



NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG VI KHUẨN PROBIOTIC *Lactobacillus plantarum* TRONG CHẾ BIẾN SỮA CHUA

Đoàn Anh Dũng¹, Nguyễn Công Hà¹, Lý Nguyễn Bình¹ và Lê Nguyễn Đoàn Duy¹

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 27/06/2014

Ngày chấp nhận: 26/02/2015

Title:

Application of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* in the production of yoghurt

Từ khóa:

Lactobacillus plantarum (DC2), *Lactobacillus bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus* probiotic, sữa chua

Keywords:

Lactobacillus plantarum (DC2), *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* probiotic, yoghurt

ABSTRACT

This research aims at the use of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* (DC2) in the production of yoghurt. The incubation time of *Lactobacillus plantarum* (DC2) in MRS broth, the influence of *Lactobacillus plantarum* (DC2) density on the fermentation time and quality of yoghurt were investigated. The effect of the combination between of *Lactobacillus plantarum* (2, 4, 6 và 8%) and commercial starters (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) 0.06 (g/kg), density $8.5 \cdot 10^6$ (cfu/g) on the fermentation process and yoghurt quality has been also evaluated. The results showed that the incubation time of *Lactobacillus plantarum* during 24 hours gave the high density ($3.6 \cdot 10^9$ cfu/mL) that was appropriated for the fermentation process. The density of *Lactobacillus plantarum* of $6 \cdot 10^8$ (cfu/g) was selected for fermenting with high quality yoghurt. In addition, the milk pre-fermented with *Lactobacillus plantarum* could be added together with the starters at the ratio of 6% (based on the weight of milk) in order to produce the probiotic yoghurt.

TÓM TẮT

Với mục đích nghiên cứu sử dụng vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* (DC2) trong chế biến sữa chua, đề tài đã tiến hành các khảo sát: ảnh hưởng thời gian ủ tăng sinh trong dung dịch MRS broth đến mật số vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2); ảnh hưởng của mật số vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2) đến thời gian lên men và chất lượng của sữa chua; sự kết hợp tỷ lệ khối lượng giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* bổ sung (2, 4, 6 và 8%) và giống lactic thương mại (*Lactobacillus bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus*) 0,06 (g/kg) tương ứng với mật số $8,5 \cdot 10^6$ (cfu/g) đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy: thời gian tăng sinh thích hợp cho vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2) là 24 giờ cho mật số ($3,6 \cdot 10^9$ cfu/mL). Vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2) được sử dụng lên men ở mật số $6 \cdot 10^8$ (cfu/g) cho chất lượng sản phẩm tốt. Để nâng cao chất lượng, sản phẩm cần bổ sung sữa chua cái được lên men từ giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* với tỉ lệ 6%.

1 GIỚI THIỆU

Sữa chua là sản phẩm lên men lactic từ sữa nhờ vào sự hoạt động của vi khuẩn lactic, là nhóm vi khuẩn có lợi cho sức khỏe, giúp cho hệ thống tiêu hóa của con người hoạt động tốt. Theo tiêu chuẩn Codex về sữa lên men, sữa chua là sản phẩm sữa lên men bởi 2 giống vi khuẩn lactic là *Streptococcus thermophilus* và *Lactobacillus bulgaricus* (Codex alimentarius 2003). Ngày nay, ngoài các sản phẩm truyền thống, người tiêu dùng còn quan tâm đến các sản phẩm có giá trị chức năng để bổ sung vào khẩu phần ăn hằng ngày. Một ví dụ của việc phát triển thực phẩm chức năng từ sản phẩm truyền thống là sữa chua bổ sung probiotic. Vi khuẩn probiotic được định nghĩa là các vi sinh vật sống mà khi được sử dụng với số lượng vừa đủ, sẽ gia tăng các lợi ích về sức khỏe của người tiêu dùng, có tác dụng ngăn chặn tác hại của các vi khuẩn có hại xâm nhập vào đường ruột. (Ruisseennaars *et al.*, 2000 được trích dẫn bởi Hassans *et al.*, 2003). Đa số các loại probiotic bổ sung vào sữa đều thuộc dòng vi khuẩn *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* (Lourens-Hattingh and Viljoen, 2001). Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh mức độ an toàn và khả năng hỗ trợ sức khỏe của 2 dòng vi khuẩn này, và chúng cũng là các dòng vi khuẩn thông dụng trong hệ thống tiêu hóa của con người (Shah, 2000).

Thời gian của quá trình lên men và chất lượng của sản phẩm sữa chua phụ thuộc vào nhiều yếu tố. Trong đó, giống vi khuẩn, mật số vi khuẩn, tỷ lệ giống sử dụng và nhiệt độ lên men là các yếu tố quan trọng. Trên cơ sở đó, nghiên cứu đã khảo sát thời gian ủ tăng sinh và mật số vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* (DC2), tỷ lệ giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2) và giống vi khuẩn sữa chua thương mại đến quá trình lên men, tính chất vật lý, khả năng giữ nước và giá trị cảm quan của sản phẩm.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu thí nghiệm

– Sữa bò tươi được thu mua tại Hợp tác xã Long Hòa, phường Long Hòa, quận Bình Thủy, thành phố Cần Thơ.

– Sữa bột tách béo sản xuất tại công ty Danisco (Mỹ).

– Gelatin (độ bloom 250) và chất nhũ hóa diglyceride (E471) sản xuất bởi Gelnex Ind. E Comércio LTDA (Brazil).

– Tinh bột bắp biến tính, được sản xuất bởi công ty National Starch and Chemistry (Mỹ).

– Giống vi khuẩn acid lactic thương mại YC381 (thermophilic yoghurt culture), bao gồm hệ *Lactobacillus bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus*, công ty CHR HANSEN (Đan Mạch).

– Giống vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* (DC2) được cung cấp từ nghiên cứu của Đỗ Thị Bích Thủy – Đại học Nông Lâm, tỉnh Thừa Thiên Huế (Đỗ Thị Bích Thủy *et al.*, 2013).

– Môi trường *Lactobacillus* MRS broth (Ấn Độ), *Lactobacillus* MRS agar (Ấn Độ).

2.2 Chuẩn bị mẫu và giống vi khuẩn lên men

Phương pháp chuẩn bị chủng vi khuẩn thương mại: dùng chủng bột thương mại bao gồm *Streptococcus thermophilus* và *Lactobacillus bulgaricus* (tỷ lệ hai giống 1:1). Sữa tươi sau khi thanh trùng ở 85°C trong 15 phút, được làm nguội đến 43°C và cấy giống vi khuẩn ở nhiệt độ 43°C trong 10 phút (hoạt hóa giống).

Phương pháp ủ tăng sinh vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* (DC2): Chuẩn bị 50 mL dung dịch MRS broth (đã tiệt trùng) là môi trường tăng sinh của giống vi khuẩn probiotic. Làm nguội dung dịch đến nhiệt độ 37°C. Vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2) từ ống eppendorf (bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ -80°C) được rửa đông và cho vào dung dịch MRS broth. Sau các khoảng thời gian ủ tăng sinh khác nhau ở nhiệt độ 37°C, thực hiện đếm số khuẩn lạc và tính mật số vi khuẩn lactic.

Phương pháp chuẩn bị sữa chua cái: Sữa tươi sau khi điều chỉnh hàm lượng chất khô không béo bằng sữa bột tách béo đạt 14%, bổ sung 0,01% diglyceride, gelatin 0,07% và tinh bột biến tính 0,07%. Thanh trùng hỗn hợp dịch sữa ở 85°C trong 15 phút (Tamime và Robinson, 1999). Hỗn hợp dịch sữa sau khi làm nguội đến nhiệt độ 43°C (Lâm Xuân Thanh, 2004), bổ sung giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* và lần lượt tiến hành các lần lên men khác nhau.

Lên men lần 1: sử dụng 50 g dịch tăng sinh chứa mật số vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* thích hợp cho quá trình lên men (kết quả thí nghiệm 4) cho vào 450 g hỗn hợp dịch sữa đã chuẩn bị và ủ ở nhiệt độ 43°C đến khi pH đạt 4,6 được sử dụng như giống lên men thế hệ thứ 2.

Lên men lần 2: sử dụng 100 g sản phẩm lên men lần 1 cho vào 900 g hỗn hợp dịch sữa đã chuẩn bị, tiến hành ủ ở nhiệt độ 43°C trong 5 giờ. Sau mỗi giờ lên men ghi nhận pH và lượng acid

lactic sinh ra (giống lên men thể hệ thứ 3). Tương tự, tiến hành lên men lần 3, 4 và 5 để thu được giống lên men thể hệ thứ 4, 5 và 6, sử dụng trong quá trình lên men sữa chua. Sản phẩm của các lần lên men được bảo quản lạnh ở 4÷ 6°C.

Chuẩn bị dịch sữa lên men: thành phần cơ bản của sữa tươi và sữa bột sau khi được xác định, tiến hành phối trộn nguyên liệu và hiệu chỉnh hàm lượng chất khô không béo ở tỷ lệ 14%. Sau khi bổ sung 0,01% diglyceride, hỗn hợp dịch sữa được bổ sung tỷ lệ gelatin 0,07% và tinh bột biến tính 0,07%. Hỗn hợp dịch sữa được gia nhiệt ở 85°C trong 15 phút (Tamine và Robinson, 1999). Tiến hành cấy giống vi khuẩn thương mại 0,06 g/kg (Le My Hong và ctv, 2012) và bổ sung sữa chua cái được lên men từ giống vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* với các tỷ lệ khảo sát khác nhau vào hỗn hợp dịch sữa đã làm nguội. Tiến hành lên men hỗn hợp dịch sữa ở 43°C (Lâm Xuân Thanh, 2004). Dịch sữa lên men đạt pH 4,6 (Thien Trung Le, 2012) được làm lạnh đến 20°C, tiến hành rót sản phẩm vào hộp. Sản phẩm được bảo quản ở nhiệt độ 4 ÷ 6°C (Lâm Xuân Thanh, 2004).

2.3 Bố trí thí nghiệm

2.3.1 Khảo sát ảnh hưởng của thời gian ủ tăng sinh đến mật số vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2)

Nhân tố khảo sát:

Thời gian ủ tăng sinh: 16, 24, 48 và 72 giờ.

Chỉ tiêu đánh giá: Mật số vi khuẩn (cfu/mL)

sinh ra trong các thời gian ủ tăng sinh khác nhau.

2.3.2 Khảo sát ảnh hưởng của mật số vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm sữa chua

Nhân tố khảo sát:

Mật số vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (DC2) (cfu/g) thích hợp cho quá trình lên men tương ứng với thể hệ vi khuẩn thứ 3, 4, 5 và thứ 6.

Chỉ tiêu đánh giá: Trong quá trình lên men sữa chua, tiến hành theo dõi pH sản phẩm và hàm lượng acid lactic (%) sinh ra. Sản phẩm sữa chua sau khi bảo quản 24 giờ ở nhiệt độ 4 ÷ 6°C, được tiến hành đánh giá các chỉ tiêu: Độ cứng sản phẩm (gf), khả năng giữ nước của sản phẩm (WHC, %), đánh giá cảm quan sản phẩm về mùi vị, cấu trúc và trạng thái.

2.3.3 Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái bổ sung được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm sữa chua

Nhân tố khảo sát:

Tỷ lệ khối lượng (%) sữa chua cái được lên men từ giống probiotic *Lactobacillus plantarum*: 0, 2, 4, 6 và 8%.

Chỉ tiêu đánh giá hoàn toàn tương tự như thí nghiệm 2.3.2.

2.4 Phương pháp phân tích

Phương pháp xác định các chỉ tiêu của sản phẩm được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1: Phương pháp xác định chỉ tiêu chất lượng của sữa chua

Chỉ tiêu đánh giá	Phương pháp xác định
pH	Sử dụng pH kế Vernier.
Acid lactic sinh ra (%)	Chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1N đến khi pH đạt 8,3 (Lê Thanh Mai và ctv., 2009).
Độ cứng (gf)	Sử dụng máy đo cấu trúc (Rheo Tex, Sun Science Co, LTD, Nhật Bản), đầu đo hình trụ tròn (đường kính 20 mm). Chuẩn bị mẫu sữa chua có chiều cao 20 mm được chứa trong keo nhựa có đường kính 50 mm. Cố định khoảng cách đâm xuyên của đầu đo vào mẫu là 4 mm (Nguyễn Minh Thủy và ctv., 2013).
Khả năng giữ nước (WHC, %)	Sử dụng máy ly tâm lạnh Hermle Z323K (GmbH, Đức). Sữa chua (20–25g) được ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút, nhiệt độ 5°C trong 25 phút (Sodini et al., 2006).
Vi khuẩn acid lactic (cfu/g; cfu/mL)	Phương pháp đếm mật số vi khuẩn lactic trên môi trường MRS Agar (Tamine và Robinson, 1999).
Cảm quan	Đánh giá cảm quan sử dụng phương pháp cho điểm (TCVN 3215-79).

2.5 Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành 3 lần lặp lại. Kết

quả được phân tích thống kê ANOVA bằng chương trình Statgraphic Centurion 15, sử dụng phép kiểm định LSD ở mức ý nghĩa 5%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng thời gian ủ tăng sinh đến mật độ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum*

Bảng 2: Ảnh hưởng thời gian ủ tăng sinh đến mật độ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum*

Thời gian ủ tăng sinh (giờ)	Mật số vi khuẩn lactic (cfu/mL)
16	2,13.10 ⁹
24	3,60.10 ⁹
48	2,23.10 ⁹
72	2,90.10 ⁸

Từ Bảng 2 cho thấy thời gian ủ tăng sinh đạt mật số vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* cao nhất

Bảng 3: Ảnh hưởng thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến sự thay đổi pH và hàm lượng acid lactic của sản phẩm

Thể hệ vi khuẩn	Mật số vi khuẩn (cfu/g)	pH	Hàm lượng acid lactic (%)
Thể hệ 3	4,2.10 ⁸	5,20 ^c	0,62 ^c
Thể hệ 4	5,8.10 ⁸	4,90 ^b	0,98 ^b
Thể hệ 5	6,0.10 ⁸	4,72 ^a	1,15 ^a
Thể hệ 6	6,1.10 ⁸	4,75 ^a	1,19 ^a

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức độ ý nghĩa 0,05

Kết quả Bảng 3 cho thấy, trong quá trình lên men cùng với sự giảm pH sản phẩm theo thời gian, hàm lượng acid lactic sinh ra tăng dần qua các thể hệ vi khuẩn và cao nhất ở thể hệ vi khuẩn thứ 5, thể hệ vi khuẩn thứ 6 (tương ứng với mật số vi khuẩn 6,0x10⁸ và 6,1x10⁸ cfu/g). Điều này chứng tỏ, mật số vi khuẩn 6,0.10⁸ và 6,1.10⁸ (cfu/g) thích hợp cho quá trình lên men.

Bên cạnh mật số vi khuẩn sinh ra trong quá trình lên men, các yếu tố về chất lượng như độ cứng, khả năng giữ nước, giá trị cảm quan cũng rất quan trọng đối với sản phẩm sữa chua.

Bảng 4: Ảnh hưởng của thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến độ cứng của sản phẩm

Thể hệ vi khuẩn	Mật số vi khuẩn (cfu/g)	Độ cứng (gr)
Thể hệ 3	4,2.10 ⁸	80,10 ^b
Thể hệ 4	5,8.10 ⁸	96,50 ^a
Thể hệ 5	6,0.10 ⁸	98,00 ^a
Thể hệ 6	6,1.10 ⁸	68,50 ^b

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức độ ý nghĩa 0,05

là 24 giờ. Sau khoảng thời gian này, thời gian càng dài thì các chất dinh dưỡng trong môi trường được vi sinh vật sử dụng để tăng sinh khối ngày càng giảm, sẽ có các tế bào chết đi làm giảm mật số vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* và vi khuẩn tiến đến giai đoạn suy vong.

3.2 Ảnh hưởng của thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm

Khả năng lên men của các loài vi khuẩn khác nhau là không giống nhau. Phần lớn các vi khuẩn lactic có khả năng tạo thành từ 0,5 đến 1,5% acid lactic, một số loài có thể tạo ra nhiều hơn tới 3% (Lâm Xuân Thanh, 2004). Kết quả thống kê ảnh hưởng thể hệ vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* đến sự giảm pH và hàm lượng acid lactic sinh ra trong quá trình lên men được thể hiện ở Bảng 3.

Kết quả về độ cứng của sản phẩm ở Bảng 4 chỉ ra rằng, ở thể hệ vi khuẩn thứ 4 và thứ 5 cho sản phẩm có độ cứng cao phù hợp với cấu trúc sữa chua; ở thể hệ vi khuẩn thứ 6, độ cứng của sản phẩm giảm và có sự tách nước.

Bảng 5: Ảnh hưởng thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến khả năng giữ nước của sản phẩm

Thể hệ vi khuẩn	Mật số vi khuẩn (cfu/g)	Khả năng giữ nước (%)
Thể hệ 3	4,2.10 ⁸	62,0 ^{bc}
Thể hệ 4	5,8.10 ⁸	63,44 ^b
Thể hệ 5	6,0.10 ⁸	67,50 ^a
Thể hệ 6	6,1.10 ⁸	58,69 ^c

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê, mức độ ý nghĩa 0,05

Bảng 5 cho thấy có sự khác biệt về khả năng giữ nước của sản phẩm ở các thể hệ vi khuẩn thứ 4, thứ 5 và thể hệ vi khuẩn thứ 6. Trong đó, sản phẩm lên men có khả năng giữ nước tốt nhất khi sử dụng vi khuẩn thể hệ 5 tương ứng với mật số 6,0.10⁸ (cfu/g).

Kết quả thống kê ảnh hưởng của thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến giá trị cảm quan của sản phẩm được thể hiện ở Bảng 6.

Bảng 6: Ảnh hưởng của thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến giá trị cảm quan của sản phẩm

Thể hệ vi khuẩn	Mật số vi khuẩn (cfu/g)	Trạng thái	Cấu trúc	Mùi vị
Thể hệ 3	4,2.10 ⁸	3,05 ^c	3,15 ^b	2,20 ^c
Thể hệ 4	5,8.10 ⁸	3,65 ^b	3,90 ^a	3,85 ^a
Thể hệ 5	6,0.10 ⁸	4,20 ^a	3,85 ^a	3,55 ^{ab}
Thể hệ 6	6,1.10 ⁸	3,30 ^{bc}	3,45 ^{ab}	2,65 ^{bc}

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê, mức độ ý nghĩa 0,05

Bảng 6 cho thấy, khi sử dụng các thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* khác nhau cho quá trình lên men, sản phẩm tạo ra có những đặc tính cảm quan khác nhau về trạng thái, cấu trúc và mùi vị. Ở thể hệ vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* thứ 3 tạo mùi vị, cấu trúc và trạng thái kém vì sản phẩm còn mùi của môi trường tăng sinh ban đầu. Thực tế cho thấy, khi sử dụng thể hệ vi khuẩn thứ 5, sản phẩm lên men được đánh giá cao về cả ba tiêu chí cảm quan là mùi vị, cấu trúc và trạng thái của sản phẩm.

Tóm lại, thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* thứ 5 (mật số 6.10⁸ cfu/g) là thích hợp cho lên men sữa chua, tạo sản phẩm có giá trị cảm quan cao, thời gian lên men ngắn, cấu trúc và khả năng giữ nước của sản phẩm tốt.

3.3 Ảnh hưởng tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* bổ sung đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm

Ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* bổ sung đến hàm lượng acid lactic sinh ra trong quá trình lên men được thể hiện ở Bảng 7.

Kết quả khảo sát cho thấy, khi bổ sung sữa chua cái từ giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum*, hàm lượng acid lactic sinh ra cao hơn so với việc sử dụng hoàn toàn giống vi khuẩn lactic thương mại (*Lactobacillus bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus*). Điều này chứng tỏ những loài vi khuẩn này có khả năng sinh trưởng và phát triển cùng nhau.

Bảng 7: Ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái giống probiotic *Lactobacillus plantarum* bổ sung đến hàm lượng acid của sản phẩm trong quá trình lên men

Tỷ lệ sữa chua cái giống <i>Lactobacillus plantarum</i> bổ sung (%)	Hàm lượng acid lactic (%)
0	0,92 ^d
2	0,96 ^c
4	1,03 ^b
6	1,04 ^b
8	1,06 ^a

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê, mức độ ý nghĩa 0,05

Ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* bổ sung đến sự thay đổi pH của sản phẩm trong quá trình lên men được thể hiện ở Bảng 8.

Bảng 8: Ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến sự thay đổi pH của sản phẩm trong quá trình lên men

Tỷ lệ sữa chua cái giống Lp bổ sung (%)	pH
0	5,35 ^d
2	5,04 ^c
4	4,86 ^{ab}
6	4,96 ^{bc}
8	4,84 ^a

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê, mức độ ý nghĩa 0,05

Kết quả Bảng 8 cho thấy, mức độ giảm pH có sự khác nhau giữa các tỷ lệ sữa chua cái bổ sung. Các tỷ lệ 4%, 6% và 8% thích hợp cho quá trình lên men. Tỷ lệ men cái bổ sung thích hợp, quá trình lên men diễn ra thuận lợi tạo ra lượng lớn acid lactic làm pH của sản phẩm giảm nhanh. Thực tế cho thấy, khi không bổ sung giống *Lactobacillus plantarum* quá trình lên men diễn ra chậm dẫn đến pH của sản phẩm giảm chậm và có sự khác biệt ý nghĩa so với các mẫu có bổ sung men cái từ giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum*.

Ngoài yếu tố hàm lượng acid lactic sinh ra cao (pH giảm nhanh), chất lượng sản phẩm sữa chua còn phụ thuộc vào các yếu tố chất lượng khác như cấu trúc, khả năng giữ nước và giá trị cảm quan của sản phẩm.

Bảng 9: Ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến độ cứng của sản phẩm

Tỷ lệ sữa chua cái giống Lp bổ sung (%)	Độ cứng (gr)
0	9,67 ^c
2	11,34 ^c
4	12,32 ^b
6	15,17 ^a
8	10,42 ^d

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê, mức độ ý nghĩa 0,05

Kết quả Bảng 9 cho thấy có sự khác biệt về độ cứng của sản phẩm lên men giữa các tỷ lệ sữa chua cái giống *Lactobacillus plantarum* bổ sung khác nhau. Tỷ lệ sữa chua cái bổ sung 6% cho sản phẩm có độ cứng lớn nhất và có sự khác biệt so với các mẫu còn lại.

Bảng 10: Ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến khả năng giữ nước của sản phẩm

Tỷ lệ sữa chua cái giống Lp bổ sung (%)	Khả năng giữ nước (%)
0	32,71 ^c
2	51,21 ^{ab}
4	52,78 ^{ab}
6	57,34 ^a
8	44,51 ^{bc}

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê, mức độ ý nghĩa 0,05

Bảng 10 cho thấy có sự cải thiện khả năng giữ nước của sản phẩm khi bổ sung sữa chua cái lên men từ giống *Lactobacillus plantarum*. Ở các tỷ lệ bổ sung 2%, 4% và 6 % men cái giống *Lactobacillus plantarum* cho khả năng giữ nước cao.

Kết quả cảm quan ở Bảng 11 chỉ ra rằng, sữa chua có giá trị cảm quan cao về trạng thái, cấu trúc và mùi vị khi bổ sung 6% giống sữa chua cái giống *Lactobacillus plantarum* và có sự khác biệt ý nghĩa khi sử dụng hoàn toàn giống vi khuẩn lactic thương mại. Thật vậy, theo Kiều Hữu Ảnh (2010), các loài vi khuẩn khi sinh trưởng tách biệt trong sữa sẽ tạo ra khoảng 8÷10 ppm acetaldehyde nhưng khi sinh trưởng cùng nhau, lượng axetaldehyde tạo thành sẽ tăng đến hàm lượng mong muốn là 25 ppm hoặc cao hơn.

Mật số vi khuẩn lactic có trong sản phẩm sữa chua ở các tỷ lệ bổ sung men giống *Lactobacillus plantarum* được thể hiện ở Bảng 12.

Bảng 11: Ảnh hưởng tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* đến giá trị cảm quan của sản phẩm

Tỷ lệ sữa chua cái giống Lp bổ sung (%)	Trạng thái	Cấu trúc	Mùi vị
0	3,50 ^b	2,95 ^d	3,15 ^b
2	3,55 ^b	3,23 ^c	3,05 ^b
4	3,68 ^b	3,45 ^b	3,00 ^b
6	4,05 ^a	3,78 ^a	4,05 ^a
8	3,75 ^{ab}	3,70 ^a	4,00 ^a

Các trung bình nghiệm thức đi kèm các chữ cái giống nhau trên cùng một cột không khác biệt ý nghĩa thống kê, mức độ ý nghĩa 0,05

Bảng 12: Mật số vi khuẩn lactic trong sản phẩm ở các tỷ lệ bổ sung men giống *Lactobacillus plantarum*

Tỷ lệ sữa chua cái giống Lp bổ sung (%)	Mật số vi khuẩn lactic (cfu/g)
0	10 ⁷
2	10 ⁷
4	1,10.10 ⁷
6	1,40.10 ⁷
8	1,15.10 ⁷

Kết quả Bảng 12 cho thấy, sản phẩm sữa chua có mật số cao nhất khi bổ sung 6% sữa chua cái giống *Lactobacillus plantarum*. Các tỷ lệ còn lại cho mật số vi khuẩn lactic gần giống nhau. Kết quả nghiên cứu của Vinderola *et al.* (2000) cũng cho thấy hiệu quả của việc kết hợp giữa dòng vi khuẩn probiotic với giống thương mại giúp cải thiện và giữ ổn định chất lượng của sữa chua trong thời gian bảo quản 4 tuần, ở nhiệt độ 5°C. Hơn thế nữa, nghiên cứu của Vinderola *et al.* (2000) còn chứng tỏ dòng probiotic *Lactobacillus* (trong trường hợp khảo sát là *Lactobacillus acidophilus*) có mật độ phát triển cao hơn so với dòng *Bifidobacterium bifidum*.

Tóm lại, qua khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ sữa chua cái được lên men từ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* bổ sung đến khả năng sinh acid lactic, sự thay đổi pH trong quá trình lên men và cấu trúc, khả năng giữ nước cũng như giá trị cảm quan của sản phẩm cho thấy khi kết hợp sử dụng sữa chua cái với tỷ lệ 6% và 0,06 g/kg giống thương mại (*Lactobacillus bulgaricus* và

Streptococcus thermophilus) thích hợp cho quá trình lên men và sản phẩm có chất lượng tốt.

4 KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu sử dụng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* trong chế biến sữa chua, để sản phẩm đạt chất lượng tốt và rút ngắn thời gian lên men cần tiến hành trong các điều kiện sau:

Thời gian ủ tăng sinh vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* sau 24 giờ cho mật số vi khuẩn cao nhất ($3,6.10^9$ cfu/mL), thích hợp cho quá trình lên men sữa chua.

Sản phẩm sữa chua đạt chất lượng tốt và có giá trị cảm quan cao khi sử dụng thể hệ vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* thứ 5 (mật số 6.10^8 cfu/g) cho quá trình lên men.

Để nâng cao chất lượng sản phẩm sữa chua và rút ngắn thời gian lên men cần sử dụng tỷ lệ 0,06 g/kg giống thương mại (*Lactobacillus bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus*) và bổ sung sữa chua cái được lên men từ giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* với tỷ lệ 6% về khối lượng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Codex. , 2013. Codex stan 243-2013: Standard for fermented milk.
2. Đỗ Thị Bích Thủy, Phan Thị Bé, Trần Thị Ái Luyến, 2013. Khảo sát một số đặc tính của chủng *Lactobacillus plantarum* DC2 phân lập từ sản phẩm dưa cải tại thành phố Huế, Việt Nam. Tạp chí Công nghệ sinh học tập 11, số 1. Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
3. Lâm Xuân Thanh, 2004. Công nghệ chế biến các sản phẩm sữa, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
4. Lê Mỹ Hồng, Bùi Thị Quỳnh Hoa, Dương Thị Phương Liên, Nguyễn Thị Thu Thủy, Phan Thị Thanh Quế và Lý Nguyễn Bình, 2012, Một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm Sữa chua,

Hội nghị Khoa Nông nghiệp, phát triển nông nghiệp bền vững, Đại học Cần Thơ.

5. Lourens-Hattingh A. And Viljoen B.C., 2001. Yoghurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal 11: 1-17.
6. Lê Thị Thanh Mai, 2009. Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật Hà Nội.
7. Hassan A.N., R. Ipsen, T. Jansen, and K. B. Qvist, 2003. Microstructure and Rheology of Yoghurt made with cultures differing only in their ability to produce Exopolysaccharide. J. Dairy Sci. 86:1632-1638, American Dairy Science Association.
8. Nguyễn Minh Thủy, Hồ Thanh Hương, Nguyễn Ái Thạch và Nguyễn Phú Cường, 2013. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Khảo sát ảnh hưởng của nguyên liệu (sữa, gelatin và mút đông) đến chất lượng của sữa chua trái cây. 26 : 112-120.
9. Shah N.P., 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science 83: 894-907.
10. Sodini I and Tong P.S, 2006. Milk and milk-based ingredients. In: Chandan, RC, White, CH, Kilara, A, Hui, YH, editors, Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks, Ames: Blackwell Publishing, p 167 – 1783.
11. Tamine A.Y. and Robinson R.K. 1999. Yoghurt: Science and Technology, 2nd edn, CRC Press, Boca Raton, FL, 619 pages.
12. Thien Trung Le, 2012. Purification, Analysis and Applications of Bioactive Milk Fat Globule Membrane Material. Chapter 7 – Set Yogurt Enriched with MFGM Material.
13. Vinderola C.G., Bailo N. and Reinheimer J.A., 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurt during refrigerated storage. Food Research International 33, pp. 97-102.