

NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH LÊN MEN SỮA CHUA - CANXI

Vương Trọng Hào, Tống Thị Mơ

Khoa sinh - KTNN trường ĐHSPT Hà Nội

I. Mở đầu

Trẻ em rất cần canxi cho sự phát triển của xương vì 90% thành phần xương là canxi, người già cũng rất hay bị bệnh “loãng xương”. ở Việt Nam 60% phụ nữ mãn kinh bị loãng xương, những người dưới 30 tuổi cũng bị loãng xương. Các nhà dinh dưỡng học cho rằng để bổ sung lượng canxi cho cơ thể người thì phải tập thể dục thể thao, ăn uống đủ chất và đặc biệt là uống những đồ uống có canxi như sữa - canxi.

Sữa là loại sản phẩm có giá trị dinh dưỡng đặc biệt. Nhưng ở một số trẻ em và nhất là người già trong hệ thống enzym phân giải sữa suy giảm, vi khuẩn đường ruột tranh chấp sử dụng dẫn đến hiện tượng “sùi bụng”; sữa không được phân giải, hấp thụ mà bị tống ra ngoài. Nhưng nếu sữa được chuyển hoá thành sữa chua [4] [6], trẻ em bị rối loạn tiêu hoá và người già sử dụng sữa chua lại rất tốt: tỷ lệ tiêu hoá và nhiều tác dụng khác nữa tăng lên. Người ta đã gọi sữa chua là thuốc “cải lão hoàn đồng”.

Vì vậy, để tạo nên một loại sữa - canxi và đặc biệt là thích hợp với trẻ em bị rối loạn tiêu hoá, người già, chúng tôi đã nghiên cứu quá trình lên men sữa chua - canxi. Trong phạm vi bài báo này chúng tôi giới thiệu những kết quả nghiên cứu đầu tiên về vấn đề này.

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

- Các chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ sữa chua Vinamilk.
- Các hoá chất được sử dụng đều có độ tinh khiết cao và an toàn thực phẩm.
- Môi trường phân lập vi khuẩn lactic MRS [2].
- Môi trường nuôi cấy vi khuẩn lactic MT1, MT2, MT3 [3].
- Xác định hàm lượng axit lactic [1].
- Đánh giá chất lượng sữa chua - canxi theo phương pháp cảm quan.

III. Kết quả và biện luận

1. Kết quả phân lập vi khuẩn lactic.

Từ sữa chua của Công ty sữa Vinamilk chúng tôi tiến hành phân lập vi khuẩn lactic lên men sữa chua trên môi trường MRS có CaCO_3 ở nhiệt độ $40^\circ\text{C}/28\text{h}$. Tách từng khuẩn lạc, kiểm tra hình dạng kích thước vi khuẩn, khả năng đông tụ sữa, khả năng tạo hương của các chủng vi khuẩn lactic, kết quả được ghi ở bảng 1.

Bảng 1: Kết quả phân lập vi khuẩn lactic trong sữa chua Vinamilk

STT	Chủng vi khuẩn	Ký hiệu	Khả năng đông tụ sữa	Tạo hương thơm
1	Trực khuẩn	V_1	+	Chua, thơm đặc trưng
2	Liên cầu khuẩn	V_2	+	Chua, thơm đặc trưng
3	Cầu khuẩn	V_3	-	Không thơm
4	Liên cầu trực khuẩn	V_4	\pm	Chua, không thơm
5	Liên trực khuẩn	V_5	+	Chua, không thơm
6	Cầu khuẩn	V_6	-	Không thơm

Ghi chú: + : Đông tụ sữa ; - : Không đông tụ sữa; \pm : Đông tụ sữa kém

Khi lên men sữa chua người ta thường dùng 2 chủng *L. bulgaricus* (trực khuẩn) và *S. thermophilus* (liên cầu khuẩn) để lên men sữa chua [3] [6]. Để lên men sữa chua Công ty sữa Vinamilk cũng dùng 2 chủng vi khuẩn đó [2]. Đối chiếu với tiêu chuẩn hình thái, sinh lý, sinh hoá [5] chúng tôi cho rằng: Chủng V_1 (trực khuẩn) có thể thuộc loài *L. bulgaricus*. Chủng V_2 (liên cầu khuẩn) có thể thuộc loài *S. thermophilus*

2. Lựa chọn môi trường nuôi cấy *L. bulgaricus* V_1 và *S. thermophilus* V_2

Để lựa chọn hai chủng *L. bulgaricus* V_1 và *S. thermophilus* V_2 phát triển tốt nhất trên môi trường nào, chúng tôi nuôi cấy chúng trên môi trường dịch thể MT₁, MT₂, MT₃ ở 40^oC/ 48h và xác định số lượng tế bào trên môi trường thạch đĩa MRS. Kết quả được ghi ở bảng 2.

Bảng 2: Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy đến sự phát triển của hai chủng vi khuẩn lactic

STT	Môi trường	Số lượng tế bào CFU x 10 ⁸ /ml	
		<i>S.thermophilus</i> V_1	<i>L. bulgaricus</i> V_2
1	MT1	8	63
2	MT2	106	74
3	MT3	77	58

Qua kết quả bảng 2 ta thấy hai chủng vi khuẩn lactic phát triển tốt nhất trên môi trường MT₂, có thể môi trường này đủ chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của vi khuẩn. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trần Mạnh Thắng [3].

Ảnh 1: Vi khuẩn lactic chủng *L. bulgaricus* V_1
(Ảnh chụp kính hiển vi điện tử x 24.000 lần)

Ảnh 2: Vi khuẩn lactic chủng *S.thermophilus* V_2
(Ảnh chụp kính hiển vi điện tử x 24.000 lần)

Khi nuôi cấy hai chủng vi khuẩn trên môi trường dịch thể MT₂ ở 40^oC, chúng tôi xác định mật độ quang, xác định sinh khối chủng vi khuẩn V_1 cao nhất ở 28 - 32h, còn ở chủng V_2 cao nhất ở 28-36h.

3. Nghiên cứu tỷ lệ giữa hai chủng *L. bulgaricus* V_1 và *S. thermophilus* V_2 trong hỗn hợp giống lên men

Bảng 3: Lượng axit lactic tạo thành của từng chủng và của hỗn hợp 2 chủng *L.bulgarcus* V_1 và *S. thermophilus* V_2

STT	Thời gian (h)	% axit lactic tạo thành		
		<i>L. bulgaricus</i> V_1	<i>S.thermophilus</i> V_2	Hỗn hợp 2 chủng
1	0	0,10	0,09	0,12
2	1	0,23	0,20	0,30

3	2	0,27	0,25	0,50
4	3	0,32	0,30	0,70
5	4	0,41	0,38	0,81
6	5	0,50	0,47	0,92
7	6	0,54	0,50	1,00
8	7	0,60	0,55	1,20
9	8	0,70	0,60	1,30

Để chọn ra được hỗn hợp giống lên men sữa chua tốt, chúng tôi đã trộn hai giống vi khuẩn này theo các tỷ lệ khác nhau: $V_1: V_2 = 1:1, 2: 1, 3: 1, 1: 2, 1:3$

Khả năng lên men của từng chủng và hỗn hợp hai chủng vi khuẩn $V_1 + V_2$ được đánh giá bằng % axit lactic tạo thành theo thời gian từ 0-8h. Thí nghiệm được tiến hành với lượng giống 10% (V/V). Môi trường lên men là sữa tươi tiệt trùng không có đường có chứa 3,5% chất béo (của Công ty sữa Vinamilk). Hỗn hợp hai chủng vi khuẩn $V_1: V_2$ theo tỷ lệ 2:1 khi lên men sữa chua cho chất lượng cao nhất. Kết quả được ghi ở bảng 3

4. Xác định nồng độ $CaCl_2$ để làm sữa chua - canxi.

Để tạo thành sữa chua - canxi, chúng tôi sử dụng canxi ở dạng hoà tan dễ hấp thụ cho người là $CaCl_2$. Khi thay đổi nồng độ $CaCl_2$ trong dịch lên men sữa chua từ 2,5 -15g/l dung dịch sữa và xác định ở nồng độ nào lên men sữa chua khi có mặt $CaCl_2$ vẫn đồng tụ. Kết quả được ghi ở bảng 4.

Bảng 4: Xác định sự tạo thành sữa chua - canxi khi có mặt $CaCl_2$

STT	Nồng độ $CaCl_2$ (g/l)	Khả năng đồng tụ sữa	Vị sữa
1	2,5	+	Bình thường
2	5,0	+	Bình thường
3	10,0	+	Hơi mịn
4	15,0	-	Mịn

Ghi chú: + : Đồng tụ sữa; - : Không đồng tụ sữa.

5. Xác định thời gian lên men sữa chua - canxi

Khả năng đồng tụ sữa và pH thay đổi trong quá trình lên men sữa chua- canxi (5g/l) và đối chứng không có $CaCl_2$ kết quả được ghi ở bảng 5.

Kết quả bảng 5 cho thấy sữa chua lên men bình thường chỉ cần 4h (pH = 4,8) đã đồng tụ sữa. Trong khi đó lô thí nghiệm khi có mặt $CaCl_2$ (5g/l) phải 6h (pH= 4,84) mới đồng tụ sữa. Nguyên nhân do có một lượng axit lactic tạo ra phải trung hoà lượng $CaCl_2$ trong môi trường.

Bảng 5: Xác định thời gian lên men sữa chua - canxi

Thời gian (h)	Đối chứng		Hỗn hợp (V_1+V_2)	
	Khả năng đồng tụ	pH	Khả năng đồng tụ	pH
0	-	6,00	-	5,80
2	-	5,13	-	5,66
4	+	4,80	-	5,62
6	+	4,40	+	4,84
8	+	4,30	+	4,57

Ghi chú: +: Đồng tụ sữa chua; -: Không đồng tụ sữa chua.
Đối chứng: Sữa chua lên men bình thường.

Sữa chua mới đông tụ hương vị chua thơm ngon, chúng tôi chuyển sữa vào tủ lạnh ở 6°C trong 6h tạo nên một loại sữa chua đông tụ, chua nhẹ và rất thơm mát.

6. Đánh chất lượng sữa chua - canxi.

Đánh giá chất lượng sữa chua bình thường và sữa chua có bổ sung CaCl₂ (5g/l) bằng phương pháp cảm quan. Kết quả được ghi ở bảng 6.

Bảng 6: Chất lượng sữa chua - canxi và sữa chua bình thường

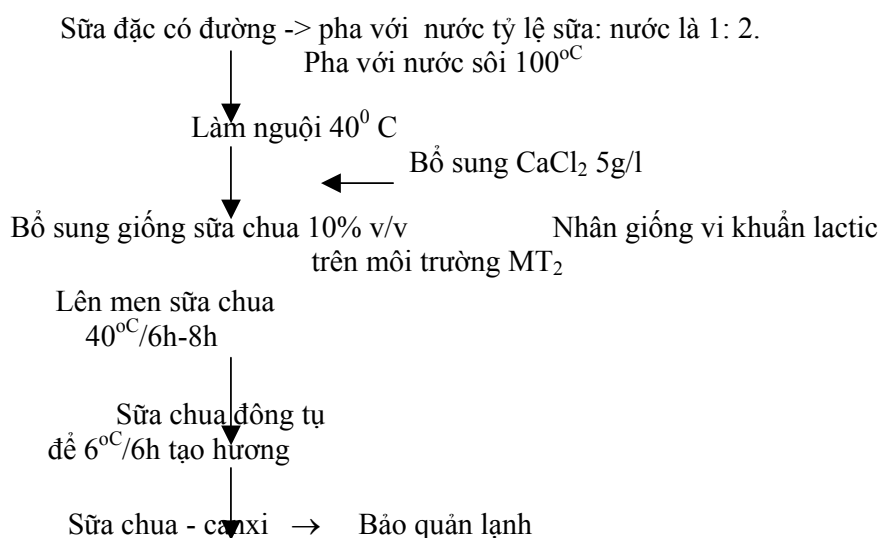
STT	Đặc điểm	Thí nghiệm (sữa chua - canxi)	Đối chứng (sữa chua bình thường)
1	Khả năng đông tụ sữa	+	+
2	Màu sắc	Tốt đẹp	Tốt đẹp
3	Vị	Chua nhẹ, hơi có vị mặn	Chua nhẹ
4	Hương thơm	Thơm mát	Thơm mát

Ghi chú: + : Đông tụ sữa.

Như vậy sữa chua - canxi ở nồng độ 5g/l và sữa chua bình thường không có gì khác nhau, chỉ có vị của sữa chua - canxi hơi mặn vì có thêm CaCl₂.

7. Quy trình công nghệ lên men sữa chua - canxi

Nghiên cứu quá trình lên men sữa chua - canxi chúng tôi đã đề xuất quy trình công nghệ lên men sữa chua - canxi như sau:



IV. kết luận

- Hai chủng vi khuẩn phân lập được từ sữa chua của Công ty Sữa Vinamilk lên men sữa chua có thể thuộc về loại trực khuẩn - *Lactobacillus bulgaricus* và liên cầu khuẩn *Streptococcus thermophilus*.
- Môi trường nuôi cấy thích hợp cho 2 chủng vi khuẩn lactic lên men sữa chua là môi trường MT₂: Nước ép cà chua - 100g/l, glucoza 10g/l, cao nấm men 10g/l, CaCO₂ 10g/l và một vài nguyên tố khoáng, pH = 6,9.
- Hai chủng *Lactobacillus bulgaricus* V₁ và *Streptococcus thermophilus* V₂ được phối hợp theo tỷ lệ 2:1 cho sữa chua chất lượng cao nhất và thời gian nhân giống là 28-36h.
- Quy trình công nghệ lên men sữa chua như sau
 - + Nồng độ CaCl₂ trong môi trường lên men là 5g/l.
 - + Thời gian lên men sữa chua - canxi 6h-8h/4°C
 - + Thời gian tạo hương cho sữa chua 6h/6°C.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Thành Đạt, Nguyễn Duy Thảo, Vương Trọng Hào (1990). *Thực hành vi sinh học*. NXB Giáo dục. tr 82.
2. Nguyễn Hoài Hà, Kiều Hữu ảnh (1998). *Nghiên cứu kỹ thuật tạo gien Alginat - canxi để cố định tế bào vi khuẩn lên men lactic dùng trong sản xuất sữa chua*. Tạp chí khoa học và công nghệ. Tập XXXVI - 6B. tr 30-38.
3. Trần Mạnh Thắng (1999). *Nghiên cứu cố định tế bào vi khuẩn lactic trong canxi - alginat và khả năng ứng dụng trong sản xuất sữa chua*. Luận văn cao học. Trường ĐH Bách khoa Hà Nội.
4. Driessen F.M; E. Spear et al (1988). *Fermented milks, Science and Technology* - Bulletin of the international dairy federation No 2, p. 27.
5. Peter H.A, Sneath N.S, Mair, M.E, Sharper, J.G, Holt (1986). *Bergey's manual of systematic bacteriology* - Williams & Wikins - Vol.2 - p.1043 -1081, p. 1209-1221.
6. Prevost H, C.Dives - Erousse (1985). *Conditions Yoghurt production with L.bulgaricus - S.thermophilus* - En traphilus - En trappedin - Ca - Alginat - Biotechnology Letters - Vol 8, p. 2.
7. Salminen S, M.A.Deighton - Y.Benno - S.K.Gorbach (1998). *Lactis acid bacteria in health and disease* - In lactis acid bacteria Microbiology and Functional aspects - Marcel Delker Inc - p.211 - 252.

Symmary

Study on Yoghurt - calcium fermentation

Vuong Trong Hao, Tong Thi Mo

1. Two bacteria strains (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) have been isolated from the Vinamilk yoghurt.
2. Suitable culture medium for these two lactis bacteria strains: MT₂ medium with tomato juice 100 g/l; glucose 10 g/l, yeast extract 10 g/l and some other mineral elements.
3. The mixture between *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* in 2:1 proportion gives the highest quality yoghurt.
4. Yoghurt - Calcium fermentation process:
 - CaCl₂ concentration in fermentation culture: 5 g/l.
 - Suitable fermentation time: 6 - 8 h/40 °C.
 - Time to form flavour: 6h/6 °C.