

NGHIÊN CỨU VI KHUẨN LACTIC TRONG YAOURT VÀ ỨNG DỤNG CHÚNG TRÊN ĐẬU NÀNH

Trịnh Thị Hồng, Dương Thị Thu Lý

Khoa sinh học, Trường đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 27 tháng 11 năm 2003)

TÓM TẮT: Phân lập vi khuẩn lactic từ những nguồn khác nhau (yaourt thị trường, đậu nành lên men,...). Chúng tôi sơ chọn được 8 chủng vi khuẩn có khả năng đông tụ sữa, trong đó 3 chủng vi khuẩn: B₁, B₅, B₆ có khả năng đông tụ sữa đậu nành tốt và cho sản phẩm có hương vị đặc trưng. Phân loại 3 chủng vi khuẩn này đến mức giống là B₁: *Lactobacillus sp.*, B₅: *Streptococcus sp.*₁, B₆: *Streptococcus sp.*₂.

Xác định được thời điểm thích hợp nhất để thu sinh khối làm yaourt là 21 giờ và số tế bào tại thời điểm này được thu từ môi trường MRS để ứng dụng vào việc làm yaourt là B₁ ($0,96 \times 10^9$ tế bào/ml), B₅ ($1,32 \times 10^9$ tế bào/ml) và B₆ ($0,63 \times 10^9$ tế bào/ml).

Xác định phương pháp làm sữa và các thông số thích hợp để làm yaourt đậu nành:

- Dựa trên phương pháp Intsoy nhưng thay đổi: có rang và ngâm 2 lần bằng NaHCO₃ 0,025% và NaHCO₃ 0,05%.
- Các thông số thích hợp để làm yaourt đậu nành:
 - + Hàm lượng giống là 10^6 tế bào/ml sữa.
 - + Thời gian đông tụ là 6 giờ, ủ ở 43°C.
 - + Phối hợp trực khuẩn: cầu khuẩn với tỷ lệ 1:1 (cặp phối hợp tốt nhất là B₁/B₅).

Sản phẩm có cấu trúc đồng nhất, mịn, màu trắng ngà, mặt láng đẹp, chua, có hương thơm, mùi đậu nhẹ và đạt hàm lượng: protein (49,738 g/l), đạm amin (2,256 g/l), và đạm amoniac không đáng kể.

Đặt vấn đề

Đậu nành là cây trồng quý và phổ biến. Hạt đậu nành rất giàu dinh dưỡng đặc biệt là protein và lipid, đóng vai trò quan trọng trong việc giải quyết vấn đề lương thực, làm thức ăn cho con người, làm nguyên liệu trong công nghiệp. Những món ăn chế biến từ đậu nành đang trở thành nhu cầu cấp bách hiện nay.

Về thành phần dinh dưỡng, đậu nành được xem là dạng thực phẩm đứng đầu về hàm lượng và chất lượng đạm có nguồn gốc từ thực vật. Một ưu điểm khác của đậu nành là sử dụng ở dạng sữa có thể tốt cho một số người so với sữa bò (không gây dị ứng). Đậu nành không có cholesterol.

Tuy vậy thành phẩm từ đậu nành có nhược điểm là mùi khó chịu, đặc trưng vốn có của đậu nành là vị đắng chát do đó ít được ưa chuộng. Ngoài ra đậu nành còn các chất kháng dưỡng như chất ức chế trypsin, chất gây đầy hơi làm trở ngại cho việc tiêu hoá.

Để khắc phục bớt một vài nhược điểm có thể lên men đậu nành tạo sản phẩm đa dạng, mở ra hướng mới về sử dụng protein thực vật. Để sản phẩm đậu nành có chất lượng tốt cần phải: loại bỏ yếu tố kháng dưỡng, giảm bớt mùi đậu nành nhằm tạo hương thơm dễ chịu hơn. Trong chiều hướng này, chúng tôi chọn giống vi khuẩn lactic trong yaourt, khảo sát đặc tính

sinh lý sinh hoá, chủ động sử dụng chúng trên cơ chất sữa đậu nành, cùng lúc khảo sát một vài yếu tố giúp cho quá trình lên men đạt chất lượng tốt và có thể chủ động nguồn giống.

Vật liệu-nội dung-phương pháp

Đối tượng chủ yếu là vi khuẩn lactic trong yaourt trên thị trường.

1.1. Vật liệu:

- Vật liệu tươi: đậu nành, cà chua, giá đậu, sữa chua vinamilk, yaourt các nơi, sữa gầy, ..
- Môi trường nuôi cấy:
MRS agar, MRS dịch thể, MRS agar có chứa CaCO_3 .
Môi trường thử khả năng lên men đường, phân giải tinh bột, phân giải protein.

1.2. Nội dung - phương pháp:

1.2.1. Phân lập, sơ chọn:

1.2.1.1. Phân lập: trên môi trường MRS có bổ sung CaCO_3 , nuôi ở 37°C . Sau 24 giờ, chọn vi khuẩn tạo vòng trong quanh khuẩn lạc do vi khuẩn sinh acid làm tan CaCO_3 . Tiếp tục pha loãng vi khuẩn và trải trên môi trường MRS đến lúc thấy hầu như chỉ có một dạng khuẩn lạc, kiểm tra độ thuần khiết bằng cách quan sát hình dạng. Cấy giữ giống.

1.2.1.2. Sơ chọn: định tính acid được tạo nên bởi vi khuẩn thông qua việc sử dụng thuốc thử uphenmen (màu xanh tím). Acid lactic sẽ phản ứng với thuốc thử và chuyển sang màu vàng rơm.

Nuôi cấy vi khuẩn đã phân lập được trong 10 ml môi trường MRS dịch thể ở 37°C trong 36-48 giờ. Ly tâm, thu dịch trong. Sử dụng dịch trong này làm phản ứng với uphenmen, quan sát sự đổi màu.

Sự đổi màu càng mạnh thì vi khuẩn càng tạo nhiều acid lactic.

Đồng thời tiến hành các ống chứng:

- + Dịch nuôi cấy vi khuẩn khác.
- + Môi trường không cấy vi khuẩn được chọn.
- + Môi trường có acid lactic 2%.

1.2.2. Chọn vi khuẩn có khả năng đông tụ tốt và cho sản phẩm có hương vị yaourt:

1.2.3.1. Chuẩn bị giống: Cấy vi khuẩn trên môi trường MRS dịch thể ở 37°C trong 36 giờ. Ly tâm 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu sinh khối. Rửa bằng dịch muối 9%, dùng huyền phù có $\text{OD}=1,5$ với tỷ lệ 10% (thể tích/thể tích) để cấy vào cơ chất. Sử dụng giống riêng lẻ và giống phối hợp trực khuẩn:cầu khuẩn (1:1).

1.2.3.2. Sơ bộ làm yaourt đậu nành:

Đậu nành, làm sạch, ngâm lần I với NaHCO_3 0,25% trong 3 giờ, rửa nước nóng, tách vỏ, ngâm lần II với NaHCO_3 0,05% trong 3 giờ, rửa bằng nước nóng, xay đậu bằng máy xay sinh tố trong 10 phút theo tỷ lệ đậu: nước =1:6 dùng nước 50°C , lọc qua vải mùng, thu dịch sữa, đun sôi nhẹ 10'-15' đến khi có mùi thơm, thu sữa đậu nành, thêm đường 15%, cấy giống, ủ ở 43°C .

Cùng lúc thực hiện 2 lô đối chứng: sữa đậu nành không cấy giống, sữa đậu nành với 10% sữa chua vinamilk.

Quan sát khả năng đông tụ sữa theo thời gian và sơ bộ thử nếm sản phẩm để đánh giá về chất lượng, cấu trúc và hương thơm.

Chọn chủng có khả năng làm yaourt tốt và tiến hành khảo sát một số đặc tính về phân loại để sơ bộ định danh.

1.2.3. Xác định thời gian có thể thu sinh khối tốt nhất:

Nuôi cấy vi khuẩn ở điều kiện thuận lợi nhất. Lấy mẫu theo dõi sự tăng trưởng của vi khuẩn vào các thời điểm 15-18-21-24-36-45 giờ bằng phương pháp đo độ đục tế bào thể hiện qua trị số mật độ quang ở 610 nm. Xác định mật độ tế bào ở thời điểm có trị số mật độ quang cao nhất bằng phương pháp đếm khuẩn lạc (trên 6 mẫu).

1.2.4. Sử dụng giống vi khuẩn được chọn trong phần 1.2.2 để làm yaourt:

1.2.4.1. Phương pháp làm sữa đậu:

Khi xử lý hạt đậu với NaHCO_3 , hạt đậu mềm hơn. Khi nghiền với nước nóng giúp protein khuếch tán dễ dàng vào dịch sữa, tránh sự hao hụt do protein bị giữ lại trong xác đậu.

Dùng phương pháp Intsoy (phương pháp I) làm sữa đậu vì cho hàm lượng protein cao và ít có mùi đậu nành, so với phương pháp cổ truyền. Nhưng do phương pháp Intsoy khó bóc vỏ nên để dễ dàng hơn chúng tôi thực hiện quá trình rang để làm nứt vỏ, và ngâm NaHCO_3 để dễ tách theo phương pháp thủ công (phương pháp II).

Quy trình phương pháp II: Đậu nành nguyên vỏ, làm sạch, rang (10 phút, nứt vỏ), ngâm lần 1 với NaHCO_3 0,25% trong 3 giờ, rửa bằng nước 50°C , tách vỏ, ngâm lần 2 với NaHCO_3 0,05% trong 3 giờ, rửa bằng nước 50°C , nghiền với nước nóng 50°C theo tỷ lệ đậu:nước 1:6, lọc, đun sôi nhẹ dịch sữa khoảng 10-15 phút, thu được sữa đậu nành.

Xác định hàm lượng đạm tổng (phương pháp Kjeldahl), xác định hàm lượng protein bằng cách lấy đạm tổng $\text{Nx}6,25$, đạm formol (phương pháp Sorensen) và đạm Amoniac trong sữa đậu nành.

Giống chuẩn được cấy ở thời gian cho sinh khối tốt nhất với tỷ lệ 10% như trên. Theo dõi đánh giá các chỉ tiêu của sản phẩm và chọn phương pháp I hay II để làm yaourt.

1.2.4.2. Chọn tỷ lệ đậu:nước:

Theo tham khảo chúng tôi chọn tỷ lệ đậu:nước=1:6 để làm thí nghiệm nhưng tỷ lệ đậu:nước sẽ cho sữa có tính chất khác nhau tùy từng loại đậu. Vì vậy chúng tôi thay đổi tỷ lệ này để có thể đạt hiệu quả kinh tế hơn.

Sử dụng đậu:nước theo tỷ lệ thay đổi 1:5, 1:6, 1:7. Cấy giống và theo dõi, đánh giá thành phẩm như trên.

1.2.4.3. Ảnh hưởng của hàm lượng giống đến thành phẩm:

Trong các thí nghiệm trên hàm lượng giống được sử dụng với tỷ lệ 10% huyền phù tế bào/ml sữa (thể tích/thể tích). Chọn tỷ lệ đậu:nước thích hợp và thay đổi mật độ tế bào: 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 tế bào/ml. Ủ mẫu ở 43°C và theo dõi theo thời gian với các chỉ tiêu trên. Nhận định và chọn 1 cặp phối trộn để nghiên cứu tiếp.

1.2.4.4. Ảnh hưởng của sự thay đổi giữa tỷ lệ trực khuẩn:cầu khuẩn:

Theo tài liệu tham khảo thường sử dụng tỷ lệ giống 1:1. Trong thí nghiệm này, sử dụng giống chuẩn trực khuẩn: cầu khuẩn theo tỷ lệ khác nhau 1:1, 1:2, 2:1. Theo dõi, đánh giá các chỉ tiêu trên và xác định sự biến đổi pH, hàm lượng acid tổng và mật độ tế bào trong quá trình đông tụ của cặp phối trộn phù hợp nhất.

Hàm lượng acid tổng được xác định theo phương pháp kiềm chuẩn với phenolphthalein là chất chỉ thị màu. Acid tổng được quy ra acid lactic.

1.2.4.5. Sự biến đổi pH, hàm lượng acid tổng, số lượng tế bào trong thời gian lên men:

Sử dụng giống chuẩn phối hợp theo tỷ lệ thích hợp, ủ mẫu và tiến hành xác định các chỉ tiêu trên.

1.2.4.6. Xác định hàm lượng đạm tổng, protein, đạm formol và đạm amoniac trong thành phẩm ở thời điểm 24, 48 giờ.

Số liệu là số trung bình cộng của 3 lần cộng lại.

1.2.5. Đánh giá cảm quan: thực hiện bởi phòng thí nghiệm Phân Tích Cảm Quan trường Đại Học Bách Khoa Tp, HCM.

Kết quả và biện luận

2.1. Phân lập, sơ chọn:

Từ các nguồn khác nhau chúng tôi phân lập được 8 chủng, kí hiệu là B₁, B₂, ..., B₈ dựa trên khả năng làm tan CaCO₃ của vi khuẩn.

B₁, B₂, B₃, B₅, B₆ : từ yaourt Vinamilk và những nơi bán lẻ.

B₄, B₇, B₈ : từ đậu nành lên men.

Khi thử nghiệm với uphenmen nhận thấy cả 8 chủng đều có khả năng chuyển màu thuốc thử từ xanh tím sang vàng rơm.

2.2. Chọn vi khuẩn có khả năng đông tụ tốt cho sản phẩm có hương vị và cấu trúc đặc trưng:

Với 8 chủng phân lập được, nuôi cấy thu sinh khối và thực hiện quá trình làm yaourt đậu nành với từng chủng riêng lẻ. Chúng tôi chọn chủng theo tiêu chuẩn sau:

- + Thời gian đông tụ ngắn, khối đông đồng nhất, tạo sản phẩm có bề mặt láng và cấu trúc mịn.
- + Sản phẩm có hương thơm, mùi đậu nành rất nhẹ, có vị chua yaourt.
- + Một dạng hình que và một dạng hình cầu.

Theo tiêu chuẩn này chúng tôi chọn được chủng B₁, B₅, B₆ do B₁ (hình que) tạo sản phẩm đạt yêu cầu về cấu trúc, khối đông, vị chua, hương thơm và thời gian đông tụ; và chủng B₅, B₆ (hình cầu) tạo sản phẩm đạt yêu cầu về hương thơm, khối đồng nhất, hương đậu thoảng nhẹ.

Từ chủng vi khuẩn riêng rẽ, tiến hành phối hợp chủng theo tỷ lệ trực khuẩn:cầu khuẩn=1:1, làm yaourt và theo dõi các chỉ tiêu như trên. Kết quả cho thấy khi có sự phối hợp vi khuẩn thời gian đông tụ rút ngắn, cấu trúc sản phẩm cũng là một khối đồng nhất, bề mặt láng mịn, có vị chua hơn chủng riêng lẻ, hương thơm và mùi vị yaourt chấp nhận được. Thí nghiệm cho thấy có sự hài hoà giữa sản phẩm trao đổi chất của từng chủng riêng lẻ để tạo hương vị đặc trưng cho sản phẩm.

Theo Bergey (tái bản lần 9), chúng tôi sơ bộ định danh chủng vi khuẩn được chọn đến cấp giống: B₁: *Lactobacillus sp.*, B₅: *Streptococcus sp.*, B₆: *Streptococcus sp.*

2.3. Xác định thời gian có thể thu sinh khối tốt nhất::

Nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường MRS dịch thể ở 37⁰C, pH= 5,8. Lấy mẫu, xác định khả năng sinh trưởng ở các thời điểm khác nhau. Kết quả ghi nhận trong bảng 2.

Bảng 2. Sự phát triển của vi khuẩn theo thời gian (giờ) được thể hiện qua trị số mật độ quang OD₆₁₀:

| Thời gian (giờ) Chủng | 0 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 | 36 | 45 |
|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| B ₁ | 0,038 | 0,346 | 0,400 | 0,442 | 0,438 | 0,430 | 0,400 | 0,377 |
| B ₅ | 0,048 | 0,472 | 0,528 | 0,546 | 0,571 | 0,532 | 0,465 | 0,378 |
| B ₆ | 0,035 | 0,142 | 0,182 | 0,302 | 0,298 | 0,300 | 0,278 | 0,250 |

Theo dõi sự phát triển của vi khuẩn sau 12 giờ nuôi cấy cho thấy có sự tăng trưởng nhanh và đạt cao ở 18 – 24 giờ sau đó biến động chậm, gần như không thay đổi đến 45 giờ. Do đó có thể nuôi cấy, thu sinh khối ở thời điểm 18 – 24 giờ. Đây là thời gian nằm trong pha log nên tế bào sẽ hoạt động mạnh, cần thu sinh khối để có lượng tế bào nhiều và hoạt động tốt.

Từ kết quả đo độ đục chúng tôi đếm số tế bào ở thời điểm 21 giờ bằng phương pháp đếm khuẩn lạc, ghi nhận kết quả trong bảng 3.

Bảng 3. Mật độ tế bào tại thời điểm thu được sinh khối cao nhất:

| Chủng | B ₁ | B ₅ | B ₆ |
|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Mật độ tế bào/ml | 0,96. 10 ⁹ | 1,32. 10 ⁹ | 0,63. 10 ⁹ |

2.4. Sử dụng giống vi khuẩn được chọn để làm yaourt:

2.4.1. Ảnh hưởng của phương pháp làm sữa :

Sử dụng đậu nành làm sữa theo phương pháp Intsoy (mẫu I) và phương pháp tự chọn (mẫu II) để làm yaourt. Xác định hàm lượng đạm tổng, protein, đạm formol, đạm amoniac trong sữa. Ghi nhận kết quả trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của phương pháp làm sữa đến tính chất sản phẩm:

| Chỉ tiêu khảo sát | Thành phần đạm của mẫu sữa (g/l) | | | | | Thời gian đông tụ (giờ) | pH khi đông tụ | Cấu trúc, mùi vị và màu sắc sản phẩm |
|--------------------------------|----------------------------------|------------|---------|--------|--------------|-------------------------------|-------------------|--|
| | Mẫu sữa | Tổng số | Protein | Formol | Amoni- ac | | | |
| B ₁ /B ₅ | Mẫu I | 8,0078 | 50,0488 | 2,0020 | 0,0015 | 6,5 | 4,55 | Đông dạng sệt, mùi đậu nhẹ, màu ngà vàng. |
| | Mẫu II | 7,9123 | 49,4519 | 1,9780 | 0,0014 | 6,0 | 4,60 | Đông đặc, mịn mùi đậu khá nhẹ, màu trắng ngà. |
| B ₁ /B ₆ | Mẫu I | 8,0078 | 50,0488 | 2,0020 | 0,0015 | 6,5 | 4,60 | Đông dạng sệt, mùi đậu nhẹ, màu ngà vàng. |
| | Mẫu II | 7,9123 | 49,4519 | 1,9780 | 0,0014 | 6,0 | 4,65 | Đông đặc, mịn, mùi đậu khá nhẹ, màu trắng ngà. |

Kết quả cho thấy khi dùng sữa được chế biến theo với phương pháp Intsoy làm yaourt thì sản phẩm chấp nhận được: hàm lượng protein 5,0%, khử mùi tốt. Nhưng với phương pháp này khó tách vỏ, do đó chúng tôi thực hiện theo phương pháp II (ngâm trong NaHCO₃ và rang làm nứt vỏ để dễ tách). Phương pháp này đạt được kết quả tốt: hàm lượng protein 4,94%, mùi đậu thoảng nhẹ, mùi sản phẩm đạt yêu cầu. Dịch sữa có độ gel thích hợp cho quá trình đông tụ tạo cấu trúc đồng nhất, láng mịn, màu sáng đẹp.

2.4.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ đậu:nước :

Sử dụng tỷ lệ đậu:nước thay đổi như sau: 1:5, 1:6, 1:7 để làm sữa. Kết quả theo dõi các chỉ tiêu được ghi nhận trong bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ đậu:nước đến kết quả đông tụ sữa:

| Thành phẩm Tỷ lệ đậu:nước | Dịch sữa | | Đặc điểm của sản phẩm | |
|------------------------------|--------------------------|---|---|--|
| | Hàm lượng protein (g/l). | Tính chất | B ₁ /B ₅ | B ₁ /B ₆ |
| 1:5 | 54,3163 | Độ sánh cao, nặng mùi đậu, có màu trắng ngà. | Đông, không mịn, bề mặt không láng, pH=4,5. | Đông, không mịn, bề mặt không láng, pH=4,55. |
| 1:6 | 49,4519 | Độ sánh vừa, thoáng mùi đậu, có màu ngà sáng. | Đông, mịn, bề mặt không láng, pH=4,6. | Đông, mịn, bề mặt không láng, pH=4,65. |
| 1:7 | 40,0635 | Lỏng, mùi đậu rất nhẹ, có màu trắng sáng. | Lỏng, mùi đậu rất nhẹ, có màu trắng sáng, pH=4,8. | Lỏng, mùi đậu rất nhẹ, có màu trắng sáng, pH=4,85. |

Kết quả cho thấy với tỷ lệ 1:5 dịch sữa có độ đậm đặc tương đối cao nên khi đông tụ cho sản phẩm có bề mặt không trơn láng, không đạt độ mịn và màu sắc không hài hòa mùi đậu nành. Trái lại, với tỷ lệ 1:6 độ sánh vừa phải, ở dạng gel, nên khi đông tụ cho sản phẩm có tính đồng nhất, mặt trơn láng, đạt độ mịn, màu sáng đẹp.

Trái lại ở tỷ lệ 1:7 hàm lượng protein thấp không đạt được sự đông tụ.

2.4.3. Ảnh hưởng của hàm lượng giống:

Với mục tiêu là khảo sát ảnh hưởng của mật độ tế bào trên sự tạo thành sản phẩm, sử dụng giống chuẩn với mật độ 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸ tế bào/ml sữa. Theo dõi các chỉ tiêu trên, ghi nhận kết quả trong bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của mật độ tế bào đến sự tạo sản phẩm:

| Mật độ tế bào (tế bào/ml) | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ | 10 ⁷ | 10 ⁸ | |
|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---|---|
| Đặc điểm sản phẩm | B ₁ /B ₅ | 6 giờ: còn lỏng, pH=5,6, không chua. | 6 giờ: còn lỏng, pH=5,14, không chua. | - 4,5 giờ: đông dạng sệt, pH=4,8, chua ít. - 6 giờ: khối đông đồng nhất, pH=3,86, có vị chua. | - 3,5 giờ: đông, pH=4,43, chua ít. - 6 giờ: pH=3,25, chua nhiều. | - 3 giờ: đông, pH=4,40, chua ít. - 6 giờ: pH=2,94, chua rất nhiều. |
| | B ₁ /B ₆ | 6 giờ: còn lỏng, pH=5,75, không chua. | 6 giờ: còn lỏng, pH=5,41, không chua. | - 4,5 giờ: đông, pH=4,57, có vị chua. - 6 giờ: pH=4,05, chua. | - 3,5 giờ: đông, pH=4,60, chua ít. - 6 giờ: pH=3,55, chua hơi nhiều. | - 3 giờ: đông, pH=4,55, chua ít. - 6 giờ: pH=3,24, đọng nước trên mặt, chua rất nhiều. |

Kết quả cho thấy số lượng tế bào ban đầu có ảnh hưởng đến quá trình đông tụ, số lượng tế bào ít (10⁴-10⁵ tế bào/ml cơ chất của 2 dạng phối hợp) thì không đủ hoạt động, kết quả là dịch sữa vẫn còn lỏng; có lẽ ảnh hưởng đến hàm lượng acid tạo thành từ đó không tác dụng tốt để tách Ca khỏi phức chất Globulin-Ca. Sau đó pH vẫn không giảm và giữ vị lờ lợ không chua, để lâu hơn có khi bị tạp nhiễm.

Ở mật độ tế bào 10⁷ thời gian đông tụ sớm, chua nhiều sau 6 giờ, do đó sản phẩm tạo vị không thích hợp, và cũng lạng phí giống.

Ở mật độ tế bào 10⁸, khoảng 3 giờ đã đông tụ, sau 6 giờ sản phẩm chua nhiều dễ bị đọng nước do khối sữa co lại. Xảy ra ở cả 2 nhóm hỗn hợp chủng.

Riêng mật độ tế bào 10⁶ sau 6 giờ tạo sản phẩm đông tụ và có vị chua vừa, ủ mát lâu hơn sẽ tạo sản phẩm có vị chua thích hợp. Từ đó chúng tôi chọn mật độ tế bào là 10⁶ và cặp phối hợp B₁/B₅ để thí nghiệm tiếp vì B₅ có khả năng phân giải protein khá rõ.

2.4.4. Ảnh hưởng của sự thay đổi tỷ lệ trực khuẩn:cầu khuẩn :

Khi thay đổi tỷ lệ trực khuẩn :cầu khuẩn như sau: 1:1, 1:2, 2:1, kết quả được ghi nhận trong bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn trực khuẩn: cầu khuẩn (B_1/B_5) trên sản phẩm:

| Tỷ lệ phối trộn | Đặc điểm sản phẩm ở các thời điểm của quá trình lên men |
|-----------------|---|
| 1:1 | - 4,5 giờ: đông, pH=4,8, chua ít. - 6giờ: đông thành khối đồng nhất, pH=3,86; vị chua và có mùi thơm. |
| 1:2 | - 5 giờ: đông, pH=4,49, chua ít. - 6giờ: đông thành khối đồng nhất, pH=4,41; có vị hơi chua và không cảm nhận được mùi thơm. |
| 2:1 | - 4 giờ: đông, pH=4,7, chua rất nhẹ. - 5giờ: đông thành khối đồng nhất, pH=3,37; chua nhiều và mùi thơm không rõ. |

Qua kết quả quan sát ảnh hưởng khi biến đổi tỷ lệ trực khuẩn: cầu khuẩn đến thành phẩm chúng tôi thấy rằng: với tỷ lệ 1:1 sản phẩm có vị chua thanh, có hương thơm, pH=3,86. Với tỷ lệ 1:2 thì sản phẩm có vị hơi chua, có hương thơm; với tỷ lệ 2:1 thì sản phẩm sau 5 giờ có vị chua nhiều, không cảm nhận được hương thơm có lẽ do nồng độ acid cao.

Từ đó kết quả cho thấy khi sử dụng 2 chủng phân lập được cũng nên sử dụng sự phối hợp với tỷ lệ 1:1 là phù hợp.

2.4.5. Sự biến đổi pH, hàm lượng acid tổng, số lượng tế bào trong thời gian lên men:

Nuôi cấy vi khuẩn và cho phối với tỷ lệ 1:1 theo dõi sự biến động của pH, hàm lượng acid tổng, số lượng tế bào theo thời gian từ 0-6 giờ (thời điểm đông tụ). Kết quả được ghi nhận trong bảng 8.

Bảng 8. Sự biến đổi pH, hàm lượng acid tổng, số lượng tế bào theo thời gian:

| Chỉ tiêu theo dõi | pH | Acid tổng (%) (qui ra acid lactic) | Số lượng tế bào ($\times 10^6$) |
|-------------------|------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Thời gian | | | |
| 0 | 6,60 | 0,047 | 1,0 |
| 1 | 6,20 | 0,170 | 2,5 |
| 2 | 6,05 | 0,381 | 9,2 |
| 3 | 5,58 | 0,560 | 36,5 |
| 4 | 5,22 | 0,600 | 145,7 |
| 5 | 4,36 | 0,750 | 564,1 |
| 6 | 3,87 | 0,830 | 756,4 |

Kết quả cho thấy : trong 2 giờ đầu của quá trình lên men pH giảm nhẹ, trong quá trình này sự phát triển của vi khuẩn tăng dần và đến giờ thứ 2,3 tạo acid làm hàm lượng này tăng lên và đạt trị số 0,83% ở giờ thứ 6. Chính hàm lượng acid này giúp cho, quá trình đông tụ được thực hiện dễ dàng.

2.4.6. Ảnh hưởng của vi khuẩn lactic trên sự biến đổi pH, hàm lượng acid tổng, đạm tổng, protein, đạm amin, đạm amoniac:

Nuôi cấy vi khuẩn và thực hiện làm yaourt. Lấy mẫu và xác định pH, hàm lượng acid tổng, đạm tổng, protein, đạm amin, đạm amoniac ở thời điểm 0 giờ, 24 giờ, 48 giờ. Kết quả ghi nhận trong bảng 9.

Bảng 9. Ảnh hưởng của vi khuẩn lactic trên sự biến đổi pH, hàm lượng acid tổng, đạm tổng, protein, đạm amin, đạm amoniac trong quá trình làm yaourt:

| Chỉ tiêu theo dõi Thời gian (giờ) | pH | Acid tổng (g/100ml) (acid lactic) | Đạm tổng (g/l) | Protein (g/l) | Đạm amin (g/l) | Đạm amoniac (g/l) | Đạm amin/đạm tổng |
|--------------------------------------|-------|--------------------------------------|----------------|---------------|----------------|-------------------|-------------------|
| 0 | 6,600 | 0,047 | 7,912 | 49,450 | 1,978 | 0,014 | 0,250 |
| 24 | 3,650 | 0,840 | 7,958 | 49,738 | 2,256 | 0,045 | 0,283 |
| 48 | 3,630 | 0,850 | 7,967 | 49,794 | 2,263 | 0,081 | 0,330 |

Kết quả cho thấy trong quá trình lên men, có sự gia tăng nhẹ về hàm lượng đạm tổng, hàm lượng protein; hàm lượng đạm amin có sự gia tăng nhiều hơn ở thời điểm 24 giờ vì B₅ có khả năng phân giải protein sữa; còn hàm lượng đạm amoniac không đáng kể. Như vậy sau khi lên men 7 giờ thực hiện ủ mát đến thời điểm 24 giờ thì yaourt có độ chua thanh, cấu trúc mịn, đồng nhất, bề mặt láng, có hương thơm chấp nhận được. Tại 24 giờ, hàm lượng acid tổng 0,84%, protein 4,97%, đạm amin 0,22%.

2.5. **Đánh giá cảm quan:** Qua kết quả đánh giá cảm quan của Phòng thí nghiệm Phân Tích Cảm Quan trường Đại Học Bách Khoa thấy rằng mẫu yaourt đậu nành làm từ giống vi khuẩn đã được chọn chấp nhận được.

Kết luận

Thu sinh khối vi khuẩn B₁: *Lactobacillus sp.*, B₅: *Streptococcus sp.* tại thời điểm 21 giờ có mật độ tế bào tương ứng là: B₁ ($0,96 \times 10^9$ tế bào/ml), B₅ ($1,32 \times 10^9$ tế bào/ml).

Sử dụng:

- + Hàm lượng giống là 10^6 tế bào/ml sữa.
- + Tỷ lệ phối hợp tốt nhất : B₁/B₅=1:1
- + Ủ ở 43°C.

Sau 6 giờ, chúng tôi thu được sản phẩm có cấu trúc đồng nhất, mịn, màu trắng ngà, mặt láng đẹp, chua, có hương thơm, mùi đậu nhẹ và đạt hàm lượng: protein (49,738 g/l), đạm amin (2,256 g/l), và đạm amoniac không đáng kể.

STUDYING ON LACTIC BACTERIA IN YOGHURT AND USING THEM TO MAKE SOYA YOGHURT

Trinh Thi Hong, Duong Thi Thu Ly

ABSTRACT: Isolating lactic bacteria from some samples: market yoghurt, fermented soya, .. We preliminarily collect 8 strains, three of them are B₁, B₅, B₆ which congeal milk well and the product have specific aromatic flavour yoghurt. Three strains are classified at the level genus: B₁: *Lactobacillus sp.*, B₅: *Streptococcus sp.*, B₆: *Streptococcus sp.*

Define the point time getting a great of mass on MRS medium is 21 hours (B₁ (0.96×10^9 cells/ml), B₅ (1.32×10^9 cells/ml) và B₆ (0.63×10^9 cells/ml)).

Define the method making milk and the fit indexes to make soya yoghurt:

- Base on the Intsoy method (method I) but fry and then soak 2 times with NaHCO₃ 0.025% and NaHCO₃ 0.05% (method II).

- The fit indexes to make soya yoghurt are:
 - + The seed is 10^6 cells/ml milk.
 - + The congealable time is 6 hours at 43°C .
 - + The rate of seed bacilli and streptococci is 1:1 ($B_1/B_5 = 1:1$).

The product have smoothly homogeneous structure, ivory-white, pretty sleeky surface, sour, aromatic, softly soya smell and protein (49.738 g/l), amin protein (2.256 g/l), and worthless ammoniac.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Bình, 2000, "*Ổn định công nghệ sản xuất sữa chua đậu nành*". Luận văn cao học chuyên ngành sinh hoá, Đại học Khoa Học Tự Nhiên.
2. Ngạc Văn Đậu, 1983, "*Chế biến đậu nành và lạp thành các thức ăn giàu protein*". Nhà xuất bản Nông Nghiệp.
3. Nguyễn Xích Liên, 1990, "*Chế biến đậu nành*". Tủ sách Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh.
4. Yeong Halie, 1994, "*Identification of soybean germ plasm*". AVRDC Shanhud tainan. Taiwan.
5. Hartley DL, Denasiaz G., "*The role of lactic acid bacteria in yogurt fermentation*". Int. J. Immunother 1993; 9:3-17.
6. Kukiart Tanteeratarm, 1993, "*Soybean processing for uses*". University of Illinois ofbana, Champaign.
7. Driessen F. M., 1981, "*Mixed cultured fermentation*". New York Academic 99-120.
8. De Vos, W. M., 1996, "*Metabolic engineering of Sugar catabolism in lactic bacteria*". Antonie Van Leurwenhock. 70, 223-242.