.	19.81	2.65	7.23
7	41.	20.91	5.67	7.50
8	41.	21.07	5.75	7.42
9	41.	21.39	5.67	7.50
10	49.	23.51	6.20	8.29
11	49.	23.35	6.66	7.97
12	49.	23.83	6.18	8.45
13	64.	24.97	8.10	8.14
14	64.	25.13	7.59	9.07
15	64.	25.28	7.34	8.76
16	83.	29.41	10.69	8.63
17	83.	29.91	10.13	8.91
18	83.	29.69	10.34	9.12
19	98.	28.98	10.35	9.54
20	98.	30.40	10.47	9.83
21	98.	29.69	11.04	9.54

FILE: NAMINNM

12/17/95

02:21:51 AM

Row	TGIAN	comthuong	trich	nuc
1	0.	1.21		
2	1.		1.03	0.68
3	8.		6.99	4.91
4	9.	2.71		
5	15.		8.11	5.69
6	22.		8.66	6.39
7	26.	5.70		
8	29.		8.97	9.52
9	34.	6.35		
10	36.		11.17	9.59
11	43.		10.19	10.96
12	49.	7.68		
13	50.		10.40	11.34
14	57.		12.04	11.83
15	64.		12.04	11.83
16	68.	10.39		
17	71.		12.07	11.99
18	78.		12.51	12.54
19	83.	10.62		
20	85.		12.52	13.02
21	92.		12.83	

FILE: NTOTALNM

12/17/95

02:23:52 AM

Row	tgian	comthuong	trich	nuc
1	0.	9.20		
2	1.		9.34	7.80
3	8.		16.24	14.55
4	9.	20.03		
5	15.		19.85	16.67
6	22.		20.65	16.66
7	26.	21.12		
8	29.		21.25	19.52
9	34.	23.56		
10	36.		22.65	21.77
11	43.		23.07	25.27
12	49.	25.13		
13	50.		25.59	25.31
14	57.		25.70	25.55
15	64.		26.74	27.09
16	68.	29.67		
17	71.		26.95	27.65
18	78.		27.16	29.65
19	83.	29.69		
20	85.		27.34	30.49
21	92.		28.39	

FILE: MANH

12/21/95

10:21:46 AM

Row	nt	trichN	trichAmon	trichForm	trichAmin	trichnmN
1	1.	89.70	3.07	13.37	10.30	9.44
2	1.	88.94	3.07	13.62	10.25	9.24
3	8.	84.61	3.36	19.27	15.91	15.19
4	8.	83.85	3.22	18.91	15.69	17.29
5	15.	81.65	4.01	20.00	15.99	20.30
6	15.	81.65	4.01	19.63	15.62	19.39
7	22.	81.63	4.09	19.12	15.03	20.65
8	22.	81.63	4.24	18.88	14.64	20.65
9	29.	78.65	7.99	21.35	16.36	20.79
10	29.	79.03	5.06	22.41	17.35	21.70
11	36.	74.70	3.26	21.03	17.77	23.10
12	36.	75.07	3.33	21.63	17.30	22.19
13	43.	71.83	3.18	24.00	20.82	22.54
14	43.	74.09	3.42	23.85	20.43	23.59
15	50.	73.93	5.00	23.97	18.34	25.83
16	50.	72.57	4.43	23.67	19.24	25.34
17	57.	68.10	5.55	23.89	18.34	25.76
18	57.	67.34	6.13	23.82	17.34	25.63
19	64.	71.39	6.53	26.81	20.28	26.60
20	64.	72.53	6.48	26.88	20.40	26.88
21	71.	71.35	6.14	26.54	20.40	27.58
22	71.	72.12	6.09	26.84	20.75	26.32
23	78.	70.87	6.13	27.13	21.00	27.44
24	78.	70.12	6.09	27.44	21.35	26.88
25	85.	69.65	6.25	28.65	22.40	27.44
26	85.	70.03	6.40	28.49	22.09	27.23
27	92.	69.53	6.71	29.24	22.53	28.63
28	92.	68.79	6.56	29.84	23.28	28.14

FILE: NH3NM

12/17/95

02:22:45 AM

Row	tgian	comthuong	trich	nuc
1	0.	3.87		
2	1.		3.22	3.89
3	8.		6.91	3.43
4	9.	7.17		
5	15.		5.92	3.85
6	22.		5.78	4.04
7	26.	7.47		
8	29.		5.71	4.94
9	34.	8.24		
10	36.		6.40	5.08
11	43.		6.90	6.13
12	49.	8.66		
13	50.		7.18	6.35
14	57.		6.44	6.44
15	64.		6.95	6.72
16	68.	8.89		
17	71.		7.74	6.83
18	78.		8.16	7.35
19	83.	9.64		
20	85.		8.62	7.42
21	92.		8.67	

FILE: MANH

12/21/95

10:21:46 AM

Row	trichnmAmo	trichnmFor	trichnmAmi	nucN	nucAmon	nucFormal
1	3.22	4.18	0.96	83.42	4.68	12.68
2	3.22	4.32	1.10	83.42	4.45	12.54
3	6.44	13.85	7.41	79.74	3.15	14.56
4	7.37	13.85	6.57	79.77	3.37	14.49
5	5.95	14.40	8.45	79.55	3.27	15.45
6	5.88	13.65	7.77	78.81	3.64	15.30
7	5.74	14.40	8.66	74.70	3.55	17.09
8	5.81	14.47	8.66	75.07	3.63	17.09
9	5.67	14.68	9.01	73.15	3.57	19.51
10	5.75	14.68	8.93	68.06	3.78	19.36
11	6.36	17.29	10.99	69.95	4.96	19.71
12	6.44	17.78	11.34	71.19	5.11	19.92
13	6.86	17.08	10.22	70.55	4.36	22.40
14	6.93	17.08	10.15	73.17	4.28	21.80
15	7.21	17.64	10.43	68.38	7.48	24.42
16	7.14	17.50	10.36	70.67	7.49	24.16
17	6.44	18.48	12.04	68.78	5.58	24.54
18	6.44	18.48	12.04	67.67	5.50	24.09
19	6.34	18.90	12.60	67.94	5.67	25.67
20	7.56	19.04	11.48	68.10	5.63	25.67
21	7.84	20.02	12.18	68.39	5.71	24.68
22	7.64	19.60	11.96	69.14	5.27	24.67
23	8.33	20.58	12.25	68.89	5.87	26.20
24	7.98	20.44	12.76	68.52	5.93	25.60
25	8.68	20.72	12.04	68.24	6.06	26.92
26	8.56	21.56	13.00	68.98	5.92	26.63
27	8.58	21.28	12.70			
28	8.75	21.70	12.95			

FILE: MANH

12/21/95

10:21:46 AM

Row	nucAmin	nucmN	nucmAmom	nucmForm	nucmAmom	ngay
1	8.00	7.70	3.85	4.53	0.68	2.
2	8.09	7.90	3.92	4.60	0.68	2.
3	11.41	14.14	3.50	8.30	4.80	9.
4	11.12	14.96	3.36	8.37	5.01	9.
5	12.18	16.38	3.78	10.02	6.24	16.
6	11.66	16.95	3.92	9.06	5.14	16.
7	13.54	16.66	4.06	10.02	5.96	23.
8	13.46	16.65	4.02	10.84	6.82	23.
9	15.94	18.90	4.90	14.42	9.52	30.
10	13.28	20.14	4.97	14.49	9.52	30.
11	14.75	22.96	5.11	14.63	9.52	37.
12	14.81	20.58	5.04	14.70	9.66	37.
13	18.04	25.48	6.02	16.80	10.78	44.
14	16.52	25.06	6.23	17.36	11.13	44.
15	16.94	25.48	6.44	17.92	11.28	51.
16	16.67	25.13	6.25	17.64	11.39	51.
17	18.96	25.62	6.58	18.34	11.76	58.
18	18.59	25.48	6.30	18.20	11.90	58.
19	20.00	26.88	6.86	18.76	11.90	65.
20	20.04	27.30	6.58	18.34	11.76	65.
21	18.97	27.86	6.86	19.04	12.14	72.
22	19.40	27.44	6.79	18.62	11.83	72.
23	20.33	30.24	7.28	20.03	13.02	79.
24	19.67	29.05	7.42	19.74	12.05	79.
25	20.86	30.59	7.56	20.72	13.16	86.
26	20.71	30.38	7.28	20.16	12.88	86.

FILE: LOAN2

12/22/95

01:40:07 PM

Row	NT	THOIGIAN	CONTROL	CTHO	MOTBROM	BABROM
1	1.	0.	21.23			
2	2.	1.	22.63		22.40	23.33
3	3.	2.	24.73		31.73	34.77
4	4.	3.	25.20		34.07	35.47
5	5.	5.	26.83	36.4	35.93	36.87
					35.93	37.33

FILE: LOAN2

12/22/95

01:40:07 PM

Row	NAMNSOI	MUOINSOI	CTHO35	TGIAN1	CONTROL1	MOTBROM1
1	22.17	22.87		4.	21.0	22.4
2	26.83	31.27		4.	21.0	22.4
3	30.80	33.60		4.	21.7	22.4
4	33.83	36.87		5.	22.4	32.2
5	35.60	37.10	25.66	5.	22.4	32.2
6				5.	23.1	30.8
7				6.	23.8	33.6
8				6.	25.2	34.3
9				6.	25.2	34.3
10				7.	25.2	35.0
11				7.	25.2	36.4
12				7.	25.2	36.4
13				9.	26.6	36.4
14				9.	26.6	36.4
15				9.	27.3	35.0

FILE: LOAN2

12/22/95

01:40:07 PM

Row	BABROM1	NAMNSOI1	MUOINSOI1	ngay
1	23.8	22.4	23.8	1.
2	23.8	22.4	22.4	1.
3	22.4	21.7	22.4	1.
4	35.0	26.6	30.8	7.
5	35.0	26.6	30.8	7.
6	34.3	27.3	32.2	7.
7	36.4	30.8	33.6	14.
8	35.0	30.8	33.6	14.
9	35.0	30.8	33.6	14.
10	36.4	33.6	36.4	21.
11	36.4	33.6	36.4	21.
12	37.8	34.3	37.8	21.
13	36.4	35.0	37.1	35.
14	37.8	35.0	36.4	35.
15	37.8	35.0	37.8	35.

FILE: LOANAMIN

12/22/95

01:43:08 PM

Row	TGIAN	CONTROL	MOTBROM2	BABROM2	NAMNSOI2	MUOINSOI2
1	4.	1.463	0.714	1.364	1.463	0.714
2	4.	1.463	1.364	1.364	1.463	0.714
3	4.	2.114	1.364	2.065	2.114	1.364
4	5.	2.716	5.217	3.268	2.016	3.968
5	5.	2.716	4.517	3.268	2.016	5.368
6	5.	2.716	5.222	3.220	2.567	5.368
7	6.	4.668	7.224	7.777	7.322	9.275
8	6.	4.668	7.224	7.777	7.322	9.275
9	6.	5.368	7.273	9.076	7.973	8.575
10	7.	6.573	9.275	7.779	9.975	11.977
11	7.	6.573	9.275	9.779	9.975	11.977
12	7.	7.224	9.926	11.081	10.634	10.626
13	9.	7.224	10.675	9.128	9.975	11.977
14	9.	7.224	11.977	9.779	11.326	11.977
15	9.	7.175	11.277	10.479	11.977	12.579

FILE: LOANAMIN

12/22/95

01:43:08 PM

Row	TGIAN1	CONTROL1	MOTBROM1	BABROM1	NAMNSOI1	MUOINSOI1
1	4.	1.68	1.15	1.60	1.68	0.93
2	5.	2.72	4.99	3.25	2.20	4.90
3	6.	4.90	7.24	8.21	7.54	9.04
4	7.	6.79	9.49	9.55	10.19	11.53
5	9.	7.21	11.31	9.80	11.09	12.18

FILE: LOANNNH3

12/22/95

01:44:14 PM

Row	thoigian	control	motbrom	babrom	namnsoi	muoinsoi
1	4.	7.00	8.40	8.17	7.23	8.17
2	5.	7.47	8.87	9.33	8.40	7.47
3	6.	7.47	8.17	9.80	6.77	7.23
4	7.	8.40	7.23	9.30	6.07	5.83
5	9.	8.63	5.83	8.87	5.83	5.83

FILE: LOANNNH3

12/22/95

01:44:14 PM

Row	thoigian1	control1	motbrom1	babrom1	namnsoi1	muoinsoi1
1	4.	7.0	8.4	8.4	7.7	8.4
2	4.	7.0	8.4	8.4	7.0	8.4
3	4.	7.0	8.4	7.7	7.0	7.7
4	5.	7.7	8.4	9.1	8.4	8.4
5	5.	7.7	9.1	9.1	8.4	7.0
6	5.	7.0	9.1	9.8	8.4	7.0
7	6.	7.7	8.4	9.8	7.0	7.0
8	6.	7.7	8.4	9.8	7.0	7.0
9	6.	7.0	7.7	9.8	6.3	7.7
10	7.	8.4	7.0	9.8	6.3	5.6
11	7.	8.4	7.0	9.1	6.3	5.6
12	7.	8.4	7.7	9.1	5.6	6.3
13	9.	8.4	5.6	9.1	6.3	5.6
14	9.	8.4	5.6	9.1	5.6	5.6
15	9.	9.1	6.3	8.4	5.6	6.3

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOAN2.CONTROL1 Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	3.03642	0.0164255	184.86	.00000
Slope	0.0640949	6.42674E-3	9.97316	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.094167	1	.094167	99.46398	.00000
Residual	.012308	13	.000947		

Total (Corr.) .106475 14  
 Correlation Coefficient = 0.940429 R-squared = 88.44 percent  
 Std. Error of Est. = 0.0307693

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOAN2.CONTROL1 Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	3.03642	0.0164255	184.86	.00000
Slope	0.0640949	6.42674E-3	9.97316	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.094167	1	.094167	99.46398	.00000
Residual	.012308	13	.000947		
Lack-of-fit	.0083318	3	.0027773	6.985237	.00814
Pure error	.0039759	10	.0003976		

Total (Corr.) .106475 14  
 Correlation Coefficient = 0.940429 R-squared = 88.44 percent  
 Std. Error of Est. = 0.0307693

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOAN2.MOTBROM1 Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	3.13776	0.0228089	137.568	.00000
Slope	0.140251	8.92432E-3	15.7156	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.45088	1	.45088	246.9790	.00000
Residual	.023733	13	.001826		

Std. Error of Est. = 0.059883

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOAN2.NAMNSOI1

Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	3.07968	0.0173475	177.529	.00000
Slope	0.133567	6.78747E-3	19.6785	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.40893	1	.40893	387.2423	.00000
Residual	.013728	13	.001056		

Total (Corr.) .422661 14

Correlation Coefficient = 0.983626

R-squared = 96.75 percent

Std. Error of Est. = 0.0324964

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOAN2.NAMNSOI1

Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	3.07968	0.0173475	177.529	.00000
Slope	0.133567	6.78747E-3	19.6785	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.40893	1	.40893	387.2423	.00000
Residual	.013728	13	.001056		
Lack-of-fit	.012323	3	.004108	29.23091	.00003
Pure error	.0014052	10	.0001405		

Total (Corr.) .422661 14

Correlation Coefficient = 0.983626

R-squared = 96.75 percent

Std. Error of Est. = 0.0324964

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOAN2.MUOINSOI1

Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	3.14279	0.0176333	178.23	.00000
Slope	0.142409	6.89931E-3	20.641	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.46487	1	.46487	426.0511	.00000
Residual	.014184	13	.001091		

Std. Error of Est. = 0.0330318

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOAN2.MUOINSOI1

Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	3.14279	0.0176333	178.23	.00000
Slope	0.142409	6.89931E-3	20.641	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.46487	1	.46487	426.0511	.00000
Residual	.014184	13	.001091		
Lack-of-fit	.0087551	3	.0029184	5.375209	.01834
Pure error	.0054293	10	.0005429		

Total (Corr.) .479050 14

Correlation Coefficient = 0.985084

R-squared = 97.04 percent

Std. Error of Est. = 0.0330318

Regression Analy{i{(-{M}1|ixlikative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOANAMIN.CONTROL

Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	0.408678	0.0972619	4.20183	.00104
Slope	0.441298	0.0380552	11.5963	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	4.46394	1	4.46394	134.4733	.00000
Residual	.431545	13	.033196		
Lack-of-fit	.3222244	3	.1074081	9.825101	.00251
Pure error	.1093201	10	.0109320		
Total (Corr.)	4.895486	14			

Correlation Coefficient = 0.954908      R-squared = 91.18 percent  
 Stnd. Error of Est. = 0.182197

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOANAMIN.MOTBROM2

Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	0.168468	0.0970594	1.73572	.10624
Slope	0.671506	0.037976	17.6824	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	10.33602	1	10.33602	312.6668	.00000
Residual	.429749	13	.033058		
Lack-of-fit	.1267668	3	.0422556	1.394656	.30083
Pure error	.3029823	10	.0302982		
Total (Corr.)	10.765769	14			

Correlation Coefficient = 0.979838      R-squared = 96.01 percent  
 Stnd. Error of Est. = 0.181818

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOANAMIN.BABROM2

Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	0.387004	0.128047	3.02236	.00981
Slope	0.565184	0.0501004	11.281	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Residual	.747962	13	.057536		
Lack-of-fit	.5433438	3	.1811146	8.851354	.00364
Pure error	.2046180	10	.0204618		
Total (Corr.)	8.070029	14			

Correlation Coefficient = 0.952531      R-squared = 90.73 percent  
 Stnd. Error of Est. = 0.239866

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOANAMIN.NAMNSOI2                      Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	0.287714	0.200768	1.43306	.17545
Slope	0.589222	0.0785537	7.50087	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	7.958127	1	7.958127	56.26312	.00000
Residual	1.838783	13	.141445		
Lack-of-fit	1.684398	3	.561466	36.36789	.00001
Pure error	.1543851	10	.0154385		

Total (Corr.)                      9.796910                      14  
 Correlation Coefficient = 0.901282                      R-squared = 81.23 percent  
 Stnd. Error of Est. = 0.376091

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOANAMIN.MUOINSOI2                      Independent variable: LOAN2.ng

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	-0.0256985	0.12406	-0.207146	.83911
Slope	0.780584	0.0485403	16.0811	.00000

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	13.96666	1	13.96666	258.6033	.00000
Residual	.702105	13	.054008		
Lack-of-fit	.3466400	3	.1155467	3.250579	.06834
Pure error	.3554648	10	.0355465		

Total (Corr.)                      14.668768                      14  
 Correlation Coefficient = 0.975775                      R-squared = 95.21 percent  
 Stnd. Error of Est. = 0.232396

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOANNNH3.controll Independent variable: LOANNNH3.thoigia

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	1.92375	0.0287051	67.0176	.00000
Slope	0.056256	0.0112313	5.00885	.00024

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.072542	1	.072542	25.08858	.00024
Residual	.037589	13	.002891		

Total (Corr.) .110131 14  
 Correlation Coefficient = 0.811597 R-squared = 65.87 percent  
 Stnd. Error of Est. = 0.0537722

Regression Analysis - Multiplicative model:  $Y = aX^b$

Dependent variable: LOANNNH3.muoinsoil Independent variable: LOANNNH3.thoigia

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept*	2.13783	0.0504345	42.3882	.00000
Slope	-0.0966933	0.0197333	-4.90001	.00029

\* NOTE: The Intercept is equal to Log a.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	Prob. Level
Model	.214312	1	.214312	24.01009	.00029
Residual	.116037	13	.008926		

Total (Corr.) .330349 14  
 Correlation Coefficient = -0.805447 R-squared = 64.87 percent  
 Stnd. Error of Est. = 0.0944771