

KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUY TRÌNH SẢN XUẤT NƯỚC TƯƠNG HẠT SEN VÀ ĐẬU NÀNH SỬ DỤNG *ASPERGILLUS ORYZAE*

Lê Thị Hồng Ánh *, Nguyễn Bảo Toàn, Phan Thị Hồng Liên,
Nguyễn Minh Hưng, Trần Ngọc Đào

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: anhlth@hufi.edu.vn

Ngày nhận bài: 20/4/2023; Ngày chấp nhận đăng: 31/5/2023

TÓM TẮT

Nước tương là một gia vị truyền thống của nhiều nước châu Á được sản xuất từ quá trình lên men đậu nành bởi *Aspergillus oryzae*. Trong nghiên cứu này, hạt sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn) được sử dụng để thay thế một phần đậu nành nhằm đa dạng hóa hương vị của loại sản phẩm truyền thống này. Hai giai đoạn chính trong quy trình sản xuất tương được tập trung nghiên cứu là giai đoạn tạo koji từ quá trình lên men bởi mốc *A. oryzae* và quá trình tạo moromi từ việc ủ koji với dung dịch muối 10%. Kết quả cho thấy tỉ lệ hạt sen:đậu nành (*Glycine max*) phù hợp cho quá trình sản xuất tương là 7:3 (w/w). Nhiệt độ và thời gian lên men tạo koji tương ứng ở 30°C trong 72 giờ cho hoạt độ protease 1279,46 ±13,22 (U/g). Koji sau đó được phối trộn với 35% (v/w) dung dịch muối 10% và ủ ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 72 giờ. Hàm lượng đạm formol trong moromi được xác định trong khoảng 6,01 ± 0,10 (g/L). Các kết quả nghiên cứu cho thấy hạt sen là một nguyên liệu bổ sung tiềm năng để sản xuất nước tương; đồng thời bước đầu cung cấp một số thông tin cơ bản trong sản xuất nước tương hạt sen từ đó hỗ trợ cho các nghiên cứu tiếp theo giúp nâng cao chất lượng sản phẩm.

Từ khóa: Đạm formol, hoạt độ protease, koji, lên men hạt sen, moromi, nước tương.

1. MỞ ĐẦU

Nước tương là sản phẩm dạng lỏng thu được do quá trình lên men hạt đậu nành hoặc hỗn hợp hạt đậu nành với các loại ngũ cốc hoặc protein thực vật [1]. Đây là một loại gia vị truyền thống ở các nước phương Đông như Trung Quốc, Nhật Bản và Hàn Quốc. Ngày nay, sản phẩm lên men này trở nên phổ biến ở châu Á và lan ra các quốc gia phương Tây. Theo Zhang và cộng sự [2], sản lượng nước tương toàn cầu hàng năm đã lên đến 10 triệu tấn.

Để cải thiện tốc độ lên men và hương vị của sản phẩm, các loại ngũ cốc khác thường được sử dụng để phối trộn với đậu nành (*Glycine max*) như bột bắp, bột mì, bột nếp, v.v. Hạt sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn) chứa nhiều chất dinh dưỡng và hương vị đặc trưng cũng được xem là một đối tượng tiềm năng để phối trộn. Hạt sen có nguồn gốc ở châu Á, xuất phát từ Ấn Độ, sau đó lan qua Trung Quốc và vùng đông bắc Châu Úc. Ở Việt Nam, sen được trồng nhiều ở các tỉnh Đồng Tháp, Vĩnh Long, An Giang, Tiền Giang, v.v. [3]. Trong 100 g hạt sen tươi chứa 17,1 g protein, 1,9 g chất béo, 62 g carbohydrate. Đặc biệt, hạt sen là một nguồn giàu canxi (445 µg/g), phospho (1715 µg/g), kali (16,300 µg/g), Mg (1650 µg/g) và một số vitamin nhóm B, C và E [4]. Ngoài ra, hạt sen chứa nhiều các hợp chất thuộc nhóm alkaloid (lotusine, demethylcochlorine, isoliensinine, neferine, nornuciferin, pronuciferine, methylcorypalline, norarmepavine, neferine) và flavonoid. Nhiều nghiên cứu chứng minh rằng hạt sen có tác dụng

giảm huyết áp, hạ nhịp tim, giảm cholesterol trong máu, cắt cơn nôn hay làm dịu phản ứng co giật của hệ thống tiêu hóa và tử cung, làm chậm tiến trình lão hóa và ngăn ngừa ung thư [5, 6].

Trong quy trình sản xuất nước tương, đậu nành và các ngũ cốc phối trộn (nếu có) được hấp chín và trộn với *A. oryzae* ở 25-30°C trong 2-3 ngày. Sản phẩm của quá trình này được gọi là koji. Sau đó, koji được phối trộn với nước muối nồng độ 10-20% và ủ ở nhiệt độ phòng trong 2-3 tháng (được gọi là moromi). Moromi sau đó được lọc và trải qua các quá trình như phối trộn, chiết rót, thanh trùng để tạo thành sản phẩm nước tương. Trong quá trình lên men koji, nấm mốc phát triển và tạo ra một số enzyme thủy phân protein và tinh bột trong nguyên liệu [7]. Các hoạt động protease và glutaminase giúp tạo nên vị umami của nước tương thông qua quá trình ủ chín tạo moromi. Do đó, quá trình lên men tạo koji và ủ chín tạo moromi là hai công đoạn quan trọng quyết định đến chất lượng của nước tương. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men tạo koji và moromi như nguyên liệu, nhiệt độ, thời gian lên men, nồng độ nước muối, v.v. [7-9]. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng việc phối trộn hạt sen, nhiệt độ và thời gian lên men koji, tỉ lệ nước muối, nhiệt độ và thời gian ủ tạo moromi đến sản phẩm nước tương hạt sen bằng *A. oryzae* đã được thực hiện.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hạt sen khô được cung cấp bởi công ty TNHH Thực phẩm Việt San (Viet San Foods Co., Ltd) với một số chỉ tiêu chất lượng bao gồm độ ẩm $10,26 \pm 0,07$ %, hàm lượng protein $22,42 \pm 0,05$ %.

Đậu nành Navita (Công ty CP. APIS) có độ ẩm $11,41 \pm 0,06$ %, hàm lượng protein $36,42 \pm 0,05$ %.

Mốc giống thương mại *Aspergillus oryzae* dạng bột được mua tại cơ sở thực dưỡng Ngọc Trâm - số 103, ngách 2, ngõ Thái Thịnh 1, quận Đống Đa, Hà Nội.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn hạt sen

Nguyên liệu đậu nành và hạt sen được rửa sạch, ngâm trong nước với tỉ lệ nguyên liệu và nước ngâm là 1:1,5 (w/v) trong 8 giờ. Sau đó nguyên liệu được nghiền nhỏ bằng máy xay sinh tố và làm chín bằng cách hấp tiệt trùng ở nhiệt độ 121°C trong vòng 60 phút. 50 g nguyên liệu với các tỉ lệ hạt sen và đậu nành (w/w) khảo sát: 10:0; 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; 0:10 được cho vào bình tam giác 250 mL và bổ sung 1% (w/w) mốc giống *A. oryzae*. Hỗn hợp được lên men ở nhiệt độ 33°C trong 72 giờ. Hoạt độ enzyme protease trong koji tạo thành sau quá trình lên men được xác định theo phương pháp Anson cải tiến.

2.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men tạo koji

50 g nguyên liệu hạt sen và đậu nành được chuẩn bị và phối trộn theo tỉ lệ thích hợp được cho vào bình tam giác 250 mL và bổ sung 1% mốc giống. Các bình tam giác chứa mẫu được lên men ở các điều kiện nhiệt độ 27°C, 30°C và 33°C. Hoạt độ enzyme protease trong koji được đánh giá theo các mốc thời gian 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ lên men.

2.2.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nước muối bổ sung tạo moromi

25 g koji được tạo thành từ hạt sen và đậu nành lên men ở nhiệt độ và thời gian thích hợp được phối trộn với dung dịch nước muối 10% ở các tỉ lệ 25%, 30%, 35% và 40% so khối lượng

koji. Hỗn hợp được cho vào bình tam giác 250 mL và ủ ở điều kiện 45°C trong 48 giờ. Sau đó, mẫu được lọc thu dịch và xác định hàm lượng đạm formol.

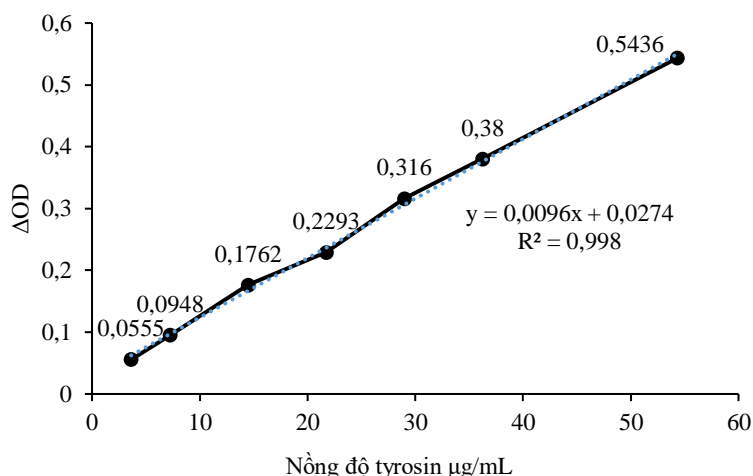
2.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ tạo moromi

25 g koji được cho vào bình tam giác 250 mL và bổ sung nước muối 10% theo tỉ lệ thích hợp được ủ ở các nhiệt độ 45°C, 50°C và 55°C. Các mẫu được thu nhận và xác định hàm lượng đạm formol trong dịch lọc theo thời gian 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ.

2.2.5. Phương pháp phân tích

Xác định hoạt độ enzyme protease

Hoạt độ enzyme protease được xác định theo phương pháp Anson cải tiến [10]. Cụ thể như sau 1 g mẫu được nghiền mịn và thêm 50 mL nước cất, lắc hỗn hợp ở điều kiện 180 vòng/phút, trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 15 phút để thu dịch nổi. Hút 1 mL dịch nổi cho vào ống nghiệm, thêm 2 mL dung dịch casein 2% ủ ở 30°C trong 10 phút. Sau đó, 5 mL dung dịch tricloacetic acid (TCA) 5% được thêm vào ống nghiệm, lắc đều rồi để yên ở nhiệt độ phòng trong thời gian 10 phút. Tiếp theo, hỗn hợp được lọc tách kết tủa và thu dung dịch trong suốt. 1 mL dịch trong được hút cho vào ống nghiệm, bổ sung 4 mL Na₂CO₃ 6% lắc đều. Sau đó, 1 mL thuốc thử Folin 0,2 N được thêm vào, lắc đều trước khi ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng. Tiến hành đo mật độ quang (OD) của mẫu ở bước sóng 750 nm để xác định hoạt độ protease. Kết quả được biểu thị là số µg tyrosine/mg chế phẩm dựa theo phương trình đường chuẩn tyrosin (Hình 1).



Hình 1. Phương trình đường chuẩn tyrosin

Xác định hàm lượng đạm formol

Hàm lượng đạm formol được xác định theo phương pháp chuẩn độ [11]. 10 mL moromi sau khi lọc được hút cho vào bình định mức đến 250 mL, lắc đều. Sau đó, 10 mL dung dịch trên được cho vào bình tam giác 250 mL, thêm 10 mL nước cất, 15 giọt hỗn hợp chỉ thị (dung dịch bromothymol blue 0,04% và phenolphthalein 0,5% theo tỉ lệ 15:3 (v/v)). Tiếp theo 5 mL dung dịch formol trung tính được thêm vào, lắc đều và đem chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,05 N cho đến khi dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu xanh tím. Mẫu trắng (nước cất) được thực hiện tương tự.

Hàm lượng đạm formol được tính theo công thức:

$$X \text{ (g/L)} = \frac{(a - b) \times 0,0007 \times 250 \times 1000}{10 \times 10}$$

Trong đó:

a: số mL NaOH 0,05 N đã dùng để chuẩn độ mẫu thí nghiệm.

b: số mL NaOH 0,05 N đã dùng để chuẩn độ mẫu trắng.

0,0007: lượng đạm tính bằng gam tương đương với 1 mL NaOH 0,05 N.

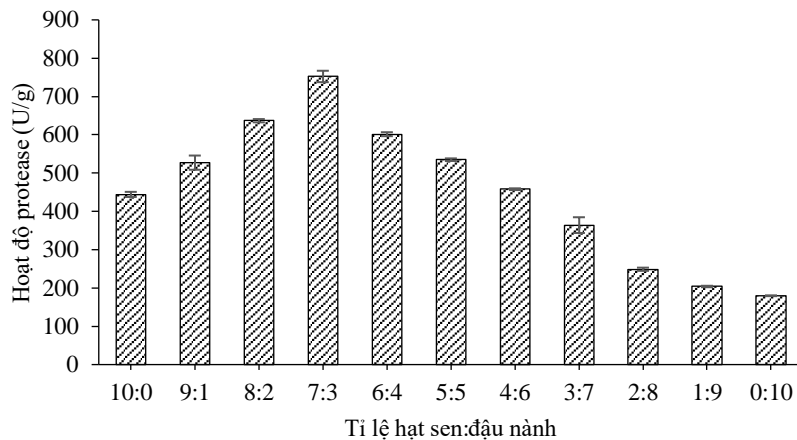
2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Trong nghiên cứu này, mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình \pm SD. Các kết quả được tính bằng phần mềm thống kê Minitab 21. Đồ thị được vẽ bằng Microsoft Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn hạt sen

Ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn hạt sen và đậu nành đến hoạt độ enzyme protease sau lên men tạo koji bằng *A. oryzae* được thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ hạt sen:đậu nành đến hoạt độ enzyme protease trong quá trình lên men bởi *Aspergillus oryzae* ở 33°C/72 giờ.

Kết quả cho thấy tỉ lệ bổ sung hạt sen có ảnh hưởng đến hoạt độ enzyme protease do nấm mốc sinh ra sau 72 giờ lên men ở nhiệt độ 33°C ($p < 0,05$). Sự có mặt của hạt sen giúp làm tăng hoạt độ protease trong sản phẩm. Khi tăng tỉ lệ hạt sen (ở các mẫu hạt sen: đậu nành (w/w) tương ứng 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; 0:10) hoạt độ enzyme protease tăng lên đáng kể và đạt giá trị cao nhất ở tỉ lệ 7:3 (752,3 U/g). Nếu tiếp tục tăng tỉ lệ hạt sen (các mẫu 8:2, 9:1 và 10:0) hoạt độ enzyme protease giảm dần.

Sự phát triển của nấm mốc phụ thuộc rất lớn vào thành phần dinh dưỡng của môi trường nuôi cấy. Theo Steinberg [12], nấm mốc, đặc biệt nhóm *Apergillus* có thể phát triển tối ưu trong môi trường chứa các thành phần khoáng đa dạng như kẽm, sắt, đồng, mangan, v.v.

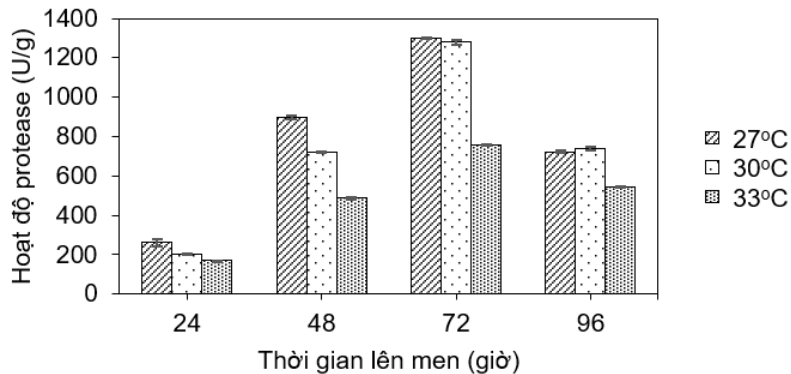
Hạt sen chứa nhiều các thành phần dinh dưỡng và khoáng chất [4]. Do đó sự kết hợp giữa hạt sen và đậu nành có thể giúp đa dạng hóa thành phần dinh dưỡng trong môi trường lên men từ đó thúc đẩy sự phát triển của vi sinh vật. Khanh và cộng sự [13] cũng cho kết quả tương tự khi nuôi cấy chủng mốc *Aspergillus oryzae* CNTP 5043 trên môi trường kết hợp mảnh ngô và

bột mì. Sau 72 giờ nuôi cấy, tỉ lệ mảnh ngô: bột mì 7:3 đạt hoạt độ protease cao nhất (645,6 UI/g) so với các tỉ lệ còn lại.

Từ kết quả trên cho thấy sự phối trộn hạt sen và đậu nành giúp cải thiện hoạt độ enzyme và đạt giá trị tốt nhất ở tỉ lệ 7 hạt sen: 3 đậu nành.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men tạo koji

Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hoạt độ enzyme protease được thể hiện ở Hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ lên men đến hoạt độ protease trong hỗn hợp hạt sen và đậu nành lên men sử dụng *A. oryzae*

Kết quả cho thấy nhiệt độ và thời gian ảnh hưởng có ý nghĩa ($p < 0,05$) đến hoạt độ enzyme trong suốt quá trình lên men hỗn hợp hạt sen và đậu nành (7:3). Hoạt độ enzyme protease tăng liên tục trong thời gian từ 24 giờ đến 72 giờ và đạt giá trị cực đại ở 72 giờ nuôi cấy. Sau đó, giá trị giảm dần ở 96 giờ. Quy luật này đúng ở cả ba nhiệt độ khảo sát (27, 30 và 33°C).

Về ảnh hưởng của nhiệt độ lên men, kết quả cho thấy nhiệt độ càng cao, hoạt độ enzyme giảm dần. Cụ thể, hoạt độ enzyme cao nhất khi *A. oryzae* được nuôi cấy ở 27°C, tiếp theo là 30°C và thấp nhất ở 33°C. Ở thời gian lên men 72 giờ, hoạt độ enzyme của mẫu được lên men ở 27°C khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) so với mẫu ở 30°C và đạt giá trị cao nhất là 1297,82 U/g.

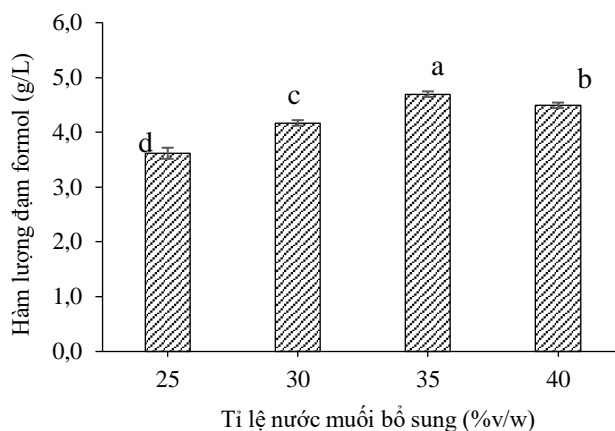
Trong suốt quá trình lên men (0-96 giờ), nấm mốc có sự biến đổi rõ rệt về màu sắc sinh khối từ màu xanh vàng chuyển sang nâu sậm, sợi nấm dài hơn. Điều này cho thấy mốc đã già đi và yếu dần. Sự suy giảm về sinh khối nấm mốc sẽ dẫn đến sự giảm dần của hoạt độ protease. Kết quả tương tự được thể hiện trong nghiên cứu của Hương và Trang [14]. Nhóm tác giả đã nuôi cấy hỗn hợp *A. oryzae* KZ3 và *A. awamori* HK1 trong môi trường bán rắn và thu được sinh khối cao nhất sau 72 giờ (8,608 Log₁₀g/g) và hoạt độ protease là 1976,30 UI/g. Kéo dài thời gian nuôi cấy đến 120 giờ, sinh khối không tăng nữa và giá trị hoạt độ protease giảm dần. Theo Lương Đức Phẩm [15], thời gian phù hợp để nuôi cấy chủng *A. awamori* thu nhận enzyme là khoảng 48-72 giờ.

Bên cạnh thời gian lên men, nhiệt độ cũng là một yếu tố quyết định đến sự phát triển của *A. oryzae*, từ đó ảnh hưởng đến hoạt độ enzyme. Morimura và cộng sự [16] đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sản sinh protease sử dụng *Aspergillus usami* mut. shirousami IFO 6082. Trong 3 nhiệt độ khảo sát 25, 30 và 35°C, nhiệt độ 30°C cho hoạt độ enzyme protease cao nhất và đạt 240 U/mL.

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ 30°C trong 72 giờ là phù hợp để lên men tạo koji từ hỗn hợp hạt sen: đậu nành (7:3).

3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nước muối bổ sung tạo moromi

Một trong những yếu tố quyết định đến chất lượng của sản phẩm nước tương là quá trình ủ tạo moromi. Trong quá trình này, những biến đổi về vi sinh vật và sinh hóa ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm lên men cuối cùng [17]. Các quá trình thủy phân protein, chất béo và carbohydrate thành acid amin, acid béo và monosaccharide được diễn ra. Việc xác định nồng độ muối trong quá trình lên men của moromi quyết định chất lượng của nước tương. Trong nghiên cứu này, sau khi lên men hỗn hợp hạt sen và đậu nành với *A. oryzae*, koji được phối trộn với nước muối 10% với các tỉ lệ 25, 30, 35 và 40% so với lượng koji. Kết quả được thể hiện ở Hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của tỉ lệ nước muối đến hàm lượng đậm formol trong moromi sau khi ủ ở 50°C/48 giờ
(Các chữ cái a, b, c, d trên mỗi cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các mẫu ($p < 0,05$))

Kết quả cho thấy tỉ lệ nước muối bổ sung ảnh hưởng đến hàm lượng đậm formol của moromi. Hàm lượng đậm formol có xu hướng tăng dần theo tỉ lệ nước muối bổ sung. Cụ thể, hàm lượng đậm formol thấp nhất được quan sát ở mẫu bổ sung 25% nước muối (3,62 g/L) và tăng dần cho đến tỉ lệ 35% (4,7 g/L). Ở tỉ lệ bổ sung 40%, giá trị đậm formol trong mẫu giảm còn 4,49 g/L.

Mục đích của dung dịch nước muối cho vào giúp cải thiện giá trị cảm quan và ức chế sự hoạt động của các vi sinh vật đặc biệt là nhóm vi sinh vật gây chua, thối [17]. Su và cộng sự [18] báo cáo rằng sự kết hợp giữa nhiệt độ cao (45°C) và hàm lượng muối thấp (5%) là cách tốt nhất để thúc đẩy sự hoạt động của enzyme trong quá trình lên men moromi. Hoang và cộng sự [19] đã sử dụng dung dịch nước muối 5% bổ sung vào koji theo tỉ lệ 2:1 (w/w) và ủ ở 45°C trong 2 ngày. Kết quả cho thấy hàm lượng acid amin được tạo ra cao, tuy nhiên hàm lượng đường khử thấp.

Trong nghiên cứu này, tỉ lệ nước muối 35% (v/w) bổ sung cho hàm lượng đậm formol tốt hơn so với các tỉ lệ còn lại.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ moromi

Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ moromi đến hàm lượng đậm formol được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ đến hàm lượng đạm formol trong moromi

STT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Hàm lượng đạm formol (g/L)
1	45	24	3,21 ^h ± 0,10
2		48	4,32 ^f ± 0,10
3		72	4,84 ^d ± 0,13
4		96	5,13 ^c ± 0,20
5	50	24	3,79 ^g ± 0,10
6		48	4,73 ^{de} ± 0,00
7		72	6,01^a ± 0,10
8		96	6,06 ^a ± 0,10
9	55	24	3,97 ^g ± 0,10
10		48	4,49 ^{ef} ± 0,09
11		72	4,84 ^d ± 0,05
12		96	5,43 ^b ± 0,10

(Các chữ cái từ a-h thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các mẫu trong cùng một cột ($p < 0,05$))

Kết quả cho thấy ở các nhiệt độ và thời gian ủ khác nhau, hàm lượng đạm formol thay đổi đáng kể. Ở nhiệt độ 45°C, hàm lượng đạm formol là thấp nhất (3,21 g/L) ở 24 giờ, khi lên đến 96 giờ hàm lượng đạm formol vẫn còn tăng (5,13 g/L). Khi lên men ở nhiệt độ 50°C, hàm lượng đạm formol thấp nhất (3,79 g/L) ở 24 giờ đầu, khi tăng lên 72 giờ hàm lượng đạm formol đạt cực đại (6,01 g/L), sau 96 hàm lượng đạm formol vẫn tăng nhưng không đáng kể ($p > 0,05$). Ở nhiệt độ 55°C, hàm lượng đạm formol tại 24 giờ đầu là 3,97 g/L và đạt nồng độ 5,43 g/L sau 96 giờ. Các số liệu này cho thấy, nhiệt độ ủ càng cao sẽ làm tăng hàm lượng đạm formol sinh ra trong thời gian đầu (24 giờ). Tuy nhiên, theo thời gian, các mẫu được ủ ở nhiệt độ cao hơn (55°C) hay thấp hơn (45°C) cho hiệu quả sản sinh đạm formol thấp hơn so với mẫu ở 50°C.

Huang và Teng [20] báo cáo quá trình ủ ở nhiệt độ thấp hơn cho sản phẩm tốt hơn do thời gian hoạt động của enzyme lâu hơn. Điều này có nghĩa là nhiệt độ thấp sẽ cần thời gian ủ dài hơn và ngược lại do hoạt tính của enzyme bị ảnh hưởng. Một số sản phẩm tương truyền thống của Trung Quốc được sản xuất tại nhiệt độ ủ moromi 28-40°C trong vài tháng đến vài năm. Một số nghiên cứu được thực hiện nhằm rút ngắn thời gian ủ thông qua việc tăng nhiệt độ ủ chín. Khi tăng nhiệt độ khoảng 40-55°C thời gian ủ moromi giảm còn 15-30 ngày [20, 21]. Trong một nghiên cứu khác của Hoang và cộng sự [21], nhóm tác giả đã tối ưu hóa điều kiện ủ moromi từ đậu nành kết hợp với lúa mì. Kết quả thu được hàm đạm tổng số và đạm amin đạt giá trị tốt nhất tại điều kiện nhiệt độ 40,7°C, thời gian lên men 4,6 ngày và nồng độ nước muối 10%.

4. KẾT LUẬN

Nước tương là một gia vị truyền thống được sử dụng rộng rãi ở nhiều nước châu Á. Việc bổ sung hạt sen trong sản xuất nước tương không chỉ giúp làm tăng giá trị dinh dưỡng, đa dạng hóa hương vị mà còn thúc đẩy quá trình lên men. Trong nghiên cứu này, nước tương từ hạt sen được sản xuất dựa trên các thông số bao gồm tỉ lệ hạt sen:đậu nành 7:3 (w/w), thời gian lên men koji trong 72 giờ ở 30°C. Sau đó, koji được phối trộn với 35% (v/w) nước muối 10% và ủ trong 72 ngày ở 50°C. Kết quả nghiên cứu bước đầu cung cấp một số thông tin cơ bản về ảnh hưởng của nguyên liệu hạt sen, nhiệt độ và thời gian lên men koji, moromi từ đó hỗ trợ cho các nghiên cứu tiếp theo để nâng cao chất lượng sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tiêu chuẩn Việt Nam: TCVN 1763:2008. Nước tương. Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị. Bộ Khoa học và Công nghệ (2008).
2. Zhang, L., Zhang, L. and Xu, Y. - Effects of *Tetragenococcus halophilus* and *Candida versatilis* on the production of aroma-active and umami-taste compounds during soy sauce fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **100** (6) (2020) 2782-2790.
3. Mùì, N.V., Tân, T.Đ. and Trúc, T.T. - Sự thay đổi tính chất hóa lý của hạt sen theo độ tuổi thu hoạch. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* (11b) (2009) 327-334.
4. Bangar, S.P., Dunno, K., Kumar, M., Mostafa, H. and Maqsood, S. - A comprehensive review on lotus seeds (*Nelumbo nucifera* Gaertn.): Nutritional composition, health-related bioactive properties, and industrial applications. *Journal of Functional Foods* **89** (2022) 104937.
5. Wang, L., Cen, S., Wang, G., Lee, Y.K., Zhao, J., Zhang, H. and Chen, W. - Acetic acid and butyric acid released in large intestine play different roles in the alleviation of constipation. *Journal of Functional Foods* **69** (2020).
6. Zheng, Y., Wang, Q., Zhuang, W., Lu, X., Miron, A., Chai, T.T., Zheng, B. and Xiao, J. - Cytotoxic, antitumor and immunomodulatory effects of the water-soluble polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds. *Molecules* **21** (11) (2016).
7. Fukushima, D. - Industrialization of fermented soy sauce production centering around Japanese shoyu. *Food Science and Technology - New York-Marcel Dekker* (2004) 1-88.
8. Cui, C., Zhao, M., Li, D., Zhao, H. and Sun, W. - Biochemical changes of traditional Chinese-type soy sauce produced in four seasons during processing. *CyTA-Journal of Food* **12** (2) (2014) 166-175.
9. Zhou, W., Sun-Waterhouse, D., Xiong, J., Cui, C., Wang, W. and Dong, K. - Desired soy sauce characteristics and autolysis of *Aspergillus oryzae* induced by low temperature conditions during initial moromi fermentation. *Journal of Food Science and Technology* **56** (2019) 2888-2898.
10. Mai, L., T., T. - Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật (2009).
11. Tiêu chuẩn Việt Nam: TCVN 3707 – 90. Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng nitơ amin-amoniac. Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị. Bộ Khoa học và Công nghệ.
12. Steinberg, R.A. - The nutritional requirements of the fungus, *Aspergillus niger*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* (1935) 81-90.
13. Khanh, N.T.M., Trang, N.T. and Anh, P.T.L. - Nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp protease của một số chủng nấm mốc thuộc chi *Aspergillus*. Bản B của *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam* **62** (11) (2020).
14. Hương, D.T. and Trang, N.H. - Nghiên cứu sản xuất chế phẩm *Aspergillus oryzae* KZ3 kết hợp *Aspergillus awamori* HK1 có khả năng sinh protease cao trên môi trường bán rắn (ngô mảnh-bột mỳ). *Hue University Journal of Science: Techniques and Technology* **127** (2A) (2018) 55-68.
15. Lương Đức Phẩm - Giáo trình công nghệ lên men, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam (2010).

16. Morimura, S., Kida, K. and Sonoda, Y. - Production of protease using wastewater from the manufacture of *shochu*. Journal of Fermentation and Bioengineering **77** (2) (1994) 183-187.
17. Kremer, S., Mojet, J. and Shimojo, R. - Salt reduction in foods using naturally brewed soy sauce. Journal of Food Science **74** (6) (2009) S255-S262.
18. Su, N.W., Wang, M.L., Kwok, K.F. and Lee, M.H. - Effects of temperature and sodium chloride concentration on the activities of proteases and amylases in soy sauce koji. Journal of Agricultural and Food Chemistry **53** (5) (2005) 1521-1525.
19. Hoang, N.X., Ferng, S., Ting, C.H., Lu, Y.C., Yeh, Y.F., Lai, Y.R., Chiou, R.Y.Y., Hwang, J.Y. and Hsu, C.K. - Effect of initial 5 days fermentation under low salt condition on the quality of soy sauce. LWT **92** (2018) 234-241.
20. Huang, T.C. and Teng, D.F. - Soy sauce: manufacturing and biochemical changes. In *Handbook of food and beverage fermentation technology*, CRC Press (2004).
21. Hoang, N.X., Ferng, S., Ting, C.H., Huang, W.H., Chiou, R.Y.Y. and Hsu, C.K. - Optimizing the initial moromi fermentation conditions to improve the quality of soy sauce. LWT **74** (2016) 242-250.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SEVERAL PARAMETERS AFFECTING THE PRODUCTION OF FERMENTED SOYBEAN AND LOTUS SEED SAUCE USING *Aspergillus oryzae*

Le Thi Hong Anh*, Nguyen Bao Toan, Phan Thi Hong Lien,
Nguyen Minh Hung, Tran Ngoc Dao
Ho Chi Minh City University of Food Industry
*Email: anhlth@hufi.edu.vn

Soy sauce, the traditional condiment in many Asian countries, is produced from the fermentation of soybeans using *Aspergillus oryzae*. In this study, lotus seeds were used to partially replace soybeans in order to diversify the flavor of the traditional product. The two main stages in the soy sauce production process studied were the koji production stage from the fermentation using *A. oryzae* and the moromi production stage from the mixture of koji and a 10% brine. The results showed that the suitable lotus seed : soybean ratio for soy sauce production was 7:3 (w/w). The temperature and duration time of fermentation for koji-making were 30°C for 72 hours with a protease activity of 1279.46 ± 13.22 (U/g). The koji was then mixed with 35% (v/w) of a 10% brine and fermented at 50°C for 72 hours. The formol nitrogen content in the moromi was determined to be around 6.01 ± 0.10 (g/L). The research results show that lotus seed is the potential additional material for soysauce production while providing some basic information on lotus seed soy sauce production to support further studies in order to improve product quality.

Keywords: Formol nitrogen, koji, lotus seed fermentation, moromi, protease acitivity, soy sauce.