

KHẢO SÁT ĐỘ NHIỄM TẠP VI SINH VẬT TRONG MỘT SỐ NGUYÊN LIỆU CHÍNH DÙNG SẢN XUẤT SỮA TIỆT TRÙNG

PHẠM PHƯƠNG HÀ, HÀ DUYỀN TƯ

1. MỞ ĐẦU

Hiện nay khả năng cung cấp sữa bò tươi cho chế biến sữa của nước ta có xu hướng ngày càng cao. Vào những tháng có nhiều cỏ, trời mát, lượng sữa tươi thu mua có thể đáp ứng tới 70% - 90% nguyên liệu sản xuất sữa tiệt trùng ở một số nhà máy chế biến có vùng nguyên liệu tốt.

Tuy nhiên do tổ chức chăn nuôi nhỏ lẻ, điều kiện vệ sinh chuồng trại chưa tốt nên chất lượng vệ sinh của sữa tươi nguyên liệu chưa được ổn định. Điều này gây ảnh hưởng trực tiếp và đáng kể đến chất lượng của sản phẩm sữa tiệt trùng [7]. Một số nghiên cứu về các yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng sữa tươi nguyên liệu, cũng như sản phẩm sữa tiệt trùng đã được tiến hành, trong đó sự nhiễm tạp các vi sinh vật là một trong những yếu tố được đặc biệt quan tâm [4,7].

Bên cạnh đó, việc sử dụng nguyên liệu sữa bột và đường trong quá trình chế biến sản phẩm sữa tiệt trùng là khá phổ biến và chiếm tỉ lệ lớn tại hầu hết các nhà máy chế biến sữa của Việt Nam. Các nguyên liệu này cơ bản đều đã trải qua quá trình xử lý nhiệt, vì vậy các loại vi sinh vật còn tồn tại chủ yếu là các loại vi sinh vật và các loại bào tử chịu nhiệt. Do vậy việc kiểm tra vi sinh vật trong các thành phần này là rất cần thiết.

Các nhóm vi sinh vật thường nhiễm tạp trong sữa phải kể đến nhóm vi khuẩn lactic, một số vi khuẩn gây bệnh: *Bacillus cereus*, *Brucella abortus*, *Escheria coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*... [3] Các loại vi khuẩn nhiễm tạp không những làm giảm giá trị dinh dưỡng, biến đổi tính chất cảm quan của sản phẩm mà chúng còn gây độc đối với người tiêu dùng.

Phân tích, kiểm tra thành phần vi sinh, đồng thời xác định một số loại vi khuẩn trong sữa tươi nguyên liệu, các nguyên liệu sản xuất và bán thành phẩm của sữa tiệt trùng bằng phương pháp truyền thống đã được thực hiện trong phạm vi nghiên cứu này.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu nghiên cứu là các mẫu sữa bò tươi, sữa bột, đường trắng và nước dùng trong sản xuất. Các mẫu được lấy trên cùng một dây chuyền đối với sữa tươi trước khi thanh trùng, ngay sau khi thanh trùng, sữa tươi thanh trùng giữ trong bồn trữ lạnh, sữa sau phối trộn, sữa trước tiệt trùng và sản phẩm cuối cùng, và các mẫu sữa không đạt yêu cầu sau bảo quản 7 ngày tại nhà máy. Quá trình lấy mẫu được lặp lại 4 lần.

2.2. Phương pháp [5, 6]

- *Kiểm tra vi sinh vật hiếu khí tổng số* : nuôi cấy 1g hoặc 1ml mẫu phân tích trên môi trường PCA ở 37°C trong 24 giờ, sau đó tiến hành đếm khuẩn lạc mọc trên bề mặt môi trường.

- *Kiểm tra coliform tổng số*: nuôi cấy 1 g hoặc 1ml mẫu phân tích trên môi trường deoxycholate lactose agar ở 37°C trong 24 giờ, sau đó tiến hành đếm khuẩn lạc mọc trên bề mặt môi trường.

- *Kiểm tra tổng số vi sinh vật sinh bào tử*: mẫu được đun cách thủy ở 80°C trong 10 phút. Nuôi cấy hiếu khí 1g hoặc 1ml mẫu đã xử lý nhiệt trên môi trường PCA ở 37°C trong 48 giờ, sau đó tiến hành đếm khuẩn lạc mọc trên bề mặt môi trường.

- *Nhận dạng các khuẩn lạc nghi ngờ*: bằng phương pháp nhuộm Gram, thử catalase và thử oxydase

- *Xử lý các kết quả phân tích theo phương pháp thống kê*.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Mức độ nhiễm vi sinh vật trong nguyên liệu

3.1.1. Kết quả kiểm tra vi sinh vật nhiễm tạp trong sữa tươi nguyên liệu

Đối với nguyên liệu sữa tươi, mức độ nhiễm tạp vi sinh vật được khảo sát qua 3 chỉ tiêu là lượng vi sinh vật tổng số, coliform và bào tử tổng số. Mẫu sữa được lấy tại 6 hộ cung cấp nguyên liệu sữa tươi cho nhà máy. Kết quả khảo sát trung bình qua 4 lần lặp lại được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Mức độ nhiễm tạp vi sinh vật của sữa tươi

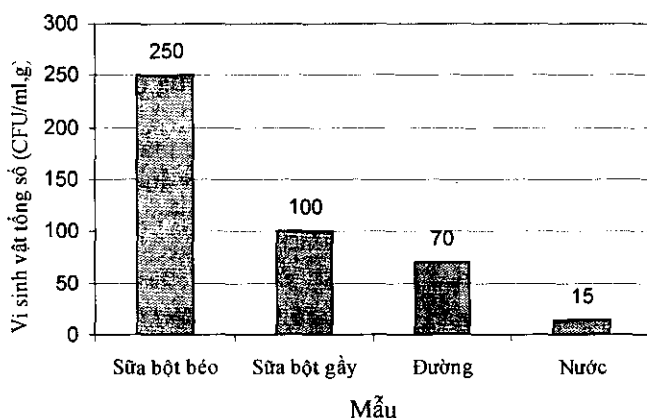
Mẫu sữa	VSV tổng số (. 10^5 CFU/ml)		Coliform tổng số (. 10^2 CFU/ml)		Bào tử tổng số (. 10^2 CFU/ml)	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max
1	2,1	13,2	9	23	35	80
2	0,8	10,1	4	18	20	45
3	1,9	11,8	6	20	21	40
4	2,5	14	7	24	18	50
5	4,5	15,3	14	28	30	60
6	3,2	12,2	11	25	25	70
Khuyến cáo	< 30.10^5 CFU/ml		< 10^2 CFU/ml		< 10^2 CFU/ml	

Các kết quả phân tích ở trên đều cho thấy mật độ vi sinh vật trong sữa tươi nguyên liệu là khá cao. Trong đó lượng vi sinh vật tổng số dao động từ $0,8.10^5$ - $15,3.10^5$ CFU/ml.

Theo qui định số 92/46/EEC về tiêu chuẩn lưu hành các sản phẩm sữa trên thị trường cho phép sự nhiễm tạp trong sữa bò tươi chuẩn bị cho sản xuất là 10^5 CFU/ml, thì sự nhiễm tạp trong các mẫu sữa này cũng là tương đối cao. Đặc biệt lượng coliform và bào tử tổng số vượt quá tiêu chuẩn quy định của Tetrapak (nhỏ hơn 10^2 CFU/ml đối với cả coliform và bào tử tổng số). Điều này có ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng vi sinh của sữa thành phẩm.

3.1.2 Nguyên liệu sữa bột, đường trắng (RE) và nước dùng cho sản xuất

Kết quả phân tích vi sinh vật trên một số nguyên liệu dùng trong sản xuất thể hiện trong hình 1, cho thấy lượng vi sinh vật tổng số trong sữa bột béo là lớn nhất, lên tới 250 CFU/g, cao gấp 2,5 lần lượng vi sinh vật trong sữa bột gầy. Kết quả phân tích còn cho thấy vi sinh vật xuất hiện cả trong hai loại nguyên liệu là đường và nước với giá trị tương ứng là 70 CFU/g và 15 CFU/ml. Hầu hết các nguyên liệu này đều đã trải qua quá trình gia nhiệt, nên các loại vi sinh vật tồn tại đa phần sẽ là các loài chịu nhiệt cần phải kiểm soát chặt chẽ và có biện pháp xử lý thích hợp.

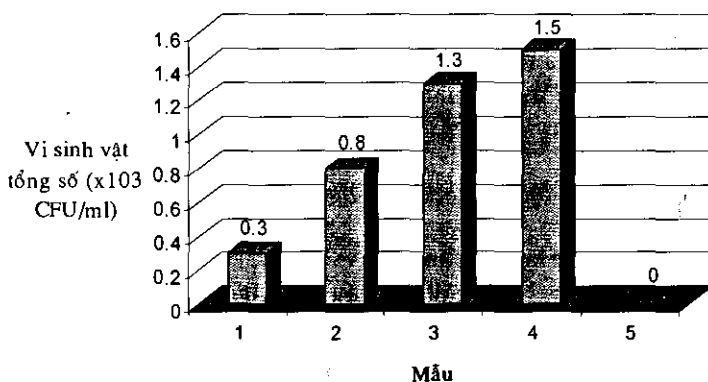


Hình 1. Vi sinh vật tổng số trong các mẫu sữa bột, đường và nguồn nước

1. Sữa bột béo 2. Sữa bột gầy 3. Nước 4. Đường

3.1.3. Lượng vi sinh vật tổng số trong bán thành phẩm và thành phẩm

Kết quả phân tích vi sinh vật tổng số đối với bán thành phẩm và thành phẩm sữa tiệt trùng được thể hiện trên hình 2.



Hình 2. Vi sinh vật tổng số trong bán thành phẩm và thành phẩm

1. Sữa tươi ngay sau khi thanh trùng 4. Sữa trước tiệt trùng
2. Sữa tươi thanh trùng giữ trong tét lạnh 5. Sản phẩm cuối cùng
3. Sữa sau phối trộn với sữa bột, đường, nước

Kết quả phân tích cho thấy mặc dù mật độ vi sinh vật trong sữa tươi nguyên liệu là khá cao ($0,8.10^5$ - $15,3.10^5$ CFU/ml) nhưng sau khi thanh trùng thì mật độ này đã giảm xuống còn khoảng $0,3.10^3$ CFU/ml. Tuy nhiên sau thời gian bảo quản lạnh ở 8°C trong vòng tối đa 24 giờ thì mật độ vi sinh vật lại tăng lên một cách đáng kể ($0,8.10^3$ CFU/ml). Sau khi phối trộn, số lượng vi sinh vật tổng số trong khối sữa cũng tăng lên $1,3.10^3$ CFU/ml. Kết quả phân tích cho thấy mật độ vi sinh vật tổng số trong những mẫu sữa trước UHT cũng đã tăng lên đến $1,5.10^3$ CFU/ml. Kết quả này cho thấy mặc dù khối sữa luôn được duy trì ở 10°C nhưng một số vi sinh vật nhiễm tạp trong sữa vẫn có khả năng phát triển tốt.

Tuy nhiên các lô sản phẩm sau tiệt trùng được đem phân tích đều không còn thấy sự có mặt của các vi sinh vật. Điều này cho thấy hệ thống tiệt trùng UHT của nhà máy làm việc hiệu quả.

3.2. Xác định một số vi sinh vật có khả năng lây nhiễm trong quá trình sản xuất

Trong quá trình trải để đếm vi sinh vật tổng số trong các mẫu sữa nguyên liệu và bán thành phẩm các khuẩn lạc với hình dạng khác nhau trong mỗi mẫu được lấy ra và đem đi thử một số đặc tính sinh hóa để tạm phân loại chúng theo cây truy tìm sản phẩm không phù hợp của Tetrapak

3.2.1. Xác định sơ bộ tên một số vi khuẩn có khả năng lây nhiễm trong sữa bột

Bảng 2. Một số vi sinh vật trong sữa bột

Mẫu	Hình dạng	Gram	Catalase	Oxydase	Loài nghi ngờ
Sữa bột gầy	Trục khuẩn	+	+	-	<i>Bacillus</i>
	Trục khuẩn	+	+	-	<i>Bacillus</i>
	Trục khuẩn	+	+	-	<i>Bacillus</i>
Sữa bột béo	Trục khuẩn	+	+	-	<i>Bacillus</i>
	Trục khuẩn	+	+	-	<i>Actinomyces</i>
	Trục khuẩn	+	+	-	<i>Bacillus</i>

Kết quả phân tích qua 3 lần lặp lại cho thấy loại vi sinh vật nhiễm tạp đặc trưng trong nguyên liệu sữa bột chủ yếu là trục khuẩn Gram (+). Bằng các phép thử sinh hoá có thể tạm phân loại đó là *Bacillus* hoặc *Actinomyces*.

3.2.2. Xác định sơ bộ tên một số loại vi khuẩn có nguy cơ lây nhiễm trong bán thành phẩm

Kết quả phân tích qua 4 lần lặp lại cho thấy vi sinh vật nhiễm tạp trong bán thành phẩm bao gồm cả trục khuẩn và cầu khuẩn. Những nhóm hay gặp nhất đó là *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*.

Bảng 3. Một số vi sinh vật trong bán thành phẩm

Mẫu	Hình dạng	Gram	Catalase	Oxydase	Loài nghi ngờ
Sữa sau khi thanh trùng	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
	TK	+	+	-	<i>Bacillus</i>
	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
	TK	-	-	+	<i>Pseudomonas</i>
Sữa thanh trùng trong tec lạnh	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
	CK	+	+	-	<i>Micrococcus</i>
	TK	+	+	-	<i>Bacillus</i>
	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
Sữa sau phối trộn	CK	+	+	-	<i>Micrococcus</i>
	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
	TK	+	+	-	<i>Bacillus</i>
	TK	+	+	-	<i>Actinomyces</i>
Sữa trước tiệt trùng	TK	-	-	+	<i>Pseudomonas</i>
	TK	+	+	-	<i>Bacillus</i>
	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
	TK	+	+	-	<i>Bacillus</i>

TK: Trục khuẩn; CK: Cầu khuẩn.

3.2.3. Xác định sơ bộ tên một số loại vi khuẩn có trong sản phẩm sữa không đạt yêu cầu sau 7 ngày bảo quản tại nhà máy

Có nhiều nguyên nhân dẫn đến việc sản xuất ra sản phẩm sữa không đạt chất lượng như bảo tử chịu nhiệt không bị tiêu diệt trong quá trình tiệt trùng, trong vỏ hộp còn chứa vi sinh vật hay vi sinh vật tái nhiễm trong quá trình rót hộp. Kết quả phân tích 6 mẫu sữa hồng cho thấy nhóm vi sinh vật hay gặp trong các sản phẩm sữa hồng bao gồm *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcus*.

Bảng 4. Một số vi sinh vật trong sữa hồng

Mẫu	Hình dạng	Gram	Catalase	Oxydase	Loài nghi ngờ
1	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
2	TK	+	+	-	<i>Bacillus</i>
3	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
4	TK	-	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
5	TK	+	+	-	<i>Bacillus</i>
6	CK	+	+	-	<i>Micrococcus</i>

TK: Trục khuẩn; CK: Cầu khuẩn.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã bước đầu đánh giá được mức độ nhiễm tạp vi sinh vật trong nguyên liệu ban đầu, bán thành phẩm sản xuất sữa tiệt trùng. Kết quả nghiên cứu cho thấy lượng vi sinh vật nhiễm tạp trong sữa tươi nguyên liệu là khá cao. Nghiên cứu còn cho thấy những vi sinh vật có khả năng lây nhiễm cao nhất trong sữa bột, bán thành phẩm và sữa hồng là những vi sinh vật thuộc nhóm *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* và *Micrococcus*. Đây đều là các loài vi

khuẩn có hại, vì vậy nhất thiết phải có những nghiên cứu, phân tích sâu hơn để khẳng định chính xác loài làm cơ sở đưa ra các biện pháp xử lý tối ưu giúp loại trừ nguy cơ. Trong các nghiên cứu tiếp theo, cần tiếp tục phân tích thành phần vi sinh vật trong sữa dựa trên các nghiên cứu sâu hơn về đặc tính sinh hoá của các loại vi khuẩn gây bệnh tồn tại trong sữa, hướng tới xác định chính xác tên các loại vi khuẩn nói trên dựa trên kỹ thuật sinh học phân tử.

Lời cảm ơn. Tác giả xin chân thành cảm ơn Th.s Khuất Hoàng Bảo Trúc (Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội) đã giúp đỡ kiểm tra số liệu và lên trang cho bài báo này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gosta Bylund M.S - Dairy Processing Hand Book, Tetra Pak Processing Systems AB; Sweeden, 1995.
2. Hammer P, Lembke F, Suhren G & W Heeschen - Characterization of a heat resistant mesophilic *Bacillus* species affecting quality of raw milk, A preliminary report. *Kiel. Milchwirtsch. Forschungsber* 47 (1995) 303-311.
3. Lâm Xuân Thanh - Giáo trình công nghệ các sản phẩm sữa, NXB KHKT, 2004.
4. Phạm Thanh Hải, Hà Duyên Tư - Nghiên cứu chất lượng sữa bò tươi sau thu hoạch tại vùng chăn nuôi bò sữa tỉnh Vĩnh Phúc, Hội nghị khoa học lần thứ 20, Trường Đại Học Bách Khoa, Hà Nội, 2006, tr. 60-69.
5. Tiêu chuẩn Việt Nam 6263:1997; 6264:1997.
6. Trần Linh Thuộc - Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mĩ phẩm, NXB Giáo dục, Hà Nội, 1996.
7. Trần Thị Hạnh, Lưu Quỳnh Hương - Tình hình vệ sinh vắt sữa tại một số hộ chăn nuôi bò sữa khu vực ngoại thành Hà Nội, *Khuyến nông*, 2004, tr. 39-45

SUMMARY

A CONTROL OF MICROORGANIC CONTAMINATION IN THE MAJOR RAW MATERIALS OF STERILIZED MILK

The raw milk, the milk-powder and the sugar are the main raw materials used in the sterilized milk process in Viet Nam. Owing to the small breeding scale and the bad hygienic condition of breeding facilities, the raw milk's hygienic quality is not stable. The milk-powder and the sugar are generally sustained a thermal treatment process, therefore their contaminated bacteria and their spores tend to be thermostolerant. The contamination of pathogenous bacterium influences on the sensory properties and the nutritional quality of milk product. Consequently, the control of bacterial contamination is indispensable. This paper studied on bacterial contamination level of raw materials and some strains at several critical points of sterilized milk process. The result showed a high level of bacterial contamination in these raw materials. The infectious microorganisms in milk-powder, semi-product and spoiled milk belonged to groups of *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Micrococcus*.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 12 tháng 5 năm 2007

Học viện Công nghệ Bưu chính Viễn thông.