



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003395

(51) **A23L 7/104; A23L 33/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00391

(22) 17/08/2020

(45) 25/12/2023 429

(43) 25/02/2022 407

(73) **VIỆN CÔNG NGHIỆP THỰC PHẨM (VN)**

301 Nguyễn Trãi, quận Thanh Xuân, thành phố Hà Nội

(72) Nguyễn Minh Thu (VN); Nguyễn Thị Việt Anh (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT BỘT GẠO LÚT LÊN MEN LACTIC GIÀU KEFIRAN**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất bột gạo lứt giàu kefiran bằng phương pháp lên men lactic, tạo ra sản phẩm tốt cho sức khỏe, chứa đầy đủ các thành phần tốt từ gạo lứt, giàu kefiran, dễ sử dụng. Sản phẩm có chất lượng ổn định, đảm bảo các điều kiện an toàn vệ sinh thực phẩm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực thực phẩm, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất bột gạo lứt giàu kefiran bằng phương pháp lên men lactic, sử dụng chế phẩm vi khuẩn lactic thuần chủng.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Gạo và các sản phẩm từ gạo là sản phẩm chủ lực trong cuộc sống xã hội và kinh tế của Việt Nam. Là nước nông nghiệp, đứng thứ 2 thế giới về xuất khẩu gạo với sản lượng lúa ước tính đạt 44 triệu tấn (theo Tổng cục Thống kê, 2018), tuy nhiên chất lượng gạo và sản phẩm gạo của Việt Nam chưa đạt giá trị cao trong sản xuất và tiêu dùng. Do vậy, việc nâng cao chất lượng và đa dạng hóa các sản phẩm gạo là yêu cầu cấp thiết của xã hội.

Trong các sản phẩm gạo của Việt Nam, gạo lứt (còn gọi là gạo rằn hay gạo lật) được coi là loại gạo giàu chất dinh dưỡng nhất với nhiều công dụng khác nhau. Thành phần của gạo lứt gồm có tinh bột, protein, lipit, giàu chất xơ, nhóm các vitamin B (B1, B2, B3, B5, B6), các nguyên tố vi lượng như sắt, canxi, selen, magie, mangan, các thành phần axit quan trọng đối với cơ thể như para-amino benzoic acid (PABA), gamma-amino butyric acid (GABA). Chất xơ trong gạo lứt giúp làm giảm thiểu thời gian lưu, tiếp xúc của các tác nhân gây ung thư với tế bào ruột kết. Nguồn selen dồi dào trong gạo lứt là thành phần thiết yếu trong trao đổi chất, nâng cao khả năng chống oxy hóa và khả năng miễn dịch của cơ thể con người. Lớp cám của gạo lứt còn chứa nhiều dầu đặc biệt có tác dụng điều hòa huyết áp, giảm cholesterol xấu, ngăn ngừa các bệnh về tim mạch. Mặc dù có nhiều chức năng đáng quý, bổ dưỡng hơn gạo trắng xát kỹ, nhưng gạo lứt đang được sử dụng dưới dạng thô, còn lớp cám chứa nhiều xenluloza nên khó nấu chín mềm, khó tiêu khi ăn nếu không được nhai kỹ, dễ gây hiện tượng chướng bụng khó tiêu, vì vậy lượng tiêu thụ ít, không khai thác được tiềm năng của sản phẩm gạo chất lượng cao này. Trước hiện trạng đó, một số công ty đã nghiên cứu sản xuất một số sản phẩm từ gạo lứt như trà gạo lứt, bột gạo lứt nảy mầm, phở gạo lứt, bánh đa gạo lứt... nhằm đa dạng hóa sản phẩm từ gạo lứt. Tuy nhiên, phương pháp sử dụng gạo lứt để nấu cơm, hay sản xuất các sản phẩm đơn giản, có giá thành thấp từ gạo lứt chưa thực sự nâng cao

được giá trị sử dụng cũng như giá trị kinh tế của gạo lứt, nguồn nông sản có giá trị chức năng cao, tốt cho sức khỏe con người.

Sản phẩm sữa kefir là sản phẩm lên men bởi vi khuẩn lactic và nấm men từ nguồn sữa động vật, được đánh giá là dạng thực phẩm có lợi cho sức khỏe, đặc biệt tốt cho gan, hệ thống tim mạch và nâng cao khả năng miễn dịch. Tuy nhiên, sản phẩm kefir còn chứa nhiều cồn, carbon dioxide, chất béo, đường lactose và có hương vị chưa phù hợp với người châu Á. Trong quá trình lên men kefir, kefiran là một exopolysaccharit có kích thước phân tử tới hơn một triệu đơn vị đường glucose và galactose được sinh tổng hợp nhờ vi khuẩn lactic có trong kefir. Kefiran có tác dụng kháng khuẩn, làm lành vết thương, hạn chế sự phát triển của tế bào ung thư, ngoài ra còn nhiều ứng dụng tốt được sử dụng trong dược phẩm hoặc thực phẩm chức năng. Dựa trên công nghệ sản xuất kefir, giải pháp tạo ra sản phẩm chứa kefiran bằng cách lên men dịch gạo lứt thủy phân đã được đề cập với quá trình lên men sử dụng phương pháp lên men lactic bổ sung chủ động chủng vi khuẩn phù hợp, nhằm quản lý quá trình lên men, cải tiến những yếu điểm của sản phẩm kefir, khai thác được các thành phần chất có lợi cho sức khỏe hiện có trong gạo lứt. Công nghệ lên men này tạo ra sản phẩm giàu kefiran từ nguồn nguyên liệu gạo phổ biến ở Việt Nam, góp phần làm đa dạng các sản phẩm từ gạo lứt trên thị trường, thay thế dần sản phẩm nhập ngoại, nâng cao giá trị nông sản trong nước.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Do đó, mục đích của sáng chế là đề cập đến các điểm về công nghệ trong quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran: sử dụng phương pháp thủy phân bột gạo lứt làm môi trường lên men tạo kefiran từ vi khuẩn lactic, bổ sung chủ động vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp kefiran cao, tạo sản phẩm dạng bột bằng phương pháp sấy phun, tiêu chuẩn hóa các điều kiện sản xuất để có thể áp dụng sản xuất quy mô công nghiệp.

Giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran bao gồm các bước sau:

(a) nghiền nguyên liệu: lựa chọn gạo tẻ lứt, mới thu hoạch và bảo quản dưới 2 tháng, gạo sạch không lẫn tạp chất, sạn, vỏ thóc, nghiền gạo thành dạng bột mịn có kích thước < 0,5 mm;

(b) thủy phân:

- bột gạo lứt được hòa nước theo tỉ lệ 1: 5, bổ sung chế phẩm enzym Termamyl SC nồng độ 0,1- 0,2% và nâng nhiệt độ lên 90- 95°C, giữ trong 60 phút để quá trình hồ hóa diễn ra hoàn toàn,

- hạ nhiệt khối dịch về 50- 55°C, bổ sung chế phẩm enzym Neutrase 0,1- 0,2%, giữ trong 45 phút,

- nâng nhiệt độ lên 60- 65°C, bổ sung chế phẩm enzym Dextrozyme GA 1- 1,5%, giữ trong 60 phút để thủy phân tinh bột thành đường, sau đó nâng nhiệt độ lên 75°C, giữ trong 30 phút để thủy phân nốt các dextrin còn lại;

(c) chuẩn bị môi trường lên men: lọc khối dịch thủy phân qua vải lọc, điều chỉnh nồng độ chất khô của dịch lọc tới 15°Bx bằng nước dùng cho thực phẩm, chuẩn độ pH về 6,0 và bổ sung sacaroza với lượng 20- 25 g/l, cao nấm men với lượng 2- 3 g/l, môi trường lên men được thanh trùng ở nhiệt độ 110- 115°C trong 15- 30 phút;

(d) lên men:

- chuẩn bị dịch giống vi khuẩn lactic: chủng vi khuẩn lactic *Leuconostoc mesenteroides* LK2 được nhân giống cấp 1 trong môi trường MRS trong 18- 20 giờ ở 28- 32°C, mật độ tế bào vi khuẩn đạt $8,5 \times 10^8$ - $1,2 \times 10^9$ tế bào/ml; tiếp giống 8% sang môi trường nhân giống cấp 2 RYGP, tiếp tục nuôi cấy giống ở 28- 32°C trong 18- 24 giờ, mật độ tế bào vi khuẩn đạt $7,2$ - $8,8 \times 10^8$ tế bào/ml;

- lên men: bổ sung giống vi khuẩn *Leuconostoc mesenteroides* LK2 vào môi trường lên men thu được từ bước (c) để mật độ tế bào vi khuẩn đạt $\geq 10^7$ tế bào/ml, lên men ở điều kiện không sục khí, duy trì nhiệt độ lên men ở 28- 32°C trong 60-72 giờ;

(e) thanh trùng: đun sôi dịch sau lên men ở 100°C trong 10-15 phút để diệt tế bào, phá vỡ màng tế bào và hòa tan hết lượng kefiran trên màng tế bào vi khuẩn vào dịch lên men;

(f) phối trộn: dịch sau lên men được bổ sung maltodextrin để nồng độ chất khô đạt 20-25°Bx; và

(g) sấy phun: thực hiện sấy phun với nhiệt độ sấy đầu vào 120°C, đầu ra 65-70°C, tốc độ bơm dịch 16- 18 ml/phút thu được bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 thể hiện sơ đồ theo giải pháp hữu ích của quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Theo giải pháp hữu ích, quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran được tiến hành thông qua các quá trình: sơ chế nguyên liệu gạo lứt, chuẩn bị môi trường nhân giống vi khuẩn lactic, chuẩn bị môi trường và lên men, xử lý pha chế dịch, sấy phun tạo bột.

Sản phẩm bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran có nhiều lợi ích cho sức khỏe, sử dụng nguồn nguyên liệu thực vật- gạo lứt, được lên men duy nhất bởi vi khuẩn lactic, chứa nhiều thành phần chức năng hơn so với sản phẩm kefir truyền thống, dễ dàng sử dụng.

Quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran theo giải pháp hữu ích được thể hiện trên Hình 1. Quy trình được thực hiện như sau, cụ thể là bao gồm các bước:

Nghiền nguyên liệu: Gạo lứt được lựa chọn là gạo tẻ lứt, mới thu hoạch và bảo quản dưới 2 tháng, gạo sạch không lẫn tạp chất, sạn, vỏ thóc. Gạo được nghiền thành dạng bột mịn có kích thước < 0,5 mm trước khi đưa đi thủy phân.

Thủy phân: Bột gạo lứt được hòa nước theo tỉ lệ 1: 5. Bổ sung enzym Termamyl SC nồng độ 0,1- 0,2% và nâng nhiệt độ lên 90- 95°C, giữ trong 60 phút để quá trình hồ hóa diễn ra hoàn toàn. Sau đó, tiến hành hạ nhiệt khối dịch về 50- 55°C, bổ sung enzym Neutrase 0,1- 0,2% giữ trong 45 phút. Tiếp theo, nâng nhiệt độ lên 60- 65°C, bổ sung enzym Dextrozyme GA 1- 1,5% giữ trong 60 phút để thủy phân tinh bột thành đường. Dịch gạo sau đó được nâng nhiệt độ lên 75°C, giữ trong 30 phút để thủy phân nốt các dextrin còn lại.

Chế phẩm enzym Termamyl SC là enzym α -amylaza được sản xuất bởi hãng Novozymes (Đan Mạch), thu nhận từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis*. Enzym này được sử dụng để thủy phân tinh bột và tăng cường quá trình lên men trong sản xuất bia, rượu và đường. Công dụng của enzym Termamyl là giúp tách chuỗi đường dài trong tinh bột thành các đơn vị đường đơn giản hơn để dễ dàng hấp thụ và sử dụng trong quá trình lên men.

Chế phẩm enzym Neutrase là enzym endo proteaza trung tính được sản xuất bởi hãng Novozymes (Đan Mạch), thu nhận từ vi khuẩn *Bacillus subtilis*. Enzyme này được sử dụng chế biến các nguyên liệu có chứa protein thông qua việc thủy phân các liên kết peptit nội tại tạo ra các mức protein hòa tan cao.

Chế phẩm enzyme Dextrozyme GA: là enzym glucoamylaza, được sản xuất bởi hãng Novozym (Đan Mạch), thu nhận từ nấm mốc *Aspergillus niger*. Enzyme này có tác dụng thủy phân các mối liên kết α -1,4 và 1,6 D glucosit của tinh bột đã được dịch hóa.

Chuẩn bị môi trường lên men: Toàn bộ khối dịch thủy phân được lọc qua vải lọc. Dịch lọc thu được điều chỉnh nồng độ chất khô tới 15°Bx bằng nước dùng cho thực phẩm, chuẩn độ pH về 6,0 và bổ sung sacaroza 20- 25 g/l, cao nấm men 2- 3 g/l để làm môi trường lên men. Môi trường lên men được thanh trùng ở nhiệt độ 110- 115°C trong 15- 30 phút.

Lên men:

- Chuẩn bị dịch giống vi khuẩn lactic: Chủng vi khuẩn lactic *Leuconostoc mesenteroides* LK2 được nhân giống cấp 1 trong môi trường MRS trong 18- 20 giờ ở 28- 32°C (mật độ tế bào đạt: $8,5 \times 10^8$ - $1,2 \times 10^9$ tế bào/ml), tiếp giống 8% sang môi trường nhân giống cấp 2 RYGP. Tiếp tục nuôi cấy giống ở 28- 32°C trong 18- 24 giờ. Kết thúc quá trình nhân giống, mật độ tế bào vi khuẩn đạt: $7,2$ - $8,8 \times 10^8$ tế bào/ml.

Chủng vi khuẩn lactic *Leuconostoc mesenteroides* LK2 được phân lập từ mẫu cặn kefir thu thập ở hộ gia đình làm kefir thủ công tại đường Đại La, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội và được lưu giữ ở Viện Công nghiệp thực phẩm.

Đặc điểm hình thái vi khuẩn LK2:

- Khuẩn lạc tròn, trơn, bóng, trắng sữa. Tế bào hình oval, kết đôi.
- Là vi khuẩn gram dương, không sinh bào tử, catalase âm tính, lên men kiểu đồng hình
- Có khả năng sinh tổng hợp exopolysaccharide cao trên môi trường dịch chiết gạo lứt

Đặc điểm sinh học phân tử chủng LK2:

Xác định trình tự gen 16S rRNA của chủng LK2. chỉ ra mối liên hệ giữa chủng LK2 và các loài gần gũi trong chi *Leuconostoc*. Trình tự 16S rRNA của chủng LK2 tương đồng 100% với trình tự 16S rRNA của *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 8293 (T). Dựa trên các đặc điểm của chủng cũng như kết quả phân tích gen, có thể xếp chủng LK2 vào loài *Leuconostoc mesenteroides*.

Môi trường MRS là một loại môi trường giàu dinh dưỡng cho vi khuẩn lactic sinh trưởng và phát triển. Môi trường MRS bao gồm các thành phần như sau:

10 g pepton casein

10 g cao thịt
 5 g cao nấm men
 20 g glucoza
 1 g tween 80
 2 g dikali hydrogen phosphat
 5 g natri axetat khan
 2 g amoni xitrat
 0,1 g magie sulfat
 0,05 g mangan sulfat
 nước cất đến 1 lít.

Tiệt trùng môi trường ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút. Chờ môi trường MRS nguội đến nhiệt độ phù hợp để sử dụng.

Môi trường RYGP: là môi trường dịch thủy phân gạo lứt có bổ sung các thành phần dinh dưỡng và muối. Trong 1 lit dịch gạo lứt thủy phân (1°Bx) có chứa:

10 g glucoza
 20 g cao nấm men
 2 g pepton
 2 g dikali hydrogen phosphat
 0,2 g magie sulfat

Tiệt trùng môi trường ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút. Chờ môi trường nguội đến nhiệt độ phù hợp để sử dụng

- Điều kiện lên men: Bổ sung giống vi khuẩn *Leuconostoc mesenteroides* LK2 để mật độ tế bào trong dịch lên men đạt $\geq 10^7$ tế bào/ml. Lên men ở điều kiện không sục khí. Duy trì nhiệt độ lên men ở 28- 32°C trong 60- 72 giờ.

Thanh trùng dịch sau lên men: Dịch sau lên men được đun sôi 100°C trong 10-15 phút để diệt tế bào, phá vỡ màng tế bào và hòa tan hết lượng kefiran trên màng tế bào vi khuẩn vào dịch lên men.

Phối trộn: Dịch sau lên men được bổ sung maltodextrin để nồng độ chất khô đạt 20-25°Bx.

Sấy phun: Chế độ sấy phun được thực hiện với nhiệt độ sấy đầu vào 120°C, đầu ra 65-70°C, tốc độ bơm dịch 16- 18 ml/p.

Bột gạo lứt lên men lactic tạo thành theo giải pháp hữu ích có hàm lượng kefiran đạt 8- 10g/kg sản phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Nguyên liệu để sản xuất 30 kg bột gạo lứt lên men lactic giàu kefirin bao gồm: 50 kg gạo lứt; 0,1 kg enzym Termamyl SC; 0,1 kg enzym Neutrase; 0,5 kg enzym Dextrozyme GA; 3,7 kg sacaroza, 0,4 kg cao nấm men, 20 lít chế phẩm vi khuẩn lactic *Leuconostoc mesenteroides* ký hiệu LK2 sản xuất tại Viện Công nghiệp thực phẩm; 10 kg maltodextrin (DE = 10-12).

Nghiên nguyên liệu: Gạo tẻ lứt, mới thu hoạch và bảo quản dưới 2 tháng, sạch không lẫn tạp chất, sạn, vỏ thóc. Gạo được nghiền thành dạng bột mịn có kích thước < 0,5 mm trước khi đưa đi thủy phân.

Thủy phân: Bột gạo lứt được hòa nước theo tỉ lệ 1: 5. Bổ sung Termamyl SC nồng độ 0,1- 0,2% và nâng nhiệt độ lên 90- 95°C, giữ trong 60 phút để quá trình hồ hóa diễn ra hoàn toàn. Sau đó, tiến hành hạ nhiệt khối dịch về 50- 55°C, bổ sung Neutrase 0,1- 0,2% giữ trong 45 phút. Tiếp theo, nâng nhiệt độ lên 60- 65°C, bổ sung Dextrozyme GA 1- 1,5% giữ trong 60 phút để thủy phân tinh bột thành đường. Dịch gạo sau đó được nâng nhiệt độ lên 75°C, giữ trong 30 phút để thủy phân nốt các dextrin còn lại.

Chuẩn bị môi trường lên men: Toàn bộ khối dịch thủy phân được lọc qua vải lọc. Dịch lọc thu được điều chỉnh nồng độ chất khô tới 15°Bx bằng nước dùng cho thực phẩm, chuẩn độ pH về 6,0 và bổ sung sacaroza 20- 25 g/l, cao nấm men 2- 3 g/l để làm môi trường lên men. Môi trường lên men được thanh trùng ở nhiệt độ 110- 115°C trong 15- 30 phút.

Lên men:

+ Chuẩn bị dịch giống vi khuẩn lactic: Chủng vi khuẩn lactic *Leuconostoc mesenteroides* LK2 được nhân giống cấp 1 trong môi trường MRS trong 18- 20 giờ ở 28- 32°C (mật độ tế bào đạt: $8,5 \times 10^8$ - $1,2 \times 10^9$ tế bào/ml), tiếp giống 8% sang môi trường nhân giống cấp 2 RYGP. Tiếp tục nuôi cấy giống ở 28- 32°C trong 18- 24 giờ. Kết thúc quá trình nhân giống, mật độ tế bào vi khuẩn đạt: $7,2$ - $8,8 \times 10^8$ tế bào/ml.

+ Điều kiện lên men: Bổ sung giống vi khuẩn *Leuconostoc mesenteroides* LK2 để mật độ tế bào trong dịch lên men đạt $\geq 10^7$ tế bào/ml. Lên men ở điều kiện không sục khí. Duy trì nhiệt độ lên men ở 28- 32°C trong 60- 72 giờ.

Thanh trùng dịch sau lên men: Dịch sau lên men được đun sôi 100°C trong 10-15 phút để diệt tế bào, phá vỡ màng tế bào và hòa tan hết lượng kefiran trên màng tế bào vi khuẩn vào dịch lên men.

Phối trộn: Dịch sau lên men được bổ sung maltodextrin để nồng độ chất khô đạt 20-25°Bx.

Sấy phun: Chế độ sấy phun được thực hiện với nhiệt độ sấy đầu vào 120°C, đầu ra 65-70°C, tốc độ bơm dịch 16- 18 ml/p.

Bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran (8- 10 g/kg) thu được được kiểm tra các chỉ tiêu hóa lý, hóa sinh đạt tiêu chuẩn tiêu chuẩn cơ sở. Sản phẩm được đóng túi nhựa PE hoặc đóng hộp nhựa HD để bảo quản.

Hiệu quả của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran theo giải pháp hữu ích tạo ra sản phẩm bột gạo lứt có hàm lượng kefiran đạt 8-10 g/kg sản phẩm. Khi so sánh với một số sản phẩm nhập khẩu chứa kefiran, sản phẩm bột gạo lứt giàu kefiran bằng phương pháp lên men lactic có hàm lượng kefiran tương đương và giá thành thấp hơn. Quá trình sản xuất là quá trình lên men sinh học với nguyên liệu sản xuất chính là gạo lứt nên đảm bảo mức độ an toàn thực phẩm.

Các ưu điểm của quy trình sản xuất bột gạo lứt giàu kefiran bằng phương pháp lên men lactic giúp tạo ra sản phẩm có lợi cho sức khỏe, cải tiến những điểm yếu của sản phẩm kefir (như sử dụng nguyên liệu là sữa động vật, sản phẩm có chứa cồn nên không phù hợp với đối tượng người không tiêu hóa được đường lactoza hay không dùng sản phẩm chứa rượu), sử dụng nguồn nguyên liệu thực vật - gạo lứt, chứa hàm lượng kefiran cao, hàm lượng các vitamin nhóm B, chất khoáng, GABA cao. Quá trình lên men do sử dụng chủ động chế phẩm vi khuẩn lactic có thể quản lý tốt quá trình sản xuất theo mô hình quy mô công nghiệp, đảm bảo chất lượng ổn định, giá thành hạ, tạo sản phẩm mới có chất lượng cao dùng ăn (uống) trực tiếp, hoặc dùng làm nguyên liệu cho sản xuất các sản phẩm thực phẩm bánh, kẹo, sữa thực vật ... chất lượng cao khác.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran bao gồm các bước:

(a) nghiền nguyên liệu: gạo tẻ lứt mới thu hoạch và bảo quản dưới 2 tháng, không lẫn tạp chất, được nghiền thành dạng bột mịn có kích thước $< 0,5$ mm;

(b) thủy phân:

- bột gạo lứt được hòa nước theo tỉ lệ 1: 5, bổ sung chế phẩm enzym Termamyl SC nồng độ 0,1- 0,2% và nâng nhiệt độ lên 90- 95°C, giữ trong 60 phút để quá trình hồ hóa diễn ra hoàn toàn,

- hạ nhiệt khối dịch về 50- 55°C, bổ sung chế phẩm enzym Neutrase 0,1- 0,2%, giữ trong 45 phút,

- nâng nhiệt độ lên 60- 65°C, bổ sung chế phẩm enzym Dextrozyme GA 1- 1,5%, giữ trong 60 phút để thủy phân tinh bột thành đường, sau đó nâng nhiệt độ lên 75°C, giữ trong 30 phút để thủy phân nốt các dextrin còn lại;

(c) chuẩn bị môi trường lên men: lọc khối dịch thủy phân qua vải lọc, điều chỉnh nồng độ chất khô của dịch lọc tới 15°Bx bằng nước dùng cho thực phẩm, chuẩn độ pH về 6,0 và bổ sung sacaroza với lượng 20- 25 g/l, cao nấm men với lượng 2- 3 g/l, môi trường lên men được thanh trùng ở nhiệt độ 110- 115°C trong 15- 30 phút;

(d) lên men:

- chuẩn bị dịch giống vi khuẩn lactic: chủng vi khuẩn lactic *Leuconostoc mesenteroides* LK2 được nhân giống cấp 1 trong môi trường MRS trong 18- 20 giờ ở 28- 32°C, mật độ tế bào vi khuẩn đạt $8,5 \times 10^8$ - $1,2 \times 10^9$ tế bào/ml; tiếp giống 8% sang môi trường nhân giống cấp 2 RYGP, tiếp tục nuôi cấy giống ở 28- 32°C trong 18- 24 giờ, mật độ tế bào vi khuẩn đạt $7,2$ - $8,8 \times 10^8$ tế bào/ml;

- lên men: bổ sung giống vi khuẩn *Leuconostoc mesenteroides* LK2 vào môi trường lên men thu được từ bước (c) để mật độ tế bào vi khuẩn đạt $\geq 10^7$ tế bào/ml, lên men ở điều kiện không sục khí, duy trì nhiệt độ lên men ở 28- 32°C trong 60- 72 giờ;

(e) thanh trùng: đun sôi dịch sau lên men ở 100°C trong 10-15 phút để diệt tế bào, phá vỡ màng tế bào và hòa tan hết lượng kefiran trên màng tế bào vi khuẩn vào dịch lên men;

(f) phối trộn: dịch sau lên men được bổ sung maltodextrin để nồng độ chất khô đạt 20-25°Bx; và

(g) sấy phun: thực hiện sấy phun với nhiệt độ sấy đầu vào 120°C, đầu ra 65-70°C, tốc độ bơm dịch 16- 18 ml/phút thu được bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran.

Hình 1. Quy trình sản xuất bột gạo lứt lên men lactic giàu kefiran

