

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN KHẢ NĂNG THỦY PHÂN KHÔ DẦU LẠC TRONG SẢN XUẤT NƯỚC TƯƠNG BỞI CHẾ PHẨM HỖN HỢP *ASPERGILLUS ORYZAE* KZ3 VÀ *ASPERGILLUS AWAMORI* HK1

Nguyễn Hiền Trang, Dương Thị Hương
Trường Đại học Nông lâm, Đại học Huế

Liên hệ email: nguyenhientrang@huaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng như tỷ lệ chế phẩm hỗn hợp nấm mốc, thời gian, nhiệt độ và pH đến khả năng thủy phân khô dầu lạc của chế phẩm hỗn hợp nấm mốc *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 và đánh giá chất lượng sản phẩm nước tương sau quá trình lên men. Các phương pháp sử dụng trong quá trình nghiên cứu là: phương pháp Kjeldahl, phương pháp chuẩn độ N – fomol, phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, phương pháp đếm khuẩn lạc trực tiếp, phương pháp MPN và phương pháp đánh giá cảm quan. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng đạm tổng số và amino acid thu được cao nhất là 63,66% và 1,8 g/l khi bổ sung 0,4% chế phẩm; độ ẩm cơ chất ban đầu là 55%; thời gian thủy phân khô dầu lạc là 72 giờ trong môi trường pH 5 ở nhiệt độ thủy phân là 55°C. Sản phẩm nước tương lên men bằng chế phẩm hỗn hợp nấm mốc này đạt chất lượng theo TCVN 1763:2008 với giá trị hàm lượng nitơ toàn phần là 2,39 g/100ml; tổng số vi khuẩn hiếu khí ≤ 20000 tb/ml; không phát hiện thấy *Escherichia coli*, các vi khuẩn đường ruột và độc tố aflatoxin; đặc biệt không có mùi và vị lạ.

Từ khóa: Acid amin, chế phẩm, khô dầu lạc, nước tương.

Nhận bài: 16/08/2018

Hoàn thành phản biện: 17/09/2018

Chấp nhận đăng: 30/09/2018

1. MỞ ĐẦU

Aspergillus oryzae và *Aspergillus awamori* được biết đến với khả năng sinh tổng hợp các enzyme amylase, protease, cellulase,... có hoạt tính cao trong môi trường bán rắn theo phương pháp nuôi cấy bề mặt (Luong Đức Phẩm, 1998; Manan và cs., 2016). Protease ngoại bào có thể được sản xuất theo phương pháp lên men chìm hoặc lên men bán rắn. Phương pháp lên men bán rắn đặc biệt thích hợp cho sự phát triển của nấm vì chúng thích hợp phát triển trong môi trường hiếu khí và yêu cầu độ ẩm thấp hơn so với vi khuẩn (Ogawa và cs., 1995). Ngoài ra, phương pháp lên men này tương đối đơn giản, rẻ tiền và mang lại hiệu suất sinh tổng hợp enzyme cao (Wang và cs., 2005; Thanapimmetha và cs., 2012). Su và cs. (2011) cho rằng protease được chiết xuất từ nấm mốc *A. oryzae* có hoạt tính cao và an toàn trong sản xuất thực phẩm. Do đó, chế phẩm sản xuất từ những chủng này được xem là an toàn khi sử dụng.

Nước tương lên men là một loại nước chấm có hàm lượng đạm và nồng độ muối tương đối cao, hương vị thơm ngon, là sản phẩm của quá trình thủy phân nguyên liệu giàu protein dưới tác dụng của enzyme vi sinh vật. Để sản xuất nước tương hiện nay có hai phương pháp chủ yếu là vi sinh và hóa giải. Trong đó, phương pháp ứng dụng vi sinh vật trong sản xuất nước tương không gây ô nhiễm môi trường và không sinh độc tố 3 – MCPD và 1,3 – MCPD. Ngoài ra, để tăng hiệu quả kinh tế cho quá trình sản xuất thì việc tận dụng nguồn nguyên liệu sẵn (đậu nành, khô đậu nành và khô dầu lạc) có ý nghĩa rất lớn.

Khô dầu lạc là sản phẩm phụ chủ yếu trong sản xuất dầu lạc, giàu protein với số lượng acid amin thiết yếu lớn (Basha và Pancholy, 1981). Tuy nhiên, chất lượng khô dầu lạc sau quá

trình ép dầu dễ bị xuống cấp dẫn đến độ hòa tan protein kém, màu tối, hương vị khó chịu và giá trị dinh dưỡng thấp (Robin và Chiou, 1990). Do đó, để cải thiện các tính chất chức năng và giá trị dinh dưỡng của protein nhằm ứng dụng trong ngành thực phẩm Neucere và cs (1972), Yu và cs (2007) đã sử dụng enzyme để thủy phân. Một nghiên cứu khác của Govindaraju và cs (2006) về việc sử dụng papain, alcalase và protease nấm để thủy phân arachin trong lạc, kết quả nghiên cứu cho thấy protease có khả năng thủy phân arachin cao hơn papain, alcalase. Đến năm 2011, Guowan Su và cs đã nghiên cứu sử dụng protease thô từ *Aspergillus oryzae* HN 3,042 (CPE) để thủy phân khô dầu lạc thu được kết quả như sau: Hiệu quả thu hồi protein là 80,6%; mức độ thủy phân bởi protease thô cao hơn so với các protease thương mại.

Với mong muốn nâng cao chất lượng nước tương nhằm đáp ứng nhu cầu tiêu dùng, đảm bảo an toàn và không gây ô nhiễm môi trường nên việc thực hiện đề tài này sẽ có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chế phẩm hỗn hợp nấm mốc *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 được cung cấp bởi phòng thí nghiệm vi sinh, khoa Cơ khí – Công nghệ, trường Đại học Nông Lâm Huế. Chế phẩm được sản xuất bằng cách nuôi cấy nấm mốc trên môi trường bán rắn 70% ngô mảnh: 30% bột mỳ; độ ẩm ban đầu của cơ chất thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp protease của chúng là 55%; tỷ lệ phần trăm phối trộn so với khối lượng môi trường nuôi cấy giữa sinh khối nấm mốc *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 là 0,3: 0,1, mật độ tế bào lần lượt là 3×10^6 và 1×10^6 sau 3 ngày nuôi cấy. Chế phẩm được sấy ở 40°C trong vòng 6 giờ và được bao gói trước khi bảo quản (số liệu chưa công bố).

- Khô dầu lạc được mua tại các hộ gia đình trên địa bàn thành phố Huế có thành phần protein 35,2%; lipid 8,7%; cellulose 15,1%, tro 3,93% và độ ẩm 8,6% (tự phân tích).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng protein tổng số bằng phương pháp Kjeldahl (AOAC, 1995).

Xác định hàm lượng amino acid bằng phương pháp chuẩn độ N – fomol (Lê Thanh Mai và cs., 2006).

Xác định độc tố aflatoxin trong chế phẩm và sản phẩm nước tương.

Độc tố aflatoxin được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) theo TCVN 7407:2004.

** Phương pháp đánh giá cảm quan:*

Chất lượng cảm quan của nước tương được đánh giá bằng phương pháp cho điểm thị hiếu theo thang Hedonic của Hà Duyên Tư (2009) trên các chỉ tiêu: trạng thái, mùi, vị, màu sắc và tạp chất nhìn thấy bằng mắt.

Xác định một số chỉ tiêu vi sinh vật

Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trực tiếp (Lê Xuân Phương, 2005; Nguyễn Xuân Thành, 2007).

Xác định *Escherichia coli* và các vi khuẩn đường ruột khác bằng phương pháp MPN (Trần Linh Thuộc và cs., 2004; Lê Xuân Phương, 2005).

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

* Ảnh hưởng của tỷ lệ chế phẩm hỗn hợp nấm mốc đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Ở thí nghiệm này, chế phẩm hỗn hợp nấm mốc *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 được phối trộn với khô dầu lạc có độ ẩm 8,6% với các tỷ lệ 3, 4, 5 và 6% khối lượng. Sau đó, hỗn hợp được bổ sung nước để độ ẩm môi trường đạt 55% và tiến hành thủy phân ở 55°C, pH 5. Khô dầu lạc được thủy phân với điều kiện này trong 96 giờ, sau đó ly tâm thu dịch chiết. Xác định hàm lượng đạm tổng số (so với nguyên liệu đầu vào) và amino acid để chọn tỷ lệ chế phẩm bổ sung thích hợp cho quá trình thủy phân khô dầu lạc.

* Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Khô dầu lạc được bổ sung chế phẩm hỗn hợp nấm mốc *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 thích hợp đã được xác định ở trên và thủy phân ở 55°C, pH 5, độ ẩm môi trường là 55 tại các mức thời gian khác nhau: 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ. Tại mỗi thời điểm khảo sát, dịch chiết thu nhận bằng cách ly tâm được xác định đạm tổng số (so với nguyên liệu đầu vào) và amino acid để chọn thời gian thủy phân thích hợp.

* Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Khô dầu lạc được bổ sung chế phẩm nấm mốc ở trên với tỷ lệ thích hợp và thủy phân trong thời gian đã được xác định trong điều kiện độ ẩm ban đầu 55%, pH 5. Nhiệt độ thủy phân được thay đổi ở các mức khác nhau: 45, 50, 55 và 60°C. Dịch chiết thu được ở các thí nghiệm nhiệt độ khác nhau sau khi ly tâm được xác định đạm tổng số (so với nguyên liệu đầu vào) và amino acid để chọn nhiệt độ thích hợp.

* Ảnh hưởng của pH đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Khô dầu lạc được bổ sung chế phẩm nấm mốc với tỷ lệ thích hợp được thủy phân trong thời gian, nhiệt độ thích hợp đã được xác định ở trên với độ ẩm môi trường thủy phân là 55%, tại các mức pH ban đầu khác nhau: 4,5; 5; 5,5 và 6. Hàm lượng đạm tổng số (so với nguyên liệu đầu vào) và amino acid của dịch thủy phân được phân tích để chọn giá trị pH thủy phân thích hợp.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

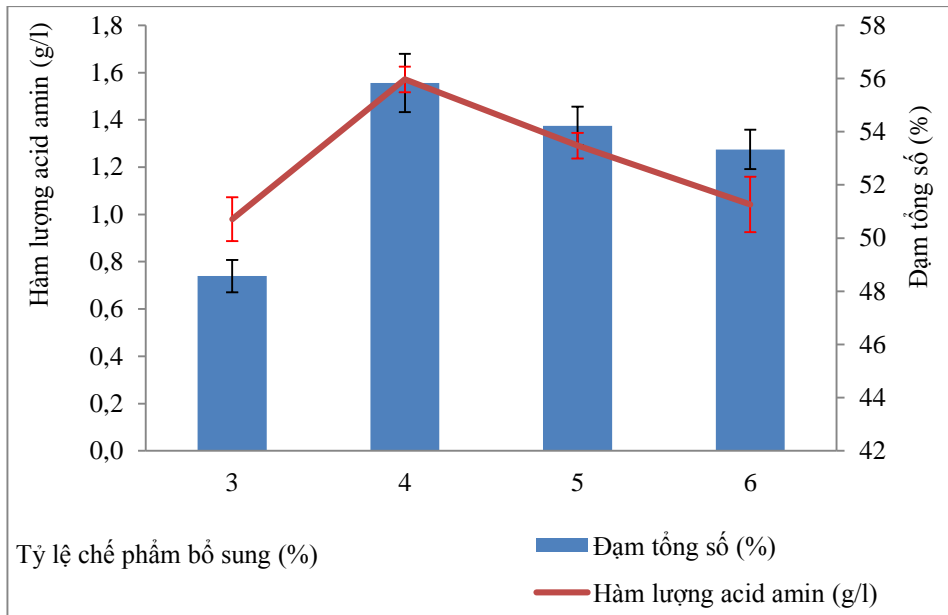
Sử dụng Microsoft excel để xử lý các số liệu thô thu được từ thí nghiệm; phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) bằng phần mềm Minitab 16.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ chế phẩm nấm mốc đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Chế phẩm nấm mốc *A. oryzae* KZ3 kết hợp *A. awamori* HK1 có khả năng sản sinh protease cao và là một yếu tố rất quan trọng trong việc thủy phân protein. Lượng chế phẩm nấm mốc bổ sung vào để thủy phân khô dầu lạc phải thích hợp thì khả năng thủy phân protein nguyên liệu mới mang lại hiệu suất cao.

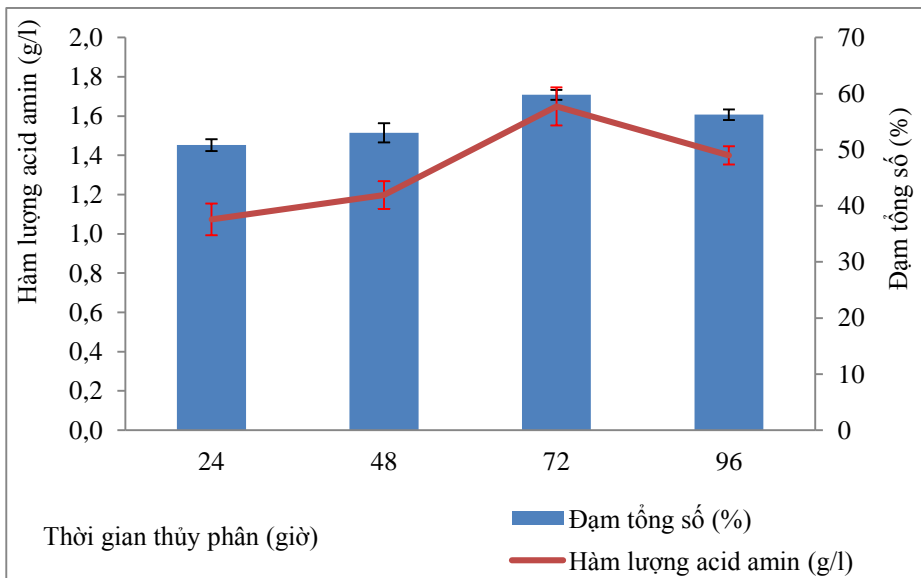
Qua Hình 1 ta thấy, khi tăng tỷ lệ chế phẩm nấm mốc *A. oryzae* KZ3 kết hợp *A. awamori* HK1 từ 3 đến 4%, hàm lượng đạm tổng số và acid amin có xu hướng tăng, đạt giá trị cực đại lần lượt là 55,83% và 1,6 g/l (ở tỷ lệ chế phẩm 4%). Sau đó, có xu hướng giảm dần theo chiều tăng của tỷ lệ chế phẩm nấm mốc, điều này có thể giải thích do lượng chế phẩm nấm mốc bổ sung quá nhiều sẽ dẫn đến sự thủy phân lẫn nhau của các protease. Hơn nữa, mật độ tế bào ban đầu cao dẫn đến các chủng nấm mốc sẽ lấy chất dinh dưỡng để phát triển do đó sẽ không cung cấp đủ cho sự sinh tổng hợp enzyme để thủy phân.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ chế phẩm nấm mốc *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Kết quả này phù hợp với một nghiên cứu trước đây của chúng tôi khi thủy phân protein đậu nành của chế phẩm koji tương. Nhóm tác giả này cho rằng hàm lượng đạm tổng số của dịch thủy phân và acid amin tăng khi tăng tỷ lệ chế phẩm koji tương từ 1 đến 4% và đạt giá trị cực đại tại tỷ lệ chế phẩm 4% (15,95 g/l và 1,6 g/l), nhưng tăng tỷ lệ koji lên 5% thì hàm lượng đạm tổng số và amino acid giảm (10,65 g/l và 1,48 g/l).

3.2. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân khô dầu lạc



Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân khô dầu lạc.

Kết quả ở Hình 2 cho thấy trong khoảng thời gian 24 – 72 giờ, hàm lượng đạm tổng số và acid amin tăng dần và đạt giá trị cao nhất sau 72 giờ thủy phân lần lượt là 59,79% và 1,6

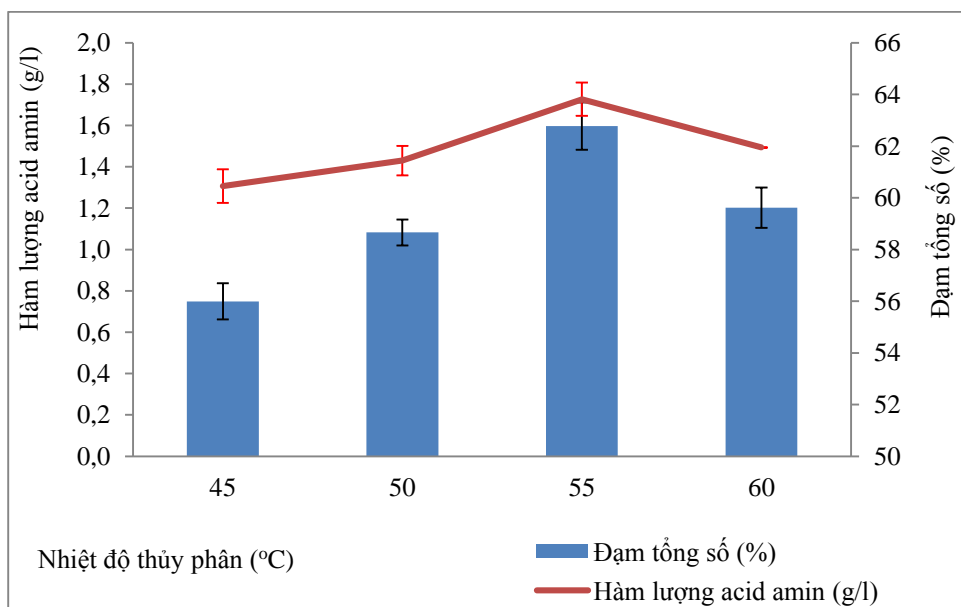
g/l. Sau đó có xu hướng giảm khi kéo dài thời gian thủy phân đến 96 giờ với giá trị hàm lượng đạm tổng số và acid amin lần lượt là 56,24% và 1,4 g/l. Có sự thay đổi này là do khi kéo dài thời gian thủy phân hàm lượng cơ chất giảm kéo theo vận tốc phản ứng của enzyme giảm. Ngoài ra, một phần amino acid được vi sinh vật tham gia thủy phân sử dụng và một phần khác tiếp tục bị thủy phân tạo thành các sản phẩm thứ cấp (Phạm Hồng Ngọc Thùy và cs., 2014).

So sánh với các nghiên cứu khác cho thấy kết quả của chúng tôi phù hợp với công bố của Chutmanop và cs (2008) khi nghiên cứu sản xuất protease bởi chủng nấm mốc *A. oryzae* trong quá trình lên men trạng thái rắn sử dụng chất agroindustrial, thời gian thủy phân đầu nành thích hợp là 72 – 84 giờ. Ukei và cs (1994) cho rằng thời gian thủy phân tốt nhất là 84 giờ khi sử dụng trực tiếp bánh dầu đậu nành nuôi cấy nấm mốc *A. oryzae* để sản sinh protease. Phạm Hồng Ngọc Thùy và cs (2014) công bố rằng đối với quá trình thủy phân protein, khi tăng thời gian ủ bã sắn với vi khuẩn *Bacillus subtilis* C7 từ 12 đến 36 giờ thì hàm lượng amino acid tăng và đạt cực đại ở 36 giờ, nhưng nếu tiếp tục tăng thời gian ủ lên 48 giờ thì hàm lượng nitơ amino acid giảm 8% và tiếp tục giảm hơn 40% khi ủ đến 84 giờ.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Nhiệt độ là yếu tố có ảnh hưởng lớn đến phản ứng enzyme. Tốc độ phản ứng enzyme không phải lúc nào cũng tỷ lệ thuận với nhiệt độ phản ứng. Tốc độ phản ứng chỉ tăng đến một giới hạn nhất định. Vượt quá nhiệt độ đó, tốc độ phản ứng enzyme sẽ giảm và dẫn đến mức triệt tiêu.

Kết quả Hình 3 cho thấy khả năng thủy phân tăng khi nhiệt độ tăng và đạt cực đại ở 55°C với giá trị đạm tổng số và amino acid lần lượt là 62,27% và 1,7 g/l. Tiếp tục tăng nhiệt độ lên 60°C thì khả năng thủy giảm do nhiệt độ cao gây ức chế hoạt động của enzyme (Đỗ Thị Thanh Thủy và cs., 2017).



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thủy phân khô dầu lạc.

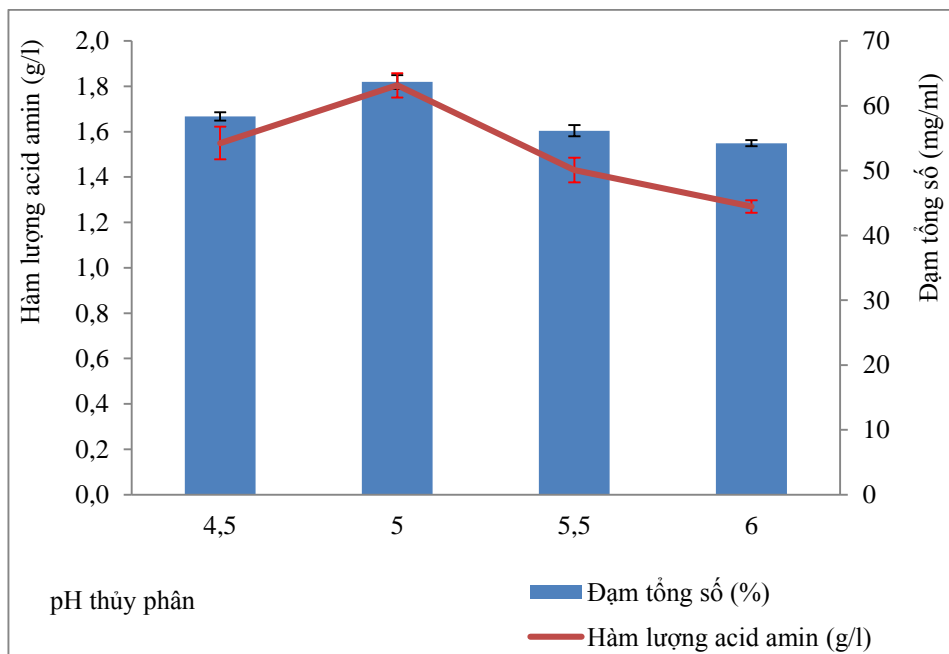
Kết quả này phù hợp với một công bố khác của chúng tôi khi nghiên cứu về khả năng thủy phân protein đậu nành của chế phẩm koji tương (Nguyễn Hiền Trang và cs., 2016). Và cũng phù hợp với kết quả của Đỗ Thị Thanh Thủy và cs (2017), nhóm tác giả này cho rằng

khi tăng nhiệt độ từ 45°C lên 55°C, 3 chỉ tiêu DH (độ thủy phân), HSTH (hiệu suất thu hồi nitơ) và N_{aa}/N_{TS} (tỷ lệ nitơ amino acid/ nitơ tổng số) đều tăng và đạt cực đại tại 55°C. Nếu tiếp tục tăng 55°C lên 65°C các chỉ tiêu trên bị giảm. Tuy nhiên kết quả đạt được cao hơn nhiệt độ thủy phân protein khi sử dụng hỗn hợp bột đậu nành và bột mỳ nuôi cấy nấm mốc *A. oryzae* để sản xuất nước tương trong nghiên cứu của Wang và cs. (2005) là 50°C.

3.4. Ảnh hưởng của pH đến khả năng thủy phân khô dầu lạc

Enzyme rất nhạy cảm với sự thay đổi pH của môi trường. Mỗi hệ enzyme chỉ hoạt động mạnh nhất ở vùng pH xác định gọi là pH tối thích của enzyme.

Qua Hình 4 cho thấy chế phẩm *A. oryzae* KZ3 kết hợp *A. awamori* HK1 có khả năng thủy phân protein tốt trong khoảng pH 4,5 – 5,5 và đạt giá trị cực đại tại pH 5 với hàm lượng đạm tổng số và acid amin lần lượt là 63,66% và 1,8 g/l. Khi thủy phân trong môi trường pH quá cao, khả năng thủy phân protein của chế phẩm này giảm do đó hàm lượng amino acid và đạm tổng số giảm.



Hình 4. Ảnh hưởng của pH đến khả năng thủy phân khô dầu lạc.

Kết quả này cũng tương tự khi thủy phân protein đậu nành bằng của chế phẩm koji tương của chúng tôi (Nguyễn Hiền Trang và cs, 2016) và cũng phù hợp với công bố của Wilfred và cs (1996) về pH thích hợp để thủy phân protein đậu nành bằng chế phẩm koji là pH = 5. Changlu Ma và cs. (2014) khi nghiên cứu công nghệ xử lý gluten trong nước tương cho kết quả hàm lượng acid amin cao nhất ở pH 7.

3.5. Đánh giá chất lượng sản phẩm nước tương khô dầu lạc

Nước tương sau khi sản xuất theo phương pháp lên men từ khô dầu lạc tiến hành lấy mẫu xác định một số chỉ tiêu chất lượng theo TCVN 1763:2008 và phương pháp đánh giá cho điểm thị hiếu theo thang Hedonic (9 điểm), số lượng người thử 16 để đánh giá cảm quan. Kết quả thu được ở Bảng 1 và Bảng 2.

Bảng 1. Kết quả đánh giá cảm quan

Tiêu chí đánh giá	Kết quả cảm quan
Màu sắc	7,27 ± 0,7
Trạng thái	7,13 ± 0,8
Mùi	6,27 ± 0,7
Vị	6,13 ± 0,6
Tạp chất nhìn thấy bằng mắt	7,4 ± 0,8

Kết quả Bảng 1 và Bảng 2 cho thấy sản phẩm nước tương lên men từ khô dầu lạc không khác biệt so với sản phẩm nước tương theo TCVN 1763:2008 về chỉ tiêu cảm quan (màu sắc, trạng thái, mùi, vị và tạp chất nhìn thấy bằng mắt).

Nitơ toàn phần là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng của nước tương thành phẩm. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cao hơn một số sản phẩm nước tương trên thế giới như: Koikuchi (1,57 g/100ml), Usukuchi (1,19 g/100ml) và Shiro (0,5 g/100ml). Tuy nhiên lại thấp hơn nhiều so với sản phẩm Tamari (2,55 g/100ml).

Bảng 2. Kết quả đánh giá chất lượng nước tương thành phẩm

Chỉ tiêu	Mẫu nước tương	TCVN 1763:2008	Nước tương thành phẩm
	Chỉ tiêu cảm quan		
Màu sắc	Màu sắc đặc trưng của sản phẩm		Nâu
Trạng thái	Chất lỏng trong, không vẩn đục, không lắng cặn		Trong, không lắng cặn
Mùi	Thơm đặc trưng của nước tương, không có mùi lạ, mùi mốc		Mùi thơm đặc trưng của nước tương lên men từ khô dầu lạc, không có mùi mốc
Vị	Vị ngọt đậm, không có vị lạ, vị đắng, nồng		Mặn, không có vị lạ
Tạp chất nhìn thấy bằng mắt	Không được có		Không có
Hàm lượng nitơ toàn phần	Chỉ tiêu hóa học		
	≥ 0,4 g/100mL		2,39 (g/100ml)
TSVKHK (CFU/g hoặc CFU/mL)	Chỉ tiêu vi sinh vật		
	≤ 20.000 tb/ml		2×10 ³
<i>Escherichia coli</i> (MPN/mL hoặc MPN/g)	0		0
Các vi khuẩn đường ruột (MPN/mL hoặc MPN/g)	0		0
Độc tố aflatoxin	Không có		Không có

Ghi chú: TSVKHK: Tổng số vi sinh vật hiếu khí

Bên cạnh đó, sản phẩm nước tương của chúng tôi đạt TCVN về chỉ tiêu vi sinh vật. Cụ thể: tổng số vi sinh vật hiếu khí thấp hơn so với mức quy định (< 20000 tb/ml), không phát hiện thấy *Escherichia coli*, các vi khuẩn đường ruột khác, độc tố aflatoxin tổng số và aflatoxin B₁.

Từ kết quả trên cho thấy các chỉ tiêu cảm quan, hàm lượng nitơ toàn phần và chỉ tiêu vi sinh vật trong sản phẩm nước tương của chúng tôi đạt TCVN.

4. KẾT LUẬN

Chế phẩm nấm mốc gồm *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 nuôi cấy trên môi trường bán rắn ngô mảnh – bột mỳ đã thúc đẩy quá trình thủy phân protein khô dầu. Hàm lượng đạm tổng số và acid amin tăng khi quá trình thủy phân thực hiện trong điều kiện nhiệt độ 55°C, thời gian thủy phân 72 giờ ở pH = 5 và tỷ lệ chế phẩm nấm mốc bổ sung là 4% so với nguyên liệu. Giá trị hàm lượng đạm tổng số và acid amin sau quá trình thủy phân ở các điều kiện thích hợp trên lần lượt là 63,66% và 1,8 g/l.

Kết quả phân tích chất lượng nước tương thành phẩm được lên bằng chế phẩm *A. oryzae* KZ3 kết hợp *A. awamori* HK1 đều nằm trong quy định của TCVN 1763:2008 về chỉ tiêu cảm quan, nitơ toàn phần. Ngoài ra không phát hiện sự có mặt *Escherichia coli*, các vi khuẩn đường ruột khác và độc tố aflatoxin trong sản phẩm nước tương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Tiêu chuẩn Việt Nam: TCVN 1763:2008. (2008). *Nước tương*. Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị. Bộ Khoa học và Công nghệ.
- Tiêu chuẩn Việt Nam: TCVN 7407:2004. (2004). *Ngũ cốc, đậu đỗ và hạt có dầu - xác định aflatoxin bằng phương pháp sử dụng cột ái lực miễn dịch*. Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị. Bộ Khoa học và Công nghệ.
- Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng và Lê Thị Lan Chi. (2006). *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. Hà Nội: NXB Khoa học và Kỹ Thuật.
- Lương Đức Phẩm. (1998). *Công nghệ vi sinh vật*. Hà Nội: NXB Nông nghiệp.
- Lê Xuân Phương. (2005). *Thí nghiệm vi sinh vật học*. Trường Đại học Bách khoa Đà Nẵng.
- Hà Duyên Tư. (2009). *Phân tích hóa học thực phẩm*. Hà Nội: NXB Khoa Học và Kỹ Thuật.
- Nguyễn Xuân Thành. (2007). *Thực tập vi sinh vật chuyên ngành*. Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
- Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn. (2017). Nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp alcalase và flavouryme để thủy phân cá nục gai (*Decapterus ruselli*). *Tạp chí Khoa học & Công nghệ Thủy sản*, 3, 138-143.
- Phạm Hồng Ngọc Thùy, Nguyễn Thị Thanh Hải và Nguyễn Minh Trí. (2016). Điều kiện ủ thích hợp và khả năng thủy phân tinh bột và protein trong bã sắn của chủng *Bacillus subtilis* C7. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, 2.
- Trần Linh Thuộc, Nguyễn Đức Hoàng, Phan Thị Phương Trang và Phạm Thị Hồng Tươi. (2004). *Thực tập vi sinh vật học*. Tp. Hồ Chí Minh: NXB Trường Đại học Quốc gia.
- Nguyễn Hiền Trang, Đỗ Thị Bích Thủy và Nguyễn Thị Thủy Tiên. (2016). Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng thủy phân protein đậu nành của chế phẩm koji. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 14, 68-75.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Association of Official analytical Chemists-981.10. (1995). *Crude protein in meat*. In Official Method of Analysis of AOAC International, 16th end, Ed by Patricia C. AOAC. *International. Arlington Virginia*, 39(2), 7-8.
- Basha S. M. M. and Panchoy S. K. (1981). Identification of methionine-rich polypeptides in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29, 331-335.

- Changlu Ma, Jianfeng Sun, HongxianLuo, Shurong Li and Wentong Xue. (2014). Primary processing technology on gluten soy sauce with low – salt and solid – state fermentation. *Journal of Chemical and Pharmacutical Research*, 6(5), 1182-1186
- Chutmanop J., Chuichulcherm S., Chisti Y. and Srinophakun P. (2008). Protease production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation using agroindustrial substrates. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83, 1012-1018.
- Govindaraju K., Srinivas H. (2006). Studies on the effects of enzymatic hydrolysis on functional and physico-chemical properties of arachin. *LWT - Food Science and Technology*, 39(1), 54-62.
- Guowan Su, Jiaoyan Ren, Bao Yang, Chun Cui, Mouming Zhao. (2011). Comparison of hydrolysis characteristics on defatted peanut meal proteins between a protease extract from *Aspergillus oryzae* and commercial proteases. *Food Chemistry*, 126, 1306-1311.
- Manan M. A. and Webb C. (2016). Multi-enzymes Production Studies in Single Tray Solid State Fermentation with Opened and Closed System. *Journal of Life Sciences*, 10, 342-356.
- Neucere N. J., Conkerton E. J. and Booth A. N. (1972). Effect of heat on peanut proteins II. Variations in nutritional quality of the meals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20, 256-259.
- Ogawa A., Yasuhara A., Tanaka T., Sakiyama T. and Nakanishi K. (1995). Production of neutral protease by membrane – surface liquid culture of *Aspergillus oryzae* IAM2704. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, 35-40.
- Robin Y. and Chiou Y. (1990). Effects of heat treatments on peanut arachin and conarachin. *Journal of Food Biochemistry*, 14, 219-232.
- Thanapimmetha A., Luadsongkram A., Tipatiwatanakun B., Srinophakun P. (2012). Value added waste of *Jatropha curcas* residue: Optimization of protease production in solid state fermentation by Taguchi DOE methodology. *Industrial Crops and Products*, 37, 1-5.
- Ueki T., Noda Y., Teramoto Y., Ohba R. and Ueda S. (1994). Increasing glutaminase activity in shoyu koji using a mixed culture of two koji moulds. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 10(6), 694-696.
- Ueki T., Noda Y., Teramoto Y., Ohba R. and Ueda S. (1994). Practical soy sauce production using a mixed koji – making system. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 78, 262-264.
- Wang R., Law R. C. S. and Webb C. (2005). Protease production and conidiation by *Aspergillus oryzae* in flour fermentation. *Process Biochemistry*, 40, 217 – 227.
- Wilfed F. M. R., Anton A., Henk W. V. V. (1996). Comparison between traditional & industrial soy sauce (Kecap) fermentation in Indonesia. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 81(3), 275-278
- Yu J., Ahmedna M., Goktepe I. (2007). Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food Chemistry*, 103, 121-129.

IMPACT OF A NUMBER FACTORS TO CAPACITY HYDROLYSIS PEANUT MEAL IN MANUFACTURING SOY SAUCE BY *ASPERGILLUS ORYZAE* KZ3 AND *ASPERGILLUS AWAMORI* HK1 MIX PREPARATIONS

Nguyen Hien Trang, Duong Thi Huong

Hue University – University of Agriculture and Forestry,

Contact email: nguyenhientrang@huaf.edu.vn

ABSTRACT

This study aims to investigate the effect of some factors such as composition, time, temperature and pH to the hydrolysis of peanut meal by *A. oryzae* KZ3 and *A. awamori* HK1 mixed the preparations and evaluate the quality of soy sauce production after fermented processing. The methods used in the study were: Kjeldahl method, N-fomol titration method, high performance liquid chromatography method, direct colony count method, MPN method and sensory evaluation method. The results show that the total protein and amino acid content highest were 63.66% và 1.8 g/l when supplemented with 0.4% preparations; initial substrate moisture content of 55%; the hydrolysis time of peanut meal was 72 hours in pH = 5 and at hydrolysis temperature of 55°C. Producted soy sauce femented from peanut meal by this mixed molds met the requirement of the Vietnam Standard 1763:2008 with a total nitrogen content of 2.39 g/100 ml; total aerobic bacteria ≤ 20000 tb/ml; *Escherichia coli*, *coliform bacteria* and aflatoxin were not detected; especially no smell and strange taste.

Key words: Amino acid, preparations, peanut meal, soy sauce

Received: 16th August 2018

Reviewed: 17th September 2018

Accepted: 30th September 2018