

NGHIÊN CỨU BỔ SUNG VI KHUẨN LACTIC LÊN MEN WHEY TRONG SẢN XUẤT ĐẬU PHỤ

Nguyễn Thị Lâm Đoàn¹*, Nguyễn Thị Diễm²

TÓM TẮT

Để cải thiện chất lượng cho sản phẩm đậu phụ truyền thống, nghiên cứu đã bổ sung chủng vi khuẩn lactic vào whey để lên men (tác nhân đông tụ trong sản xuất đậu phụ). Tiến hành các thí nghiệm khảo sát để xác định chủng vi khuẩn lactic, tỷ lệ bổ sung và thời gian lên men whey thích hợp cho sản xuất đậu phụ thông qua đánh giá pH, chất lượng cảm quan của dịch whey sau lên men và chất lượng dinh dưỡng, hiệu suất thu hồi của đậu phụ. Kết quả, đã xác định chủng *Lactobacillus fermentum* D5.5 với tỷ lệ bổ sung 3% (v/v), lên men trong 18 giờ thích hợp để tạo whey cho sản xuất đậu phụ. Sản phẩm đậu phụ tạo ra từ dịch whey có hàm lượng protein 16,18%; lipid 5,33%; hàm lượng nước 81,87%; hiệu suất thu hồi 168,67%, tổng điểm cảm quan cao nhất 18,8 điểm, đạt mức tốt. Bên cạnh đó, đậu phụ được sản xuất từ whey lên men bởi *Lactobacillus fermentum* D5.5 có chất lượng vi khuẩn hiếu khí tổng số tốt hơn đậu phụ được sản xuất từ whey không lên men. Thời gian bảo quản sản phẩm có thể kéo dài 15 ngày bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 4 - 6°C.

Từ khóa: Vi khuẩn lactic, tác nhân đông tụ, whey lên men, đậu phụ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu phụ là món ăn truyền thống nổi tiếng ở nhiều nước Đông Nam Á, một loại thực phẩm giàu dinh dưỡng và dễ tiêu hóa, đại diện cho một trong những nguồn protein rẻ tiền và được sử dụng như nguồn protein thay thế protein động vật có lợi cho sức khỏe con người [1, 2, 3]. Về cơ bản, sản xuất đậu phụ bao gồm các bước chính: Chuẩn bị sữa đậu nành và sự đông tụ protein của sữa đậu nành để tạo thành hoa đậu, sau đó ép tách nước thành bìa đậu phụ [4].

Sự đông tụ protein của sữa đậu nành là bước quan trọng trong quá trình sản xuất đậu phụ ảnh hưởng đến chất lượng và hiệu suất thu hồi đậu phụ. Tác nhân đông tụ có thể sử dụng như: Calcium sulfate, magie clorua, glucono-delta-lactone (GDL), axit lactic... [5, 4]. Nếu tác nhân đông tụ là magie chloride ($MgCl_2$) thì đậu phụ có cấu trúc quá cứng và $MgCl_2$ không tốt cho sức khỏe, còn calcium sulfate ($CaSO_4$) làm đậu phụ có mùi vị khó chịu, đặc biệt là vị đắng [5]. Đậu phụ

sản xuất bằng whey lên men tự nhiên có cảm quan tốt hơn [6]. Ở Việt Nam, các cơ sở sản xuất thường sử dụng whey lên men tự nhiên (nước chua) từ mẻ sản xuất trước làm tác nhân đông tụ [4]. Tuy nhiên, whey lên men tự nhiên với các công nghệ xử lý khác nhau phụ thuộc vào vị trí địa lý và khí hậu dẫn đến hệ vi sinh vật không đồng nhất, khiến sản phẩm đậu phụ khó có được chất lượng ổn định [3].

Vi khuẩn lactic là hệ vi khuẩn chiếm ưu thế trong whey lên men, đóng vai trò lên men chính, ảnh hưởng đến hương vị và độ axit của sản phẩm [7, 2]. Nghiên cứu whey lên men bởi vi khuẩn lactic là tác nhân đông tụ đậu phụ còn hạn chế. Nghiên cứu của Nguyễn Đức Quang (2022) [8], đã xác định các yếu tố công nghệ ảnh hưởng đến quá trình đông tụ protein và chất lượng đậu phụ Mơ Hà Nội; Nguyễn Đức Quang và Trần Thị Thu Hằng (2019) [4], đã đánh giá ảnh hưởng của thời gian lên men whey tới chất lượng đậu phụ; Đặng Thị Hải Yến và Nguyễn Thị Thương (2015) [9], nghiên cứu sản xuất đậu khuôn bằng nước ép đậu lên men lactic. Do vậy, mục đích của nghiên cứu này là sử dụng vi khuẩn lactic bổ sung vào whey lên men nhằm tạo ra một tác nhân đông tụ protein ổn định, nâng cao chất lượng sản phẩm và hiệu

¹Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Khoa Công nghệ Thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: nlldoan@hus.edu.vn

quả kinh tế hướng tới sản xuất sản phẩm đậu phụ ở quy mô công nghiệp.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vi khuẩn lactic gồm: *Lactobacillus fermentum* D5.5 phân lập từ dưa muối, *Lactococcus lactis* DV4.10 phân lập từ nem chua, *Lactobacillus brevis* C17.9 phân lập từ cà muối [10, 11].

Môi trường De Man, Rogosa, Sharpe (MRS) dịch thể và MRS agar nuôi cấy và hoạt hóa vi khuẩn lactic [12]. Môi trường Plate Count Agar (PCA) dùng để xác định vi sinh vật hiếu khí tổng số [13]. Các môi trường được hấp khử trùng 121°C/15 phút.

Hạt đậu tương giống DT84 được mua tại chợ Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội (hạt đậu tròn mẩy, đồng đều, có màu vàng sáng, hạt kém chất lượng như: Sâu, mọt, hư hỏng ít, tỷ lệ hạt lép, hạt nứt vỡ thấp).

Whey lên men lấy ở hộ kinh doanh đậu phụ ở thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp công nghệ

Sản xuất đậu phụ từ whey lên men bằng chủng vi khuẩn lactic trải qua các bước chính:

Bước 1 - Chuẩn bị chủng vi khuẩn lactic: Chủng nghiên cứu được bảo quản lạnh sâu -80°C, sau đó, được hoạt hóa trong môi trường MRS dịch thể có pH môi trường (pH = 6,7) ở 37°C/18 – 20 giờ. Tiếp theo, các chủng được cấy chuyển sang môi trường MRS lỏng nuôi ở 37°C trong 24 giờ. Dịch vi khuẩn thu được tiến hành ly tâm 4.000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút, loại bỏ dịch thu được cặn vi khuẩn, rửa sạch lại bằng nước cất từ 2 - 3 lần và tiến hành bổ sung vào dịch whey [14].

Bước 2 – Chuẩn bị dịch whey lên men: Các mẫu whey với thể tích 1 lít có thành phần gồm: Sữa đậu nành 10%, nước đun sôi để nguội 75%, mẫu đối chứng bổ sung nước chất được lấy sau khi kết tủa hoa đậu 15% sau đó hỗn hợp trên được trộn đều. Mẫu thí nghiệm thay thế nước chất đậu bằng cách bổ sung chủng vi khuẩn lactic, cụ thể là 1 lít dịch whey có thành phần gồm: Sữa đậu nành 10%,

nước đun sôi để nguội 88% và 2% giống vi khuẩn (v/v) nồng độ tế bào ban đầu 2×10^9 CFU/mL, tiến hành lên men trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng từ 30 - 35°C.

Bước 3 – Sản xuất đậu phụ từ whey lên men: Chọn đậu nành loại tốt, hạt vàng sáng, tròn mẩy rửa sạch, ngâm trong nước ở nhiệt độ phòng trong 4 – 5 giờ. Sau đó tiến hành rửa, tráng và xay cùng với nước (tỷ lệ nước: đậu = 5: 1). Tiến hành lọc ly tâm để tách bã và thu được dịch sữa đậu nành. Sau đó, dịch sữa đậu nành được gia nhiệt đến 100°C, giữ trong 5 phút và để nguội xuống khoảng 80°C [4]. Thêm dung dịch whey trong bước 2, đồng thời khuấy từ từ cho đến khi sữa đậu nành xảy ra hiện tượng đông tụ. Tỷ lệ bổ sung dịch whey lên men là khoảng 25 - 30% so với dịch sữa đậu nành. Để yên hỗn hợp hoa đậu trong khoảng 15 phút để đảm bảo sự đông tụ diễn ra tốt. Sau đó, hoa đậu được múc vào miếng vải bọc, ép tách nước và tạo hình để thu được các bìa đậu.

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.2.2.1. Xác định chủng vi khuẩn lactic phù hợp để lên men whey trong sản xuất đậu phụ

Mẫu dịch whey được tiến hành lên men bởi các chủng vi khuẩn tương ứng với các công thức CT1 (chủng D5.5), CT2 (chủng DV4.10) và CT3 (chủng C17.9). Mẫu đối chứng là mẫu whey lên men không được bổ sung vi khuẩn lactic (ĐC1). Bổ sung chủng vi khuẩn lactic với tỷ lệ 2% (v/v) ở nồng độ tế bào ban đầu 2×10^9 CFU/mL vào dịch whey. Tiến hành theo dõi pH whey lên men trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng (30 – 35°C), cứ 3 giờ lấy mẫu đo pH một lần [4]. Ngoài ra, chỉ tiêu cảm quan whey lên men ở thời điểm 24 giờ được đánh giá [9].

2.2.2.2. Xác định tỷ lệ bổ sung phù hợp của chủng vi khuẩn lactic vào whey lên men

Chủng được tuyển chọn ở thí nghiệm phần 2.2.2.1 được sử dụng để nghiên cứu tỷ lệ tiếp giống thích hợp bổ sung vào whey lên men. Trong nghiên cứu trước chỉ ra tỷ lệ thích hợp sử dụng để bổ sung vào whey dao động từ 1 - 4% (v/v) [3]. Do đó, nghiên cứu này tiến hành khảo sát tỷ lệ tiếp giống lần lượt là 1% (CT4), 2% (CT5), 3% (CT6), 4% (CT7) và 5% (CT8), lên men trong 24 giờ, ở nhiệt

độ phòng (30 - 35°C). Chỉ tiêu theo dõi: pH và cảm quan whey lên men ở thời điểm 24 giờ.

2.2.2.3. Xác định thời gian lên men whey thích hợp

Whey bổ sung vi khuẩn lựa chọn ở thí nghiệm 2.2.2.1 và tỷ lệ bổ sung vi khuẩn xác định ở thí nghiệm 2.2.2.2, được lên men ở các thời gian lên men khác nhau lần lượt: 8 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 20 giờ, 24 giờ [7]. Chỉ tiêu theo dõi: Đánh giá hàm lượng protein, hàm lượng lipid, hàm lượng nước và xác định hiệu suất thu hồi đậu phụ được đông tụ bằng whey sau thời gian lên men khác nhau. Tiến hành tương tự với mẫu đối chứng nhưng không bổ sung vi khuẩn lactic.

2.2.2.4. Đánh giá chất lượng cảm quan và mật độ vi khuẩn hiếu khí tổng số trong quá trình bảo quản sản phẩm đậu phụ

Nghiên cứu của Zielińska và cs (2015) [15], bảo quản đậu phụ có bổ sung vi khuẩn lactic được tiến hành ở nhiệt độ 4°C trong 15 ngày. Vì vậy, sản phẩm đậu phụ sản xuất từ whey lên men bởi chủng vi khuẩn lactic với tỷ lệ và thời gian lên men đã lựa chọn ở thí nghiệm 2.2.2.3 được cắt thành từng miếng nhỏ (4 cm x 3 cm x 3 cm), cho vào túi zip nhựa có chứa nước cất vô trùng và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4 - 6°C trong 15 ngày [7]. Sau đó, tiến hành đánh giá cảm quan tại thời điểm sau lên men và bảo quản 15 ngày, theo dõi mật độ tế bào vi khuẩn hiếu khí tổng số trong sản phẩm theo các ngày 0, 3, 6, 9, 12, 15 ngày bảo quản [15]. Mẫu đối chứng là mẫu không bổ sung vi khuẩn lactic.

2.2.3. Phương pháp phân tích

Xác định pH của whey lên men bằng máy đo pH (Hach, Mỹ) theo TCVN 10035: 2013 [16].

Xác định protein bằng phương pháp Kjeldhal được sử dụng để xác định hàm lượng nitơ tổng số theo TCVN 10791: 2015 [17].

Xác định hàm lượng lipid bằng phương pháp chiết bằng n-hexan theo TCVN 6555: 2011 [18].

Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp sấy khô đến khối lượng không đổi theo TCVN 8135: 2009 [19].

Xác định hiệu suất thu hồi: H được tính theo công thức của Cai và Chang (1998) [20].

$$H = \frac{m_2}{m_1} \times 100\%$$

Trong đó: m_1 , m_2 lần lượt là khối lượng đậu tương và đậu phụ tươi (g).

Xác định vi khuẩn hiếu khí tổng số bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường PCA theo Trần Linh Thuộc (2009) [13].

2.2.4. Phương pháp đánh giá cảm quan

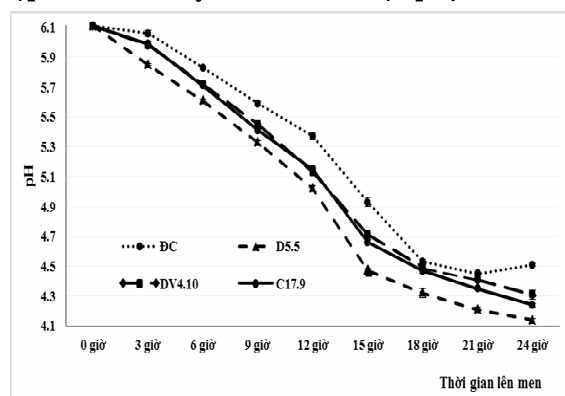
Đánh giá chất lượng cảm quan bằng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-79 [21]. Hội đồng đánh giá gồm 10 thành viên với bốn chỉ tiêu cảm quan được đánh giá gồm: Mùi, vị, màu sắc, trạng thái, với hệ số trọng lượng lần lượt của từng chỉ tiêu là 1,2; 0,8; 1,0 và 1,0 [4].

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích phương sai một nhân tố (oneway ANOVA) và so sánh cặp đôi các giá trị trung bình theo tiêu chuẩn Turkey bằng phần mềm Minitab 16.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic phù hợp lên men whey cho sản xuất đậu phụ



Hình 1. Sự biến đổi pH của các mẫu whey lên men bổ sung các chủng vi khuẩn lactic

Để chọn chủng vi khuẩn lactic phù hợp cho lên men whey các chủng *Lactobacillus fermentum* D5.5, *Lactococcus lactis* DV4.10, *Lactobacillus brevis* C17.9 được bổ sung vào whey lên men tiến hành như ở mục 2.2.2.1. Kết quả được thể hiện trong hình 1 và bảng 1. Kết quả cho thấy, tại thời điểm ban đầu, pH của whey lên men là khoảng 6,08 - 6,10, pH của whey lên men bổ sung vi khuẩn lactic giảm nhanh hơn so với whey lên men không bổ sung. Theo kinh nghiệm sản xuất đậu phụ ở làng Mơ (Mai Động, Hà Nội), nước chua sau 18 -

24 giờ lên men được sử dụng là tác nhân đồng tụ, khi đó pH nằm trong khoảng 4,1 - 4,4 [4]. Sau 24 giờ, whey lên men ở mẫu có *Lb. fermentum* D5.5 pH giảm mạnh nhất là 4,14, trong khi đó, pH công thức đối chứng là 4,51 và ở công thức sử dụng vi khuẩn DV4.10 và C17.9 có giá trị pH lần lượt là 4,31 và 4,24. Điều đó cho thấy, khi bổ sung vi khuẩn lactic vào trong whey đậu phụ giúp tăng hiệu quả của quá trình lên men lactic sản sinh axit hữu cơ, trong đó chủ yếu axit lactic làm giảm pH. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Zielińska và cs (2015) [15], đã chỉ ra mối tương quan giữa lượng axit lactic và lượng vi khuẩn lactic có trong mẫu. Số lượng vi khuẩn lactic tăng dẫn đến pH trong mẫu giảm. Mặt khác, nghiên cứu đã chỉ ra rằng, các chủng vi khuẩn lactic ngoài sinh acid làm giảm pH còn có tác dụng sinh ra chất kháng khuẩn bacteriocin làm sản phẩm đậu phụ an toàn hơn. pH giảm nhanh là một trong các yếu tố cho thấy, tốc độ phát triển mạnh của chủng vi khuẩn trong nước whey lên men [9].

Bên cạnh pH giảm nhanh trong thời gian lên men ngắn thì whey lên men cần có chất lượng cảm quan tốt để không ảnh hưởng tới chất lượng đậu phụ sau này. Chính vì vậy, whey lên men cũng được đánh giá cảm quan sau lên men 24 giờ. Whey lên men bởi *Lb. fermentum* D5.5 cho cảm quan tốt nhất với mùi thơm của đậu nành lên men, vị chua vừa phải; còn ở whey lên men không bổ sung vi khuẩn (ĐC1) ít mùi thơm, vị chua nhẹ, không rõ vị của đậu nành (Bảng 1). Trong quá trình lên men lactic, ngoài việc mang lại sự an toàn, kéo dài thời gian sử dụng, còn tạo ra nhiều chất chuyển hóa thứ cấp khác nhau như axit hữu cơ, axit béo, bacteriocin, carbon dioxide, diacetyl và một số chất khác ảnh hưởng đến kết cấu và giá trị dinh dưỡng [23], hương vị của sản phẩm [24]. Như vậy, chủng *Lb. fermentum* D5.5 là chủng được lựa chọn để lên men whey trong quá trình sản xuất đậu phụ.

Bảng 1. Đánh giá cảm quan whey lên men bởi các chủng vi khuẩn lactic

Các chủng	Chất lượng cảm quan				Tổng	Xếp loại
	Vị	Mùi	Màu	Trạng thái		
ĐC1	4,10 ± 0,1 ^b	3,06 ± 0,2 ^b	2,80 ± 0,3 ^c	4,10 ± 0,15 ^b	14,06	Trung bình
D5.5	5,1 ± 0,26 ^a	3,93 ± 0,3 ^a	4,83 ± 0,3 ^a	4,95 ± 0,28 ^a	18,81	Tốt
DV4.10	4,75 ± 0,26 ^a	3,63 ± 0,42 ^b	3,50 ± 0,15 ^{bc}	4,35 ± 0,36 ^{ab}	16,23	Khá
C17.9	4,63 ± 0,15 ^{ab}	3,2 ± 0,21 ^b	3,63 ± 0,35 ^b	4,43 ± 0,21 ^{ab}	15,89	Khá

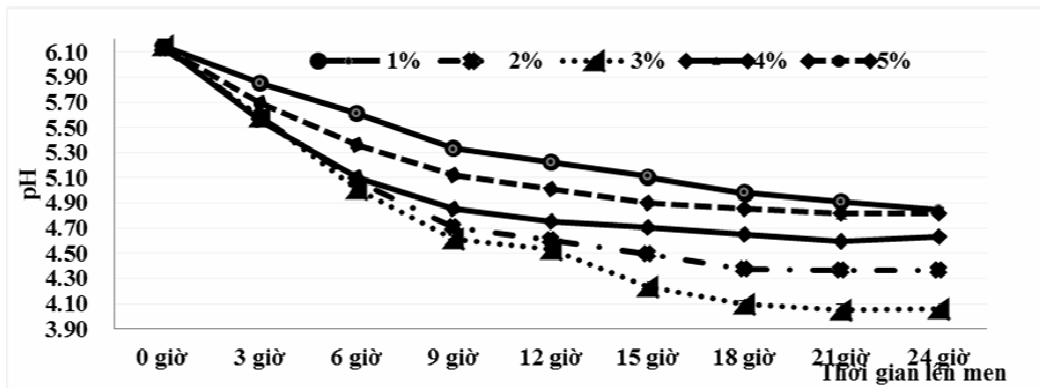
Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái ở mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ($\alpha=0,05$).

3.2. Xác định điều kiện lên men dịch whey của chủng *Lactobacillus fermentum* D5.5

3.2.1. Xác định tỷ lệ bổ sung

Tỷ lệ bổ sung vi khuẩn rất quan trọng, nếu tỷ lệ bổ sung quá ít, thời gian lên men dài, các vi sinh vật tạp nhiễm trong môi trường lên men dễ phát triển và gây hư hỏng sản phẩm. Ngược lại, nếu tỷ lệ bổ sung vi khuẩn quá nhiều thì thời gian lên men có thể được rút ngắn, nhưng làm tăng chi phí sản xuất và giảm pH nhanh, làm cho sản phẩm chưa hoàn thiện được mùi vị [25]. Do đó, nghiên cứu đã tiến hành xác định tỷ lệ bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 là 1, 2, 3, 4 và 5% như ở phần 2.2.2.2 để tìm ra được tỷ lệ bổ sung chủng D5.5 vào whey thích hợp.

Hình 2 cho thấy, pH ban đầu ở các công thức là 6,13 - 6,15. Trong 15 giờ đầu tiên, pH của whey đậu phụ giảm khá nhanh; tiếp đó pH giảm chậm dần từ khoảng thời gian 18 - 24 giờ. Điều này là do sự giảm pH dẫn đến một số vi khuẩn lactic cũng không chịu được tính axit có thể chết và tăng một số sinh vật gây hư hỏng [7]. pH giảm mạnh nhất ở công thức bổ sung tỷ lệ 3% *Lb. fermentum* D5.5. Nếu tăng tỉ lệ bổ sung vi khuẩn ở 4 và 5%, ban đầu pH giảm nhanh, sau đó có dấu hiệu giảm chậm dần lại. Nguyên nhân có thể do mật độ vi khuẩn lactic bổ sung ban đầu quá cao dẫn đến các chất dinh dưỡng trong môi trường nhanh chóng cạn kiệt, lượng axit lactic sinh ra ít, vì vậy pH của whey lên men giảm chậm dần [26].



Hình 2. Ảnh hưởng tỷ lệ *Lactobacillus fermentum* D5.5 đến pH dịch whey lên men

Ngoài ra, để tìm ra tỷ lệ bổ sung chủng *Lb. fermentum* D5.5 tốt nhất, đánh giá cảm quan whey lên men được tiến hành. Bảng 2 cho thấy, với tỷ lệ

Bảng 2. Ảnh hưởng tỷ lệ *Lactobacillus fermentum* D5.5 đến cảm quan của dịch whey lên men

Tỷ lệ vi khuẩn bổ sung (%)	Chất lượng cảm quan				Tổng	Xếp loại
	Vị	Mùi	Màu	Trạng thái		
1	4,5 ± 0,5 ^{ab}	3,18 ± 0,17 ^{ab}	3,07 ± 0,35 ^b	4,00 ± 0,36 ^{bc}	14,75	Trung bình
2	4,8 ± 0,43 ^{ab}	3,28 ± 0,33 ^{ab}	3,20 ± 0,26 ^b	4,05 ± 0,23 ^{bc}	15,33	Khá
3	5,6 ± 0,32 ^a	3,8 ± 0,19 ^a	4,6 ± 0,26 ^a	4,85 ± 0,13 ^a	18,85	Tốt
4	4,4 ± 0,1 ^b	2,86 ± 0,11 ^b	2,81 ± 0,3 ^b	4,38 ± 0,13 ^b	14,45	Trung bình
5	4,3 ± 0,3 ^b	2,85 ± 0,18 ^b	2,86 ± 0,35 ^b	3,67 ± 0,20 ^c	13,68	Trung bình

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái ở mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ($\alpha=0,05$).

Ở tỷ lệ tiếp giống 4% và 5%, whey lên men có mùi nồng khó chịu, vị chua gắt, trạng thái sữa đậu kết tủa có hiện tượng sủi bọt trong khối kết tủa, whey lên men không hấp dẫn. Tại tỷ lệ tiếp giống 1% và 2% cho cảm quan có mùi thơm và vị chua nhẹ không đặc trưng, có dịch màu trong, hơi vàng, trạng thái sữa đậu kết tủa mạnh, mịn. Với tỷ lệ tiếp giống 3% cho ra mùi thơm dịu, vị chua vừa phải, màu dịch vàng trong nổi lên trên, trạng thái sữa đậu nành kết tủa mạnh, mịn không bị sủi bọt, đáp ứng tốt về màu, mùi vị, trạng thái của sản phẩm với tổng điểm cảm quan là 18,85 điểm. Như vậy, tỷ lệ tiếp giống 3% được sử dụng để bổ sung vào whey lên men trong quá trình sản xuất đậu phụ.

3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian lên men whey đến chất lượng và hiệu suất thu hồi đậu phụ

Thời gian lên men whey có ảnh hưởng quan trọng đến chất lượng và hiệu suất thu hồi đậu phụ

[4]. Sản phẩm đậu phụ làm từ whey lên men bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 ở các thời gian lên men khác nhau và mẫu đối chứng là đậu phụ làm bằng whey không bổ sung vi khuẩn được tiến hành như mục 2.2.2.3. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Hàm lượng nước trong đậu phụ hết sức quan trọng vì ảnh hưởng đến độ mềm, cảm quan của đậu phụ khi sử dụng. Bảng 4 cho thấy, hàm lượng nước các mẫu đậu phụ khá cao > 75%. Khi đậu phụ có hàm lượng nước cao > 80%, cầm trên tay có thể cảm thấy được độ mềm dẻo và mát; ngược lại, đậu phụ có hàm lượng < 80% khá khô và cứng. Đậu phụ lên men bằng whey bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* sau 18 giờ lên men có hàm lượng nước cao nhất là 81,87%. Những thay đổi về cấu trúc của protein gây ra bởi quá trình lên men sẽ làm lộ ra những vị trí ưa nước giúp tương tác với nhiều nước hơn [26]. Ngoài ra, khi lên men whey ở thời gian

thích hợp, mạng gel tạo ra sẽ không quá cứng hoặc quá mềm giữ được một lượng nước vừa đủ, cũng như “bẫy” được vào gel các thành phần dinh dưỡng khác [4].

Hai chỉ số quan trọng nhất tạo nên mùi vị đặc trưng và giá trị dinh dưỡng của đậu phụ thành phẩm là hàm lượng protein và lipid. Protein đậu phụ càng cao thì hàm lượng dinh dưỡng càng cao. Hàm lượng protein của đậu phụ lên men bằng whey có bổ sung chủng *Lb. fermentum* D5.5 từ 11,96 - 16,18%, cao hơn so với mẫu đối chứng không bổ sung, trong đó cao nhất là đậu phụ làm từ whey lên men bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 sau 18 giờ lên men là 16,18%. Nghiên cứu của

Nguyễn Đức Quang và Trần Thị Thu Hằng (2019) [4] về ảnh hưởng của thời gian lên men whey bởi nước chua tự nhiên thu được kết quả hàm lượng protein cao nhất 14,8% sau 24 giờ lên men. Như vậy, khi sử dụng nước chua lên men bởi vi khuẩn lactic ở thời gian và tỷ lệ thích hợp đã tăng hàm lượng protein. Nghiên cứu của Yang và cs (2021) [27], đã chỉ ra quá trình lên men lactic hình thành axit dẫn đến biến tính protein đậu nành làm thay đổi cấu trúc protein và tăng khả năng kết tủa protein, tạo ra sản phẩm đậu phụ có hàm lượng protein cao hơn so với đậu phụ kết tủa bằng whey không bổ sung vi khuẩn.

Bảng 3. Thành phần dinh dưỡng của đậu phụ đông tụ bằng whey lên men bởi *Lactobacillus fermentum* D5.5 ở thời gian lên men khác nhau

Thời gian lên men (giờ)	Protein (%)		Lipid (%)		Hàm lượng nước (%)	
	ĐC	Thí nghiệm	ĐC	Thí nghiệm	ĐC	Thí nghiệm
8	10,93 ± 0,34 ^b	11,96 ± 0,35 ^d	4,78 ± 0,25 ^{ab}	5,11 ± 0,02 ^b	79,22 ± 0,04 ^b	80,42 ± 0,53 ^{ab}
12	11,73 ± 0,35 ^{ab}	13,41 ± 0,36 ^{bc}	4,62 ± 0,1 ^b	5,23 ± 0,14 ^{ab}	79,59 ± 0,47 ^{ab}	80,38 ± 0,54 ^{ab}
18	10,60 ± 0,91 ^b	16,18 ± 0,34 ^a	4,8 ± 0,12 ^{ab}	5,33 ± 0,03 ^a	77,81 ± 0,71 ^a	81,87 ± 0,53 ^a
20	13,17 ± 0,95 ^a	14,52 ± 0,07 ^b	5,05 ± 0,07 ^a	5,15 ± 0,04 ^{ab}	80,84 ± 0,46 ^a	81,10 ± 0,56 ^{bc}
24	11,66 ± 0,72 ^{ab}	12,84 ± 0,74 ^{cd}	4,96 ± 0,05 ^a	5,08 ± 0,07 ^b	76,73 ± 0,75 ^c	78,33 ± 0,896 ^c

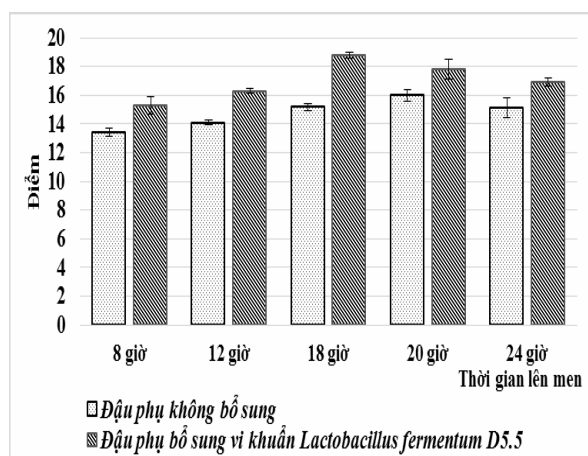
Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái ở mũ khác nhau thì khác nhau có nghĩa ($\alpha=0,05$).

Hàm lượng lipid trong các loại đậu phụ phản ánh độ béo ngậy của đậu phụ. Trong đó, mẫu đậu phụ có whey lên men bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 sau 18 giờ lên men có hàm lượng lipid cao nhất là 5,33%; trong khi đó, mẫu đậu phụ lên men bằng whey không bổ sung vi khuẩn có hàm lượng lipid cao nhất là 5,05% ở thời gian lên men sau 20 giờ. Theo Cabuk Burcu và cs (2018) [26], sau lên men đạt pH thích hợp để làm biến tính protein giúp lộ ra các phần kỵ nước giúp liên kết với chất béo nhiều hơn tạo ra sản phẩm đậu phụ có hàm lượng lipid cao.

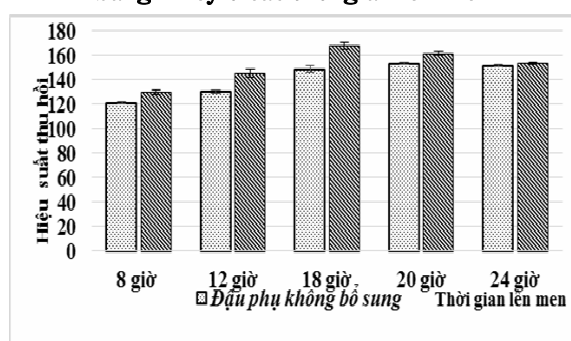
Chất lượng cảm quan đậu phụ sản xuất từ whey lên men ở các thời gian khác nhau cũng được đánh giá, kết quả thể hiện ở hình 3. Hình 3 cho thấy, đậu phụ từ whey lên men bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 ở các thời điểm lên men khác nhau cho điểm cảm quan cao hơn so với

mẫu không bổ sung vi khuẩn, đặc biệt sau 18 giờ lên men có chất lượng cảm quan tốt nhất đạt 18,8 điểm, xếp loại tốt. Điều này cho thấy, quá trình lên men của whey bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 sinh ra các hợp chất vòng thơm, các amino axit tự do làm cho sản phẩm đậu phụ khi ăn có mùi vị thơm đặc trưng của đậu tương. Ngoài ra, đậu phụ làm từ whey lên men bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 có hàm lượng protein và lipid cao, nên khi ăn có vị béo ngậy.

Hiệu suất thu hồi là một trong các yếu tố quan trọng quyết định hiệu quả của quá trình sản xuất [4]. Sau khi đánh giá các chỉ tiêu về dinh dưỡng và cảm quan đậu phụ, hiệu suất thu hồi sản phẩm cũng được tính toán. Tại các thời điểm lên men, hiệu suất thu hồi của đậu phụ làm từ whey lên men bổ sung vi khuẩn D5.5 đều cao hơn so với mẫu đối chứng không bổ sung.



Hình 3. Chất lượng cảm quan đậu phụ đông tụ bằng whey ở các thời gian lên men



Hình 4. Hiệu suất thu hồi đậu phụ từ whey ở thời gian lên men khác nhau

Hiệu suất thu hồi đậu phụ từ whey lên men bởi chủng *Lb. fermentum* D5.5 ở 18 giờ là cao nhất (168,67%) (Hình 4), cao hơn so với mẫu đậu phụ đối chứng không bổ sung vi khuẩn. Với việc bổ sung vi khuẩn lactic sinh ra axit sẽ trung hòa điện tích âm trên bề mặt các hạt protein đậu tương, khiến protein tạo thành một cấu trúc mạng liên kết tăng hiệu suất thu hồi đậu phụ [3] và hỗn hợp protein globulin chiếm hơn 70% protein đậu tương dễ dàng kết tủa [28], do vậy lượng protein đông tụ đạt hiệu quả cao nhất [4]. Nguyễn Quang Đức và Trần Thị Thu Hằng (2019) [4] đã nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên men whey bởi nước chua tự nhiên thu được kết quả hiệu suất thu hồi đậu phụ cao nhất là 159% sau 24 giờ lên men. Như vậy, kết quả nghiên cứu này cho thấy, khi sử dụng chủng vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 đã rút ngắn được thời gian lên men và hiệu suất thu sau đậu phụ cao hơn.

3.3. Đánh giá chất lượng cảm quan và vi sinh vật hiếu khí tổng số của đậu phụ trong quá trình bảo quản

3.3.1. Kết quả đánh giá chất lượng cảm quan của đậu phụ trong thời gian bảo quản

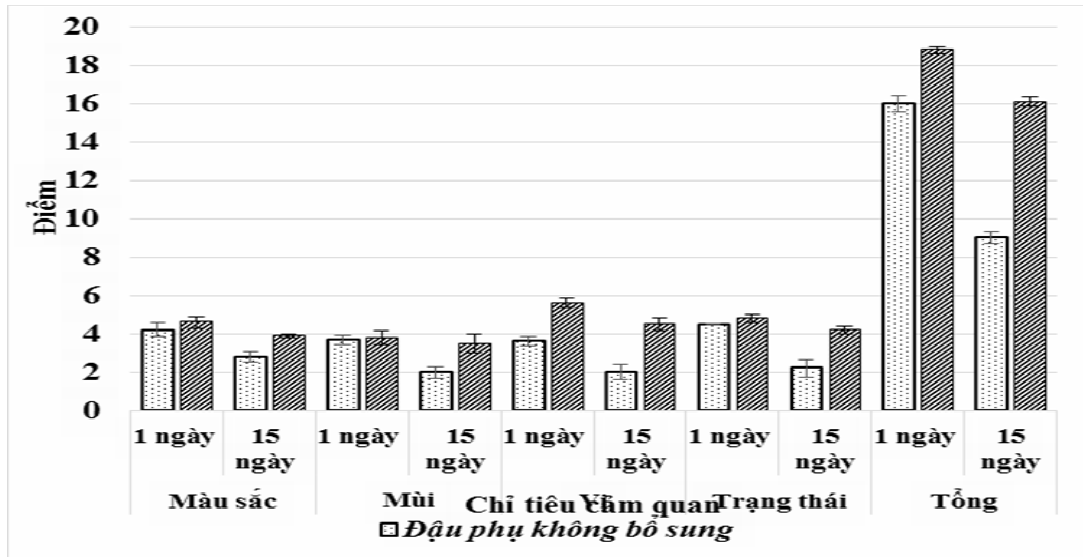
Trong bất kỳ sản phẩm nào, màu sắc là thuộc tính ảnh hưởng chính đến quan điểm, nhận thức và sự chấp nhận của người tiêu dùng [29]. Nhìn chung, người tiêu dùng đều thích đậu phụ có màu trắng ngà. Do đó, các nhà sản xuất thương mại có xu hướng duy trì màu sắc tự nhiên này của đậu tương mà không cần thêm chất tạo màu [30]. Trong nghiên cứu này, màu sắc của đậu phụ làm bằng whey lên men có bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 gần như không có sự thay đổi, đậu phụ vẫn giữ được màu trắng ngà và có điểm đánh giá cảm quan sau 15 ngày bảo quản là 3,9. Trong khi đó, đậu phụ làm bằng whey lên men không bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 thì bề mặt đậu phụ xuất hiện nhợt và có màu vàng nhạt, điểm đánh giá cảm quan sau 15 ngày bảo quản chỉ còn 2,8.

Ngoài ra, sự nhận biết về sản phẩm còn phụ thuộc vào mùi, vị. Điểm đánh giá của chỉ tiêu cảm quan mùi, vị có sự giảm dần trong thời gian bảo quản. Nhưng đậu phụ làm bằng whey bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 vẫn giữ được vị béo ngậy và mùi thơm tự nhiên đặc trưng của đậu nành, điểm cảm quan vị sau 15 ngày là 4,5 và điểm cảm quan mùi đạt 3,5 điểm. Điều này cho thấy, trong quá trình lên men của whey bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 sinh ra các hợp chất vòng thơm, các axit amin tự do làm cho sản phẩm đậu phụ có mùi thơm đặc trưng của đậu nành. Còn đậu phụ không bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 sau 15 ngày bảo quản thì có mùi chua nồng khó chịu, điểm cảm quan chỉ đạt 2 điểm. Về trạng thái, đậu phụ làm bằng whey bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 vẫn giữ được gần như cấu trúc ban đầu của đậu phụ và đạt điểm cảm quan 4,2 điểm sau 15 ngày bảo quản.

Tổng điểm cảm quan của đậu phụ làm bằng whey bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 sau 15 bảo quản vẫn đạt 16,1 điểm, đạt loại khá. Còn với đậu phụ sản xuất bằng whey lên men không bổ sung vi khuẩn, điểm cảm quan sau 15 chỉ đạt là 9 điểm, đạt mức kém.

Như vậy, sau khi kết thúc 15 ngày bảo quản đậu phụ sản xuất bằng whey lên men bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 cho cảm quan tốt hơn, mẫu đậu phụ vẫn có mùi thơm đặc trưng và chưa có dấu

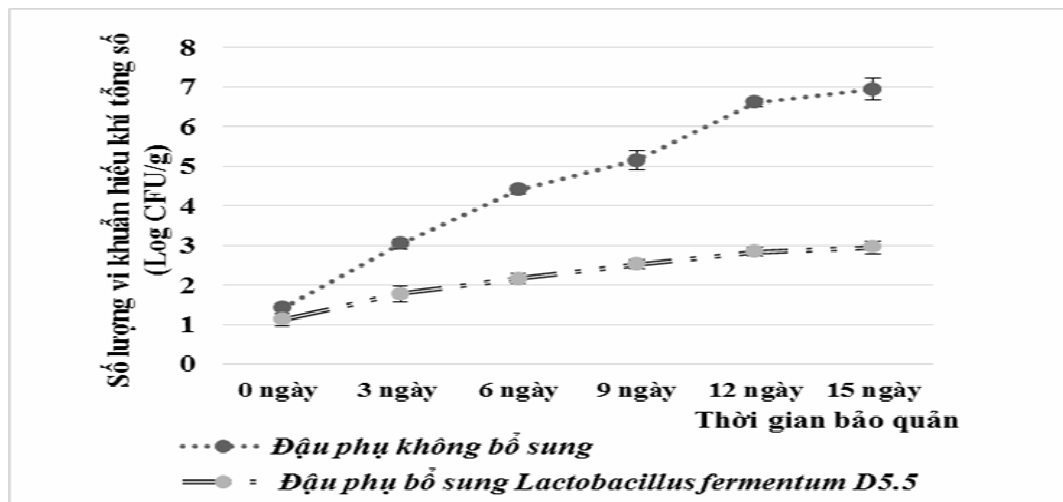
hiệu của sự hư hỏng. Điều này chứng tỏ rằng, đậu phụ sản xuất bằng whey lên men bổ sung vi khuẩn lactic có thời gian bảo quản dài hơn mẫu đậu phụ sản xuất bằng whey không bổ sung vi khuẩn.



Hình 5. Các chỉ tiêu cảm quan của mẫu đậu phụ sau 15 ngày bảo quản

3.3.2. Kết quả xác định vi khuẩn hiếu khí tổng số

Trong quá trình bảo quản, hàm lượng vi khuẩn hiếu khí tổng số là một chỉ tiêu quan trọng đánh giá mức độ vệ sinh trong chế biến và bảo quản.



Hình 6. Sự biến đổi số lượng vi khuẩn hiếu khí trong bảo quản

Hình 6 cho thấy, vi khuẩn hiếu khí tổng số trong quá trình bảo quản có tăng lên ở cả hai mẫu bổ sung và không bổ sung *Lb. fermentum* D5.5. Tuy nhiên, giữa hai công thức có sự khác nhau về số lượng. Mẫu đậu phụ sản xuất bằng whey lên men bổ sung *Lb. fermentum* D5.5 có lượng vi

khuẩn hiếu khí tổng số sau 15 ngày 2,95 Log CFU/g, ít hơn mẫu đậu phụ sản xuất whey lên men không bổ sung vi khuẩn có hàm lượng vi khuẩn hiếu khí là 6,95 Log CFU/g. Theo Đặng Thị Hải Yến và Nguyễn Thị Thương (2015) [9], đậu phụ làm bằng whey lên men bổ sung vi khuẩn lactic cũng tăng tổng lượng vi khuẩn hiếu khí

trong quá trình bảo quản lạnh. Sau 12 ngày bảo quản có hàm lượng vi khuẩn hiếu khí là 3,2 Log CFU/g. Như vậy, sản phẩm đậu phụ được tạo ra từ whey lên men bởi *Lb. fermentum* D5.5 sau 15 ngày tổng lượng vi khuẩn hiếu khí thấp hơn. Căn cứ theo quy định giới hạn ô nhiễm sinh học trong thực phẩm [31], hàm lượng vi khuẩn hiếu khí tổng số tối đa có thể có trong thực phẩm là 10^6 . Vì vậy, hàm lượng vi khuẩn hiếu khí sau 15 ngày có trong đậu phụ sản xuất bằng whey lên men bổ sung vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 vẫn nằm trong giới hạn cho phép của thực phẩm. Nghiên cứu của Serrazanetti và cs (2013) [32] cho thấy, đậu phụ lên men bởi vi khuẩn lactic có thể kéo dài thời gian bảo quản do có khả năng sinh ra một số chất kháng khuẩn như axit lactic, bacteriocin... trong quá trình lên men giúp ức chế sự phát triển của các vi sinh vật gây hư hỏng, gia tăng thời gian bảo quản của sản phẩm đậu phụ.

4. KẾT LUẬN

Lactobacillus fermentum D5.5 phù hợp cho lên men whey để sản xuất đậu phụ. Whey lên men bởi vi khuẩn *Lb. fermentum* D5.5 với tỷ lệ 3% trong 18 giờ, có chất lượng cảm quan, dinh dưỡng tốt. Sản phẩm đậu phụ từ whey lên men đảm bảo chất lượng cảm quan và vi khuẩn hiếu khí tổng số trong 15 ngày bảo quản ở nhiệt độ 4 - 6°C. Kết quả sẽ là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo để ứng dụng chủng *Lb. fermentum* D5.5 trong sản xuất đậu phụ ở quy mô lớn hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baik, O. D., Mittal, G. S. (2003). Determination and modeling of thermal properties of Tofu. *International Journal of Food Properties*. 1: 9 - 24.
2. Rossi, F., Felis, G. E., Martinelli, A., Calcavecchia, B., Torriani, S. (2016). Microbiological characteristics of fresh tofu produced in small industrial scale and identification of specific spoiling microorganisms (SSO). *LWT - Food Science and Technology*. 70, 280 - 285.
3. Li C., Xin R., Yuhui Z., Fangyuan C., Xiaohong C., Mei J. (2017). Production of tofu by lactic acid bacteria isolated from naturally fermented soy whey and evaluation of its quality. *LWT - Food Science and Technology*. 82: 227 - 234.
4. Nguyễn Quang Đức, Trần Thị Thu Hằng (2019). Ảnh hưởng của thời gian lên men whey tới chất lượng đậu phụ. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 17 (1): 55 - 63.
5. Molamma, P. P., Conrad, O. P., Suresh, V. (2006). Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. *Food Chemistry*. 99, 492 - 499.
6. Mengkebilige C. P., Wang, L. Y., Li, S. Y., Bao, S. J. (2000). Studies on biological properties of lactic acid bacterial from acidic whey. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*. 3: 90 - 93.
7. Qiao Z., Chen X. D., Cheng Y. Q., Liu H., Liu Y. Q., Li L. (2010). Microbiological and chemical changes during the production of acidic whey, a traditional Chinese tofu - coagulant. *International Journal of Food Properties*. 13 (1): 90 - 104.
8. Nguyễn Đức Quang (2022). Nghiên cứu các yếu tố công nghệ ảnh hưởng đến quá trình đông tụ protein và chất lượng đậu phụ mơ Hà Nội, định hướng sản xuất quy mô công nghiệp. Luận án tiến sĩ ngành Công nghệ thực phẩm. Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.
9. Đặng Thị Hải Yến và Nguyễn Thị Thương (2015). Sản xuất đậu khuôn bằng nước ép đậu lên men lactic. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 7: 8 - 17.
10. Nguyễn Thị Lâm Đoàn, Ngô Xuân Mạnh, Nguyễn Thị Đà, Vũ Thị Hằng, Nguyễn Xuân Bắc (2011). Phân tích trình tự gen pheS cho việc xác định loài vi khuẩn lactic sinh bacteriocin. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 49 (1): 93 - 99.
11. Nguyễn Thị Lâm Đoàn (2018). Khảo sát và định tên vi khuẩn *Lactobacillus* sp. có đặc tính probiotic từ một số thực phẩm lên men truyền thống. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 10 (95): 90 - 97.
12. De Man J. C., Rogosa M., Sharpe M. E. (1960). Medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*. (23): 130 - 135.

13. Trần Linh Thuộc (2009). *Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*. Nxb Nông nghiệp.
14. Nguyễn Thị Lâm Đoàn, Đặng Thảo Yến Linh, Trịnh Thị Thu Thủy, Nguyễn Đức Doan (2021). Phát triển sữa chua uống bổ sung xoài sử dụng chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* DH7.8 lên men. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 3+4: 164 – 170.
15. Zielińska D., Anna K., Danuta K. (2015). Development of tofu production method with probiotic bacteria addition. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*. 4 (6): 485 – 490.
16. TCVN 10035: 2013. Thực phẩm đã qua xử lý nhiệt đựng trong bao bì kín - Xác định pH.
17. TCVN 10791: 2015. Malt - Xác định hàm lượng nitơ tổng số và tính hàm lượng protein thô - Phương pháp Kjeldahl.
18. TCVN 6555: 2011 (ISO 11085: 2008). Ngũ cốc, sản phẩm từ ngũ cốc và thức ăn chăn nuôi. Xác định hàm lượng chất béo thô và hàm lượng chất béo tổng số bằng phương pháp chiết Randall.
19. TCVN 8135: 2009 (ISO 1442: 1997). Về thịt và sản phẩm thịt – Xác định độ ẩm (phương pháp chuẩn).
20. Cai T. D., Chang K. C. (1998). Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method: propeller blade size, mixing time and coagulation concentration. *Food Research International*. 31 (4): 289 - 295.
21. TCVN 3215-79. Sản phẩm thực phẩm - Phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm.
22. Ogrodowczyk, A. M., Drabinska, N. (2021). Crossroad of tradition and innovation - the application of lactic acid fermentation to increase the nutritional and health - promoting potential of plant - based food products - A Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 71: 107 - 134.
23. Ruiz Rodríguez, L. G., Zamora Gasga, V. M., Pescuma, M., Van N. C., Mozzi, F., Sánchez Burgos, J. A (2021). Fruits and fruit by - products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit - based functional beverages. *Food Research International*. 140: 1 - 49.
24. Lê Văn Việt Mẫn (2004). *Công nghệ chế biến thực phẩm*. Nxb Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
25. Jianming W., Qiuqian L., Yiyun W., Xi C. (2013). Research on soybean curd coagulated by lactic acid bacteria. *Springerplus*. 2 (1): 250.
26. Cabuk, B., Stone, A. K., Korber, D. R., Tanaka, T., Nickerson, M. T. (2018). Effect of *Lactobacillus plantarum* fermentation on the surface and functional properties of pea protein - enriched flour. *Food Technol. Biotechnol*. 56: 411 - 420.
27. Yang X., Ke C., Liang L. (2021). Physicochemical, rheological and digestive characteristics of soy protein isolate gel induced by lactic acid bacteria. *Journal of Food Engineering*. 292: 1 – 47.
28. Utsumi S., Kinsella J. E. (1985). Forces involved in soy protein gelation: effects of various reagents on the formation, hardness and solubility of heatinduced gels from 7S, 11S and soy isolate. *Journal of Food Science*. 50: 1278 - 1282.
29. Granato D., Masson M. L., Fritas R. J. S. D. (2010). Stability studies and shelf life estimation of a soybased dessert. *Food Science and Technology*. 30: 797 – 807.
30. Ahsan S., Adnan K., Muhammad F. J. C., Muhammad N., Amir A. D., Miroslava H., Maksim R., Mars K., Ivan M., Larisa M. and Mohammad A. S. (2020). Functional exploration of bioactive moieties of fermented and non-fermented soy milk with reference to nutritional attributes. *Journal of Microbiology Biotechnology Food Sciences*. 10 (1): 145 - 149.
31. Bộ Y tế (2007). *Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19/12/2007 về “Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm”*.
32. Serrazanetti D. I., Gottardi D., Montanari C., Gianotti A. (2013). Chapter 3: Dynamic stress of lactic acid bacteria associated to fermentation processes. R & D for Food Health and Livestock. 1 – 33.

**RESEARCH ON ADDITIONAL WHEY FERMENTATION LACTIC
BACTERIA IN TOFU PRODUCTION**

Nguyen Thi Lam Doan¹, Nguyen Thi Diem²

¹*Faculty of Environmental Sciences, University of Science, Vietnam National University, Hanoi*

²*Faculty of Food Science and Technology, Vietnam National University of Agriculture*

Summary

To improve the quality of traditional tofu products, the study added lactic acid bacteria to whey for fermentation (clotting agent in tofu production). Conduct survey experiments to determine bacterial strains, addition rates and whey fermentation time suitable for tofu production. The results showed that *Lactobacillus fermentum* D5.5 with an addition rate of 3% (v/v), fermented for 18 hours was suitable to form whey for tofu production. Tofu products which produced from this whey solution have protein, lipid and water content 16.18%, 5.33%, 81.87% respectively. Recovery efficiency reached 168.67%, highest total sensory score (18.8). In addition, tofu produced from whey fermented with *Lactobacillus fermentum* D5.5 has better microbiological quality than tofu produced from whey not fermented. Product storage time can last up to 15 days at 4 - 6°C.

Keywords: *Lactic acid bacteria, coagulants, fermented whey, tofu.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Việt Anh

Ngày nhận bài: 20/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 6/11/2023

Ngày duyệt đăng: 13/11/2023