MỤC LỤC

Mục lục 1
Lời nói đầu 6
Danh mục chữ và ký hiệu viết tắt 7
Chương 1. KHÁI QUÁT VỀ LÊN MEN THỰC PHẨM 8
1. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ LÊN MEN 8
2. CÁC QUÁ TRÌNH LÊN MEN TRONG SẢN XUẤT THỰC PHẨM 9
2.1. Quá trình lên men rượu 9
2.2. Quá trình lên men lactic 10
2.3. Quá trình lên men propionic 14
2.4. Quá trình lên men acetic 14
2.5. Quá trình lên men butyric 15
3. CÁC LOẠI THỰC PHẨM LÊN MEN 16
4. LỢI ÍCH CỦA THỰC PHẨM LÊN MEN 16
4.1. Tăng thời gian bảo quản, sử dụng thực phẩm 16
4.2. Tạo ra sự đa dạng thực phẩm 16
4.3. Cải thiện cảm quan thực phẩm 17
4.4. Tăng khả năng tiêu hóa hấp thu 17
4.5. Tăng sức đề kháng 17
4.6. Tạo ra chất dinh dưỡng 17
4.7. Loại trừ vi khuẩn và các độc tố 18
CÂU HỎI ÔN TẬP 18
TÀI LIỆU THAM KHẢO 18
Chương 2. CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ NGŨ CỐC 19
1. KHÁI QUÁT CHUNG 19
1.1. Sơ lược về ngũ cốc 19
1.2. Một số ngũ cốc phổ biến 20
1.3. Cấu tạo và thành phần của hạt ngũ cốc 22
1.4. Các chất dinh dưỡng, kháng dinh dưỡng và độc tố trong ngũ cốc 25
1.5. Ngũ cốc lên men 27
2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT MẬT TINH BỘT 29
2.1. Nguyên liệu sản xuất mật tinh bột 30
2.2. Sản phẩm của sự thủy phân tinh bột 34
2.3. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất mật tinh bột 35
2.4. Thuyết minh quy trình công nghệ sản xuất mật tinh bột 37
2.5. Công nghệ sản xuất sirô có chứa maltose, sirô giàu fructose 41
3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BÁNH MỲ 45
3.1. Nguyên liệu sản xuất bánh mỳ 45
3.2. Quy trình công nghệ sản xuất bánh mỳ 53

3.3. Thuyết minh quy trình công nghệ sản xuất bánh mỳ 57
3.4. Các lỗi sản phẩm và phương pháp đánh giá chỉ tiêu cảm quan của bánh mỳ 66
4. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NƯỚC CHẤM 69
4.1. Cơ sở sinh học trong sản xuất nước chấm 70
4.2. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất nước chấm 71
4.3. Thuyết minh quy trình 72
5. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT TƯƠNG 77
5.1. Cơ sở sinh học trong sản xuất tương 77
5.2. Nguyên liệu sản xuất tương 78
5.3. Kỹ thuật sản xuất tương thủ công 79
5.4. Kỹ thuật sản xuất tương công nghiệp 82
6. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHAO 87
6.1. Vi sinh vật trong sản xuất chao 88
6.2. Kỹ thuật sản xuất chao truyền thống 88
6.3. Kỹ thuật sản xuất chao theo phương pháp hiện đại 90
6.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng chao 96
6.5. Một số hiện tượng hư hỏng của chao. 98
CÂU HỎI ÔN TẬP 98
TÀI LIỆU THAM KHẢO 99
Chương 3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ RAU QUẢ 100
1. KHÁI QUÁT CHUNG 100
1.1. Nguyên liệu rau quả 100
1.2. Sản phẩm rau quả muối chua 103
2. CƠ SỞ LÝ THUYẾT CỦA QUÁ TRÌNH MUỐI CHUA 104
2.1. Bản chất của quá trình muối chua rau quả 104
2.2. Vi sinh vật trong muối chua rau quả 105
2.3. Các hình thức muối chua rau quả 107
2.4. Cơ chế của quá trình muối chua rau quả 107
3. CÔNG NGHỆ MUỐI CHUA MỘT SỐ RAU QUẢ 110
3.1. Công nghệ muối chua bắp cải 110
3.2. Công nghệ muối chua dưa chuột 113
3.3. Công nghệ muối chua cải bẹ 115
3.4. Công nghệ sản xuất kim chi 116
CÂU HỎI ÔN TẬP 121
TÀI LIỆU THAM KHẢO 122
Chương 4. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ THỊT CÁ ... 123
1. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NƯỚC MẮM 123
1.1. Nguyên liệu sản xuất nước mắm 123
1.2. Bản chất của quá trình sản xuất nước mắm 125
1.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sản xuất nước mắm 126

1.4. Công nghệ sản xuất nước mắm bằng phương pháp cổ truyền 128
1.5. Công nghệ sản xuất nước mắm bằng phương pháp vi sinh vật.....136
1.6. Kiểm tra và bảo quản chượp, nước mắm 137
2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NEM CHUA 143
2.1. Nguyên liệu sản xuất nem chua.....143
2.2. Sơ đồ quy trình công nghệ.....145
2.3. Thuyết minh quy trình 146
2.4. Một số hư hỏng nem chua thường gặp 147
CÂU HỎI ÔN TẬP 147
TÀI LIỆU THAM KHẢO 148
Chương 5. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ SỮA 149
1. NGUYÊN LIỆU SỮA 149
1.1. Một số tính chất vật lý của sữa 149
1.2. Thành phần hóa học của sữa 151
1.3. Quá trình đông tụ casein.....160
2. VI SINH VẬT 165
2.1. Vi sinh vật trong sữa bò.....165
2.2. Vi sinh vật lên men sữa 167
3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT SỮA CHUA YOGHURT 169
3.1. Giới thiệu chung 169
3.2. Phân loại sữa chua yoghurt 169
3.3. Nguyên liệu trong sản xuất yoghurt 170
3.4. Quy trình công nghệ sản xuất sữa chua yoghurt 171
3.5. Đánh giá chất lượng yoghurt 181
4. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT SỮA CHUA LÊN MEN KEFIR.....182
4.1. Giới thiệu về sữa chua lên men kefir.....182
4.2. Nguyên liệu sản xuất sữa chua lên men kefir.....183
4.3. Quy trình công nghệ sản xuất sữa chua kefir 184
4.4. Đánh giá chất lượng kefir 187
5. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PHOMAT.....188
5.1. Giới thiệu chung về pho mát 188
5.2. Nguyên liệu trong sản xuất pho mát 189
5.3. Công nghệ sản xuất phomat mềm không qua giai đoạn ủ chín (phomat tươi)....191
5.4. Công nghệ sản xuất phomat mềm và bán mềm có qua giai đoạn ủ chín 194
5.5. Công nghệ sản xuất phomat bán cứng, cứng và rất cứng.....201
5.6. Công nghệ sản xuất phomat nấu chảy 204
5.7. Các phương pháp hạn chế sự phát triển của vi sinh vật có hại đối với chất lượng của phomat.....208
5.8. Các quá trình sinh hóa cơ bản xảy ra trong sản xuất phomat.....208
6. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BƠ 213

6.1. Giới thiệu chung 213
6.2. Nguyên liệu trong sản xuất bơ 214
6.3. Quy trình công nghệ sản xuất bơ 216
6.4. Đánh giá chất lượng bơ 221
CÂU HỎI ÔN TẬP 222
TÀI LIỆU THAM KHẢO 223
Chương 6. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỨC UỐNG LÊN MEN 224
1. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BIA 224
1.1. Giới thiệu chung về bia 224
1.2. Nguyên liệu sản xuất bia 225
1.3. Nấm men và enzyme sử dụng trong sản xuất bia 237
1.4. Quy trình công nghệ sản xuất bia 242
2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT ETHANOL 269
2.1. Tổng quan về ethanol 269
2.2. Nguyên liệu sản xuất ethanol 270
2.3. Nấm men dùng trong sản xuất ethanol 272
2.4. Quy trình công nghệ sản xuất ethanol 274
3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT RƯỢU VANG NHO 295
3.1. Giới thiệu chung về rượu vang nho 295
3.2. Nguyên liệu sản xuất rượu vang nho 295
3.3. Nấm men vang 297
3.4. Qui trình công nghệ sản xuất rượu vang nho 302
CÂU HỎI ÔN TẬP 313
TÀI LIỆU THAM KHẢO 314
Chương 7. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT MỘT SỐ THỰC PHẨM LÊN MEN KHÁC 315
1. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT MÌ CHÍNH 315
1.1. Các tính chất của mì chính 316
1.2. Nguyên liệu sản xuất mì chính 316
1.3. Sản xuất mì chính bằng phương pháp thủy phân 317
1.4. Sản xuất mì chính bằng phương pháp lên men 317
2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT ACID ACETIC 326
2.1. Nguyên liệu 326
2.2. Vi sinh vật lên men acid acetic 327
2.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men 328
2.4. Các phương pháp lên men 329
2.5. Nâng cao nồng độ và độ tinh khiết của acid acetic trong dịch lên men 333
2.6. Một số nguyên nhân làm giảm chất lượng lên men acid acetic 333
3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THẠCH DỪA 335
3.1. Vi sinh vật trong sản xuất thạch dừa 335

3.2. Bản chất sinh hóa quá trình sản xuất thạch dừa 336
3.3. Nguyên vật liệu trong sản xuất thạch dừa 337
3.4. Quy trình sản xuất thạch dừa.....337
3.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men thạch dừa 340
3.6. Kiểm tra và đánh giá chất lượng thạch dừa thành phẩm.....342
CÂU HỎI ÔN TẬP 343
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....344

LỜI NÓI ĐẦU

Từ lâu thực phẩm lên men đã được sản xuất ở nhiều nước trên thế giới. Các sản phẩm này được sản xuất ở các trình độ và quy mô khác nhau. Hiện nay nhiều sản phẩm được sản xuất với quy mô công nghiệp, các sản phẩm như: bia, rượu vang,… đã trở thành những loại thức uống phổ biến mang lại nhiều giá trị dinh dưỡng cho con người cũng như hiệu quả kinh tế. Một số sản phẩm trước đây chủ yếu sản xuất quy mô gia đình, nay dần dần đã được sản xuất với quy mô lớn hơn hoặc quy mô công nghiệp. Chúng ta đều biết thực phẩm lên men mang lại nhiều lợi ích cho con người, chẳng hạn như: tăng thời gian bảo quản và sự đa dạng cho thực phẩm, cải thiện giá trị cảm quan của thực phẩm, tăng khả năng tiêu hóa, tăng giá trị dinh dưỡng cho thực phẩm, …

Giáo trình *"Công nghệ lên men thực phẩm*" được biên soạn dựa trên cơ sở những kiến thức cơ bản về các quá trình lên men cơ bản ứng dụng trong thực phẩm, công nghệ sản xuất một số nhóm thực phẩm bằng phương pháp lên men. Giáo trình này được dùng cho sinh viên học chuyên ngành Công nghệ sinh học thực phẩm, thuộc ngành Công nghệ sinh học tại trường Cao đẳng Lương thực Thực phẩm. Giáo trình cũng là tài liệu chính cho giảng viên tham khảo khi giảng dạy học phần. Đồng thời cũng là tài liệu tham khảo cho sinh viên học các chuyên ngành khác của ngành Công nghệ sinh học, Công nghệ thực phẩm và những người có quan tâm đến lĩnh vực này.

Nội dung giáo trình này bao gồm 7 chương, đề cập đến những nội dung khái quát chung về công nghệ lên men thực phẩm và công nghệ sản xuất các nhóm thực phẩm lên men chủ yếu:

Chương 1. Khái quát về lên men thực phẩm

Chương 2. Công nghệ sản xuất thực phẩm lên men từ ngũ cốc

Chương 3. Công nghệ sản xuất thực phẩm lên men từ rau quả

Chương 4. Công nghệ sản xuất thực phẩm lên men từ thịt, cá

Chương 5. Công nghệ sản xuất thực phẩm lên men từ sữa

Chương 6. Công nghệ sản xuất thức uống lên men

Chương 7. Công nghệ sản xuất một số thực phẩm lên men khác

Để hoàn thiện giáo trình này chúng tôi đã nhận được hợp tác, giúp đỡ, đóng góp ý kiến của Dự án KHCNNN – Bộ NN&PTNT; Ban Giám Hiệu và các thầy cô giáo Trường Cao đẳng Lương thực Thực phẩm; các Giáo sư, Phó giáo sư, các Nhà khoa học, các cơ sở sản xuất kinh doanh, các cán bộ kỹ thuật, chúng tôi xin gửi lời cảm ơn tất cả sự giúp đỡ quí báu đó.

Trong quá trình biên soạn giáo trình, không tránh khỏi thiếu sót. Chúng tôi mong nhận được ý kiến đóng góp của người học, người dạy và bạn đọc, để tiếp tục hoàn chỉnh cho lần biên soạn sau được tốt hơn.

NHÓM TÁC GIẢ

DANH MỤC CHỮ VÀ KÝ HIỆU VIẾT TẮT

ADY (*Active dry yeast*): Men khô hoạt hóa

Ala: Alanine

Arg: Arginine

Asn: Asparagine

Asp: Aspatic acid

ATP: Adenosin triphosphat

Cys: Cysteine

DE: Chỉ số đương lượng dextrose

EMP: Embden-Meyerhof-Parnas

GDL: Glucono delta-lacton

Glu: Glutamine

Gly: Glycine

HADY (*High activity dry yeast*): Men khô hoạt lực cao

His: Histidine

IADY (Instant Active Dry Yeast): Men khô hoạt động ngay

Ile: Isoleucine

Leu: Leucine

Lys: Lysine

Met: Methionine

MSG: Monosodium glutamate

Phe: Phenylalanine

Pro: Proline

Ser: Serine

SKL/1ml: Số khuẩn lạc/1ml

TCVN: Tiêu chuẩn Việt Nam

Thr: Threonine

Trp: Tryptophan

Tyr: Tyrosine

Val: Valine

VSV: Vi sinh vật

Chương 1. KHÁI QUÁT VỀ LÊN MEN THỰC PHẨM

Trong những thập niên 1960 và 1970, công nghệ lên men đã phát triển thành một ngành công nghiệp lớn trên thế giới. Trong công nghệ thực phẩm, quá trình lên men được ứng dụng để sản xuất ra nhiều loại thực phẩm phổ biến như: rượu, bia, nước giải khát, yoghurt, phomat, mì chính, nước mắm, các sản phẩm lên men truyền thống, … Thực phẩm lên men được sản xuất, không những làm phong phú, đa dạng sản phẩm mà còn mang đến cho con người nhiều lợi ích quí báu.

Chương này tóm tắt một cách khái quát về công nghệ lên men và các quá trình lên men chủ yếu trong chế biến thực phẩm, chẳng hạn như: lên men ethanol, lên men lactic, lên men propionic, lên men acetic, lên men butyric,… Với những nội dung đó, giúp cho người học dễ dàng liên kết những kiến thức cơ bản của công nghệ lên men, với những kiến thức chuyên ngành về công nghệ sản xuất các sản phẩm thực phẩm bằng phương pháp lên men (được trình bày ở các chương sau).

1. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ LÊN MEN

Thuật ngữ *fermentation* (lên men) từ tiếng Latinh *fervere* có nghĩa là làm chín, dùng để diễn tả hoạt động của nấm men trong dịch chiết trái cây hay dịch đường hóa ngũ cốc. L.Pasteur đã gọi sự lên men là sự sống thiếu không khí. Tuy nhiên, thuật ngữ lên men đến nay được hiểu là tất cả các quá trình biến đổi do vi sinh vật (VSV) thực hiện trong điều kiện yếm khí hay hiếu khí.

Khái niệm lên men (*fermentation*) có thể được hiểu theo các nghĩa khác nhau:

- Trong lĩnh vực vi sinh vật học : trước đây lên men được hiểu là quá trình sinh tổng hợp năng lượng (ATP) ở tế bào sinh vật từ các hợp chất hữu cơ trong điều kiện không có oxy. Gần đây, người ta cho rằng lên men là quá trình sinh tổng hợp năng lượng ở tế bào không có sự tham gia của chuỗi hô hấp. Trên cơ sở đó, một vài quá trình sinh tổng hợp ATP diễn ra trong điều kiện kỵ khí vì có sự tham gia của chuỗi hô hấp như chuỗi hô hấp nitrate, hô hấp sulfate ở vi khuẩn *Pseudomonas, Desulfovibrio*...

- Trong lĩnh vực công nghệ vi sinh vật (VSV): lên men được hiểu là quá trình chuyển hóa cơ chất của các tế bào VSV kèm theo sự phát triển sinh khối và tổng hợp các sản phẩm trao đổi chất. Từ đó, ta có các khái niệm như lên men hiếu khí nếu như quá trình nuôi cấy VSV diễn ra trong điều kiện có oxy, và lên men kỵ khí nếu như quá trình nuôi cấy VSV diễn ra trong điều kiện không có oxy.

- Lên men cũng được hiểu là sự chuyển hóa carbohydrate và một vài hợp chất hữu cơ khác thành những hợp chất mới dưới tác dụng của enzyme do vi sinh vật tạo ra. Như vậy, tác nhân chính của quá trình lên men là các tế bào vi sinh vật, hoặc có thể là enzyme của chúng đã được chế tạo thành các dạng chế phẩm.

Vi sinh vật sử dụng một số con đường trao đổi chất, để chuyển hoá glucose và các đường khác thành sản phẩm trung gian là acid pyruvic. Trong các chu trình chuyển hóa, chu trình Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) và đặc biệt là chu trình Krebs có vai trò trọng tâm. Vì những chu trình này đáp ứng được các yêu cầu về nguồn năng lượng, nguồn carbon và nguồn các chất hữu cơ là những yếu tố rất cần thiết để duy trì các hoạt động sống của tế bào. Acid pyruvic chính là sản phẩm trung gian quan trọng nhất trong quá trình hô hấp hiếu khí cũng như yếm khí. Sau đó hai quá trình đi theo hai hướng khác nhau:

- Trong điều kiện hiếu khí, acid pyruvic tiếp tục bị oxy hóa thành CO_2 và H_2O, ở

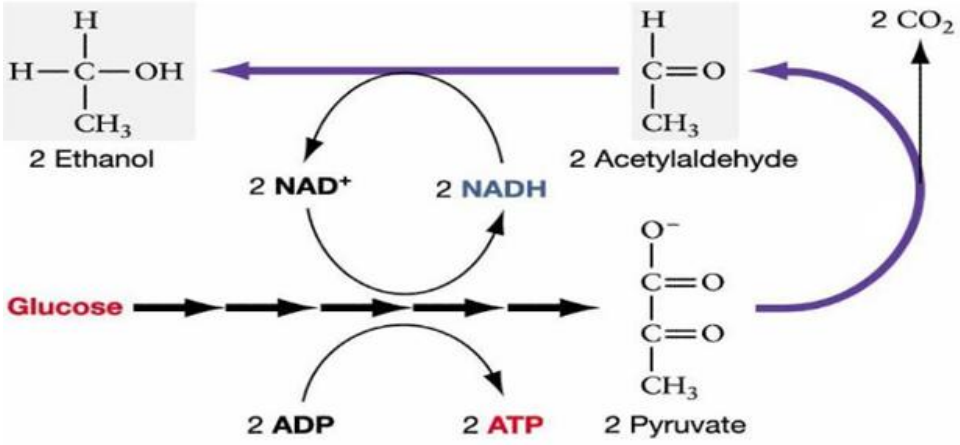
đây O_2 đóng vai trò chất nhận H_2 cuối cùng.

- Trong điều kiện kỵ khí, acid pyruvic có thể là chất nhận H_2 cuối cùng và chuyển thành những hợp chất hữu cơ, là sản phẩm của sự lên men rượu, các acid hữu cơ.

2. CÁC QUÁ TRÌNH LÊN MEN TRONG SẢN XUẤT THỰC PHẨM

2.1. Quá trình lên men ethanol

Lên men ethanol là quá trình phân giải yếm khí đường thành ethanol dưới tác dụng của VSV. Cơ chế của quá trình lên men ethanol được mô tả trên hình 1.1.



Hình 1.1. Cơ chế của quá trình lên men ethanol

Phương trình phản ứng tổng quát của quá trình lên men ethanol được trình bày như sau:

$$C_6H_{12}O_6 + 2ADP + 2H_3PO_4 = 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 2ATP + 2H_2O$$

Đường cùng với chất dinh dưỡng khác của môi trường lên men, trước tiên được hấp thụ trên bề mặt và sau đó khuếch tán qua màng tế bào và vào bên trong tế bào nấm men, sự phân hủy đường thành ethanol trong tế bào nấm men xảy ra hàng loạt các phản ứng với sự tham gia của nhiều loại enzyme khác nhau, bước cuối cùng của quá trình lên men là sự chuyển hóa acid pyruvic thành ethanol và CO_2.

Sự chuyển hóa đường hexose thành ethanol và khí CO_2 diễn ra trong tế bào chất của nấm men. Đây là quá trình trao đổi năng lượng của nấm men trong điều kiện kỵ khí, ethanol và CO_2 tạo ra trong tế bào sẽ được nấm men "thải" vào môi trường lên men.

Trong điều kiện hiếu khí, quá trình lên men bị ức chế, khi đó hydro tách ra được chuyển qua chuỗi hô hấp tới oxy và acid pyruvic, sản phẩm của quá trình đường phân sẽ tiếp tục bị oxy hóa qua nhiều bước trong chu trình Krebs, các cặp hydro tách ra được chuyển tới oxy. Quá trình này liên hợp với quá trình tạo ATP. Tùy điều kiện môi trường, sự lên men rượu có thể tiến hành theo các kiểu khác nhau.

Bên cạnh ethanol và khí CO_2, tế bào nấm men còn tổng hợp và "thải" vào dịch hàng trăm sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian khác trong quá trình lên men. Những hợp chất này được tìm thấy trong dịch lên men với hàm lượng rất nhỏ, chẳng hạn như: glycerol cùng các rượu bậc cao, aldehyde, acid hữu cơ và ester.

Tác nhân VSV của quá trình lên men rượu là: nấm men, nấm mốc và vi khuẩn. Trong đó tác nhân cơ bản là nấm men *Saccharomyces cerevisiae*

- *Nấm men*: Nấm men là tác nhân cơ bản gây nên quá trình lên men rượu, tuy

nhiên không phải loài nào cũng lên men đường thành rượu được mà chỉ có một số loài cá khả năng này. Trong sản xuất hiện nay người ta thường dùng một số loài thuộc họ *Saccharomyces cerevisiae*. Theo đặc tính lên men người ta chia nấm men thành hai nhóm: nấm men nổi và nấm men chìm.

Nấm men nổi: là những nấm men có cường lực lên men rất nhanh và mạnh. Nhiệt độ thích hợp cho nấm men sinh trưởng từ $20 \div 28^0C$, tốc độ lên men rất lớn, lượng đường tiêu thụ nhiều. Do sinh ra nhiều khí CO_2 nên các tế bào nấm men ở dưới sẽ theo CO_2 nổi lên bề mặt, vì vậy nấm men hoạt động mạnh hơn và lên men cả các phân tử đường trên bề mặt. Người ta thường sử dụng để sản xuất ethanol và bánh mì. Tiêu biểu là loài *Saccharomyces cerevisiae*

Nấm men chìm: là những nấm men có cường lực lên men yếu. Nhiệt độ thích hợp cho nấm men sinh trưởng từ $5 \div 10^0C$. Trong quá trình lên men lượng khí CO_2 tạo ra ít và do nhiệt độ thấp nên nó được giữ lại trong dung dịch lên men. Sau khi lên men chúng tạo thành cặn dưới đáy thùng. Quá trình lên men chậm và xảy ra từ từ. Tiêu biểu là loài *Saccharomyces ellipsoideus.* Nấm men chìm thường dùng trong sản xuất bia, rượu vang, champagne.

- *Nấm mốc:* Nếu sản xuất ethanol từ tinh bột thì phải qua bước đường hóa tức là giai đoạn chuyển tinh bột thành đường. Người ta thường sử dụng nấm mốc cho giai đoạn này, các loài phổ biến là *Aspergillus oryzae, Aspergillus usamii, Aspergillus awamori, Mucor rouxii*.

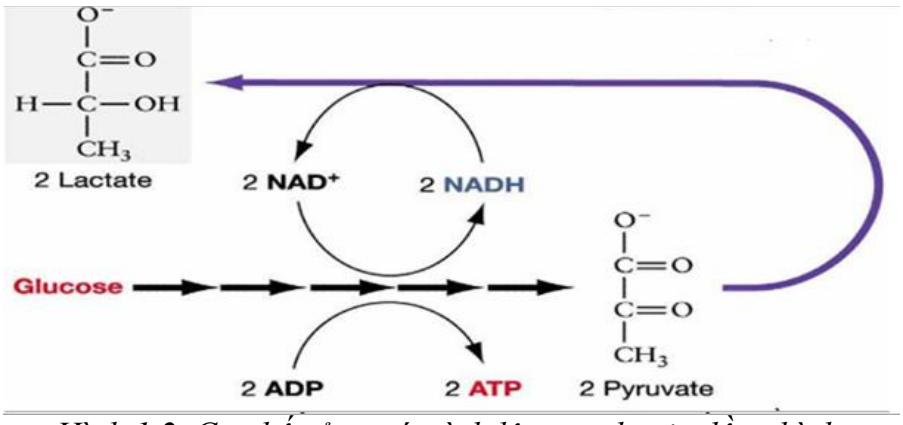
- *Vi khuẩn*: Một số vi khuẩn có khả năng lên men chuyển hóa đường thành ethanol như *Sasina ventriculi, Zymononas mobylis*, ngoài ra còn có vi khuẩn lactic dị hình, vi khuẩn đường ruột hay *Clostridium* cũng có khả năng lên men đường thành ethanol, butyric... Tuy nhiên trong công nghiệp thực phẩm chủ yếu sử dụng nấm men trong lên men ethanol.

Quá trình lên men ethanol được ứng dụng trong sản xuất ethanol, sản xuất bia, sản xuất rượu vang, sản xuất nước giải khát lên men có cồn.

2.2. Quá trình lên men lactic

Lên men lactic là quá trình chuyển hóa yếm khí carbohydrate thành acid lactic nhờ hoạt động sống của VSV, điển hình là vi khuẩn lactic. Có hai kiểu lên men lactic chính là và lên men lactic đồng hình và lên men lactic dị hình.

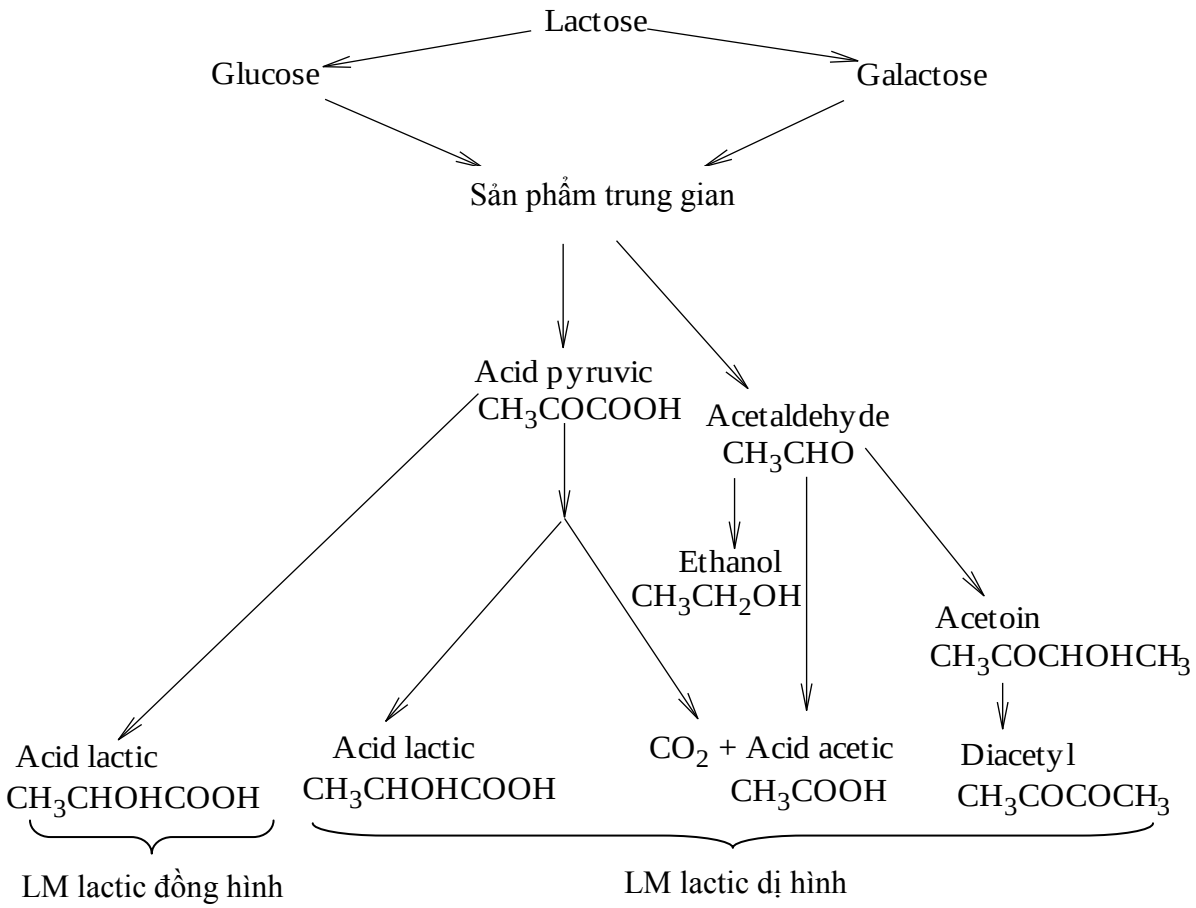
- *Lên men lactic đồng hình:* là quá trình lên men do vi khuẩn lactic đồng hình, có khả năng phân hủy đường theo con đường đơn giản tạo nên acid lactic. Lượng acid lactic hình thành chiếm 90÷98% trong sản phẩm. Cơ chế của quá trình lên men lactic đồng hình được trình bày ở hình 1.2.



Hình 1.2. Cơ chế của quá trình lên men lactic đồng hình

- *Lên men lactic dị hình*: là quá trình lên men do các vi khuẩn lactic dị hình, phân hủy đường thành acid lactic, ngoài acid lactic tạo thành còn có hàng loạt sản phẩm khác nhau được tạo thành chiếm tỷ lệ khá cao như: acid acetic, ethanol, glycerin, CO_2, H_2O, một số chất thơm như diacetyl, ester.

Cơ chế chung của quá trình chuyển hóa đường sữa, do vi khuẩn lactic đồng hình và dị hình được tóm tắt ở hình 1.3.



Hình 1.3. Sơ đồ lên men lactic đường sữa

Quá trình lên men lactic diễn ra trong tế bào chất của vi khuẩn. Đầu tiên, đường lactose sẽ được vi khuẩn lactic đưa vào bên trong tế bào nhờ những cơ chế vận chuyển đặc trưng của màng tế bào chất. Tiếp theo, lactose sẽ được thủy phân thành hai monosaccharide rồi đi vào các chu trình chuyển hóa khác nhau.

Đối với nhóm vi khuẩn lactic đồng hình như giống *Lactococcus*, các loài *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus lactis*… chu trình đường phân là con đường chính chuyển hóa glucose thành acid lactic. Theo sơ đồ hình 1.3, acid lactic là sản phẩm chủ lực trong quá trình lên men lactic đồng hình. Phương trình tổng quát lên men lactic đồng hình như sau:

$$\underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{Acid pyruvic}}{CH_3COCOOH} + 2H \xrightarrow{\text{Lacticodehydrogenase}} \underset{\text{Acid lactic}}{2CH_3CHOHCOOH} + 22{,}5\ \text{kcal}$$

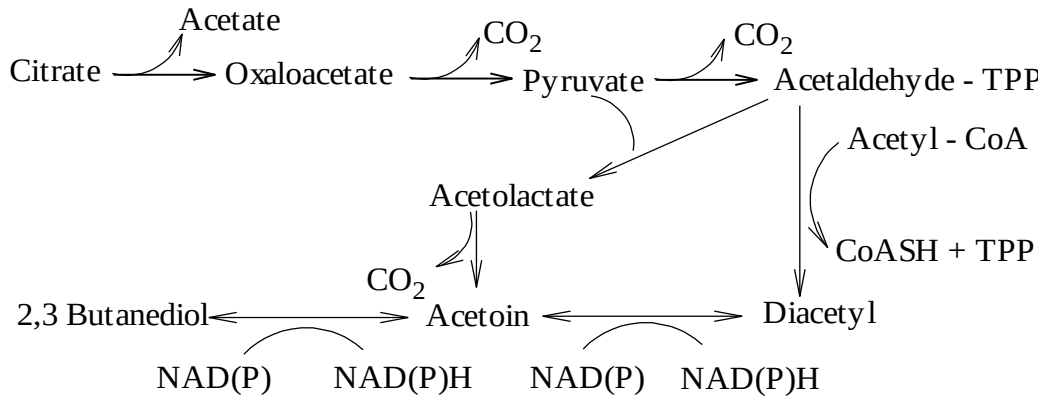
Các vi khuẩn lactic dị hình như giống *Leuconostoc* do không có một số enzyme của chu trình đường phân nên chúng chuyển hóa glucose giai đoạn đầu theo chu trình

pentose-phosphate và tạo ra sản phẩm trung gian là xylulose – 5 – phosphate. Chất này sẽ được chuyển hóa tiếp thành glyceraldehyde – 3 – phosphate rồi tiếp tục đi theo giai đoạn cuối của chu trình đường phân để tạo thành acid pyruvic rồi acid lactic như trong quá trình lên men đồng hình.

Theo một con đường trao đổi chất khác, xylulose – 5 – phosphate sẽ được chuyển hóa thành acetyl – phosphate và tiếp theo sau đó là thành ethanol. Sơ đồ chuyển hóa hình 1.3 cho thấy trong quá trình lên men dị hình, các sản phẩm chuyển hóa chính thu được bao gồm acid lactic, ethanol, CO_2 …

Lên men lactic là một quá trình trao đổi năng lượng. Các phân tử ATP được hình thành trong quá trình chuyển hóa cơ chất (lactose) sẽ được vi khuẩn giữ lại trong tế bào để phục vụ cho hoạt động trao đổi chất và sinh trưởng của VSV. Ngược lại, các sản phẩm như acid lactic, ethanol và CO_2 sẽ được vi khuẩn "thải" vào môi trường lên men. Kết quả là hàm lượng acid lactic tích lũy trong môi trường lên men ngày càng tăng, làm giảm pH môi trường và kéo theo những biến đổi hóa lý khác.

Trong quá trình lên men lactic, ngoài sản phẩm acid lactic (lên men đồng hình), ethanol, CO_2 (lên men dị hình), trong dịch lên men còn xuất hiện nhiều hợp chất hóa học mới khác. Chúng là những sản phẩm trung gian hoặc sản phẩm phụ của quá trình lên men. Hàm lượng của chúng trong dịch lên men thường rất thấp (vài ppm hoặc ít hơn). Một số hợp chất trong nhóm trên rất dễ bay hơi. Chúng đóng vai trò quan trọng trong việc góp phần hình thành nên mùi, vị đặc trưng cho những sản phẩm lên men lactic. Đáng chú ý nhất là diacetyl và acetaldehyde. Quá trình sinh tổng hợp diacetyl liên quan đến sự chuyển hóa citrate, được trình bày ở hình 1.4.

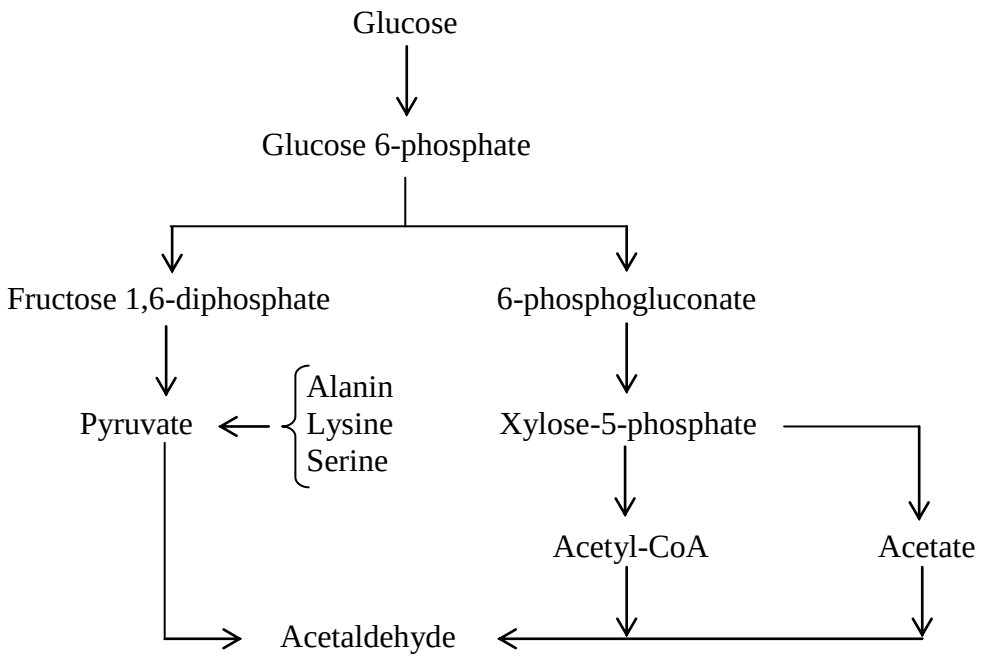


Hình 1.4. Sinh tổng hợp các chất tạo hương từ citrate (Cogan và Fordan, 1994)

Ở giai đoạn đầu của quá trình lên men, diacetyl được tổng hợp. Hàm lượng diacety trong môi trường sẽ tăng dần rồi sau đó sẽ giảm dần vào giai đoạn cuối, đặc biệt khi hàm lượng citrate giảm giảm dần. Một phần diacetyl sẽ được chuyển hóa thành acetoin và 2,3 butanediol. Acetaldehyde được tổng hợp từ các sản phẩm của quá trình chuyển hóa glucose và một số acid amin (hình 1.5).

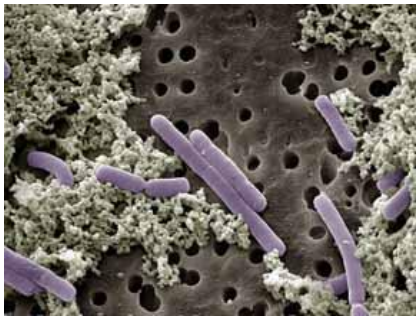
Nhiều loài vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp acetaldehyde. Đây là hợp chất quan trọng quyết định đến mùi vị đặc trưng cho các sản phẩm lên men như yoghurt, bơ,…

Tỷ lệ hàm lượng diacetyl/acetaldehyde ảnh hưởng lớn đến giá trị cảm quan của yoghurt và bơ. Tỷ lệ này phụ thuộc vào thành phần các chủng VSV sử dụng trong tổ hợp giống và các thông số kỹ thuật của quá trình lên men như: nhiệt độ, pH đầu, lượng giống cấy …

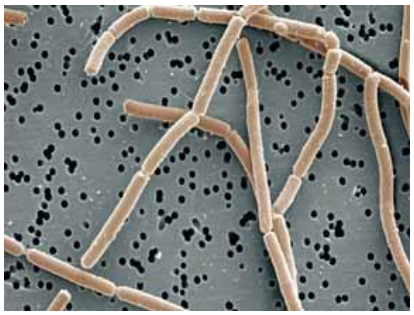


Hình 1.5. Sinh tổng hợp acetyldehyde ở một số vi khuẩn lactic ưa nhiệt (Varnam và Sutherland, 1994)

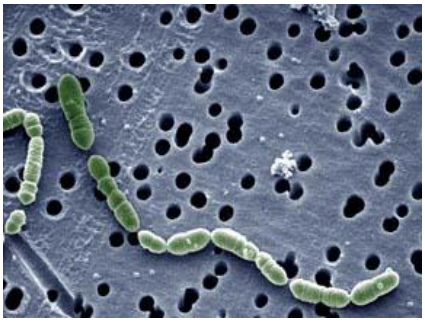
Hình thái một số vi khuẩn lactic được mô tả trên hình 1.6.



Lactobacillus casei

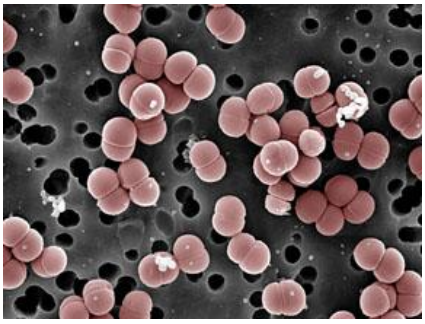


Lactobacillus bulgaricus

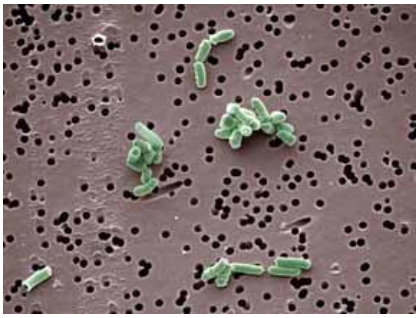


Oenococcus oeni

Lactobacillus brevis



Pediococcus pentosaceus



Brevibacterium linens

Hình 1.6. Hình thái một số vi khuẩn lactic

Tác nhân VSV trong quá trình lên men lactic là vi khuẩn lactic thuộc họ *Lactobacillaceae* và được xếp vào bốn nhóm: *Streptococcus, Pediococcus, Lactobaccillus, Leuconostoc*. Đây là những trực khuẩn hoặc cầu khuẩn không tạo bào tử, chúng thường không chuyển động và hô hấp yếm khí tùy tiện. Phần lớn chúng vẫn phát triển bình thường nếu không có O_2. Hầu hết không có khả năng lên men tinh bột và các polysacharide khác. Sự phát triển của nó cần một số acid hay các hợp chất hữu cơ chứa nitơ khác (pepton, polysacharide và protein tan).

Quá trình lên men lactic được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm sản xuất một số sản phẩm thực phẩm lên men: yoghurt, phomat, bánh mì đen, acid lactic, muối chua rau quả, …

2.3. Quá trình lên men propionic

Lên men propionic là quá trình chuyển hóa acid lactic và muối lactat thành acid propionic dưới tác dụng của VSV. Ngoài acid propionic, sản phẩm của sự chuyển hóa này còn có acid acetic, CO_2 và H_2O.

Cơ chế phản ứng như sau:

- *Phân hủy đường:*

$$\underset{\text{Glucose}}{3C_6H_{12}O_6} = \underset{\text{Acid propionic}}{4CH_3CH_2COOH} + \underset{\text{Acid acetic}}{2CH_3COOH} + 2CO_2 + 2H_2O$$

- *Phân hủy acid lactic:*

$$\underset{\text{Acid lactic}}{3CH_3CHOHCOOH} = \underset{\text{Acid propionic}}{2CH_3CH_2COOH} + \underset{\text{Acid acetic}}{CH_3COOH} + CO_2 + H_2O$$

Theo quá trình này, tỷ lệ giữa hai loại acid propionic và acid acetic là 2:1 (thực tế thường thu được 1,5:1)

Tác nhân VSV chủ yếu là các vi khuẩn propionic trong đó loài hoạt động nhất là *Bacterium acidipropionic*, vi khuẩn này rất giống với vi khuẩn lactic, thường chung sống với vi khuẩn lactic, chúng rất phổ biến trong sữa. Vi khuẩn này lên men dễ dàng acid lactic, muối lactat và một số đường hexose, pH thích hợp để lên men là 7, nhiệt độ thích hợp là $14 \div 35^0C$. Vi khuẩn này lên men dễ dàng acid lactic, muối lactate, đường thành acid propionic. Trong quá trình sống chúng cần bổ sung thêm nitơ hữu cơ phức tạp dưới dạng protein.

Ứng dụng của quá trình lên men propionic: lên men propionic có vai trò quan trọng trong quá trình ủ chín một số loại phomat. Acid propionic được tạo thành vừa là chất bảo quản, vừa là cấu tử tham gia tạo hương cho sản phẩm. Khí CO_2 tạo ra trong quá trình lên men là nguyên nhân tạo nên cấu trúc lỗ hổng trong khối phomat thành phẩm. Ngoài ra lên men propionic còn ứng dụng trong công nghiệp sản xuất acid propionic, sản xuất vitamin B12.

2.4. Quá trình lên men acetic

Lên men acetic là quá trình oxy hóa ethanol thành acid acetic, trong điều kiện hiếu khí, với tác nhân gây chuyển hóa là vi khuẩn acetic.

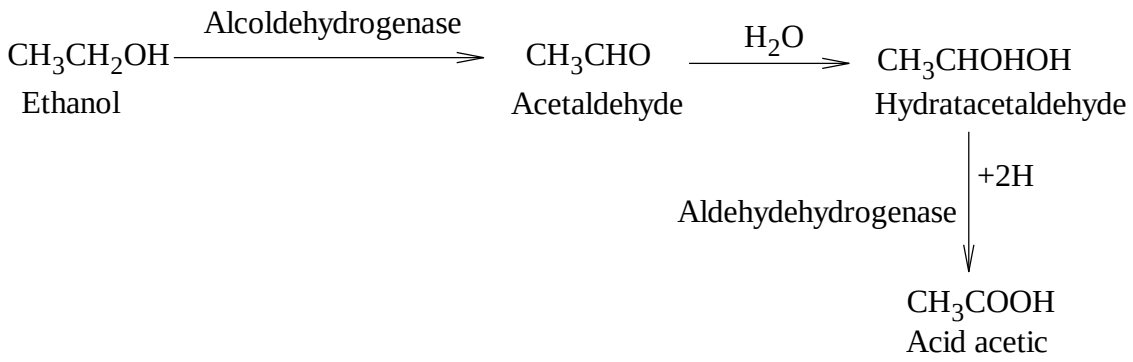
Phương trình tổng quát chuyển hóa ethanol thành acid acetic

$$C_2H_5OH + 3O_2 = 2CH_3COOH + 4H_2O + 2CO_2$$

Thực chất của quá trình oxy hóa ethanol thành acid acetic là các phản ứng liên tiếp nhau được xảy ra trong điều kiện hiếu khí. Ethanol và oxy không khí phải được tế bào vi khuẩn hấp thụ vào bên trong và sau đó acid acetic được hình thành sẽ thoát ra

ngoài. Trong tế bào vi khuẩn, đầu tiên ethanol bị oxy hóa thành acetaldehyde, chất này chuyển thành hydratacetaldehyde, sau đó hydratacetaldehyde bị oxy hóa thành acid acetic.

Cơ chế phản ứng của quá trình này có thể biểu diễn như sau (hình 1.7).



Hình 1.7. Cơ chế phản ứng chuyển hóa ethanol thành acid acetic

Điều kiện thích hợp cho sự lên men acetic là môi trường pH = 3, nhiệt độ $28 \div 30^0C$, nồng độ ethanol khoảng 6÷12% (trong môi trường dinh dưỡng có glucose). Tùy từng loại vi khuẩn, khi nồng độ ethanol trong môi trường không đủ thì sẽ xảy ra sự tổn thất acid acetic do phản ứng oxy hóa acid acetic bởi vi khuẩn:

$$CH_3COOH + O_2 \longrightarrow 2CO_2 + 2H_2O$$

Tác nhân vi sinh vật chủ yếu trong quá trình lên men acetic là vi khuẩn acetic, được xếp vào giống *Acetobacter*. Chúng là những trực khuẩn tương đối lớn, không chuyển động, không có bào tử, hô hấp hiếu khí bắt buộc, nhiệt độ thích hợp là $30 \div 35^0C$.

Vi khuẩn acetic và quá trình oxy hóa ethanol thành acid acetic được ứng dụng rộng rãi để sản xuất dấm ăn, nước giải khát, bánh mì đen, vitamin C,… Tuy nhiên, vi khuẩn acetic có thể nhiễm vào nhiều công đoạn trong chế biến thực phẩm, gây hư hại nhiều cho nguyên liệu và thành phẩm, đặc biệt là trong công nghiệp sản xuất rượu, bia, bánh mì, đồ hộp, …

2.5. Quá trình lên men butyric

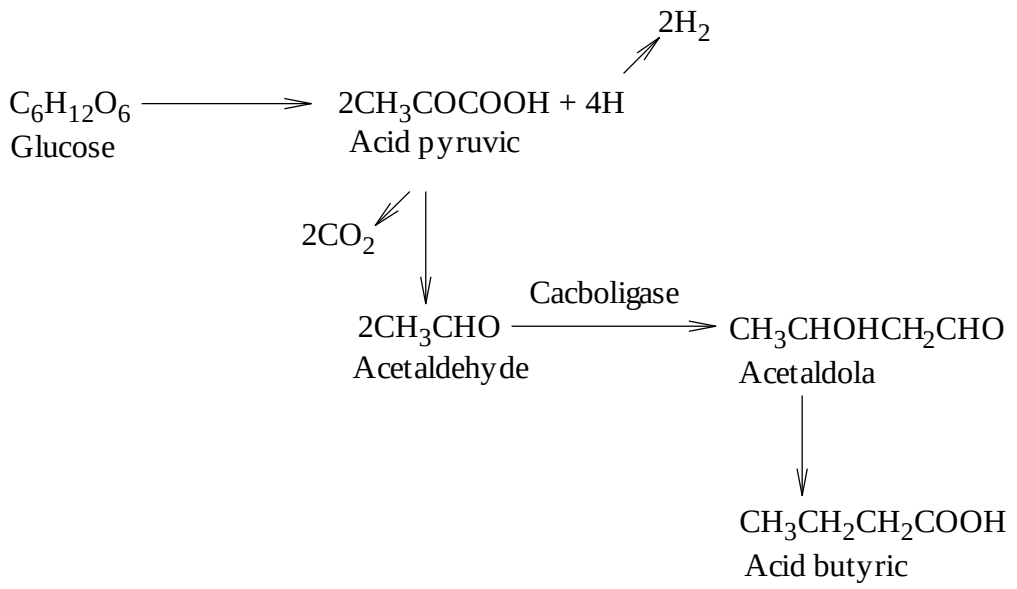
Lên men butyric là quá trình phân giải yếm khí đường tạo thành acid butyric và một số sản phẩm phụ dưới tác dụng của VSV.

Đây là một quá trình sinh hóa phức tạp. Sản phẩm của quá trình này không chỉ là acid butyric mà còn có ethanol, aceton, acid acetic, … Các phản ứng xảy ra theo sơ đồ hình 1.8.

Tác nhân VSV chủ yếu là vi khuẩn butyric, chúng rất phổ biến trong tự nhiên như đất, nước bẩn, sữa, phomat… Chúng là trực khuẩn chuyển động, do có tiên mao xung quanh, chúng có khả năng sinh bào tử, hô hấp yếm khí bắt buộc, nhiệt độ tối ưu là $30 \div 40^0C$, có khả năng lên men không chỉ đường đơn giản mà cả đường phức tạp như dextran, tinh bột. Khả năng dinh dưỡng nitơ của vi khuẩn này rất rộng, chúng có khả năng sử dụng protein, pepton, muối amôn, muối nitrat, một số còn sử dụng cả nitơ phân tử. Một số loài thường gặp: *Clostridium saccharobutyricum, Clostridium pasteurianum, Clostridium butyricum.*

Ứng dụng của quá trình lên men butyric: lên men butyric được ứng dụng chủ yếu

trong sản xuất acid butyric. Ngoài ra quá trình lên men butyric còn tạo thành một lượng nhỏ các chất như: acid acetic, acid caprolic, acid caprilic, ethanol … Lên men butyric là quá trình không mong muốn, là nguyên nhân gây nên mùi vị khó chịu trong các sản phẩm sữa chua và hiện tượng phồng của phomat.



Hình 1.8. Cơ chế phản ứng của quá trình lên men glucose thành acid butyric

3. CÁC LOẠI THỰC PHẨM LÊN MEN

Ở nước ta có các nhóm thực phẩm lên men phổ biến là:

- Thực phẩm lên men từ đậu nành và ngũ cốc: nước chấm, tương, chao, bánh mỳ,…
- Thực phẩm lên men từ rau, quả: chủ yếu là rau, quả muối chua
- Thực phẩm lên men từ thịt, cá: nước mắm, nem chua,…
- Thực phẩm lên men từ sữa: sữa chua yoghurt, kefir, phomat,…
- Thực phẩm thức uống lên men: ethanol, bia, rượu vang, …
- Một số thực phẩm lên men khác: mì chính, dấm ăn, …

4. LỢI ÍCH CỦA THỰC PHẨM LÊN MEN

4.1. Tăng thời gian bảo quản, sử dụng thực phẩm

Lên men có thể kéo dài thời gian bảo quản thực phẩm, chẳng hạn như rau quả muối có thể sử dụng trong vòng 1÷2 tháng, trong khi rau tươi sẽ hư hỏng sau 3÷5 ngày. Tương, chao, mắm là những thực phẩm lên men có thể để tới hàng năm.

Lên men là một phương pháp bảo quản thực phẩm hiệu quả và rẻ tiền vì không đòi hỏi trang thiết bị phức tạp, công nghệ dễ áp dụng. Chính vì vậy, kỹ thuật lên men đã được sử dụng từ rất lâu đời. Có nhiều chứng cứ xác thực cho thấy nước uống lên men đã được sản xuất cách đây 7000 năm tại Babylon (bây giờ là Iraq), bánh mỳ đã được sử dụng ở Ai Cập cách đây 3500 năm và sữa lên men đã được sử dụng ở Babylon.

4.2. Tạo ra sự đa dạng thực phẩm

Nhờ công nghệ lên men, người ta tạo ra được những thực phẩm khác nhau như rượu được chế biến từ trái cây, ngũ cốc, rỉ đường; nước mắm được chế biến từ cá; tương, chao được chế biến từ đậu nành. Các thực phẩm lên men được chế biến từ

những nguyên liệu đặc trưng của từng vùng và mang bản sắc riêng của từng dân tộc tạo ra sự đa dạng về thực phẩm.

Thực phẩm lên men có thể được sản xuất thủ công, theo kinh nghiệm được truyền từ đời này qua đời khác theo khẩu vị riêng của từng dân tộc. Hầu như mỗi dân tộc đều có những thực phẩm lên men truyền thống của mình. Ví dụ kim chi là món ăn đặc trưng của người Hàn Quốc; nước mắm là món không thể thiếu trong bữa ăn của người Việt Nam; phomat là món ăn ưa thích đặc biệt của người Châu Âu. Ngày nay, với sự phát triển của xã hội, các dân tộc đã tìm đến với nhau, trao đổi, sử dụng sản phẩm và công nghệ sản xuất. Thực phẩm lên men ngày càng phổ biến cả về chủng loại và số lượng. Ước tính rằng, thực phẩm lên men chiếm tới 1/3 lượng thức ăn hàng ngày.

4.3. Cải thiện cảm quan thực phẩm

Tùy theo cách lên men và chủng VSV sử dụng trong quá trình lên men mà tạo ra những mùi vị khác nhau. Ví dụ: muối dưa tạo nên sự lên men lactic và sự lên men rượu yếu, làm cho dưa có vị chua; quá trình lên men giải phóng CO_2 tạo nên các loại nước giải khát có gas; hoặc các enzyme của VSV phân hủy glucide tạo ra đường đơn làm thực phẩm trở nên ngọt, phân hủy chất đạm tạo ra mùi, vị đặc trưng của sản phẩm.

4.4. Tăng khả năng tiêu hóa hấp thu

Dưới tác dụng của VSV, glucide dạng phức tạp được cắt nhỏ thành các glucide đơn giản, protein được cắt nhỏ thành các acid amin dễ tiêu hóa, hấp thu.

Lactose là đường chỉ có trong sữa, để tiêu hóa đường sữa cần men lactose, nhưng men này lại thường thiếu hụt ở người lớn và người ít sử dụng sữa tạo ra tình trạng rối loạn tiêu hóa sau uống sữa. Khi lên men sữa, 70% đường lactose trong sữa được lên men chuyển thành acid lactic, vì thế ăn sữa chua dễ tiêu hóa hơn.

Các chất xơ như cellulose, pectin thường cơ thể người không tiêu hóa được do không có men cellulase và pectinase. Quá trình lên men thủy phân các chất xơ này thành các loại glucide khác giúp cơ thể dễ dàng tiêu hóa.

Trong môi trường acid của các thực phẩm lên men, các chất khoáng như Ca, kẽm tăng khả năng hòa tan, giúp dễ dàng hấp thu hơn.

4.5. Tăng sức đề kháng

Thực phẩm lên men còn là nguồn cung cấp vi khuẩn lactic, loại vi khuẩn có lợi trong đường ruột, vi khuẩn này bám vào niêm mạc đường tiêu hóa, cạnh tranh thức ăn và chỗ bám làm kìm hãm sự phát triển của VSV gây bệnh như *E.coli, Salmonella* (gây tiêu chảy), vi khuẩn *Pylori* (gây viêm loét dạ dày) và nấm *Candida*.

Quá trình lên men còn tạo ra các kháng thể, chất kháng sinh như bactericin, hydrogen peroxide, ethanol ức chế vi khuẩn có hại.

Người ta còn nhận thấy một vài VSV tạo ta các chất chống oxy hóa hấp thu các gốc tự do trong cơ thể. Các gốc tự do đó chính là thủ phạm gây ung thư.

4.6. Tạo ra chất dinh dưỡng

Quá trình lên men làm tăng hàm lượng một số vitamin. Sữa lên men thường giàu vitamin nhóm B. Lên men thực phẩm với chủng nấm men *Sacharomyces cerevisiae* làm tăng lượng vitamin B1, vitamin PP và biotin (vitamin H). Bia chế biến từ cây tần bì của Nam Mỹ giàu vitamin B2, PP và điều này quan trọng vì chế độ ăn của người dân ở đây thường thiếu vitamin B2 do nguồn thực phẩm chủ yếu là bắp.

Nhờ quá trình lên men, protein được cắt nhỏ thành các acid amin, nên hấp thu

trục tiếp dễ dàng hơn. Các thực phẩm giàu đạm lên men là nguồn cung cấp các acid amin như nước mắm, tương, chao, phomat,…

4.7. Loại trừ vi khuẩn và các độc tố

Quá trình lên men có thể phân hủy các độc tố có trong thực phẩm như cyanogenic glycosides (HCN) có trong sắn, măng, hay mycotoxin trong hạt ngũ cốc. Nếu sử dụng những thực phẩm này mà chưa qua chế biến hoặc chế biến không đúng cách thì cyanide sẽ giải phóng vào cơ thể và gây ngộ độc. Với liều 50÷60mg (khoảng 200g măng tươi chưa luộc) cyanogenic glycosides có thể gây chết người. Việc muối chua những loại thực phẩm này giúp loại bỏ được 90÷95% độc tố cyanogenic glycosides trong vòng 3 ngày. Cụ thể, lượng cyanogenic glycosides trong măng tươi ngâm chua là 2,2mg/100g trong khi măng tươi chưa luộc là 32÷38mg/100g.

Lên men còn có tác dụng trung hòa các chất phản hấp thụ như acid phytic có trong hạt ngũ cốc và antitrypsin có trong các loại đậu.

Lên men lactic làm giảm độ pH đã ức chế các vi khuẩn gây thối, các vi khuẩn có hại và ký sinh trùng.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày cơ chế của các quá trình lên men ethanol, lên men lactic, lên men propionic, lên men acetic, lên men acetic. Nêu ứng dụng của các quá trình lên men đó trong công nghệ thực phẩm.
2. Phân biệt sự khác nhau cơ bản giữa các quá trình lên men rượu, lên men lactic, lên men propionic, lên men acetic, lên men acetic.
3. Hãy nêu các lợi ích của thực phẩm lên men.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Kiều Hữu Ảnh (2010), *Giáo trình vi sinh vật học thực phẩm*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam.

[2]. Nguyễn Lân Dũng, Phạm Văn Ty, Nguyễn Đình Quyến (1998), *Vi sinh vật học*, Nhà xuất bản Giáo dục.

[3]. Phạm Thành Hổ (2005), *Nhập môn công nghệ sinh học*, Nhà xuất bản Giáo dục

[4]. Lê Văn Việt Mẫn (chủ biên) (2010), *Công nghệ chế biến thực phẩm*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

[5]. PGS.TS. Lương Đức Phẩm (2010), *Giáo trình công nghệ lên men*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam

[6]. Lê Xuân Phương (2001), *Vi sinh vật công nghiệp*, Nhà xuất bản Xây dựng

[7]. Lê Ngọc Tú (chủ biên) (1997), *Hóa sinh công nghiệp*, Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật

[8]. San Chiang Tan (2005), *Vinegar fermentation*, University of Louisiana at Lafayette

[9]. Y. H. Hui (Editor); Wai-Kit Nip; Leo M.L. Nollet; Gopinadhan Paliyath; Benjamin K.

[10]. Simpson (2006), *Food Biochemistry and Food Processing*, Blackwell Publishing.

Chương 2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ NGŨ CỐC

Ngũ cốc là nguồn cung cấp thực phẩm cơ bản trong khẩu phần ăn hàng ngày của con người. Ngũ cốc đáp ứng một phần lớn năng lượng hàng ngày của con người. Bên cạnh đó, ngũ cốc là cơ chất đặc biệt quan trọng đối với thực phẩm lên men ở tất cả các vùng trên thế giới và là mặt hàng chủ lực ở các tiểu lục địa Ấn độ, Châu Á và Châu Phi. Ngày nay, thực phẩm lên men đóng góp khoảng một phần ba lượng nguyên liệu trong thực đơn hàng ngày trên khắp thế giới; công nghệ lên men đóng vai trò quan trọng trong việc bảo quản thực phẩm đặc biệt với các thực phẩm dễ hư hỏng; lên men là một phương pháp rẻ tiền và tiết kiệm năng lượng trong bảo quản nguyên vật liệu dễ hỏng và lên men ngũ cốc không những tạo ra các thay đổi về chất lượng thực phẩm bao gồm kết cấu, mùi vị, trạng thái bên ngoài, dinh dưỡng mà còn cung cấp nhiều sản phẩm thực phẩm phục vụ cho các bữa ăn hàng ngày và phát triển nền công nghiệp chế biến thực phẩm.

Chương công nghệ sản xuất thực phẩm lên men từ ngũ cốc ngoài các nội dung khái quát về ngũ cốc , nội dung sản xuất một số sản phẩm thực phẩm lên men từ ngũ cốc chủ yếu đi sâu về công nghệ ứng dụng vi sinh vật trong lên men và các chế phẩm enzyme để sản xuất một số sản phẩm thực phẩm : mật tinh bột, bánh mỳ, nước chấm tương, chao theo công nghệ truyền thống và hiện đại.

1. KHÁI QUÁT CHUNG

1.1. Sơ lược về ngũ cốc

Hạt ngũ cốc là quả của cây trồng thuộc họ thân cỏ (*Gramineae*) và cơ bản chúng thuộc nhóm cây lương thực quan trọng nhất được sản xuất trên thế giới. Các loại ngũ cốc cung cấp năng lượng cao, khoảng 10.000÷15.000 kJ/Kg, cao hơn 10÷20 lần năng lượng của rau quả. Về mặt dinh dưỡng, ngũ cốc là nguồn cung cấp chủ yếu protein, carbohydrate, các vitamin nhóm B, vitamin E, sắt, chất khoáng và xơ trong thực đơn hàng ngày. Ước tính, sự tiêu thụ ngũ cốc toàn cầu cung cấp trực tiếp khoảng 50% protein và năng lượng cần thiết trong thực đơn hàng ngày của con người, ngoài ra ngũ cốc cung cấp thêm 25% protein và năng lượng thông qua các loại vật nuôi. Ở các nước phát triển, thu nhận nguồn protein của ngũ cốc chủ yếu từ động vật vì ngũ cốc được sử dụng làm thức ăn cho gia súc ngày càng nhiều. Hơn 70% ngũ cốc ở các nước phát triển dùng cho gia súc; ngược lại, ở các nước đang phát triển, 68÷98% ngũ cốc được sử dụng cho sự tiêu thụ của con người.

Do các hạt ngũ cốc khô tế bào sống vẫn hô hấp khi được giữ trong môi trường thích hợp, nên các hạt ngũ cốc nguyên vẹn, với hàm lượng nước dưới 14% thuận lợi cho việc bảo quản trong nhiều năm; vì với độ ẩm này sẽ ức chế sự phát triển của vi sinh vật và các biến đổi hóa học.

Các ngũ cốc chính được trồng trên thế giới bao gồm: lúa mỳ, lúa gạo, ngô và lúa mạch. Các ngũ cốc khác gồm có kê, lúa miến, lúa mạch đen và yến mạch. Châu Á, châu Mỹ và châu Âu sản xuất hơn 80% lượng ngũ cốc thế giới. Lúa mỳ, lúa gạo, lúa miến và kê được sản xuất với số lượng lớn ở châu Á; ngô và lúa miến là cây trồng chính ở châu Mỹ; lúa mạch, yến mạch và lúa mạch đen là cây trồng chính ở Liên Xô cũ và châu Âu.

Có nhiều cách sử dụng ngũ cốc với chức năng là thực phẩm. Cách sử dụng phổ

biến nhất của ngũ cốc là nấu, nấu trực tiếp ở dạng hạt, dạng bột, tinh bột hoặc lõi hạt. Cách sử dụng phổ biến khác của ngũ cốc là chế biến thành thức uống có cồn như whiskey và bia (lúa mạch, lúa miến), vodka (lúa mỳ), bourbon Mỹ (lúa mạch đen), sake Nhật (gạo). Nhiều sản phẩm ngũ cốc lên men có nguồn gốc toàn bộ hoặc một phần từ các loại ngũ cốc khác nhau như lúa, ngô, lúa miến, kê, lúa mạch và lúa mạch đen. Các loại ngũ cốc khác nhau không chỉ về chất dinh dưỡng, mà trong thành phần của các protein và carbohydrate cũng có đặc tính khác nhau. Do đó, các đặc tính chức năng và cảm quan của sản phẩm làm từ ngũ cốc khác nhau sẽ khác nhau bắt đầu từ những yếu tố này. Chẳng hạn, chỉ có 2 loại ngũ cốc, lúa mỳ và lúa mạch đen thích hợp để sản xuất bánh mỳ vì chúng chứa loại protein có khả năng tạo gluten, rất cần thiết để làm các loại bánh lên men và cũng có một số loại thực phẩm lên men địa phương, không phải bánh mỳ và thức uống có cồn, được sản xuất ở từng vùng trên thế giới tùy thuộc chủ yếu vào nguồn protein và năng lượng của nó. Thêm vào đó, kết hợp với sự thay đổi công nghệ sản xuất, công nghệ vi sinh vật và tính chất vùng miền sẽ cho chúng ta sự đa dạng của sản phẩm ngũ cốc lên men, đã được sản xuất và tiêu thụ trong thế giới ngày nay.

1.2. Một số ngũ cốc phổ biến

1.2.1. Lúa (Oryza Sativa L)

Lúa là cây lương thực chính của gần nửa dân số thế giới, có nguồn gốc ở Đông Nam Á từ 3000 năm trước Công nguyên. Hiện nay hầu hết các nước đều có thể trồng được lúa trừ một số nước ở cực bắc.

Có khoảng 20 giống lúa khác nhau trong đó có ý nghĩa kinh tế hơn cả là loại lúa trồng (khác với lúa mọc hoang dại gọi là lúa trời mọc theo mùa nước nổi ở Nam bộ Việt Nam, miền nam Campuchia, miền trung Thái Lan). Loại lúa trồng phổ biến nhất hiện nay trên thế giới được chia thành 2 nhánh: nhánh Ấn Độ và nhánh Trung-Nhật, trong đó nhánh Ấn Độ hạt dài, nhánh Trung-Nhật hạt to nhưng ngắn hơn. Trên thị trường thì thóc gạo nhánh Ấn Độ được ưa chuộng hơn nhánh Trung-Nhật, thóc gạo tẻ phổ biến hơn thóc gạo nếp.

Các chỉ tiêu chất lượng của lúa như sau (có thể áp dụng cho các loại hạt cốc khác ở mức độ thích hợp):

- Độ tươi (mới) của hạt: được đánh giá bởi thời gian hạt thu hoạch cho đến khi đem đi xay xát. Độ tươi được thể hiện ở các mặt: tình trạng nội nhũ (không bị mốc, mục, vị lạ, nảy mầm, màu sắc lạ), tình trạng khối hạt trong kho, trong bao bì (mức độ và số lượng mọt, trùng bọ).

- Độ tạp chất: 2 nhóm tạp chất nặng (sạn, sỏi, vụn kim loại) và tạp chất nhẹ (rơm rác, hạt lép, bụi).

- Độ vỏ: yếu tố quyết định tỉ lệ thu hồi gạo khi xay.

- Độ ẩm: chỉ tiêu chất lượng của lúa và gạo.

- Độ trắng trong: nội nhũ lúa tùy loại giống và điều kiện phát triển mà có thể trắng trong, nửa trắng trong hay đục hoàn toàn. Thường thì thành phần nội nhũ trắng trong có hàm lượng amylose cao hơn, độ cứng lớn hơn thành phần nội nhũ trắng đục có hàm lượng amylopectin cao hơn, độ cứng thấp hơn. Trong công nghệ xay xát, lúa có nội nhũ trắng trong cao và phần trắng đục càng xa tâm hạt thì khi xay xát ít bị đứt gãy, tỉ lệ thu hồi gạo nguyên cao.

Gạo là nguyên liệu thay thế trong sản xuất bia, là nguyên liệu chính trong sản xuất rượu đặc sản (rượu Mao đài, rượu Thiệu Hưng ở Trung Quốc, rượu Sakê ở Nhật

Bản, rượu Vân, rượu Bàu đá, rượu Cần ở Việt Nam…), trong sản xuất các sản phẩm thực phẩm truyền thống như: tương, bún, bánh phở, miến, bánh tráng, bánh phồng, kẹo mè xửng, cốm…

1.2.2. Lúa mỳ (Triticum aestivum L)

Đây là cây lương thực có diện tích trồng và sản lượng lớn nhất, có khoảng 20 dạng lúa mỳ bao gồm các giống: lúa mỳ mềm, lúa mỳ cứng, lúa mỳ Anh, lúa mỳ Ba Lan và lúa mỳ lùn, trong đó hai giống lúa mỳ mềm và cứng là phổ biến nhất. Sản phẩm thương mại của lúa mỳ bao gồm hạt lúa mỳ và bột mỳ.

Lúa mỳ và bột mỳ là nguyên liệu trong các công nghệ sau: sản xuất rượu, nguyên liệu thay thế trong sản xuất bia, bánh mỳ, mỳ ăn liền, bánh bích quy, bánh bao...

1.2.3. Ngô (Zea mays L)

Ngô có nguồn gốc ở Trung Mỹ từ 3000 năm trước Công nguyên. Ngô có nhiều giống khác nhau về hình dáng ngô, hình dạng và kích thước hạt, bao gồm một số giống chính như: ngô đá, ngô răng ngựa, ngô bột, ngô sáp (ngô nếp), ngô nổ, ngô đường.

Ngô được dùng trong sản xuất các loại sản phẩm lên men như rượu, tương, chao và là nguồn nguyên liệu sản xuất tinh bột ngô, cung cấp nguồn tinh bột chủ yếu cho công nghệ sản xuất đường tinh bột hiện nay trên thế giới.

1.2.4. Củ lương thực

Khoai tây, khoai lang, sắn, dong riềng, củ mài, sắn dây… là những loại củ lương thực phổ biến.

a) Khoai tây (Solanum tuberosum L)

Được du nhập vào nước ta trong thời gian chưa lâu (đầu thế kỷ 20), được trồng chủ yếu ở các tỉnh phía bắc từ Nghệ An trở ra. Theo độ lớn về trọng lượng có các loại: trung bình 50÷100g/củ, to: 100÷150g/củ, nhỏ: 25÷50g/củ, hạt tinh bột có kích thước: 1÷120µm, hình bầu dục, hàm lượng tinh bột trung bình 8÷30%. Khoai tây là nguyên liệu để sản xuất rượu, tinh bột khoai tây, khoai tây chiên.

b) Khoai lang (Batatas edulis chois)

Được trồng ở các nước nhiệt đới. Trên thế giới và ở nước ta có nhiều giống khoai lang ngon như Nhật Bản, Trung Quốc, Lệ Cần (Gia Lai), Duy Xuyên (Quảng Nam).

Thành phần chủ yếu của khoai lang là tinh bột, tùy thuộc giống và mức độ già của khoai, kích thước hạt tinh bột 5÷50µm. Khoai lang chứa nhiều đường 5÷10%, chủ yếu là đường glucose. Enzyme trong khoai lang có nhiều loại nhưng chủ yếu là amylase, vì vậy khi bảo quản khoai tươi, amylase thủy phân tinh bột thành đường làm cho khoai ngọt thêm đồng thời làm hao tổn chất khô của khoai. Trong mủ khoai còn có các polyphenol và chất màu nên rất dễ gây biến màu trong quá trình chế biến. Khoai lang là nguyên liệu để sản xuất khoai lát khô, mạch nha, tinh bột, đồ hộp, acid acetic (dấm ăn), acid citric, sản xuất rượu, hồ vải, sản xuất pin.

c) Sắn (Manihot utilissima pohl)

Nguồn gốc từ Nam Mỹ được trồng ở nước ta từ thế kỷ IXX tại các vùng đất đồi, trung du và miền núi gồm nhiều loại như: sắn dù (còn gọi là sắn tàu hay sắn đắng), sắn vàng (còn gọi là sắn nghệ), sắn đỏ (còn gọi là sắn canh nông), sắn trắng. Nếu phân loại theo hàm lượng HCN thì các loại sắn được chia làm 2 nhóm là sắn đắng và sắn ngọt. Sắn đắng có hàm lượng HCN cao, không dùng để ăn tươi vì dễ bị say, hàm lượng tinh bột lại cao nên chỉ dùng để sản xuất sắn lát khô và tinh bột sắn.

Sắn là nguyên liệu chế biến các sản phẩm: sắn lát khô, bột và tinh bột sắn, bánh

phồng tôm, kẹo mè xửng, rượu, mạch nha, bột ngọt (điều chế môi trường lên men acid glutamic), đường glucose.

Ở nước ta hiện nay, tinh bột sắn là nguồn nguyên liệu chủ yếu trong công nghiệp đường tinh bột.

1.2.5. Đậu nành

Đậu nành còn gọi là đỗ tương, có tên khoa học là *Glycine max Merril.* Đậu nành có nhiều màu sắc khác nhau. Trong đó đậu nành màu vàng là loại tốt nhất nên được trồng và sử dụng nhiều.

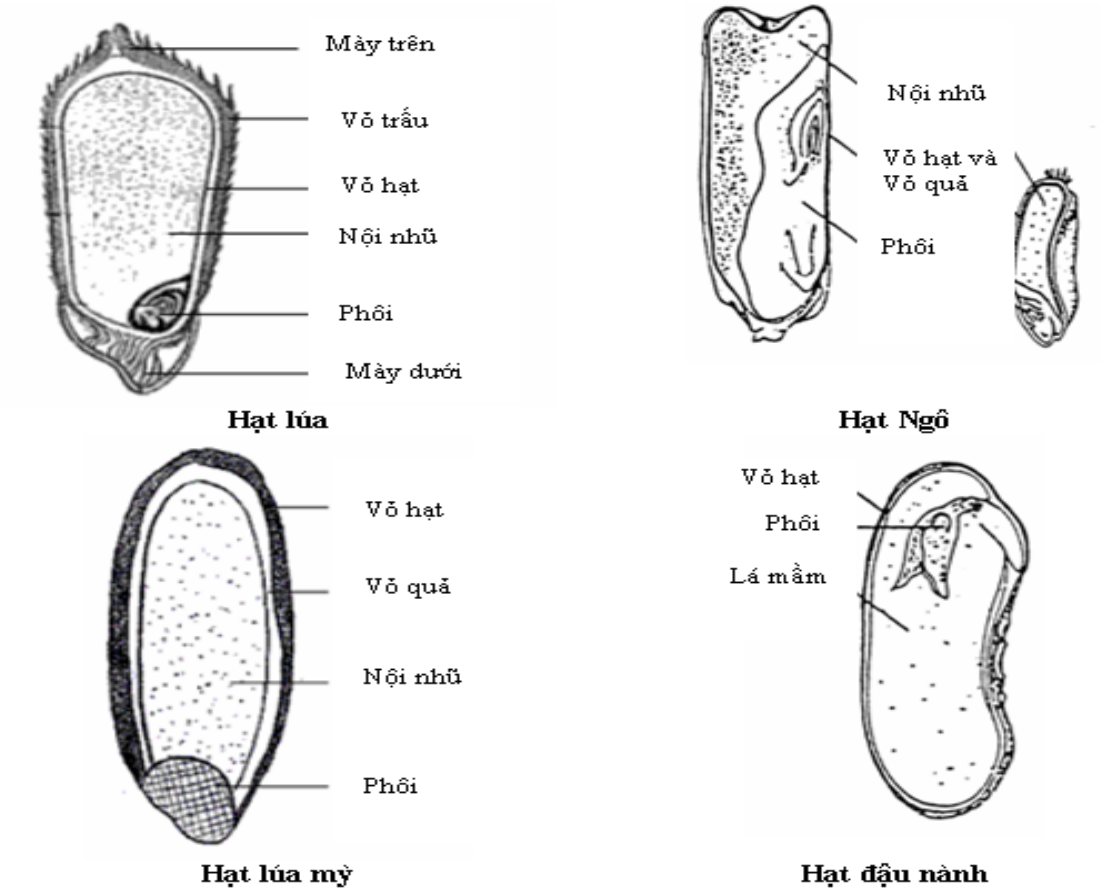
Nguồn gốc đậu nành xuất phát từ Trung Hoa vào thế kỷ thứ XI rồi lan ra các quốc gia khác ở châu Á. Tây phương chỉ mới biết tới đậu nành từ thế kỷ thứ IXX. Đậu nành du nhập vào Hoa Kỳ năm 1804. Hiện nay, Hoa Kỳ là quốc gia đứng đầu về sản xuất đậu nành và phần lớn đậu nành ở nước này được dùng để nuôi gia súc, trong khi đó ở châu Á, đậu nành là nguồn dinh dưỡng quan trọng của con người.

Ngoài hai sản phẩm phổ biến là sữa đậu nành và đậu phụ, còn rất nhiều các sản phẩm khác từ nguyên liệu đậu nành vừa ngon và bổ dưỡng như: tương, chao, nước chấm, Tempeh (là món ăn của người Indonesia), Miso (món ăn của người Nhật), Natto: là hạt đậu nành nấu chín rồi để lên men với nấm *Bacillus Natto*...

1.3. Cấu tạo và thành phần của hạt ngũ cốc

1.3.1. Cấu tạo

Cấu tạo hạt ngũ cốc (hình 2.1) gồm có 3 phần chính: vỏ, nội nhũ và phôi, với tỉ lệ kích thước, khối lượng khác nhau tùy thuộc vào từng loại, giống hạt ngũ cốc và kỹ thuật canh tác.



Hình 2.1. Cấu tạo của một số hạt ngũ cốc và đậu

Tỉ lệ khối lượng từng phần của các hạt ngũ cốc không giống nhau, bảng 2.1 trình bày tỉ lệ khối lượng từng phần của một số ngũ cốc và đậu nành.

Bảng 2.1. Tỉ lệ % khối lượng từng phần của lúa, ngô, lúa mỳ, đậu nành

Loại hạt	*Vỏ*	*Phôi*	*Nội nhũ*
Lúa	16,0÷27,0	2,0 ÷ 2,5	72
Ngô	5,0 ÷ 8,5	10,0÷15,0	79÷83
Lúa mỳ	15,0÷49,0	2,2÷3,2	77÷82
Đậu nành	6÷8	2÷4	88÷90 (tử diệp)

* Vỏ: tùy thuộc cấu tạo vỏ mà hạt ngũ cốc có 2 loại: loại hạt trần (vỏ mềm) như ngô, kê; loại vỏ trấu như lúa, lúa mỳ, đại mạch. Sắc tố ở vỏ hạt khác nhau tạo màu sắc khác nhau cho hạt. Hạt có thể có lông hoặc râu.

Vỏ là lớp bảo vệ cho phôi và nội nhũ khỏi bị các tác động từ bên ngoài. Vì thế, trong quá trình bảo quản hạt cần chú ý giữ gìn bảo vệ vỏ hạt tránh xây xát cơ học.

Vỏ được cấu tạo từ một số lớp tế bào. Khi hạt còn xanh thì các tế bào này chứa nguyên sinh chất và diệp lục tố (chlorophyll). Khi hạt chín thì những chất này chuyển dần vào nội nhũ, lúc đó tế bào trở nên trống rỗng để lại thành tế bào có cấu tạo chủ yếu từ cellulose, hemicellulose và chất khoáng (vỏ trấu hạt lúa có các tinh thể SiO_2 nên rất thô ráp). Như vậy trong vỏ hầu như không có chất dinh dưỡng nên cần phải tách sạch vỏ khi chế biến.

* Lớp aleurone và nội nhũ

- Sau lớp vỏ là lớp aleurone (còn gọi là lớp cám) gồm từ 1÷3 lớp tế bào hình chữ nhật hay hình vuông. Chiều dày lớp aleurone phụ thuộc vào loại hạt, giống hạt và điều kiện canh tác (hạt chịu hạn, ruộng khô có lớp aleurone dày hơn hạt chịu nước, ruộng nước). Lớp này tập trung nhiều dinh dưỡng quan trọng như: protein, lipid, muối khoáng, vitamin, đường,…Vì thế, dễ bị oxy hóa và biến chất trong điều kiện bảo quản không tốt.

- Sau lớp aleurone là khối tế bào lớn thành mỏng có hình dạng khác nhau, không có thứ tự, đây là phần nội nhũ, nơi dự trữ chất dinh dưỡng chủ yếu của hạt. Phần lớn tinh bột và protein của hạt đều tập trung ở nội nhũ vì thế loại hạt nào có tỉ lệ nội nhũ càng cao thì có giá trị càng lớn, tỉ lệ thu hồi khi chế biến càng cao.

Chất lượng hạt được đánh giá qua chất lượng nội nhũ. Nội nhũ là phần dinh dưỡng dự trữ mà con người có ý định sử dụng, nhưng trong quá trình bảo quản đây cũng chính là phần dễ bị thất thoát do vi sinh vật hại, quá trình hô hấp hay nảy mầm của chính bản thân hạt làm tiêu hao đi. Tùy từng đối tượng hạt có đặc điểm nội nhũ khác nhau mà cần có những điều kiện bảo quản thích hợp.

* Phôi hạt: được phân cách với nội nhũ bởi lớp ngù. Lớp này đóng vai trò quan trọng khi chuyển chất dinh dưỡng từ nội nhũ vào phôi để nuôi cây non, vì thế nó được cấu tạo bởi các tế bào sắp xếp thành một màng thẩm thấu chất dinh dưỡng hòa tan.

Phôi là phần phát triển thành cây non khi hạt nảy mầm, gồm 2 phần chính là mầm phôi (phát triển thành thân và lá non) và rễ phôi (phát triển thành rễ). Thành phần chủ yếu của phôi gồm protein, glucid hòa tan và lipid, đặc biệt trong phôi ngô lipid chiếm tới 40% chất khô. Vì thế đây là nguyên liệu để chiết ép lấy dầu phôi ngô. Như

vậy trong phôi có nhiều chất dinh dưỡng, phôi lại mềm, độ ẩm cao hơn nội nhũ nên dễ bị vi sinh vật và côn trùng phá hoại. Mặt khác lipid trong phôi được cấu tạo chủ yếu từ các acid béo không no nên dễ bị oxy hóa (ôi khét). Vì vậy người ta thường tách phôi ngô để dễ bảo quản và chế biến về sau.

1.3.2. Thành phần của hạt ngũ cốc

Thành phần ngũ cốc bao gồm 12÷14% nước, 65÷75% carbohydrate, 2÷6% lipid và 7÷12% protein. Thành phần thô của các ngũ cốc là khá giống nhau, có ít protein và nhiều chất carbohydrate (bảng 2.2).

Bảng 2.2. Thành phần của hạt ngũ cốc, % chất khô

Ngũ cốc	*Protein thô*	*Chất béo thô*	*Tro*	*Xơ thô*	*Carbohydrate*
Lúa gạo	7,3	2,2	1,4	0,8	64,3
Yến mạch	9,3	5,9	2,3	2,3	62,9
Ngô	9,8	4,9	1,4	2	63,6
Lúa mỳ	10,6	1,9	1,4	1	69,7
Đại mạch	11	3,4	1,9	3,7	55,8
Sắn	0,43	0,24	0,8	1,5	32,9
Khoai lang	0,8	0,2	1,2	1,3	28,5

Tuy nhiên, yến mạch, ngô chứa một lượng khá lớn các chất béo. Yến mạch có chứa ít nhất 10% chất béo, một phần ba trong số đó là chất béo phân cực (phospho, galacto). Hàm lượng lipid của ngô thay đổi trong khoảng 0,4÷17% tùy theo giống nhưng hầu hết là triacylglyceride.

Các thành phần hóa học của các loại ngũ cốc phân bố không đều trong hạt. Vỏ và cám có nhiều chất cellulose, pentosan và tro. Các lớp aleurone của lúa mỳ có chứa chất khoáng sản nhiều hơn 25 lần so với nội nhũ, trong khi các chất béo nói chung tập trung ở các aleurone và nội nhũ. Các nội nhũ, chứa chủ yếu là tinh bột, có hàm lượng protein thấp hơn so với các mầm và cám, có ít chất béo và tro.

Carbohydrate là thành phần quan trọng nhất của hạt ngũ cốc đóng góp 77÷87% của tổng số chất khô của hạt. Hàm lượng protein của hạt ngũ cốc khác nhau thay đổi từ 7÷20%, sự khác nhau này bị chi phối không chỉ bởi giống, loài hoặc các yếu tố khác (ví dụ như quy định về mặt di truyền học), mà còn bởi điều kiện tăng trưởng thực vật như nhiệt độ, một vài yếu tố có sẵn như nước, nitơ và khoáng chất khác trong đất đến quá trình tăng trưởng thực vật.

Có một sự phân phối không đồng đều của các loại protein khác nhau trong các bộ phận khác nhau của hạt, vì vậy mà mặc dù hàm lượng protein không phải là hoàn toàn bị ảnh hưởng bởi công nghệ sản xuất bột hay tinh bột từ ngũ cốc, nhưng các protein có trong các phần phân đoạn sản xuất khác nhau sẽ khác nhau. Sản xuất bột mỳ là một ví dụ điển hình về điều này.

Khác với các loại ngũ cốc trên, thành phần hóa học của hạt đậu nành (bảng 2.3) có protein chiếm một tỷ lượng rất lớn, phần carbohydrate chiếm khoảng 34% hạt đậu nành. Phần carbohydrate có thể chia làm 2 loại: loại tan và không tan trong nước. Loại tan trong nước chỉ chiếm khoảng 10% tổng lượng carbohydrate

Bảng 2.3. Thành phần hóa của hạt đậu nành,(%)

Thành phần, %	*Tỉ lệ*	*Protein*	*Lipid*	*Tro*	*Carbohydrate*
Hạt đậu nành nguyên	100	40,0	21,1	4,9	34,0
Tử diệp	90÷90,3	43,0	23,0	5,0	29,0
Vỏ hạt	7,3÷8,0	8,8	1,0	4,3	86,0
Phôi	2,0÷2,4	41,1	11,0	4,4	43,0

1.4. Các chất dinh dưỡng, kháng dinh dưỡng và độc tố trong ngũ cốc

1.4.1. Chất dinh dưỡng

Ngũ cốc cùng với các cây họ đậu là nguồn cung cấp một lượng tương đối lớn nguồn dinh dưỡng bổ sung các vitamin và khoáng chất trong khẩu phần ăn của người dân ở các nước đang phát triển.

Một số thành phần dinh dưỡng giá trị của ngũ cốc được tóm tắt ở bảng 2.4:

Bảng 2.4. So sánh giá trị dinh dưỡng của một số hạt ngũ cốc

Thành phần	*Lúa mỳ*	*Ngô*	*Lúa gạo*	*Lúa mạch*
Carbohydrate (%)	69,7	63,6	64,3	55,8
Năng lượng (kJ/100 g)	1570	1660	1610	1630
Năng lượng tiêu hóa (%)	86,4	87,2	96,3	81,0
Vitamin (mg/100g)				
Thiamin	0,45	0,32	0,29	0,10
Riboflavin	0,10	0,10	0,04	0,04
Niacine	3,7	1,9	4,0	2,7
Acid amin (g/16g N)				
Lysine	2,3	2,5	3,8	3,2
Threonine	2,8	3,2	3,6	2,9
Methionine & Cysteine	3,6	3,9	3,9	3,9
Tryptophan	1,0	0,6	1,1	1,7
Chất lượng Protein (%)				
Khả năng tiêu hóa được	96,0	95,0	99,7	88,0
Giá trị sinh học	55,0	61,0	74,0	70,0
Protein thô	53,0	58,0	73,8	62,0
Protein sử dụng	5,6	5,7	5,4	6,8

So với các hạt ngũ cốc phổ biến, đậu nành chứa một lượng lớn các acid amin thiết yếu (bảng 2.5) mà không hạt ngũ cốc nào có đủ bằng. Bên cạnh đó, đậu nành còn đa dạng về các loại vitamin (bảng 2.6), nhờ đó làm tăng thêm sự hoàn thiện về mặt

dinh dưỡng khi kết hợp ngũ cốc và đậu nành trong chế biến một số sản phẩm lên men.

Bảng 2.5. Thành phần acid amin thiết yếu trong hạt đậu nành

Acid amin	*Hàm lượng %*	*Acid amin*	*Hàm lượng %*
Isoleucine	1,1	Phenylalanine	5
Leucine	7,7	Threonine	4,3
Lysine	5,9	Tryptophan	1,3
Methionine	1,6	Valine	5,4
Cysteine	1,3	Histidine	2,6

Bảng 2.6. Thành phần vitamin trong hạt đậu nành

Vitamin	*Hàm lượng (mg/kg)*	*Vitamin*	*Hàm lượng (mg/kg)*
Thiamin	11,0÷ 17,5	Acid pantothenic	13,0÷ 21,5
Riboflavin	3,4÷ 3,6	Acid folic	1,9
Niacine	21,4÷ 23,0	Vitamin A	0,18÷ 2,43
Pirydoxin	7,1÷ 12,0	Vitamin E	1,4
Biotin	0,8	Vitamin K	1,9

Ngũ cốc cung cấp một lượng tương đối các vitamin nhóm B và khoáng chất, phần nội nhũ lúa mỳ chỉ chứa khoảng 0,3% tro. P, K, Mg, Ca và các dấu vết của Fe và các khoáng chất khác được tìm thấy trong ngũ cốc. Lúa mạch cung cấp 50 mg Ca/100g, lúa mỳ là 36mg Ca/100g. Đậu nành cung cấp nhiều khoáng chất: Ca (210mg/100g) và Fe (7mg/100g).

Giá trị dinh dưỡng, cảm quan của ngũ cốc và sản phẩm của chúng tuy thấp hơn sản phẩm thực phẩm động vật nhưng hệ số tiêu hóa cao nên cũng là nguồn cung cấp năng lượng đáng kể trong khẩu phần ăn của con người.

1.4.2. Chất kháng dinh dưỡng và độc tố

Ngũ cốc cũng như thức ăn từ thực vật khác có thể chứa một lượng đáng kể các chất độc hại hoặc các chất kháng dinh dưỡng, chất ức chế protease, chất ức chế amylase, kim loại tạo phức càng, saponin, cyanogen, lathyrogen, tannin, chất gây dị ứng, acetylenic furan và phytoalexin isoflavonoid. Khi đậu dùng kết hợp với ngũ cốc để chế biến các sản phẩm ngũ cốc hỗn hợp, cần loại bỏ những chất kháng dinh dưỡng trước khi tiêu thụ.

Một vài tóm lược về các chất kháng dinh dưỡng và độc tố trong ngũ cốc như sau:

a) Phytate (muối có chứa phospho)

Hầu hết các loại ngũ cốc chứa một lượng đáng kể các muối của acid phytic.

Các hợp chất phytate thường xuất hiện ở vùng riêng biệt của hạt ngũ cốc và chiếm khoảng 80% tổng lượng phospho có trong hạt. Hợp chất phytate làm hạn chế khả năng hấp thụ chất khoáng, khả năng tiêu hóa protein và carbohydrate.

b) Tannin

Xuất hiện nhiều trong ngũ cốc và cây họ đậu. Những hợp chất này tập trung ở phần cám ngũ cốc, phức hợp tannin-protein có thể gây bất hoạt các enzyme tiêu hóa và

giảm khả năng tiêu hóa protein, làm giảm sự hấp thụ sắt, thiệt hại lớp lót màng nhầy của đường tiêu hóa, làm thay đổi sự bài tiết của các cation và tăng bài tiết ra các protein và các acid amin thiết yếu.

c) Saponin

Các hợp chất saponin cũng có nhiều trong các loại ngũ cốc và cây họ đậu. Saponin được phát hiện gây ra hiện tượng tán huyết. Tuy nhiên những nghiên cứu gần đây đã thấy saponin ức chế sự lên men và sinh tổng hợp protein của vi sinh vật dạ cỏ. Hội chứng ngộ độc của saponin ở loài nhai lại là: phờ phạc, biếng ăn, giảm trọng lượng, viêm ruột dạ dày

d) Chất ức chế enzyme

Các chất ức chế enzyme protease và amylase có nhiều trong các mô hạt giống của các hạt ngũ cốc, chất ức chế trypsin, chymotrypsin, subtilisin và cysteine có nhiều trong lúa, tập trung nhiều ở phần cám. Các chất này can thiệp tiêu hóa, gây phì đại tuyến tụy và rối loạn trao đổi chất. Theo nhiều báo cáo khoa học thì chất ức chế trypsin, chymotrypsin và chất ức chế amylase đã giảm nhiều trong quá trình lên men.

e) Cyanide

Chất này có thể được loại bỏ hoặc bị khử độc do tác động của vi sinh vật trong quá trình lên men. Sắn có chứa một chất hóa học tự nhiên là cyanogenic glycosides. Khi ăn sống hoặc chế biến không đúng cách, chất này tạo HCN là chất có thể gây tử vong. Chế biến đúng cách có thể loại bỏ hóa chất này.

Thông thường, để loại bỏ cần bóc vỏ sắn (vì khoảng 60÷70% chất độc ở trong vỏ) và sau đó ngâm ngập trong nước hoặc lên men trong bao tải khoảng ba ngày, đôi khi nghiền hoặc mài sẽ giúp đẩy nhanh quá trình lên men. Khi bắt đầu lên men, *Geotricum candida* tác động lên sắn và tạo sản phẩm có tính acid làm thay đổi pH môi trường và vi sinh vật này bị chết vì chúng không thể tồn tại trong môi trường như vậy. Một giống vi sinh vật thứ hai (*Cornibacterium lactii*), có thể chịu đựng được môi trường acid đã xúc tác thủy phân 90÷95% độc tố.

Sắn sau khi lên men để khử độc tố vẫn giữ được hương vị đặc trưng và là nguồn nguyên liệu để sản xuất tinh bột đảm bảo chất lượng.

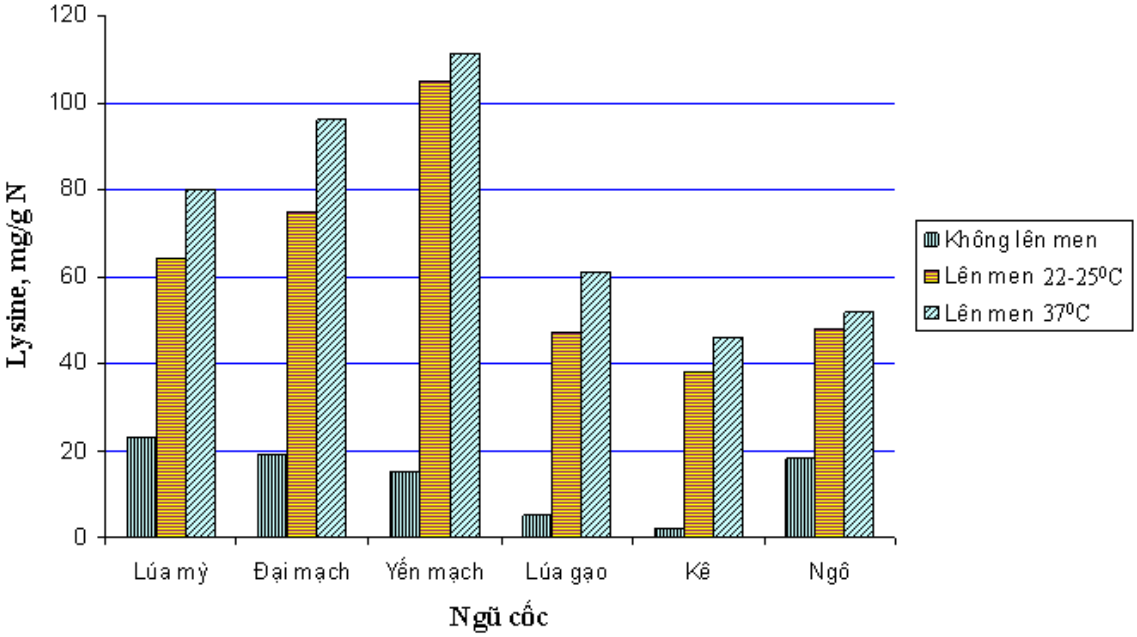
1.5. Ngũ cốc lên men

1.5.1. Vai trò của ngũ cốc lên men

Lợi ích của sự lên men có thể kể đến là sự cải thiện về vị và tính chất, nhờ sự phát triển về hương vị và kết cấu; tăng thời hạn bảo quản nhờ sự hình thành các chất có tính acid, cồn và các hợp chất kháng khuẩn; làm giàu thêm thành phần dinh dưỡng nhờ quá trình tổng hợp các chất dinh dưỡng thiết yếu của vi sinh vật và cải thiện khả năng dễ tiêu hóa của protein và carbohydrate; loại bỏ các chất kháng dinh dưỡng, các độc tố tự nhiên, mycotoxin và giảm thời gian nấu nướng. Lên men ngũ cốc làm giảm hàm lượng phytate; nấu chín và lên men làm giảm hàm lượng tannin của ngũ cốc và các loại thực phẩm khác. Sự lên men vi khuẩn bao gồm cả hoạt động của enzyme proteinase với mong muốn làm tăng giá trị của các acid amin thiết yếu hơn sự lên men nấm men mà phần lớn là sự phân hủy carbohydrate. Tinh bột và xơ có xu hướng giảm trong suốt quá trình lên men ngũ cốc. Hàm lượng và chất lượng của các protein ngũ cốc có thể được cải thiện hơn nhờ lên men.

Sự lên men tự nhiên ngũ cốc làm tăng tương đối giá trị dinh dưỡng nhất là hàm lượng lysine có sẵn trong ngũ cốc. Biểu đồ ở hình 2.2 cho thấy sự khác nhau về hàm

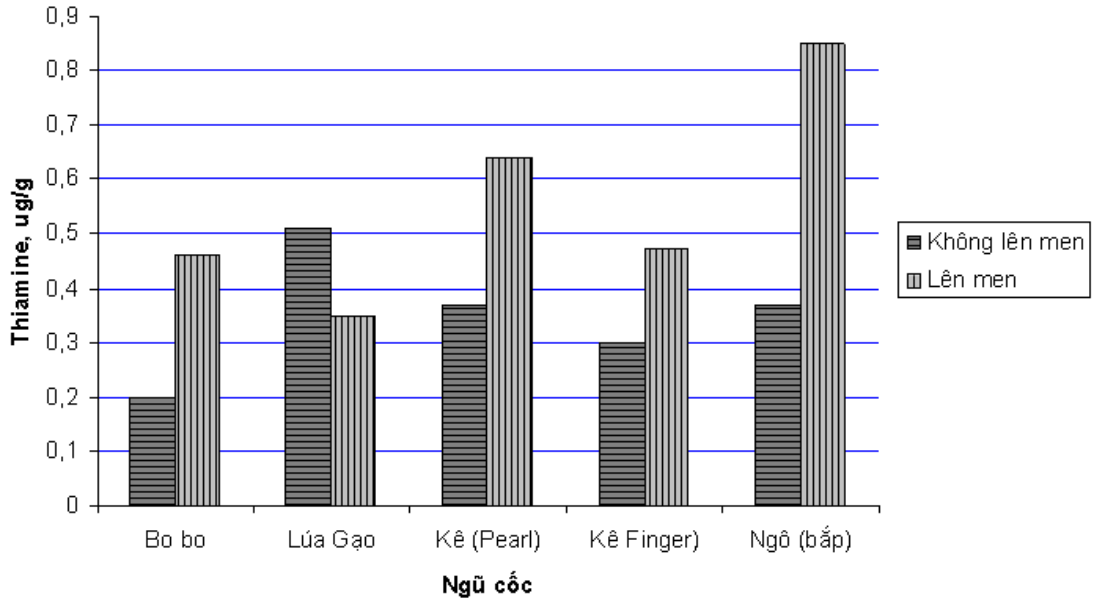
lượng lysine trong một số loại ngũ cốc trước và sau khi lên men ở các nhiệt độ khác nhau. Hàm lượng lysine tăng cao hơn nhiều sau khi lên men.



Hình 2.2. Ảnh hưởng của quá trình lên men tự nhiên của ngũ cốc lên hàm lượng lysine

Mặc dầu không trông đợi sự lên men làm thay đổi hàm lượng chất khoáng của sản phẩm, tuy nhiên sự thủy phân các hợp chất có chứa kim loại tạo phức càng trong quá trình lên men đã hoàn thiện giá trị sinh học của chất khoáng;

Sự thay đổi hàm lượng vitamin của ngũ cốc nhờ lên men biến đổi theo công nghệ lên men và nguyên liệu thô được sử dụng để lên men. Các vitamin nhóm B nói chung có tăng lên khi lên men. Biểu đồ ở hình 2.3 cho thấy, hàm lượng thiamine trong một số ngũ cốc tăng lên đáng kể sau khi lên men. Hàm lượng thiamine trong ngô tăng lên gấp đôi.



Hình 2.3. Ảnh hưởng của quá trình lên men tự nhiên của ngũ cốc lên hàm lượng thiamine

Đã có nhiều nghiên cứu ảnh hưởng của sự lên men đối với thành phần kháng dinh dưỡng và độc tố trong thực phẩm thực vật cho thấy, sự lên men ngô và hỗn hợp ngô đậu nành làm giảm đi sự sản sinh ra các chất ức chế trypsin và phytate, lên men ngũ cốc bằng nấm mốc, như *Rhizopus oligosporus*, giải phóng các liên kết của chất ức chế trypsin nhờ thế tăng hoạt độ của nó, lên men nấm và lên men acid lactic giảm bớt aflatoxin B_1, đôi lúc nhờ việc mở vòng lactone đã dẫn đến kết quả khử độc hoàn toàn.

Một lợi ích khác của sự lên men là sản phẩm thường xuyên không cần nấu hoặc gia nhiệt như vậy thời gian cần thiết cho việc chế biến sản phẩm giảm đi rất nhiều.

1.5.2. Các chú ý đối với ngũ cốc lên men bản địa

Nhiều sản phẩm lên men bản địa từ ngũ cốc được đánh giá có nhiều hợp chất tạo hương và vị có giá trị, được sử dụng như các thức ăn theo mùa hoặc đồ gia vị.

Phần lớn sản phẩm lên men thường sử dụng ngũ cốc kết hợp với các loại đậu nhờ đó cải thiện chất lượng protein tổng của sản phẩm lên men. Ngũ cốc thiếu hụt lysine nhưng giàu cystine và methionine. Các loại đậu, mặc khác lại giàu lysine nhưng thiếu hụt các acid amin chứa lưu huỳnh. Vì thế bằng sự kết hợp ngũ cốc và đậu, chất lượng protein tổng số được cải thiện. Ý tưởng của người Trung Quốc là kết hợp giữa "fan" (gạo) và "tsai"(rau khác) tạo ra một thực đơn cân bằng và hấp dẫn đã được dùng ở khắp thế giới. Mặt khác, lên men mang tính vùng miền còn có một số vấn đề về kiểm soát vệ sinh, do vậy khó hòa nhập vào nền kinh tế toàn cầu do hạn chế tiềm năng xuất khẩu và trong một số trường hợp, vấn đề nữa là tác động đến giá trị dinh dưỡng và an toàn thực phẩm.

Kỹ thuật sản xuất nhiều thực phẩm lên men thuộc về truyền thống địa phương từ ngũ cốc còn lại như một bí quyết gia đình. Khả năng thành công đối với việc ứng dụng công nghệ tiên tiến cho việc sản xuất các thực phẩm lên men bản địa đạt giá trị như tạo màu sắc, hương thơm, vị ngon, không nhiễm vi sinh vật và tạo sản phẩm sức khỏe trong lên men thực phẩm là một vấn đề cần được xem xét.

Một chú ý đặc biệt cần quan tâm là các nhân tố rủi ro về nhiễm khuẩn liên quan đến thực phẩm lên men. Sự an toàn của thực phẩm lên men đã được đề cập nhiều trong thời gian gần đây. Các trường hợp nhiễm trùng hay nhiễm độc do quá trình trao đổi chất của vi sinh vật như là mycotoxin, ethyl carbamate và biogenic amine đã được phát hiện có nhiều trong thực phẩm lên men. Các nhân tố rủi ro chính bao gồm việc sử dụng nguyên liệu bị nhiễm, thiếu giai đoạn thanh trùng và sử dụng điều kiện lên men thiếu kiểm soát. Mặc khác các vi sinh vật không độc hại có thể phục vụ cho các vi sinh vật khác gây ra các phản ứng đối kháng và biến hóa thành các chất độc như mycotoxin trong thực phẩm lên men.

Do đó, khi phát triển một loại sản phẩm lên men địa phương, cần xác định các lợi ích và rủi ro liên quan cụ thể đến quá trình lên men ngũ cốc tại nơi đó; phân tích và xác định rõ vai trò của các vi sinh vật, enzyme và các thành phần ngũ cốc khác sử dụng trong quá trình lên men; hướng đến việc sử dụng các chủng vi sinh vật duy nhất để cải thiện dinh dưỡng và hạn chế độc tố và thực hiện thử nghiệm giống ngũ cốc mới cho phù hợp quá trình lên men.

2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT MẬT TINH BỘT

Đường tinh bột thường được sản xuất dưới hai dạng chính: mật tinh bột (sirô) và glucose tinh thể. Đây là những sản phẩm cần thiết trong công nghiệp và đời sống hàng ngày. Mật tinh bột dùng để sản xuất kẹo, bánh, rượu mùi, bia, nước giải khát thay cho đường saccharose nâng cao chất lượng sản phẩm; còn glucose dùng trong kỹ nghệ y

học, điều chế acid sorbic, các chất kháng sinh và nhiều sản phẩm khác của y dược.

Quá trình sản xuất đường từ tinh bột bao giờ cũng liên kết chặt chẽ với quá trình sản xuất tinh bột. Vì tinh bột là nguyên liệu, là đầu mối của tất cả các giai đoạn trong công nghệ sau này. Mật tinh bột là sản phẩm thủy phân chưa hoàn toàn của tinh bột. Tác nhân của quá trình thủy phân là các chất xúc tác trong đó xúc tác vô cơ là những acid HCl và H_2SO_4 và chất xúc tác sinh học là các enzyme. Hiện nay việc sử dụng acid trong sản xuất mật tinh bột đã trở nên lỗi thời, sử dụng enzyme làm xúc tác để thủy phân tinh bột không những nâng cao được chất lượng sản phẩm mà còn hạn chế được sự ô nhiễm môi trường trong quá trình sản xuất.

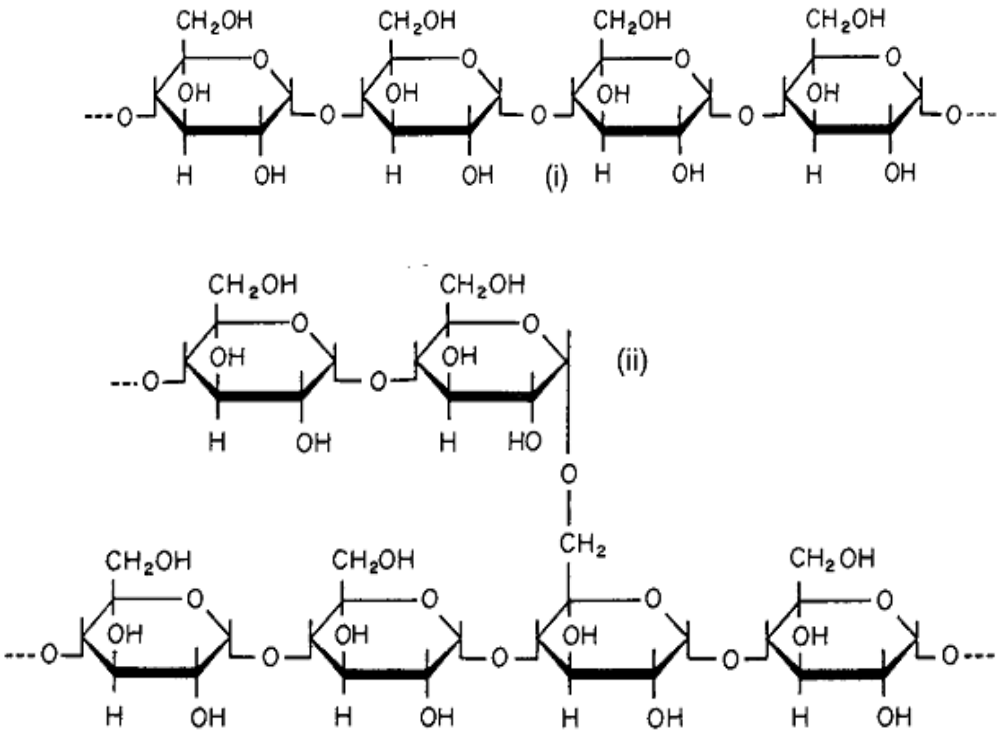
Khi thủy phân tinh bột tùy thuộc vào thành phần của tinh bột và chất xúc tác sẽ thu được các carbohydrate có khối lượng phân tử khác nhau, nhưng thành phần chính là dextrin, maltose, glucose, fructose. Tùy theo mức độ thủy phân mà hàm lượng các thành phần này khác nhau.

2.1. Nguyên liệu sản xuất mật tinh bột

2.1.1. Tinh bột

Là carbohydrate dự trữ của thực vật, do quang hợp tạo thành. Tinh bột không hòa tan trong nước, đun nóng thì hạt tinh bột phồng lên rất nhanh tạo thành dung dịch keo gọi là hồ tinh bột.

Tinh bột có cấu tạo gồm hai phần: amylose và amylopectin (hình 2.4), ngoài ra còn có khoảng 2% phospho dưới dạng ester.



Hình 2.4. Cấu trúc của amylose (i) và amylopectin (ii).

- Amylose: Cấu tạo do nhiều gốc α-D- glucose liên kết với nhau thông qua C1-C4 tạo thành mạch thẳng không phân nhánh, có khoảng 200÷1000 gốc glucose. Trong không gian nó cuộn lại thành hình xoắn ốc và được giữ bền vững nhờ các liên kết hydro. Theo một số tài liệu trong amylose còn có chứa các α-D- glucopyranose dạng thuyền. Amylose bắt màu xanh với iodine, màu này mất đi khi đun nóng, hiện

màu trở lại khi nguội. Một đặc trưng hóa lý khác cần chú ý là nó bị kết tủa bởi rượu butylic.

- Amylopectin: Cấu tạo do các phân tử α D- glucose liên kết với nhau, nhưng có phân nhánh. Chỗ phân nhánh là liên kết C1-C6 glycoside. Tạo màu tím đỏ với iodine. Phân tử chỉ có một đầu khử duy nhất. Số gốc D-glucose trong cả phân tử có thể lên đến 6000.

Tỷ lệ amylopectin/amylose ở các đối tượng khác nhau là không giống nhau (bảng 2.7), tỷ lệ này ở gạo nếp là lớn hơn gạo tẻ.

Bảng 2.7. Hàm lượng amylose và amylopectin trong một số tinh bột

Loại tinh bột	*Amylose, %*	*Amylopectin, %*
Khoai tây	19÷22	78÷81
Khoai mỳ (sắn)	40÷45	55÷60
Lúa mỳ	24	76
Ngô	21÷23	77÷79
Lúa gạo	17	83

Nguyên liệu để sản xuất mật tinh bột chủ yếu trên thế giới hiện nay tinh bột bắp (ngô), còn tại Việt Nam và một số nước Đông Nam Á sử dụng tinh bột khoai mỳ (tinh bột sắn). Để sản xuất mật tinh bột đạt chất lượng cao, hàm lượng tạp chất trong nguyên liệu tinh bột càng thấp càng tốt. Dưới đây là một số chỉ tiêu chất lượng tinh bột dùng trong sản xuất mật tinh bột:

- Độ ẩm 7%;
- Hàm lượng tinh bột không thấp hơn 89,2% chất khô;
- Protein: không lớn hơn 0,8%;
- Chất béo: không lớn hơn 0,15%;
- Tro: không lớn hơn 0,15%;
- Các chất hòa tan khác: không lớn hơn 0,1%;
- Độ chua: không lớn hơn 30ml dung dịch NaOH 0,1N/100g chất khô.

2.1.2. Chế phẩm Enzyme

Bảng 2.8. giới thiệu tóm lược nguồn gốc, tác dụng của một số chế phẩm enzyme được sử dụng trong thủy phân tinh bột.

Bảng 2.8. Các enzyme được sử dụng thủy phân tinh bột

Enzyme	*Nguồn gốc*	*Tác dụng*
α-Amylase EC 3.2.1.1	*Bacillus amyloliquefaciens*	Chỉ liên kết *α-1,4 oligosaccharide* bị phân cắt tạo thành *α-dextrin* và phần lớn maltose (G2), G3, G6 và G7 oligosaccharide
	B. licheniformis	Chỉ liên kết *α-1,4 oligosaccharide* bị phân cắt tạo thành *α-dextrin* và phần lớn maltose, G3, G4 và G5 oligosaccharide
	Aspergillus oryzae A. niger	Chỉ liên kết *α-1,4 oligosaccharide* bị phân cắt tạo thành *α-dextrin* và phần lớn maltose và G3 oligosaccharide
Saccharifying	*B. subtilis*	Chỉ liên kết *α-1,4 oligosaccharide* bị phân

Enzyme	*Nguồn gốc*	*Tác dụng*
α-Amylase EC 3.2.1.1	*(amylosacchariticus)*	cắt tạo thành *α-dextrin* và maltose, G3, G4 và trên 50% glucose theo khối lượng.
β-amylase EC 3.2.1.2	Đại mạch nảy mầm	Chỉ liên kết *α-1,4* bị phân cắt từ đầu không khử tạo nên lượng dextrin giới hạn và β-maltose.
Glucoamylase EC 3.2.1.3	*A. niger*	Liên kết *α-1,4* và *α-1,6* bị phân cắt từ đầu không khử tạo thành β-glucose
Pullulanase EC 3.2.1.41	*B. acidopullulyticus*	Chỉ liên kết *α-1,6* bị phân cắt tạo thành maltodextrin mạch thẳng.

a) α-Amylase (EC.3.2.1.1)

α-Amylase (1,4-α-D-glucan glucanohydrolase; glycogenase) xúc tác thủy phân liên kết α-1,4-glycoside ở bất kỳ vị trí nào trong phân tử tinh bột với cơ chất là amylose, α-amylase cho sản phẩm thủy phân chủ yếu là maltose và một ít glucose.

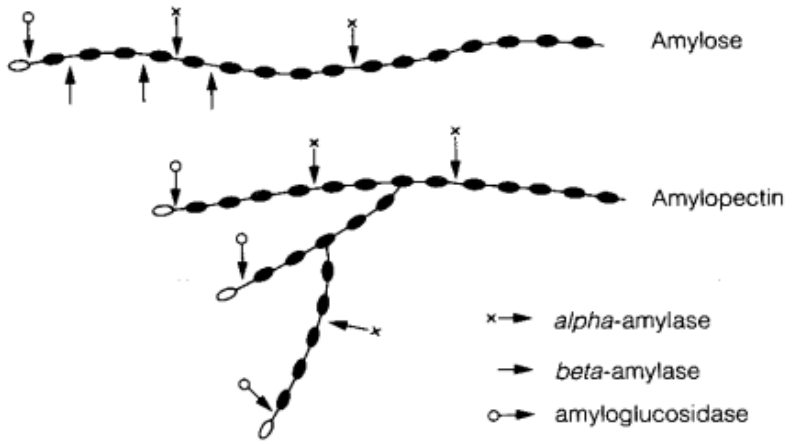
Với cơ chất là amylopectin, α-amylase chỉ thủy phân liên kết α-1,4-glycoside mà không thủy phân liên kết α-1,6-glycoside, sản phẩm tạo thành là các dextrin phân tử thấp không cho phản ứng màu với iodine, maltose, glucose và isomaltose.

α-amylase là một enzyme hai cấu tử có thành phần coenzyme chứa ion kim loại Ca. Nếu tách Ca ra khỏi enzyme thì α-amylase sẽ bị mất hoạt tính; α-amylase hầu như không tác dụng lên tinh bột nguyên vẹn và tác dụng mạnh lên tinh bột đã bị hồ hóa, làm cho các sản phẩm hồ hóa bị loãng ra. Chính vì vậy mà α-amylase còn gọi là amylase dịch hóa.

α-amylase tương đối bền với tác dụng nhiệt. α-amylase của nấm mốc có thể xúc tác thủy phân tinh bột ở $50 \div 52^0$C, α-amylase của hạt nảy mầm hoạt động tốt ở nhiệt độ $58 \div 60^0$C, α-amylase của nhiều vi khuẩn có tính bền nhiệt cao chúng có thể giữ được hoạt tính ở $70 \div 90^0$C. Tính bền nhiệt của α-amylase là do sự có mặt của ion Ca^{+2} trong phân tử enzyme, Ca giữ vai trò ổn định cấu trúc bậc ba của phân tử enzyme.

α-amylase thường thể hiện hoạt tính trong vùng acid yếu, α-amylase của nấm mốc hoạt động mạnh ở pH=4,5÷4,9, α-amylase của vi khuẩn ở pH=5,9÷6,1. Nếu pH<3 đa số α-amylase bị vô hoạt hoàn toàn trừ α-amylase của *A.niger* có thể chịu được pH=2,5÷2,8. Những vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp α-amylase được thương mại hóa: *B.subtilis, B.licheniformis, A.oryzae.*

Hình 2.5 minh họa các liên kết tinh bột bị phân cắt dưới xúc tác của enzyme.



Hình 2.5. Sơ đồ phân cắt tinh bột bởi enzyme

b) β-amylase (EC 3.2.1.2)

β-amylase (1,4-α-D-glucan maltohydrolase; glycogenase; saccharogen amylase). β-amylase là một dạng của amylase, được tổng hợp từ vi khuẩn, nấm mốc, thực vật. β-amylase xúc tác cho sự thủy phân liên kết α-1,4-glycoside của phân tử tinh bột và các polysaccharide.

Đối với các chất amylose, β-amylase thủy phân liên kết glycoside bắt đầu từ đầu không khử của mạch, tách dần từng phân tử maltose ra khỏi phân tử cơ chất. Đối với các cơ chất amylopectin, β-amylase chỉ phân cắt các liên kết 1,4-glycoside và cũng tách dần ra khỏi mạch các phân tử maltose bắt đầu từ đầu không khử của mạch. Quá trình này xảy ra ở phần thẳng của mạch và dừng lại ở vị trí phân nhánh. Sản phẩm thu được trong trường hợp này là maltose và các dextrin phân tử lớn.

β-amylase không tác dụng lên tinh bột nguyên vẹn, chỉ tác dụng lên tinh bột đã hồ hóa. Khác với α-amylase, β-amylase vẫn giữ được hoạt tính khi không có Ca^{+2}. β-amylase kém bền dưới tác dụng của nhiệt độ cao, β-amylase bị vô hoạt hoàn toàn ở nhiệt độ 70^0C, song trong dịch nấu nhiệt độ tối thích hợp lại là $60 \div 65^0$C. β-amylase khá bền trong môi trường acid ở pH=3÷4. Đa số β-amylase hoạt động mạnh hơn trong môi trường có pH= 4,5÷5.

c) Glucoamylase (Amyloglucosidase) (EC 3.2.1.3)

Glucoamylase (Glucan 1,4-α-glycosidicase; amyloglycosidicase; Exo-1,4-α-glycosidicase; Glucoamylase; Lysosomal α-glycosidicase; 1,4-α-D- glucohydrolase.)

Glucoamylase xúc tác thủy phân liên kết α-1,4 và α-1,6-glycoside của phân tử tinh bột và các polysaccharide. Sự thủy phân các cơ chất dưới tác dụng của glucoamylase tiến hành ở từng liên kết một, bắt đầu từ mạch không khử tách dần từng phân tử glucose, glucoamylase cũng có khả năng thủy phân cả maltose, isomaltose và dextrin. Glucoamylase có hoạt lực tối đa ở pH=3,5÷5,5.

Nhiệt độ tối thích của glucoamylase là $50 \div 60^0$C. Hầu hết các glucoamylase bị mất hoạt tính khi đun nóng trên 70^0C. Những chủng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp glucoamylase thương mại hóa: *Aspergilus, Rhizopus, A.niger, A.awamori, Endomycopsis.*

2.1.3. Nước

Chất lượng nước dùng trong công nghiệp lên men ảnh hưởng lớn đến quá trình công nghệ cũng như chất lượng sản phẩm. Các chỉ số chất lượng quan trọng của nước là độ cứng, độ oxy hóa, số lượng vi sinh vật. Nước tham gia vào phản ứng thủy phân tinh bột yêu cầu chung là nước có độ cứng càng thấp càng tốt.

Độ cứng của nước lại phân thành: độ cứng chung, độ cứng tạm thời và độ cứng vĩnh cửu, cacbonat hóa và không cacbonat hóa. Độ cứng chung gây ra bởi hàm lượng ion Ca^{2+} và Mg^{2+} có ở trong nước. Độ cứng tạm thời là lượng các muối bicacbonat của hai ion Ca và Mg, khi đun sôi hai loại muối này chuyển thành cacbonat và lắng cặn. Độ cứng vĩnh cửu là hàm lượng các muối clorua, sulfat, nitrat của các ion này.

Độ cứng của nước được tính bằng số miligam-đương lượng trong 1 lít nước. 1mg đương lượng ứng với 20,04 mg ion Ca^{2+} hoặc 12,16 mg ion Mg^{2+} trong 1 lít nước.

Yêu cầu nước có độ cứng chung, mg đương lượng, không quá 7.

2.1.4. Các nguyên liệu phụ khác

- Chất điều chỉnh pH: để các chế phẩm enzyme xúc tác phản ứng thủy phân tinh bột đạt hiệu quả cao, cần điều chỉnh pH dung dịch cơ chất về giá trị tối thích của

enzyme. Chất chỉnh pH thông dụng là HCl 0,1N và NaOH 0,1 N.

- $CaCl_2$: được dùng để ổn định hoạt tính α-amylase.

- Than hoạt tính: được sử dụng để tinh sạch dung dịch đường sau quá trình thủy phân, cải thiện độ màu của sản phẩm.

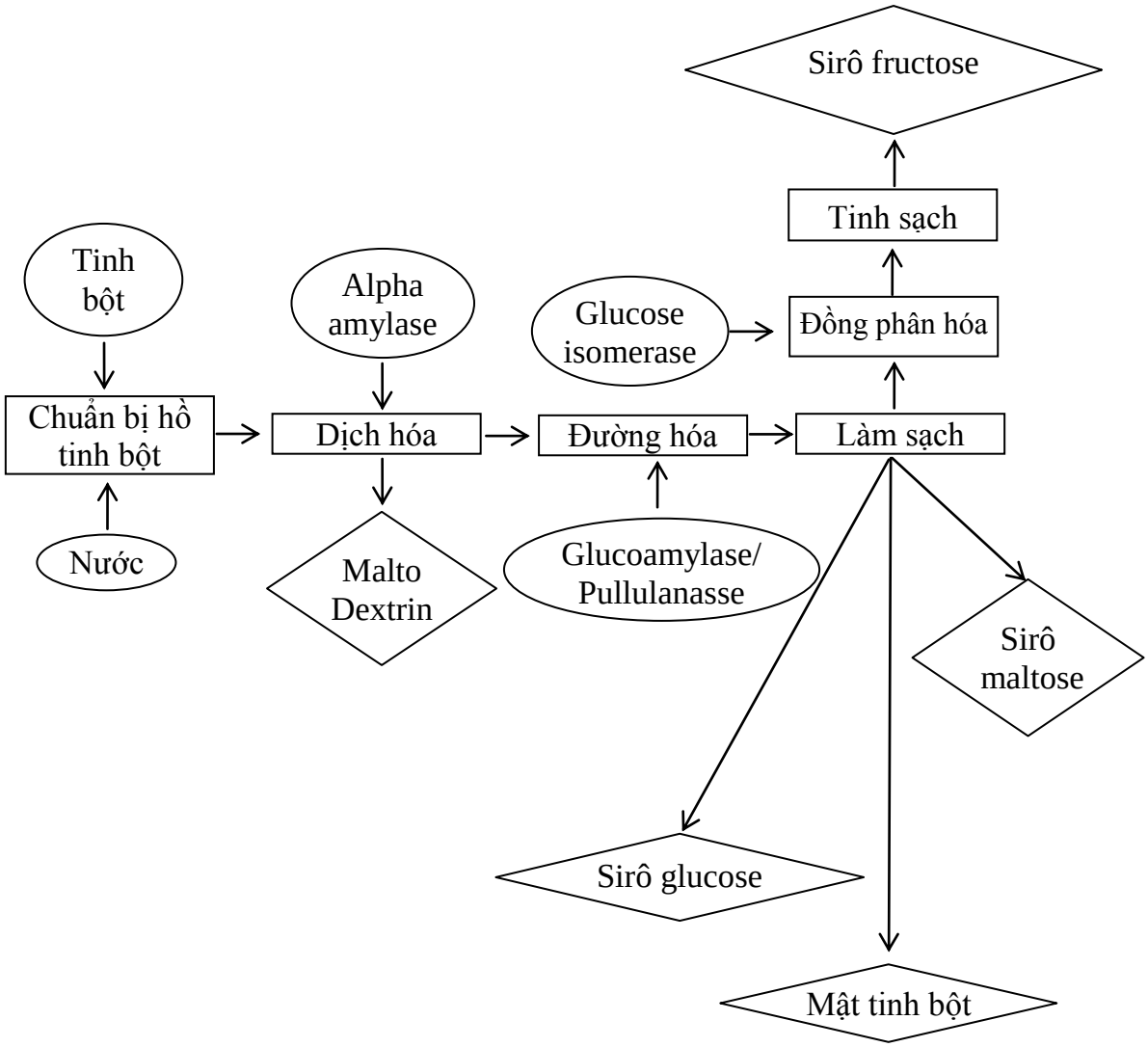
- Bột trợ lọc diatomite: được dùng để hỗ trợ cho quá trình lọc sirô.

2.2. Sản phẩm của sự thủy phân tinh bột

Quá trình thủy phân tinh bột nhờ enzyme tiến hành qua hàng loạt sản phẩm trung gian có phân tử lượng khác nhau. Lúc đầu thu được dextrin có phân tử lượng lớn khác biệt ít với tinh bột về cấu tạo, tính chất tác dụng với iodine, sau đó các dextrin thu được càng lúc càng có phân tử lượng thấp dần, tính chất tác dụng với iodine thay đổi hẳn và sản phẩm phân hủy cuối cùng của monosaccharide là glucose. Tùy thuộc vào mức độ thủy phân và bản chất của enzyme sử dụng sẽ thu được hỗn hợp chứa glucose, maltose và các oligosaccharide cũng như polysaccharide theo những tỉ lệ khác nhau.

Sự phân cắt tinh bột bằng enzyme thường đặc hiệu hơn, do vậy có thể tạo ra những sản phẩm đặc thù.

Hình 2.6 giới thiệu các bước thủy phân tinh bột bằng emzyme và các sản phẩm của quá trình thủy phân. Tùy theo loại enzyme sử dụng sẽ thu được các sản phẩm khác nhau.



Hình 2.6. Các bước thủy phân tinh bột bằng enzyme

Để đánh giá mức độ thủy phân cũng như tính chất chung của dịch thủy phân tinh bột, người ta dùng chỉ số đương lượng dextrose (DE).

$$DE = \frac{\text{Số liên kết glycoside được tách ra}}{\text{Tổng số liên kết glycoside}} 100\%$$

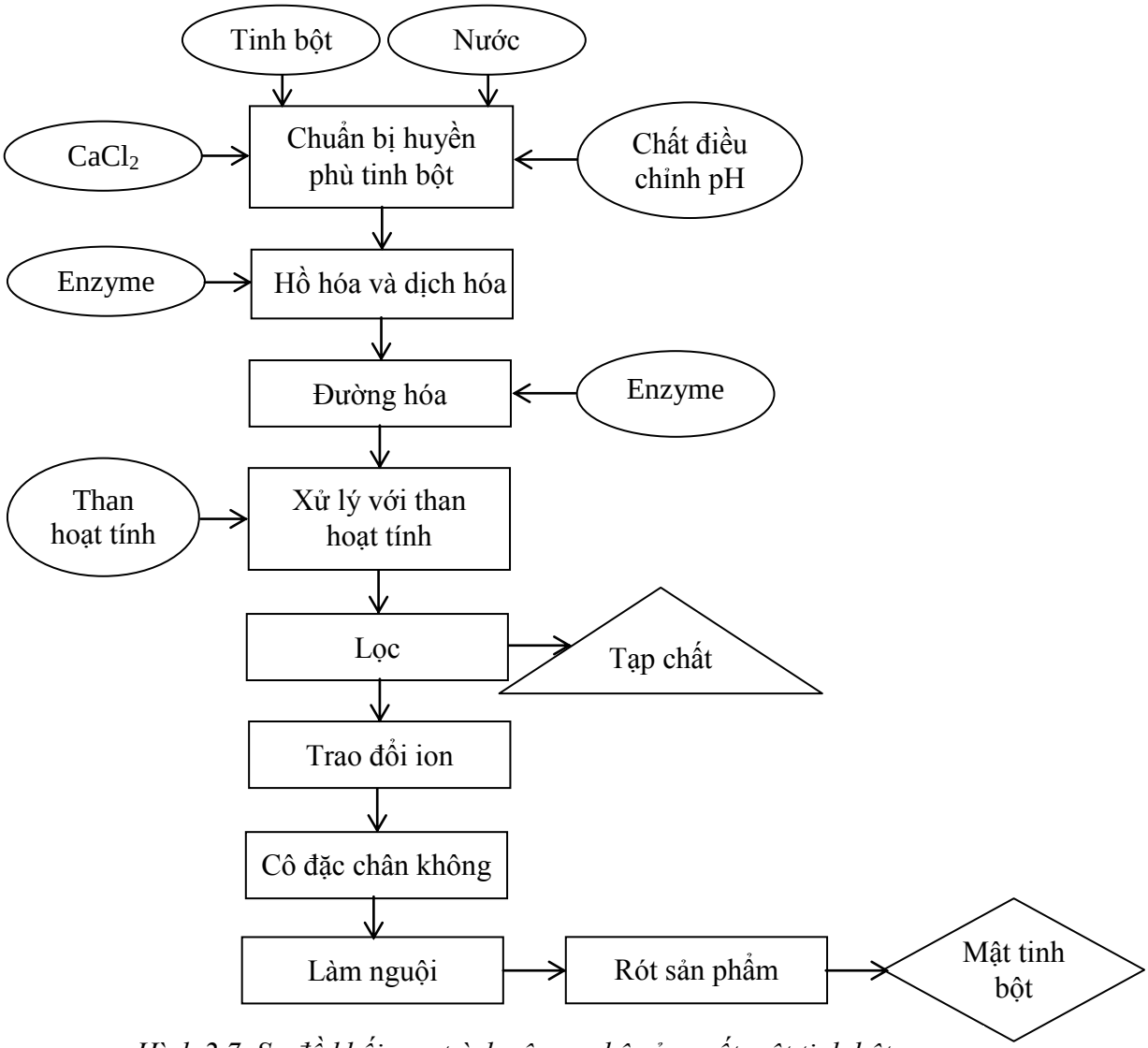
Trong thực tế, DE được xác định theo phép phân tích bằng cách đo hàm lượng đường khử, biểu thị bằng lượng đường khử, so với hàm lượng carbohydrate tổng số.

$$DE = \frac{\text{Đường khử}}{\text{Tổng số carbohydrate}} 100\%$$

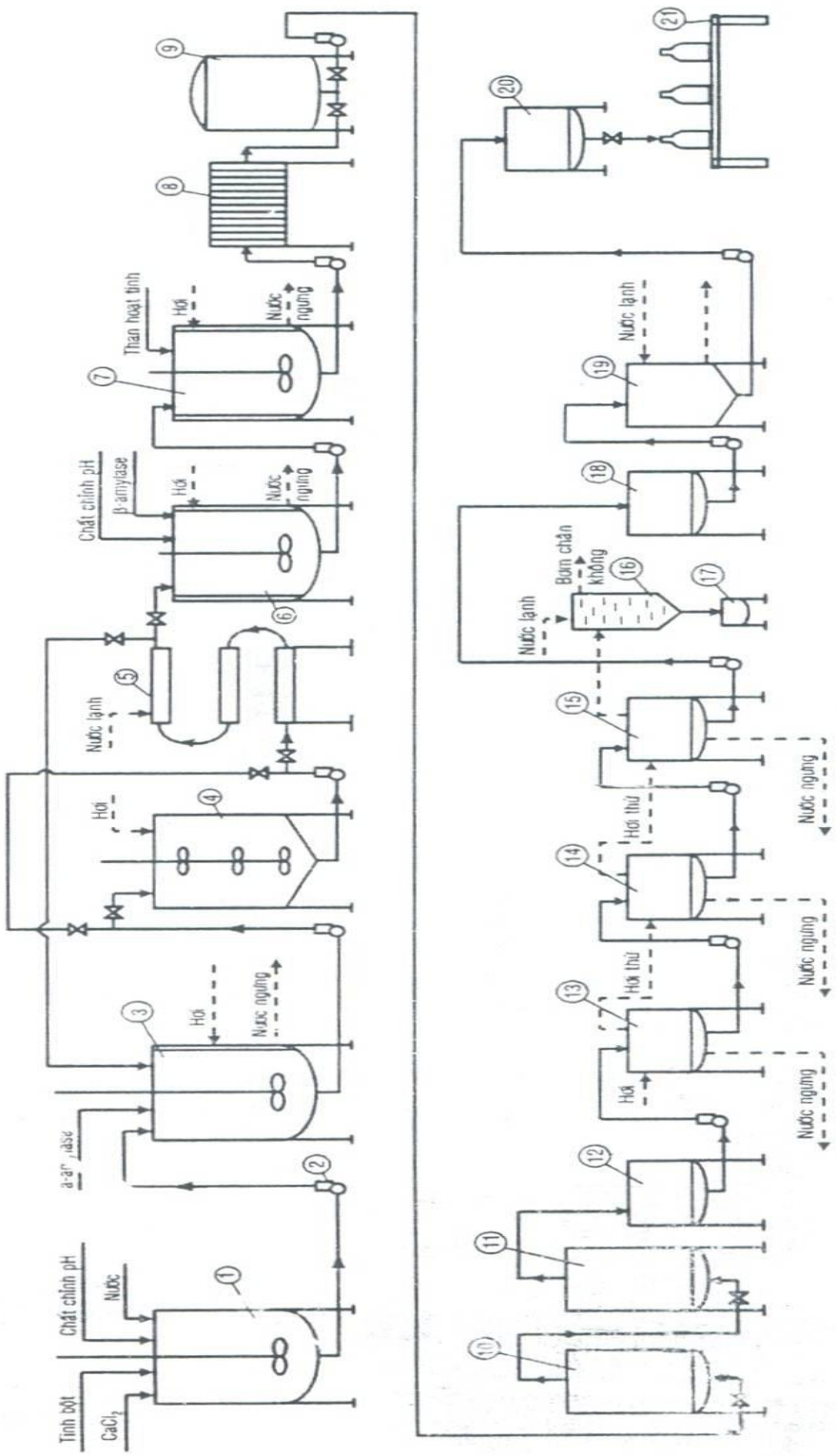
Như vậy, đương lượng dextrose (DE) là phần trăm đường khử có mặt trong dung dịch so với tổng lượng carbohydrate. Glucose tinh khiết có DE là 100, maltose tinh khiết có DE khoảng 50 (phụ thuộc vào phương pháp phân tích được sử dụng), DE của các maltodextrin nhỏ hơn 20; của các sirô glucose là 20÷97 và của tinh bột là 0.

2.3. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất mật tinh bột

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất mật tinh bột được mô tả dưới dạng sơ đồ khối (hình 2.7) và sơ đồ mô hình thiết bị (hình 2.8).



Hình 2.7. Sơ đồ khối quy trình công nghệ sản xuất mật tinh bột



Hình 2.8. Sơ đồ mô hình thiết bị quy trình công nghệ sản xuất mật tinh bột

1. Thiết bị chuẩn bị huyền phù tinh bột;
2. Bơm;
3. Thiết bị xử lý huyền phù tinh bột với enzyme;
4. Thiết bị dịch hóa tinh bột;
5. Thiết bị làm nguội;
6. Thiết bị đường hóa tinh bột;
7. Thiết bị xử lý dịch thủy phân với than hoạt tính;
8. Thiết bị lọc khung bản;
9. Bồn chứa sirô sau quá trình lọc;
10,11. Thiết bị trao đổi ion;
12. Thùng chứa sirô sau làm sạch;
13,14,15. Nồi cô đặc chân không;
16. Thiết bị ngưng tụ hơi thứ;
17. Thùng chứa nước ngưng tụ;
18. Bồn trung gian;
19. Thiết bị làm lạnh;
20. Thiết bị rót sản phẩm vào bao bì;
21. Băng tải chuyển thành phẩm.

2.4. Thuyết minh quy trình công nghệ sản xuất mật tinh bột

2.4.1. Chuẩn bị huyền phù tinh bột

Mục đích: chuẩn bị cho quá trình hồ hóa, dịch hóa và đường hóa tinh bột tốt hơn.

Đầu tiên phải làm sạch tinh bột để loại trừ những tạp chất nổi, chất giàu đạm ở dạng hòa tan như albumin và giảm bớt độ chua của tinh bột. Thường dùng tinh bột ở dạng ẩm (độ ẩm khoảng 50%). Có khi sử dụng dạng tinh bột khô.

Nguyên liệu tinh bột được hòa trộn với một lượng nước thích hợp để tạo thành dạng huyền phù (sữa tinh bột) có hàm lượng chất khô khoảng 30÷35% (17÷19°Be), bổ sung một lượng chế phẩm α-amylase (Termamyl 120L) để dịch hóa. Lượng α-amylase cần thiết bổ sung ở giai đoạn này là 0,6÷0,8 kg/tấn chất khô.

Điều kiện thích hợp cho hoạt động của α-amylase là cần có khoảng 20÷80 ppm Ca^{2+} (nhằm ổn định và kích hoạt enzyme); dịch sữa tinh bột cần được acid hóa đến pH=6,0÷6,5.

2.4.2. Hồ hóa và dịch hóa

Khi huyền phù tinh bột bị đun nóng các liên kết hydro giữa các phần tử amylose và các mạch nhánh của amylopectin bị đứt, các hạt tinh bột trương nở cùng với sự hút nước tăng lên. Khi hạt tinh bột tiếp tục giãn nở, hút nước nhiều hơn, trở nên trong hơn, thể tích tăng đáng kể, độ nhớt tăng lên, tinh bột từ dạng không tan trong nước trở nên hòa tan và thu được hồ tinh bột.

Nếu tiếp tục kéo dài xử lý nhiệt, hạt tinh bột bị vỡ, bị thủy phân từng phần làm hòa tan một phần các phần tử cấu thành nên tinh bột và kéo theo giảm độ nhớt của dung dịch hồ tinh bột. Có thể hồ hóa bằng cách đun nóng gián tiếp hoặc trực tiếp.

Nếu dùng cách đun nóng trực tiếp thì tiến hành như sau: Dịch sữa tinh bột sau khi đã chuẩn bị được gia nhiệt bằng hơi nước bão hòa có áp suất 5÷7at, phun trực tiếp vào dịch huyền phù để nâng nhiệt độ lên để hồ hóa rồi duy trì nhiệt độ này trong vòng 5 phút để hồ hóa hoàn toàn tinh bột.

Tinh bột đã được hồ hóa sẵn sàng dịch hóa bằng sự thủy phân từng phần dưới sự xúc tác của enzyme.

- Dịch hóa ở nhiệt độ thấp

Điều chỉnh nồng độ sữa tinh bột khoảng 30÷35%, dùng NaOH hoặc Na_2CO_3 điều chỉnh pH dịch tinh bột đạt 6÷6,5; Có thể cho thêm muối Ca với liều lượng 50÷300ppm vào sữa tinh bột.

Cân một lượng enzyme α-amylase, pha trong một lượng nước nhất định sau đó trộn đều với sữa tinh bột. Tùy theo nồng độ sữa tinh bột, nồng độ enzyme mà lượng enzyme sử dụng sẽ khác nhau.

Bảng 2.9 đưa ra các tỉ lệ thích hợp lượng enzyme sử dụng ứng với nồng độ khác nhau của sữa tinh bột trong thủy phân tinh bột sắn.

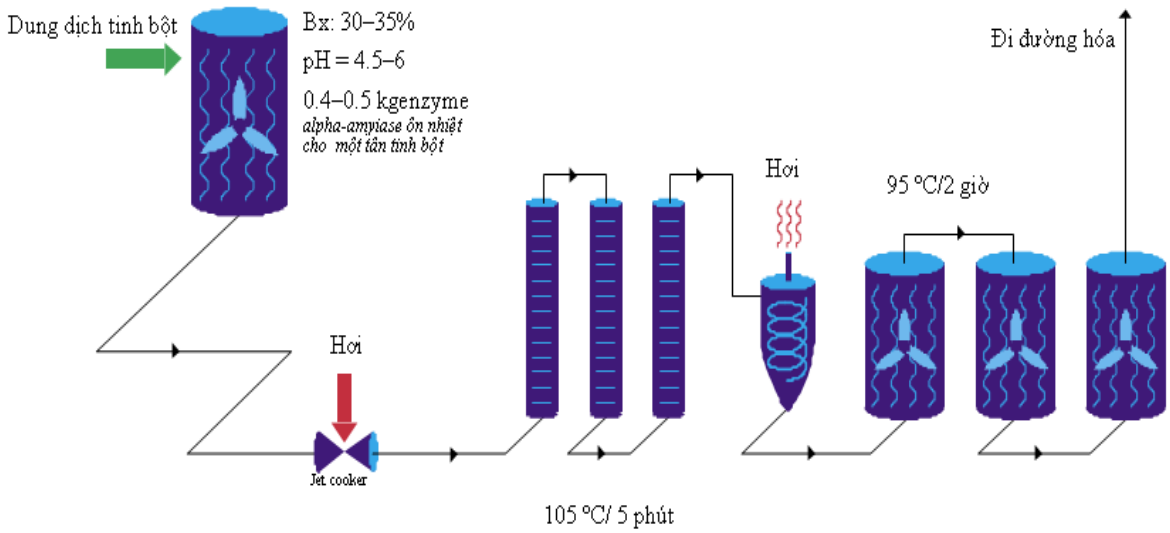
Bảng 2.9. Tỉ lệ enzyme sử dụng khi dịch hóa tinh bột sắn

Nồng độ enzyme (%)	*Nồng độ sữa tinh bột*					
	15	20	25	30	35	40
0,05	0	0	4,3	6,9	11,2	16
0,1	0	0	0	0	1,8	4,8

Hỗn hợp được gia nhiệt từ từ và được giữ ổn định 15÷30 phút ở nhiệt độ 70÷75^{0}C, sau đó nâng nhiệt độ lên 100^{0}C trong vòng 5÷10 phút.

- Dịch hóa ở nhiệt độ cao

Dịch hóa nhiệt độ cao tránh được sự thoái hóa làm cho sản lượng kém và làm giảm chất lượng sản phẩm. Hình 2.9 mô tả các bước dịch hóa ở nhiệt độ cao.



Hình 2.9. Các bước dịch hóa sử dụng enzyme α- amylase chịu nhiệt

Dịch tinh bột sau khi được điều chỉnh hàm lượng chất khô thì cho emzyme α-amylase chịu nhiệt vào. Dịch tinh bột này được bơm qua bộ phận gia nhiệt hơi nước trực tiếp để nâng nhiệt lên 105^{0}C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 5÷7 phút để hoàn toàn hồ hóa và hòa tan tinh bột tạo thành dung dịch dextrin hòa tan.

Dung dịch dextrin hòa tan được đưa về bộ phận làm mát để giảm nhiệt độ dịch hóa xuống 95^{0}C bắt đầu giai đoạn dịch hóa thứ cấp. Sự thủy phân lúc này được giữ trong thời gian thích đáng nhằm giảm kích thước của dextrin bằng α-amylase xuống mức yêu cầu 10÷12DE. Thời gian này trong khoảng 90÷120 phút.

- Những yếu tố ảnh hưởng đến tính kinh tế của giai đoạn dịch hóa:

Điều chỉnh pH là cần thiết đối với hiệu quả của giai đoạn dịch hóa ở nhiệt độ thấp lẫn nhiệt độ cao. pH thấp sẽ làm giảm tốc độ phản ứng thủy phân và tính ổn định của enzyme. pH cao sẽ sinh ra maltulose, sản phẩm phụ không cần thiết gây ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế.

Khi dịch hóa sẽ thu nhận được các maltodextrin gồm các oligosaccharide có chứa từ 5÷10 đơn vị glucose. Việc dịch hóa ngoài mục đích tránh sự thoái hóa tinh bột còn có tác dụng làm giảm độ nhớt dung dịch và tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân.

Trong hầu hết các quy trình sản xuất dùng enzyme thương mại để dịch hóa tinh bột, giá trị DE được khống chế trong khoảng 8÷12. Quá trình dịch hóa để đạt chỉ số DE theo yêu cầu được tiến hành trong thùng phản ứng duy trì nhiệt độ 90÷95^{0}C trong 1÷2 giờ, dung dịch có đương lượng dextrose khoảng 8÷12. Nếu kéo dài thêm thời gian dịch hóa cũng không có lợi do không làm tăng hiệu suất chuyển hóa (do enzyme bị giảm hoạt tính đáng kể ở điều kiện nhiệt độ cao và thời gian kéo dài) mà lại tăng màu sắc của dung dịch do đường khử bị phân hủy. Khi sử dụng α-amylase của *B. amyloliquefaciens* để dịch hóa thì nhiệt độ tối đa khi gia nhiệt trước khi dịch hóa

không quá 95^0C. Vì vậy sau giai đoạn dịch hóa thì phải được thực hiện giai đoạn "nấu" cuối cùng để hồ hóa hoàn toàn những hạt tinh bột cứng đầu có mặt trong một vài loại tinh bột. Nếu không thì nó sẽ gây nên sự vẩn đục trong sản phẩm cuối cùng trong khi chỉ số DE yêu cầu đã đạt được.

Tinh bột đã được dịch hóa thường được đường hóa nhưng một lượng nhỏ được sấy phun để bán dưới dạng sản phẩm maltodextrin.

2.4.3. Đường hóa

Quá trình dịch hóa tiến hành đến hàm lượng đường khử đạt 10÷15DE, sau đó đun dung dịch đến 100÷120^0C để diệt enzyme α-amylase hoặc có thể đun sôi dịch tinh bột đã được dịch hóa trước khi đường hóa để giảm thành phần các chất không hòa tan.

Giai đoạn đường hóa là giai đoạn thủy phân các maltodextrin và các oligosaccharide thành đường glucose, maltose và maltotriose. Tùy theo loại sản phẩm mong muốn, quá trình chuyển hóa này có thể được xúc tác bởi một hay kết hợp nhiều loại enzyme. Tinh bột đã dịch hóa có chỉ số 8÷12DE thích hợp để thực hiện đường hóa tạo ra sản phẩm đường hóa là sirô glucose, với trị số DE từ 45 tới 98 hoặc hơn nữa. Con số lớn nhất đã được sản xuất là sirô glucose có DE khoảng 97.

Hiện nay, sản phẩm với trị số DE cao này được sản xuất bằng cách sử dụng glucoamylase (còn gọi là amyloglucosidase hay γ-amylase) sẽ phân cắt β-D-glucose khỏi các liên kết glucan α-1,4, α-1,6 và α-1,3. Glucoamylase hay dùng được sản xuất bởi giống *Aspergillus niger*. Giống này có pH tối thích 4,0÷4,5 và hoạt động hiệu quả nhất ở 60^0C. Vì thế tinh bột phải được làm nguội nhanh (để tránh hiện tượng amylose kết hợp tạo vỏ trên bề mặt dịch tinh bột) và điều chỉnh pH của nó trước khi bổ sung glucoamylase.

Theo lý thuyết, tinh bột đã dịch hóa cẩn thận tới DE khoảng 8÷12 có thể được thủy phân hoàn toàn bởi glucoamylase để sản sinh ra một hỗn hợp cuối cùng đạt DE là 100. Trong thực tế, điều này chỉ có thể đạt được ở nồng độ chất khô tương đối thấp. Tính toán chi phí của việc cô đặc sản phẩm bằng phương pháp bốc hơi thì sử dụng nồng độ chất khô 30÷35% là kinh tế. Điều này cho phép trị số DE tối đa đạt tới được là 96÷98 với thành phần glucose là 95÷97%, 1÷2% maltose và 0,5÷2% isomaltose (α-D-glucopyranosyl-(1,6)-D-glucose) theo khối lượng. Sản phẩm sirô này có thể được sử dụng sau khi cô đặc, làm nguyên liệu trực tiếp sản xuất sirô fructose hoặc để sản xuất ra đường glucose tinh thể.

- Cách tiến hành đường hóa như sau:

Dịch thủy phân sau khi dịch hóa, được làm nguội đến nhiệt độ 60^0C và điều chỉnh pH=4,0÷4,5 rồi bổ sung enzyme glucoamylase. Lượng glucoamylase sử dụng với tỉ lệ 0,65÷0,8 lít/tấn tinh bột khô.

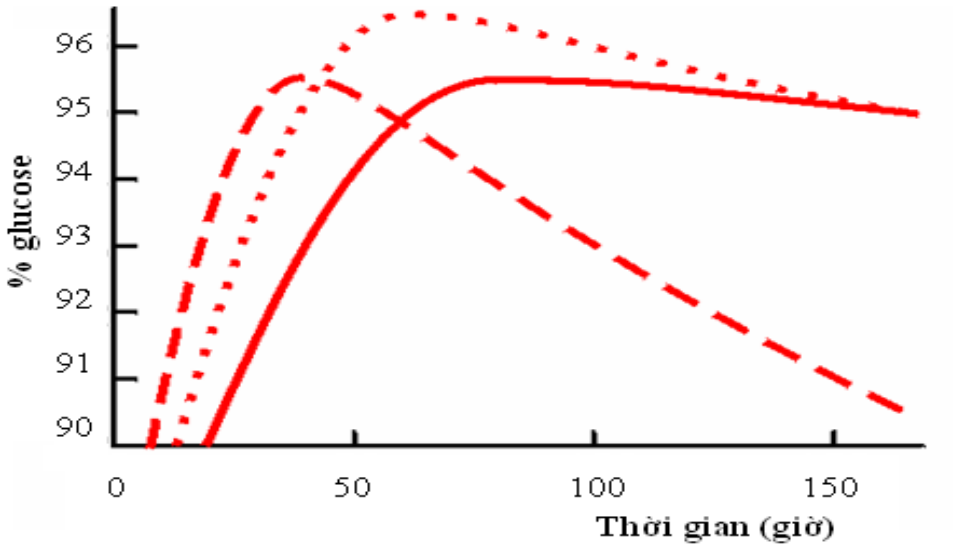
Sự đường hóa thường được thực hiện trong các thùng có cánh khuấy rộng lớn mà mất vài giờ để đổ đầy hoặc tháo sản phẩm. Vì vậy sẽ lãng phí thời gian nếu bổ sung enzyme khi đã đầy thùng. Tốt nhất là định lượng enzyme theo tỉ lệ cố định hoặc bổ sung toàn bộ enzyme ở mức đổ đầy ban đầu.

Công đoạn đường hóa mất 72 giờ để hoàn tất (với yêu cầu chỉ số DE đạt tối đa, 96÷98) nhưng có thể tăng nhanh bằng cách tăng lượng enzyme sử dụng.

Sau khi đường hóa xong (khi đã đạt được DE tối đa), dịch thủy phân được gia nhiệt lên 80^0C trong 40 phút hoặc 85^0C trong 5 phút để diệt enzyme. Sự ủ ấm thêm nữa sẽ gây ra sự giảm trị số DE, cuối cùng khoảng 90 DE, nguyên nhân là do sự hình

thành isomaltose như là sự trùng hợp lại các glucose.

Hãng NOVO cung cấp sản phẩm Dextrozyme 225/75L là một hỗn hợp cân bằng của glucoamylase và pullulanase, được sử dụng trong việc sản xuất sirô glucose hàm lượng cao. Hiệu quả của việc sử dụng kết hợp các loại enzyme được thể hiện ở hình 2.10.



———200Ukg^{-1}*Aspergillus niger* glucoamylase

---------400 U kg^{-1} *A. niger* glucoamylase

·····200Ukg^{-1} *A. niger* glucoamylase + 200Ukg^{-1} *Bacillus acidopullulyticus pullulanase*

Hình 2.10. Hiệu quả sử dụng dung dịch enzyme khác nhau trong giai đoạn đường hóa

Việc sử dụng thêm các enzyme cắt nhánh (debranching enzymes) sẽ làm tăng nhanh quá trình đường hóa.

Hai loại enzyme cắt nhánh phổ biến là pullulanase và isoamylase (EC.3.2.1.68). Loại pullulanase sản xuất từ giống *Baccillus acidopulullyticus* có thể được sử dụng dưới điều kiện như glucoamylase từ *Aspergillus* (60^{0}C, pH=4,0÷4,5). Việc sử dụng pullulanase cùng với glucoamylase sẽ giảm bớt lượng glucoamylase cần dùng và nhờ có pullulanase mà không xảy ra sự tích tụ các oligosaccharide ở giai đoạn cuối của quá trình đường hóa và trị số DE đạt cao hơn.

Hiện nay có thể sản xuất tinh bột thủy phân với bất kỳ DE nào từ 1 đến 100 và với bất cứ thành phần nào bằng cách sử dụng phối hợp các α-amylase vi khuẩn, fugal-α-amylase, glucoamylase và pullulanase và điều chỉnh thời gian phản ứng.

2.4.4. Tẩy màu và lọc

Dịch thủy phân sau khi diệt enzyme cần được loại bỏ các tạp chất như: chất béo, protein đã bị biến tính, các chất màu, v.v…

Tạp chất trong dịch thủy phân chia làm hai loại: tạp chất cơ học và tạp chất hòa tan. Tạp chất được mang vào do nguồn nguyên liệu dùng để sản xuất và một số chất hòa tan tạo nên do phản ứng thủy phân. Các tạp chất hòa tan chủ yếu có:

- Muối của Ca có sẵn trong nguyên liệu;

- Các chất màu do enzyme đưa vào, melanoidin sản phẩm của đạm và đường (acid amin của enzyme, nguyên liệu và phần nhỏ đường tạo thành trong quá trình thủy phân);

- Các hợp chất giữa tanin và muối sắt có trong nguyên liệu trong quá trình sản xuất, ảnh hưởng của đường ống thiết bị tạo nên.

Các tạp chất cơ học được loại bỏ khỏi dung dịch bằng cách ép lọc, các tạp chất hòa tan được loại bỏ khỏi dung dịch bằng than hoạt tính...

Dưới đây mô tả các bước làm sạch mật tinh bột đang được sử dụng ở một số nhà máy sản xuất mật tinh bột:

- Tách chất béo: nếu mật sản xuất từ tinh bột ngô thì trước khi đem lọc mật loãng thì phải qua bộ phận tách chất béo.

- Lọc dung dịch mật: thường dùng máy lọc khung bản. Để tăng hiệu quả lọc nên dùng thêm chất trợ lọc là diatomid. Nhiệt độ dung dịch đường khi lọc $80 \div 85^0$C.

- Làm trắng mật: mật sau khi lọc trong suốt nhưng có màu vàng nâu. Mức độ vàng phụ thuộc vào điều kiện thủy phân. Để làm trắng và làm trong suốt dung dịch mật, thường dùng than hoạt tính.

Quá trình cơ bản xảy ra ở đây là quá trình hấp phụ. Lượng than hoạt tính cần dùng 1% so với khối lượng chất khô của mật. Người ta trộn lẫn mật với một lượng than hoạt tính nhất định và khuấy liên tục sau đó tách than hoạt tính bằng máy lọc ép.

Sau khi tẩy màu, dịch thủy phân được cho thêm bột trợ lọc (diatomide) và lọc bằng thiết bị lọc khung bản. Tỉ lệ bột trợ lọc dùng vào khoảng 4÷6 kg/tấn chất khô. Bột trợ lọc được chuẩn bị trước bằng cách hòa trộn với sirô hoặc với nước được sử dụng để làm lớp lọc phụ trong giai đoạn chuẩn bị lọc. Lớp bột lọc giúp tăng cường việc giữ lại các tạp chất và than để thu được dịch thủy phân sạch.

Sirô sau khi lọc vẫn còn chứa các tạp chất hữu cơ và vô cơ hòa tan (chủ yếu là các muối khoáng) có trong nguyên liệu và các hóa chất bổ sung vào ở các giai đoạn trước. Phần lớn các tạp chất này tồn tại ở dạng ion cân bằng phân ly. Để khử các tạp chất này, sirô được đưa qua 3 cột trao đổi ion.

Trong trao đổi cation, phần lớn các ion kim loại được hấp phụ trên các hạt nhựa nhờ đó mà được loại ra khỏi sirô, các ion H^+ từ nhựa chuyển vào sirô.

Trong trao đổi anion, phần lớn các anion như Cl^-, SO_4^{2-} bị hấp phụ trên nhựa, còn ion OH^- từ nhựa đi vào sirô. Ion H^+ và ion OH^- kết hợp với nhau tạo thành nước. Sirô tiếp tục dẫn qua cột nhựa hỗn hợp để loại triệt để các chất khoáng hòa tan còn sót lại. Sau một thời gian làm việc nhất định, nhựa trao đổi ion cần phải được tái sinh.

2.4.5. Cô đặc và rót sản phẩm

Sirô được cô đặc đến nồng độ chất khô > 71% bằng hệ thống cô đặc chân không. Độ chân không của thiết bị (p_{ck}) trong khoảng 650÷ 680mmHg, nhiệt độ sôi của dung dịch trong thiết bị (t_s) trong khoảng $60 \div 65^0$C.

Sirô sau khi cô đặc được đưa vào các thùng chứa sản phẩm hoặc can nhựa để tồn trữ hoặc xuất bán sản phẩm.

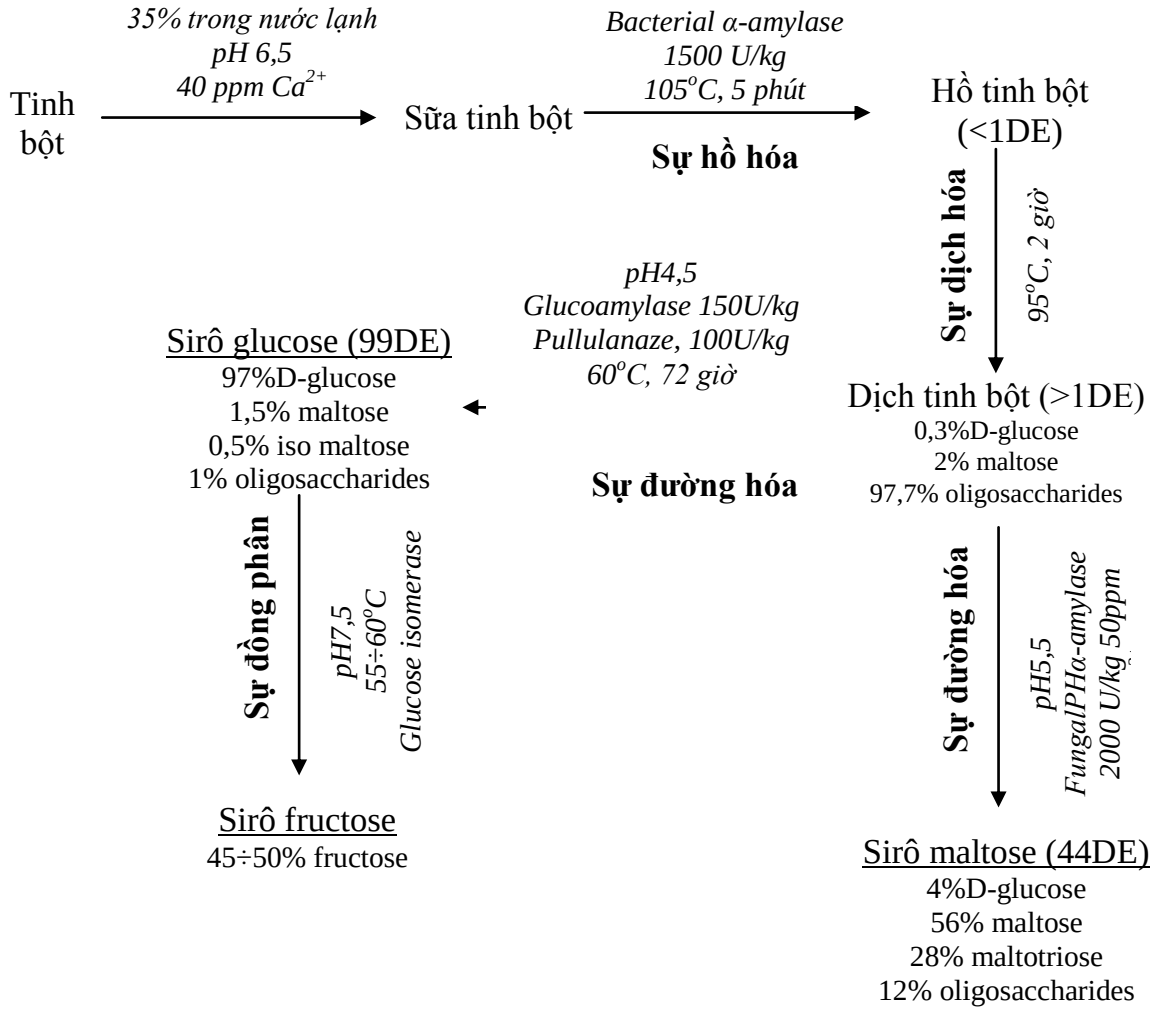
Thùng chứa sản phẩm phải đặt ở nơi thoáng mát, khô ráo, nhiệt độ không quá 30^0C. Mật tinh bột được đóng thành bao 50kg (bao 2 lớp PE bên trong PP bên ngoài) hoặc đóng vào các xô nhựa 25kg, 50kg.

2.5. Công nghệ sản xuất sirô có chứa maltose, sirô giàu fructose

2.5.1. Sơ đồ tổng quát

Các công đoạn trong quy trình sản xuất sirô có chứa maltose, sirô giàu fructose

theo phương pháp thủy phân bằng enzyme được trình bày ở hình 2.11.



Hình 2.11. Sơ đồ tổng quát các bước sản xuất sirô chứa maltose và sirô chứa hàm lượng fructose cao

2.5.2. Sản xuất sirô có chứa maltose

a) Các ứng dụng của sirô maltose

Trong công nghiệp bánh nướng, sirô maltose được bổ sung vào thực đơn sản xuất, nhờ các tính chất dễ lên men của nó tạo kết cấu tốt cho sản phẩm. Bánh mỳ có bổ sung ít sirô maltose sẽ có độ đàn hồi tốt hơn, có vỏ mỏng hơn và giữ được độ tươi trong thời gian dài.

Đối với sản phẩm dạng kem và các sản phẩm đông lạnh, sirô maltose ngăn cản sự kết tinh của saccharose và lactose, cải thiện kết cấu (tăng độ mịn, độ chắc của kem và tính chất mượt mà của sản phẩm). Sirô maltose là chất ngọt lý tưởng đối với việc sản xuất kem lạnh trái cây và các loại nước hoa quả ướp lạnh vì chúng loại trừ hoặc giảm đáng kể sự xuất hiện của nước trên bề mặt sản phẩm.

Đối với các sản phẩm trái cây cô đặc như các loại mứt trái cây tẩm đường và mứt cam, sirô maltose ngăn ngừa sự kết tinh của đường, giữ được màu sắc tự nhiên của trái cây, bảo đảm một kết cấu phù hợp, một mùi thơm dễ chịu và làm nổi bật hương vị.

b) Các loại sirô maltose

- Sirô có hàm lượng maltose cao (40÷50DE, 40÷60% maltose, 2÷7% glucose (tính theo khối lượng)) có khuynh hướng không kết tinh, thậm chí dưới 0^0C và tương

đối không hút ẩm, độ ngọt nhẹ. Chúng được sử dụng trong sản xuất kẹo cứng và các món ăn đông lạnh.

- Loại sirô hàm lượng maltose siêu cao chứa 70% maltose, 8% glucose, 2% maltotriose.

- Sirô có hàm lượng đường chuyển hóa cao (60÷70 DE, 30÷37% maltose, 35÷43% glucose, 10% maltotriose, 15% các oligosaccharide khác (tính theo khối lượng) đủ ổn định để không kết tinh ở nhiệt độ trên 4^0C và ở nồng độ chất khô 80÷83%. Chúng được sử dụng để sản xuất kẹo mềm và trong công nghiệp bánh nướng, rượu bia và nước giải khát.

c) Kỹ thuật sản xuất

Quy trình công nghệ bao gồm các công đoạn tượng tự như đối với sản xuất sirô glucose. Ở giai đoạn đường hóa thì khác một số điều kiện công nghệ. Ở đây chỉ trình bày công đoạn đường hóa. Sau khi đường hóa xong thì tiến hành lọc tẩy màu, trao đổi ion …

Theo truyền thống, sirô maltose được sản xuất bằng cách thủy phân tinh bột nhờ enzyme β-amylase của lúa mạch. Các enzyme β-amylase phân giải các liên kết α-1,4 mà không phân giải liên kết α-1,6. Ngày nay enzyme β-amylase từ lúa mạch không được thực hiện sản xuất sirô maltose trên quy mô lớn vì tương đối đắt và không ổn định nhiệt và dễ dàng bị ức chế bởi đồng và các kim loại nặng khác. Để thay thế, người ta sử dụng fungal-α-amylase do hãng NOVO sản xuất dưới dạng thương mại là Fungamyl 800L.

* Sirô hàm lượng maltose cao (High Maltose Syrups)

Sau khi tinh bột đã được dịch hóa có nồng độ chất khô 35%, DE khoảng 11, đường hóa chỉ sử dụng fugal-α-amylase (dạng thương phẩm là Fungamyl 800L). Sự đường hóa xảy ra thời gian 42÷48 giờ, pH=5,5 và nhiệt độ phản ứng là 55^0C. Tỉ lệ Fungamyl 800L là 300g/tấn chất khô, bổ sung một lượng ion Ca^{2+} khoảng 50ppm. Sau khi đường hóa xong thì nâng nhiệt độ lên 85÷90^0C và giữ trong 5 phút để diệt enzyme.

* Sirô hàm lượng maltose siêu cao (Extra-High Maltose Syrups)

Sau khi tinh bột đã được dịch hóa có nồng độ chất khô 30%, DE khoảng 11, đường hóa bằng việc kết hợp hai loại enzyme là β-amylase và pullulanase (NOVO có hai loại tương ứng là Maltogenase 4000L và Promozyme 200L). Sự đường hóa xảy ra trong thời gian 42÷48 giờ, pH=5,5 và nhiệt độ phản ứng là 60^0C. Tỉ lệ Maltogenase 4000L là 2 kg/tấn chất khô và Promozyme 200L là 2 kg/tấn chất khô. Sau khi đường hóa xong thì nâng nhiệt độ lên 85÷90^oC và giữ trong 5 phút để diệt enzyme.

* Sirô hàm lượng đường chuyển hóa cao (High conversion Syrups)

Sirô có hàm lượng đường chuyển hóa cao được sản xuất từ tinh bột đã dịch hóa có nồng độ chất khô 30÷45%, DE khoảng 11, bằng cách sử dụng kết hợp giữa fugal-α-amylase (Fungamyl 800L) và glucoamylase (AMG 300L). Sự đường hóa xảy ra trong thời gian 21 giờ, pH=5,0 và nhiệt độ phản ứng là 55^0C. Tỉ lệ Fungamyl 800L là 300g/tấn chất khô và AMG 300L là 150ml/tấn chất khô.

Để đáp ứng yêu cầu kỹ thuật của khách hàng thì điều chỉnh độ hoạt động của hai enzyme nhưng điều chắc chắn là khi có sử dụng glucoamylase thì hàm lượng glucose của sản phẩm cuối cùng sẽ cao hơn hàm lượng glucose của sirô có maltose cao (chỉ sử dụng fugal-α-amylase).

Khi thành phần sản phẩm đã đạt yêu cầu thì gia nhiệt lên 85÷90^0C và giữ trong 5

phút để ngừng phản ứng.

2.5.3. Sản xuất sirô chứa hàm lượng fructose cao

Vào những năm từ 1950÷1960, glucoamylase trở thành một loại nguyên liệu chính trong việc sản xuất sirô glucose có chỉ số DE cao. Sirô glucose còn khiếm khuyết về mục tiêu thương mại: D-glucose chỉ ngọt khoảng 70% so với đường saccharose và nó cũng tương đối ít hòa tan. Sirô glucose chỉ số 97DE ở nồng độ thương mại (71%) phải giữ ấm để chống kết tinh hoặc phải làm loãng để giảm nồng độ mà điều này lại không an toàn vì là môi trường thuận lợi cho vi sinh vật phát triển. Fructose có độ ngọt cao hơn glucose và độ hòa tan cao hơn 2 lần so với glucose ở nhiệt độ thấp. Vì vậy, sự biến đổi 50% glucose thành fructose khắc phục được cả 2 khiếm khuyết nêu trên, giữ cho sirô ổn định và độ ngọt tương tự như dung dich saccharose ở cùng nồng độ.

Để biến đổi đường glucose thành đường fructose, người ta sử dụng phương pháp đồng phân glucose.

a) Sự đồng phân glucose thành fructose bằng phương pháp hóa học

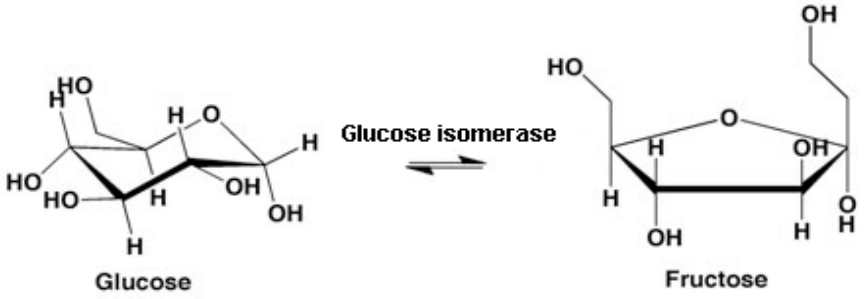
Đồng phân theo phương pháp hóa học không kinh tế, cho hiệu suất thấp và tạo ra nhiều sản phẩm phụ. Ví dụ 0,1M glucose đồng phân hóa bằng 1,22M KOH ở 5^0C trong khí nitrogen trong thời gian 3 tháng cho hiệu suất 5% fructose nhưng chỉ có 7% glucose sau phản ứng là không thay đổi, còn phần lớn bị chuyển hóa thành các hydroxy acid khác nhau.

b) Sự đồng phân glucose thành fructose trong quá trình đường phân

Trong quá trình đường phân, cả 2 loại đường này đều bị phosphat hóa. Việc sử dụng enzyme phosphohexose isomerase như là một enzyme thương mại có thể bị loại trừ bởi vì đòi hỏi phải có ATP cần thiết để hoạt hóa glucose và vì cả 2 enzyme (hexokinase và fructose-6-phosphatase) cũng sẽ cần có để hoàn thành việc chuyển hóa.

c) Sự đồng phân glucose thành fructose bằng "enzyme đồng phân glucose"

Hiện nay người ta đã biết một số loài vi sinh vật, chủ yếu là vi khuẩn, có thể sản sinh ra enzyme đồng phân glucose (glucose isomerase). Hình 2.12 minh họa sự đồng phân quang học của glucose nhờ xúc tác của enzyme glucose isomerase



Hình 2.12. Đồng phân glucose

Enzyme có tính thương mại được sản xuất từ *Actinoplanes missouriensis, Bacillus coagulans* và một số loài *Streptomyces* khác. Chúng là những enzyme dễ thuần hóa, chống lại sự biến tính nhiệt tốt và hoạt động ở nồng độ cơ chất cao mà điều đó đã làm gia tăng lợi ích nhờ sự ổn định của enzyme ở nhiệt độ làm việc cao hơn. Enzyme đồng phân glucose (glucose isomerase) là enzyme nội bào nhưng không cần chiết tách và tinh chế chúng trước khi sử dụng. Tất cả các enzyme đồng phân glucose được sử dụng ở dạng cố định hoạt động trong quá trình liên tục.

Điều kiện làm việc: Nồng độ cơ chất cao (35÷45% chất khô, 93÷97% glucose); Nhiệt độ 55÷60^{0}C, pH điều chỉnh tới 7,7÷8,0 bằng cách bổ sung natri carbonat; Bổ sung $MgSO_4$ để duy trì hoạt độ của enzyme.

Ion Ca^{2+} giành vị trí liên kết của ion Mg^{2+} trong enzyme, nguyên nhân của sự ức chế enzyme. Ở mức này, dòng cơ chất thường đạt được 3mM ion Mg^{2+} là bình thường. Ở nồng độ Ca cao hơn, tỉ lệ Mg^{2+}/Ca^{2+} được khuyến cáo nên là 1/2. Sự vượt quá giới hạn Mg^{2+} là không kinh tế vì càng thêm nó vào làm cho sự tinh chế càng lâu và chi phí càng tăng.

- Dung dịch cơ chất được tinh chế một cách thích hợp sao cho không có vật liệu không tan và các tạp chất khác mà có thể làm vô hoạt enzyme bởi các điều kiện hóa học (chất kìm hãm) hoặc vật lý (chất ngăn chặn). Vật liệu không tan được tách bỏ bằng cách lọc, đôi khi sau khi xử lý với chất tạo kết tủa bông và các chất hòa tan được tách bằng nhựa trao đổi ion và hạt than hoạt tính. Thực hiện như thế, khả năng ức chế enzyme vẫn còn vì nguyên nhân là sản phẩm phụ bị oxy hóa bởi oxy phân tử. Có thể loại trừ nguyên nhân trên bằng tách khí trong cơ chất bằng chân không ở nhiệt độ đồng hóa hoặc bổ sung muối SO_3^- nồng độ thấp (<50 ppm).

Theo lý thuyết, hàm lượng fructose đạt tối đa khoảng 51%. Tuy vậy, để đạt đến hàm lượng đó tốn nhiều thời gian nên hầu hết các nhà sản xuất điều chỉnh tốc độ dòng chảy sao cho đạt sản phẩm 42÷46% (theo khối lượng) fructose (còn thừa lại 47÷51% (theo khối lượng) glucose). Để sản xuất 100 tấn chất khô sirô fructose 42%/ngày, cần một lớp đệm chứa enzyme có thể tích khoảng 4m^3.

Hoạt tính enzyme giảm xuống theo quy luật cân bằng bậc một. Bình thường, một mẻ enzyme được thải bỏ khi hoạt độ của nó giảm xuống còn 1/8 so với giá trị ban đầu. Để duy trì hàm lượng fructose không đổi trong sản phẩm, tốc độ dòng nạp liệu được điều chỉnh theo hoạt độ của enzyme. Trong thời gian sống của mình, 1 kg enzyme cố định đồng phân hóa glucose sẽ sản xuất 10÷11 tấn sirô fructose 42% (theo chất khô).

Sau khi đồng phân hóa, pH của sirô được hạ thấp đến 4÷5 và nó được tinh chế bằng sắc ký trao đổi ion và xử lý với than hoạt tính. Sau đó được bốc hơi để nâng nồng độ lên đến 70% chất khô.

Đối với nhiều ứng dụng, sirô 42% fructose là hoàn toàn thỏa mãn yêu cầu nhưng nó không phù hợp với tiêu chuẩn đòi hỏi cao của chất lượng nước giải khát ngọt (không cồn) nhằm thay thế cho đường saccharose. Để sử dụng trong nước uống cola tốt hơn, đòi hỏi sirô có hàm lượng 55% fructose. Sản phẩm này được sản xuất bằng cách dùng cột sắc ký chứa khoáng chất zeolit hoặc nhựa trao đổi ion chứa muối Ca để hấp phụ và tách rời fructose khỏi các thành phần khác.

Quá trình tách phân đoạn, mặc dù về cơ bản rất đơn giản, chỉ kinh tế nếu như hoạt động liên tục. Dòng fructose (90% fructose, 9% glucose-tính theo khối lượng) trộn lẫn với sirô 42% fructose để cho sản phẩm cần thiết fructose nồng độ 55%.

Sirô hàm lượng fructose cao có thể thay thế đường saccharose ở nơi mà đường saccharose sử dụng dưới dạng dung dịch nhưng chúng không thích ứng cho việc thay thế saccharose tinh thể.

3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BÁNH MỲ

3.1. Nguyên liệu sản xuất bánh mỳ

3.1.1. Bột mỳ

Bột mỳ là nguyên liệu chính để sản xuất bánh mỳ, được chế biến từ hạt lúa mỳ.

Bột mỳ có hai loại: bột mỳ trắng và bột mỳ đen. Nguồn nguyên liệu chủ yếu của nước ta là nhập từ nước ngoài (nhập bột mỳ và lúa mỳ) và ta chỉ nhập loại lúa mỳ trắng.

Lúa mỳ trắng có hai loại: loại cứng và loại mềm. Lúa mỳ cứng có chất lượng cao hơn. Bột mỳ đen là loại bột được xay mịn từ hạt lúa mạch đen. Hàm lượng protein gần với protein của bột mỳ trắng nhưng trong bột mỳ đen có chứa các chất nhựa làm cản trở sự hình thành gluten. Vì vậy, bột mỳ đen rất ít được sử dụng và các ổ bánh mỳ làm từ bột nhào của bột mỳ đen cho thể tích nhỏ.

a) Thành phần hóa học của bột mỳ

Thành phần của bột mỳ gồm glucid, protein, lipid, vitamin, enzyme (chiếm 83÷85%) và phần còn lại gồm nước và muối khoáng. Bảng 2.10 thể hiện hàm lượng của các thành phần trong bột mỳ.

Bảng 2.10. Hàm lượng một số thành phần cơ bản của bột mỳ trắng

Thành phần	*Hàm lượng (%)*	*Thành phần*	*Hàm lượng (%)*	*Thành phần*	*Hàm lượng (%)*
Tinh bột	65÷70%	Đường	1÷1.5%	Cellulose	0,2%
Protein	10÷14%	Chất béo	1÷1.5%	Chất khoáng	0.3÷0,9%

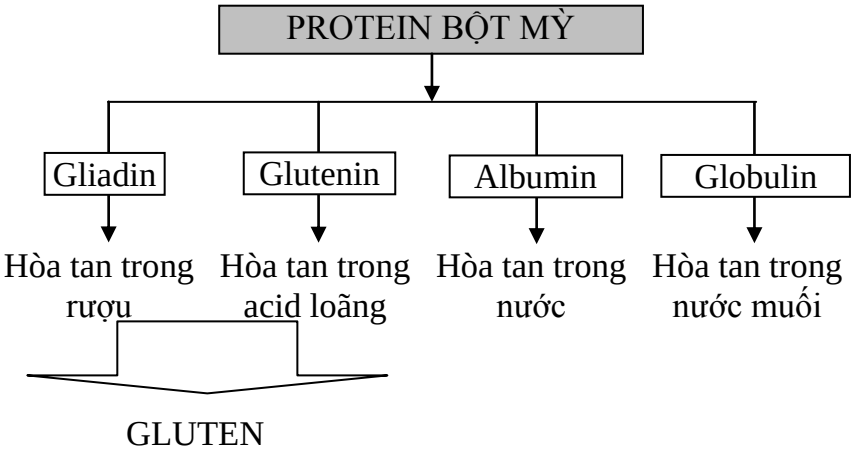
b) Tính chất của các thành phần chính trong bột mỳ

* Glucid

Bột mỳ có hàm lượng glucid cao 65÷70%. Các glucid ít nhiều đều có ảnh hưởng đến chất lượng bánh. Đường rất cần thiết cho quá trình lên men ở giai đoạn đầu. Tinh bột khi nướng bị hồ hóa một phần và hút nước, vì vậy ruột bánh khô và đàn hồi. Đồng thời tinh bột cùng với protein tạo gel tinh bột protein để đảm bảo tính chất cơ lý của sản phẩm như độ đàn hồi, độ cứng và tăng khả năng giữ nước của protein. Dextrin và pentosan có ảnh hưởng xấu đến chất lượng bánh. Cellulose và hemicellulose trong bột càng ít càng tốt vì cơ thể người không thể tiêu hóa được.

* Protein

- Protein của bột mỳ chủ yếu là gliadin và glutenin, hai nhóm này chiếm tới 70÷85% tổng lượng protein và được gọi chung là protein gluten; Tính hòa tan của nó không giống albumin và globulin (hình 2.13).



Hình 2.13. Các protein bột mỳ

- Khi nhào bột gliadin và glutenin hút nước tạo thành mạng phân bố đều trong khối bột nhào. Mạng này vừa dai vừa đàn hồi được gọi là gluten.

- Tính chất cơ bản của bột mỳ phụ thuộc vào tính chất của gluten, bao gồm:

+ Tính dễ kéo dãn làm cho màng có thể thay đổi được hình dạng.

+ Tính không thấm khí làm cho màng giữ lại được các khí khi lên men hoặc khi nướng và màng trương phồng được.

+ Tính đàn hồi cũng góp phần giữ khí và hình thành một cấu trúc xốp cho sản phẩm.

+ Khả năng giữ nước cao, do đó làm cho sản phẩm có độ mềm sau khi nướng.

* Lipid

- Hàm lượng lipid trong bột mỳ khoảng 2÷3%, trong đó 3/4 là chất béo trung tính, còn lại là phosphatide, sterin và sắc tố, các vitamin tan trong chất béo.

- Trong quá trình bảo quản bột mỳ, chất béo dễ bị phân hủy ảnh hưởng tới vị của bột và độ acid của bột, đồng thời ảnh hưởng đến tính chất của gluten.

- Trong bột mỳ có khoảng 0,4÷0,7% phosphatide có tác dụng làm tăng chất lượng bánh.

* Enzyme

- Trong bột mỳ có chứa nhiều loại enzyme làm ảnh hưởng đến chất lượng của bột, trong đó enzyme thủy phân protein và tinh bột có ảnh hưởng nhiều nhất. Các enzyme thủy phân protein có tác động không tốt đến sự tạo thành gluten. Enzyme thủy phân tinh bột tạo điều kiện tăng hàm lượng đường trong bột.

- Ngoài 2 loại enzyme trên, trong bột mỳ còn có enzyme lipase, lipooxydase, tirozinase cũng ảnh hưởng tới chất lượng bánh.

c) Chức năng bột mỳ trong sản xuất bánh

- Bột mỳ là nguyên liệu chính rất quan trọng trong sản xuất bánh. Bột mỳ góp phần trong việc tạo số lượng và cấu trúc cũng như kết cấu bề mặt và hương vị của bánh nướng.

- Các chức năng chính của bột mỳ thể hiện bằng chức năng của protein bột mỳ:

+ Khả năng hấp thụ nước của bột nhào;

+ Khả năng tạo thành gluten trong bột trộn bánh;

+ Khả năng co giãn và đàn hồi của bột trộn;

+ Khả năng giữ khí.

d) Các loại bột mỳ và các yêu cầu của bột mỳ trong sản xuất bánh mỳ

- Các loại bột mỳ

+ *Bột mỳ toàn phần* là bột được sản xuất từ 100% hạt lúa mỳ. Bằng cách bổ sung gluten tinh mỳ (Vital wheat gluten) vào thực đơn của mình các nhà làm bánh dùng sản xuất bánh mỳ trắng (White whole wheat Bread) chất lượng cao.

+ *Bột mỳ thông thường* là tất cả các bột được sản xuất sau khi một phần nhỏ bên ngoài (cám và phôi) đã được tách loại. 100 kg hạt lúa mỳ sẽ sản xuất khoảng 72 kg bột thông thường. Bột thông thường tương đương với các loại bột đa chức năng (all purpose) được bán ở các tạp hóa.

+ *Bột mỳ patent* (sáng chế) là loại bột được tinh chế ở mức độ cao. Bột này là phần còn lại sau khi tất cả bột mỳ trong đã được lấy ra. Bột patent được chế biến từ phần nội nhũ của hạt lúa mỳ mà protein có chất lượng tốt nhất nằm ở đó. 100 kg hạt lúa mỳ sẽ sản xuất chỉ khoảng 40 đến 60 kg bột patent và các phần bột ở giữa còn lại

sẽ phối vào bột mỳ trong.

+ *Bột mỳ trong* là một phần bột còn lại sau khi bột patent đã được tách ra. Bột trong nói chung chứa tỉ lệ %protein cao hơn các loại bột khác, nhưng chất lượng protein thấp hơn. Loại bột này nói chung để sản xuất bánh mỳ Pháp. Nó cũng được các nhà làm bánh phối trộn với bột mỳ và bột lúa mạch đen để sản xuất các ổ bánh mỳ có thể tích lớn hơn.

- Tẩy trắng và hoàn thiện bột: Để sản xuất bánh mỳ chất lượng từ bột được nghiền tươi cần phải giữ cho chín bột hoặc ổn định bột trong kho khoảng 1 tháng. Các tác nhân làm trắng và hoàn thiện được sử dụng để làm chín và làm trắng bột một cách nhân tạo, kết quả là bột có thể được sử dụng ngay lập tức sau khi nghiền để sản xuất sản phẩm có chất lượng.

- Độ mạnh của bột: Là khả năng của bột có thể tạo ra các ổ bánh mỳ có độ phồng tốt. Bột phải có protein với hàm lượng và chất lượng cao để có thể giữ lại khí và có đủ lượng đường tự nhiên cũng như các enzyme diastase (xúc tác thủy phân tinh bột thành đường) để sản sinh đủ đường từ tinh bột cho men sử dụng trong việc sản sinh lượng khí đồng đều.

- Độ bền chắc của bột: Là khả năng bột có thể cho ra sản phẩm có chất lượng trong trường hợp mà thời gian lên men bị quá mức và thậm chí trong trường hợp nhào bột quá mức.

- Làm giàu bột: là quá trình bổ sung thay thế các vitamin và khoáng chất bị mất đi trong giai đoạn nghiền hạt. Hầu hết các vitamin và khoáng chất nằm phần bên ngoài của hạt lúa mỳ, do hầu hết các phần bên ngoài của hạt lúa mỳ không dùng để sản xuất các phần bột ở giữa, nên các chất thiết yếu này phải được bổ sung. Bột mỳ toàn phần là trường hợp ngoại lệ.

- Enzyme trong bột: hai enzyme quan trọng nhất trong bột là protease và diastase. Protease có tác động quan trọng đến gluten, ảnh hưởng đến tính đàn hồi và khả năng giữ khí trong suốt quá trình lên men của gluten. Diastase chuyển đổi số ít tinh bột trong bột thành dextrin và đường maltose. Một số bột mỳ không có đủ lượng enzyme diastate do điều kiện thời tiết trong thời kỳ cây lúa mỳ phát triển. Bột hạt lúa mỳ nẩy mầm có thể được các nhà sản xuất bột bổ sung vào bột hoặc các nhà làm bánh có thể cho thêm malt nảy mầm đã được chuẩn bị một cách đặc biệt vào thực đơn làm bánh của họ.

3.1.2. Nước

Nước là thành phần cơ bản trong bánh mỳ nướng. Không thể làm ra ổ bánh mỳ mà không có nước. Có một số loại nước: nước cứng sản xuất bánh mỳ có chất lượng tốt hơn các loại nước khác; nước mềm làm yếu gluten trong suốt quá trình nhào trộn và lên men. Việc này có thể được hiệu chỉnh ở một vài mức độ bằng cách tăng tỉ lệ muối hoặc thêm thực phẩm men có nhiều chất khoáng vào trong thực đơn.

Nước có tính kiềm là nguy hiểm nhất, bởi vì nó không chỉ làm yếu gluten mà còn làm cho quá trình lên men bị chậm lại. Men ưa thích môi trường acid nhẹ lúc này khả năng hoạt động của nó là tốt nhất. Sự làm yếu gluten và việc cản trở mà ảnh hưởng đến men có thể được khắc phục bằng cách bổ sung một thành phần có tính acid như dấm (acid acetic) hoặc acid lactic. Các dạng đặc biệt của thực phẩm men có nhiều chất khoáng đã được phát triển để hiệu chỉnh vấn đề này.

3.1.3. Men

Là hỗn hợp sinh khối trong đó có chứa nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.

Chức năng của men: Men tạo khí CO_2 trong vỏ bột trộn; Men làm chín hay phát triển bột trộn; Men cũng tạo ra hương vị. Các dạng nấm men thương mại thường là:

- Kem nấm men (*Cream yeast*) là một dạng men của các thợ làm bánh hay dùng gần giống chất lỏng, dạng men này phải được giữ ở nhiệt độ lạnh. Khi sử dụng, có thể cho trực tiếp vào hỗn hợp làm bánh.

- Men nén (*Compressed yeast)* được hình thành bằng cách lọc kem nấm men dưới áp lực để thu được sản phẩm có nồng độ chất khô khoảng 30%. Men này được bảo quản trong tủ lạnh và được sử dụng trong vòng 3 tuần.

- Men khô hoạt hóa (*Active dry yeast* (ADY)) được sản xuất bằng cách ép đùn men nén thông qua một tấm thép đục lỗ. Kết quả thu được những sợi mỏng đã sấy khô. Những sợi này bị bẻ gãy thành những hạt nhỏ dễ thổi sau khi sấy thêm nữa. Tùy thuộc vào các bước xử lý tiếp theo và cách đóng gói, men khô hoạt hóa có thể có thời hạn sử dụng hơn một năm. Tuy nhiên, khi sử dụng cần phải hoạt hóa bằng nước ấm hoặc nước ấm có bổ sung đường nhằm thúc đẩy sự thẩm thấu của tế bào nấm men và hoạt lực của nấm men.

- Men khô hoạt lực cao (*High activity dry yeast* (HADY) (men khô hoạt động ngay (instant active dry yeast, IADY) là một sản phẩm tương tự, nhờ cải thiện các kỹ thuật sấy khô nên cho một sản phẩm có cỡ hạt nhỏ hơn không cần phải hoạt hóa bằng nước trước khi sử dụng và do đó có thể cho trực tiếp vào hỗn hợp bột làm bánh.

Các loại men trên nói chung đều cho kết quả như ý. Tuy nhiên phần lớn các nhà sản xuất bánh quy mô lớn thường sử dụng men nén trong thực đơn làm bánh của họ. Lượng men khô sử dụng chỉ bằng một nửa men nén.

Enzyme trong men gồm có invertase, maltase, zymase và protease. Có một vài loại khác nhưng chúng không quan trọng trong sản xuất bánh thuộc nhóm bột nhào lên men.

Enzyme protease trong men chỉ hoạt động nếu thành tế bào của men bị phá hủy trong vài trường hợp, khi đó enzyme này có thể xuyên qua thành tế bào nấm men. Trong thực tế luôn luôn có một vài tế bào men bị hư hỏng đặc biệt là men khô, thường bị hỏng trong công đoạn làm khô hoặc trong men có một ít men già. Nếu enzyme protease xuyên thủng thành tế bào của men nó sẽ làm yếu gluten.

Enzyme invertase là một enzyme nội bào, saccharose (đường mía hoặc đường củ cải) khi hòa tan vào thành tế bào và bị chuyển đổi thành glucose và fructose mà sau đó bị chuyển đổi tiếp bởi enzyme zymase.

Maltase tác động vào đường maltose. Đường maltose bị thay đổi thành 2 phân tử đường đơn.

Zymase là enzyme thay đổi các đường đơn giản, glucose và fructose thành cồn và khí CO_2, một vài este mà sẽ sinh ra hương thơm và vị độc nhất vô nhị của bánh mỳ; khí được sinh ra sẽ làm tăng thể tích bột nhào.

3.1.4. Muối

Là một yếu tố cần thiết khác trong sản xuất ra bánh mỳ có chất lượng tốt. Muối có chức năng điều chỉnh quá trình lên men. Quá ít muối sẽ làm cho bột nhào bị lên men quá nhanh và lộn xộn, quá nhiều muối sẽ làm chậm quá trình lên men. Muối là một thành phần tác động mạnh do vậy phải dùng hết sức đúng tỉ lệ khi phối hợp với các thành phần khác vào bột nhào. Với một tỉ lệ thích hợp, muối sẽ cho một kết cấu tốt bởi vì nó tăng cường độ bền của gluten và làm cho bột nhào chín hoàn toàn trong suốt

quá trình lên men.

Muối cũng ngăn chặn sự phát triển của men dại và vi khuẩn, giúp kết cấu ruột bánh trắng hơn và mịn hơn và đem đến mùi vị và hương thơm cho bánh mỳ.

3.1.5. Các thành phần làm tăng chất lượng và giá trị dinh dưỡng

a) Đường và chức năng của đường trong sản xuất bánh mỳ

* Các loại đường

Đường mía hoặc củ cải về cơ bản là như nhau.

Chúng đều là đường saccharose và phải chuyển đổi thành đường đơn nhờ tác dụng của enzyme invertase trước khi men có thể sử dụng để biến đổi chúng thành khí CO_2 và cồn bởi enzyme zymase.

Dextrose: được biết như là đường tinh bột, được sản xuất bằng cách thủy phân tinh bột thành đường. Nó có thể thay thế đường mía hoặc đường củ cải trong sản xuất bánh mỳ, tuy nhiên độ ngọt của nó chỉ bằng 72 khi so sánh với độ ngọt của đường mía là 100.

Fructose hoặc levulose, được tìm thấy trong trái cây, mật tinh bột, và mật ong là đường nghịch đảo hoặc đường khử nghĩa là nó làm quay ánh sáng phân cực sang trái trong khi dextrose làm quay ánh sáng phân cực sang phải. Fructose hàm lượng cao hiện nay được sản xuất từ tinh bột ngô, là một chất có độ ngọt cao hơn các loại đường khác (172 khi so với saccharose là 100).

Đường Lactose là đường được tìm thấy trong sữa và nó không bị lên men bởi các men dùng làm bánh. Sau khi nướng nó còn lại trong bánh mỳ thành phẩm. Độ ngọt của nó là rất thấp so với các loại đường khác.

* Chức năng của đường: Đường không được xem là thành phần thiết yếu trong công nghệ bánh mỳ. Điều này là do bột mỳ chứa một lượng nhỏ đường tự nhiên và một ít tinh bột có thể được chuyển đổi thành đường trong suốt quá trình lên men.

Nhưng đường có nhiều chức năng quan trọng. Một vài dạng đường được bổ sung vào bột nhào được biến đổi thành khí CO_2 và cồn nhờ các enzyme của men, cung cấp độ ngọt cần thiết, giúp tạo ra màu nâu vàng của vỏ bánh, cải thiện kết cấu của ruột bánh, giúp giữ ẩm trong ruột và bổ sung thêm giá trị dinh dưỡng cho bánh mỳ. Tỉ lệ đường cao được sử dụng trong các bột nhào ngọt và bột nhào làm bánh Danish. Đường làm chậm hoạt động của men, đó là lý do tại sao khi tăng tỉ lệ đường trong bột nhào tỉ lệ men tăng tương ứng.

b) Sữa

Cách đây một vài năm sữa khô không béo là dạng sữa thường được dùng làm bánh mỳ, nhưng ngày nay nó trở nên quá đắt để dùng bởi hầu hết các nhà làm bánh mỳ đều để bán. Để thay thế, họ sử dụng chất thay thế sữa ví dụ như dùng whey sữa (chất lỏng còn lại sau khi sữa chua đông lại) kết hợp với bột đậu nành.

Sữa có nhiều chức năng: Có tác dụng ổn định quá trình lên men, ngăn chặn men dại; Cải thiện màu của vỏ bánh nhờ đường lactose trong sữa. Đường lactose không bị lên men dưới tác dụng của men làm bánh, vì thế góp phần cải thiện kết cấu, màu, hương vị và kéo dài chất lượng của bánh mỳ. Nếu dùng sữa khô không béo làm bánh mỳ thì cần phải được gia nhiệt đến nhiệt độ đủ cao trong suốt giai đoạn sấy để giết chết các vi khuẩn mà làm yếu gluten trong bột nhào. Sữa được sấy bởi công nghệ sấy chân không phải được xử lý nhiệt thích hợp trước khi được sấy khô nếu không thì khó khăn lớn có thể gặp phải trong công đoạn nhào trộn và lên men bột nhào.

c) Shortening

Là dạng chất béo được chế biến từ nhiều nguồn. Gần như bất cứ dạng shortening nào được sử dụng để làm bánh mỳ đều có kết quả thỏa đáng.

Chức năng của shortening: Shortening tác dụng như là một chất bôi trơn trong bột nhào, làm bột nhào dễ thao tác hơn, giảm độ dính và giảm lượng bột mỳ làm bột áo cần thiết trong giai đoạn tạo hình. Khi sử dụng shortening, bột nhào giản nở dễ dàng hơn và mướt hơn. Trong các sản phẩm bánh nướng làm cho vỏ bánh mềm hơn, cải thiện chất lượng và góp phần làm ruột bánh mềm và dai. Nhờ tác dụng giảm bớt cám trong bột mỳ toàn phần, gần như không thể làm ra ổ bánh mỳ từ bột mỳ toàn phần với thể tích có thể chấp nhận được mà không dùng shortening trong thực đơn.

d) Các thành phần tùy chọn

Để sản xuất ra các loại bánh mỳ khác nhau với chất lượng khác nhau, cần phải có các thành phần tùy chọn khác nhau. Các thành phần này tạo nên tính đồng dạng của các loại sản phẩm và tăng thêm nhiều lợi ích khác nữa, ví dụ như hỗ trợ đối với việc tăng độ bền chắc hoặc giúp thỏa mản nhu cầu của người tiêu dùng về hương và vị của bánh mỳ.

- Thực phẩm men chất khoáng (mineral yeast food)

Được thêm vào để ổn định nước bằng cách bổ sung các muối khoáng, rất cần thiết trong quá trình lên men và ổn định trạng thái bột nhào. Các muối khoáng có tác động quan trọng đối với nước mềm và các muối acid, trung hòa tính kiềm của nước kiềm là loại nước rất nguy hiểm đối với men và gluten. Bột nhào được bổ sung thực phẩm men khoáng thường không dính và rất mềm. Máy móc chạy ít sự cố và chúng sẽ tạo nên sự tự do của các túi khí. Dưới đây là một vài đặc tính mà ổ bánh mỳ được cải thiện khi sử dụng thực phẩm men khoáng: thể tích ổ bánh to hơn và dễ nướng hơn, màu sắc ruột bánh và kết cấu được cải thiện, màu vỏ bánh tốt hơn và đồng đều hơn nhiều.

- Các enzyme làm chắc bột nhào

Bột mỳ chứa khoảng 2÷3% pentosan mà phần sót lại của vỏ tế bào chưa loại bỏ hết khi nghiền hạt lúa mỳ đã đi vào trong bột mỳ. Khi enzyme xylanase được bổ sung vào bột nhào, nó phân nhỏ pentosan kết quả là làm chắc bột nhào và cải thiện sản phẩm bánh nướng. Enzyme xylanase cũng làm tăng độ mạnh của bột nhào làm từ nhiều loại bột của các hạt ngũ cốc. Đây là enzyme có tác động mạnh vì thế chỉ cần 100 đến 200 phần triệu được sử dụng có thể đạt được kết quả mong muốn. Hiện nay có nhiều enzyme đã được giới thiệu trong sản xuất bánh (bảng 2.11). Thuận lợi khi sử dụng enzyme thay thế các hóa chất vì enzyme được sản xuất từ các nguyên liệu tự nhiên, nên nhiều người thích sử dụng hơn sử dụng hóa chất.

Bảng 2.11. Các enzyme sử dụng trong bánh

Enzyme	*Nguồn gốc*	*Ảnh hưởng*
Fungal α - amylase	*Aspergillus oryzae*	Tối ưu hóa quá trình lên men nhằm thu được cấu trúc lỗ hỗng ruột bánh đều và thể tích ổ bánh to hơn
Maltogenic α amylase	*Bacillus subtilis*	Cải thiện thời hạn sử dụng
Glucose oxydase	*Aspergillus* và *Penicillum*	Oxy hóa các nhóm sulphydryl tự do trong gluten nhằm làm yếu chúng; bột nhào tốt

Enzyme	*Nguồn gốc*	*Ảnh hưởng*
		hơn và đàn hồi hơn
Lipase		Cải thiện tình trạng bột nhào bằng cách sản sinh ra các tế bào khí nhỏ hơn và kết cấu mượt hơn và màu ruột bánh trắng hơn
Lipoxygenase		Làm trắng và làm chắc bột nhào
Xylanase	*Trichoderma longibrachiatum*	Cải thiện tình trạng bột nhào. Dễ thao tác bằng tay hơn và cấu trúc ruột bánh cũng cải thiện hơn
Fungal Protease	*Aspergillus oryzae*	Làm yếu gluten nhằm cung cấp đặc tính dẻo cần thiết đối với bột nhào bánh quy.

- Sirô malt từ hạt ngũ cốc (đường nha)

Thường sử dụng các loại hoạt độ amylase thấp, hoạt độ amylase cao và không có hoạt độ amylase phụ thuộc vào số lượng enzyme amylase có trong đó. Malt hàm lượng amylase thấp được sản xuất để sử dụng cho bột mà có tổng số enzyme amylase hợp lý. Malt hàm lượng amylase cao được sử dụng cho bột có tổng số enzyme amylase tương đối thấp; Malt không có enzyme amylase được sử dụng cho bột có tổng số enzyme amylase tương đối cao. Tổng số enzyme chứa trong malt được khống chế bởi nhà sản xuất bằng cách gia nhiệt malt ở các nhiệt độ khác nhau trong suốt quá trình sản xuất. Sirô malt được cô đặc thành sản phẩm nhờ quá trình tách nước từ malt đại mạch và các hạt ngũ cốc khác. Ngoài việc bổ sung thêm enzyme amylase, malt cũng chứa enzyme mà tác động vào việc điều chỉnh hoạt động phân giải protein của bột nhào để bù vào các bột có hoạt độ thủy phân protein khác nhau. Malt có hàm lượng amylase cao thì cũng cao về hoạt độ thủy phân protein và ngược lại. Như đã đề cập ở chương trước, các enzyme amylase chuyển hóa tinh bột thành dextrin và đường maltose trong khi enzyme protease có tác động quan trọng đối với gluten trong bột nhào. Ngoài việc thêm các chức năng enzyme, sirô malt từ hạt ngũ cốc chứa hàm lượng đường maltose có thể lên men cao cũng như protein hòa tan và các muối tự nhiên cao mà sẽ là chất dinh dưỡng có giá trị cho men.

3.1.6. Các thành phần kéo dài thời hạn sử dụng của bánh mỳ

a) Sự mau hỏng của sản phẩm bánh nướng và sự nhiễm mốc

Có 3 cách làm giảm chất lượng sản phẩm bánh nướng: Đó là sự lại bột (làm cứng ruột bánh), bị nhiễm mốc và men.

Đơn giản và dễ xảy ra nhất đó là ruột bánh thay đổi trạng thái (ruột bánh trở nên khô cứng). Sự cứng lên của ruột bánh là quá trình các phân tử tinh bột bị biến đổi và co lai khi nhiệt độ thấp. Các phân tử tinh bột là một chuỗi dài các carbon, hydro và oxy mà chúng có thể giãn ra khi nóng và khi đó nó cho cảm giác mềm mại. Do lạnh, các chuỗi này co lại và vì thế trở nên cứng ta thường gọi là hỏng (cũ). Theo kinh nghiệm dân gian, khi sản phẩm cũ (nguội) được làm nóng nó sẽ mềm lại. Các chuỗi tinh bột sẽ giãn nở trở lại. Khi lạnh các chuỗi tinh bột sẽ co lại và trở nên cứng.

b) Các thành phần kéo dài thời hạn sử dụng sản phẩm

- Các chất nhũ hóa

Trong một vài năm qua các nhà làm bánh sử dụng các chất nhũ hóa mà thường gọi là chất làm mềm bánh mỳ để sản xuất bánh mỳ mà sẽ giữ được độ mềm trong thời gian dài hơn. Chất này được bổ sung vào bột nhào trong giai đoạn nhào trộn. Các loại

phổ biến thường dùng là monoglyceride, sodium stearoyl lactate (và chất tương tự calcium stearoyl lactate) ký hiệu phụ gia là E481. Tác dụng làm mềm xảy ra sau khi bánh được nướng.

Chẳng hạn, bánh mỳ có bổ sung khoai tây sẽ lâu hỏng hơn bởi vì khoai tây có tác dụng như một chất chóng hỏng. Một vài chất chống hỏng cũng thực hiện chức năng ổn định bột nhào hoặc làm bền bột nhào.

- Chất chống mốc

Vệ sinh đóng vai trò quan trọng để ngăn ngừa mốc trong bánh mỳ. Bào tử mốc không sống sót ở nhiệt độ nướng. Phần trong của ổ bánh mỳ, khi đạt đến nhiệt độ lò khoảng $99 \div 100^0C$ sẽ tiêu diệt bất cứ tế bào nấm mốc nào hiện diện trong bột nhào. Vì thế bánh mỳ và các sản phẩm bánh nướng khác chỉ có thể có nấm mốc sau khi chúng ra khỏi lò. Một vài nơi có nguy cơ nhiễm nấm mốc đó là kho chứa, máy cắt bánh tiếp xúc trực tiếp với phần bên trong của ổ bánh mỳ mà ở đây có đủ ẩm và chất dinh dưỡng cho mốc phát triển. Bào tử mốc phát triển mạnh trong vùng tối.

Có thể kéo dài thời gian hạn chế tự tấn công của nấm mốc một vài ngày bằng cách sử dụng chất chống mốc như là propionat Ca $(CH_3CH_2COO)_2Ca$ đối với các sản phẩm làm nở nhờ men và propionat natri cho các sản phẩm làm nở nhờ thuốc nở hóa học. Các muối prionat hiện nay được sử dụng trong nhiều thực phẩm, nhưng với lượng rất nhỏ. Chất diệt mốc phản ứng như là một chất kiềm trong bột nhào và do men không thích môi trường kiềm, thực phẩm men khoáng, phụ gia monocalciumphosphat (E341) được bổ sung vào bột nhào. Monocalciumphosphat phản ứng như là một acid trong bột nhào vì thế trung hòa tính kiềm do các muối propionat tạo ra. Cũng có thể dùng dấm với liều lượng thích hợp.

Chất chống mốc được gọi là chất hạn chế mốc bởi vì nó không được sử dụng đủ để diệt mốc. Chúng chỉ ngăn chặn sự phát triển của mốc. Bánh mỳ vẫn sẽ bị mốc như thường nếu để ở môi trường ấm và ẩm. Lượng muối propionat Ca sử dụng trong bánh mỳ thay đổi tùy theo khí hậu, mùa trong năm hoặc tùy loại sản phẩm.

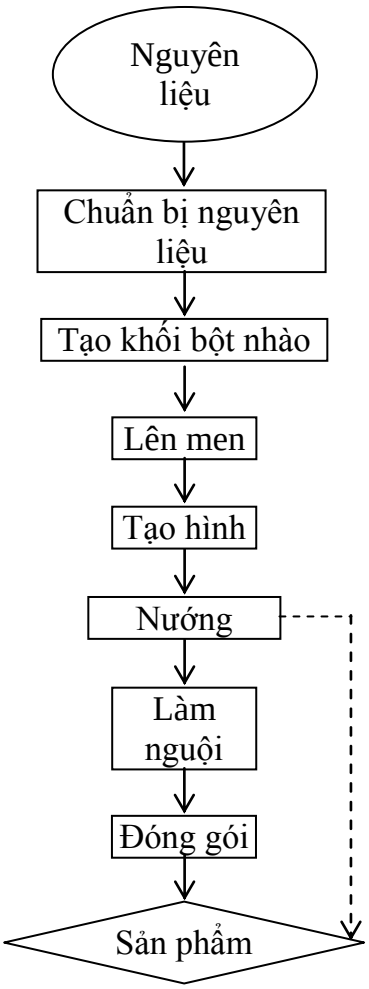
* Các loại và màu của mốc: Có nhiều dạng mốc khác nhau và nhiều màu sắc khác nhau, bào tử mốc thực tế có ở khắp nơi, do chúng rất bé và được mang đi bởi không khí. Bào tử mốc rất giống các hạt giống, khi chúng đến tiếp xúc với thực phẩm thích hợp, ẩm và ấm, bào từ sẽ sinh ra các tế bào nấm mốc mà chúng ta có thể nhìn thấy bằng mắt thường.

* Nhớt (nớt): Nớt là một bệnh của bánh mỳ do vi khuẩn *Baccillus mesenterricus*. Bệnh này sẽ bẽ gãy các tế bào của bánh mỳ và tạo ra độ dính. Khi ruột bánh mỳ dính lại với nhau, lôi kéo từng phần, trở nên nhớt nháp, chúng có vết như quả dưa chín nẫu. Vi khuẩn có thể có trong các thành phần đặc biệt là bột và men. Trừ mốc ra, bào từ vi khuẩn không bị tiêu diệt bởi nhiệt độ nướng, Các muối propionat Ca, natri hoặc có thể được sử dụng trong bột nhào để kéo dài thời hạn sử dụng của sản phẩm. Nếu các nhà làm bánh ngại vệ sinh với các hóa chất đặc biệt thì họ có thể dùng hơi nước để vệ sinh.

3.2. Quy trình công nghệ sản xuất bánh mỳ

3.2.1. Sơ đồ quy trình

Công nghệ sản xuất bánh mỳ đã phát triển tới mức hoàn chỉnh với nhiều quy trình khác nhau tùy theo loại bánh và qui mô sản xuất. Tuy nhiên, tất cả các công nghệ làm bánh mỳ đều tuân thủ 4 bước then chốt: tạo khối bột nhào, lên men, tạo hình, nướng được minh họa trong sơ đồ quy trình công nghệ tổng quát ở hình 2.14.



Hình 2.14. Sơ đồ quy trình tổng quát công nghệ sản xuất bánh mỳ

Hiện nay có 2 phương pháp sản xuất bánh mỳ được sử dụng phổ biến: phương pháp sản xuất truyền thống (lên men với số lượng lớn) và pháp hiện đại (phương pháp Chorleywood), thay đổi tùy theo từng nhà sản xuất nhưng các bước cơ bản vẫn luôn tồn tại trong bất cứ quy trình sản xuất nào.

3.2.2. Phương pháp lên men số lượng lớn (Bulk Fermentation Process (BFP))

BFP là phương pháp truyền thống. Tất cả các thành phần nguyên liệu được phối trộn với nhau để tạo thành khối bột nhào và sau đó để lên men. Trong suốt quá trình lên men bột nhào thay đổi từ khối bột đặc cứng thành khối bột dẽo mềm đàn hồi cao. Thời gian lên men để thu được khối bột như mong muốn phụ thuộc vào lượng men sử dụng và nhiệt độ của bột nhào.

Công nghệ làm bánh mỳ truyền thống chủ yếu sử dụng phương pháp BFP. Theo phương pháp này khối bột nhào được để lên men trong thời gian dài sau khi nhào trộn. Các đặc điểm chính của phương pháp này là:

- Nhào trộn các thành phần thường được thực hiện ở tốc độ thấp (có thể thực hiện bằng tay), nhằm phối trộn các thành phần với nhau thành một khối bột nhào đồng nhất.

- Để yên bột nhào tại các thùng chứa lớn trong thời gian quy định (từ 3 đến 24 giờ). Trong thời gian này nấm men hoạt động để làm nở bột nhào

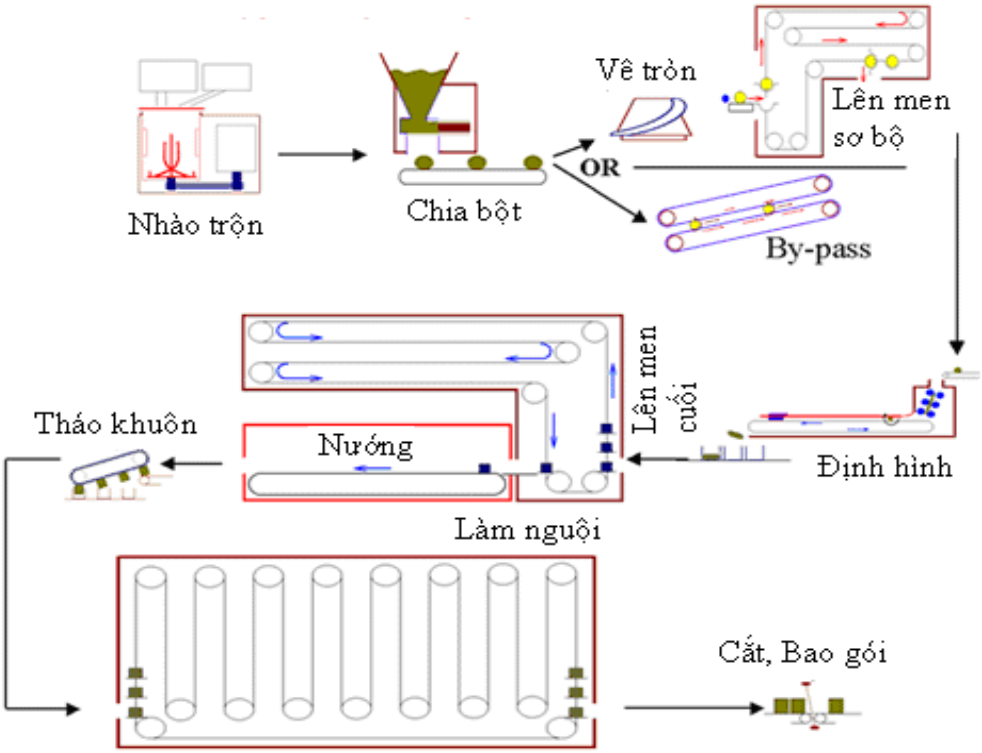
- Nhào trộn lại một phần bột nhào từ đầu đến cuối khối bột nhào nhằm loại bỏ các bọt khí to đã được sản sinh ra và chia nhỏ thành các bọt khí bé nhằm tăng số lượng bọt khí và hiệu quả của các bọt khí (công đoạn này còn gọi là vỗ đập).

Mục đích lên men với số lượng lớn một phần nhằm phát triển hương, nhưng chủ yếu là phát triển cấu trúc protein của bột nhào để tăng cường khả năng giữ khí và làm chậm lại sự liên kết của các bọt khí trong giai đoạn lên men tiếp theo. Việc làm nở từ từ trong phương pháp này đã kéo giãn protein bột nhào theo hai hướng tạo thành mạng lưới giúp bột nhào có tính mềm dẻo và tính có giãn tốt hơn. Sự phát triển cấu trúc tốt trong giai đoạn này sẽ tạo ra các ổ bánh mỳ có thể tích lớn và kết cấu ruột bánh mịn hơn.

3.2.3. Phương pháp Chorleywood (Chorleywood Bread Process (CBP))

Phương pháp này ra đời vào đầu những năm 1960 do Hiệp hội các nhà nghiên cứu sản xuất bột mỳ và bánh nướng ở Chorleywood (nước Anh) đề xuất. Phương pháp này cho ra các sản phẩm bánh mỳ và các loại bánh nướng lên men khác mà không cần phải lên men bột nhào với số lượng lớn. Sự phát triển bột nhào theo phương pháp CBP đạt được trong quá trình nhào trộn tốc độ cao nhờ tác động cơ học mạnh lên khối bột nhào trong vài phút, phương pháp này không chỉ tiết kiệm đáng kể thời gian (mà sẽ giảm chi phí sản xuất) mà còn cho ra các sản phẩm tốt hơn về thể tích, màu sắc và vẫn đảm bảo chất lượng. Cho đến nay, đây là phương pháp sử dụng gần như phổ biến ở các nhà máy sản xuất quy mô công nghiệp. Đối với phương pháp này, sản xuất bánh mỳ chỉ cần 4 giờ từ đầu đến cuối.

Hình 2.15. mô tả sơ lược các bước sản xuất bánh mỳ theo phương pháp hiện đại.



Hình 2.15. Các bước sản suất bánh mỳ theo phương pháp CBP

Cũng sử dụng cùng các thành phần nguyên liệu: bột, nước, men và ít muối. Ngoài ra để kéo dài thời hạn sử dụng như mong muốn của khách hàng ngày nay, một lượng nhỏ chất béo và chất nhũ hóa được sử dụng. Các chất này giúp ổn định các bọt khí trong bột nhào mà sẽ tạo cho bánh mỳ kết cấu mềm đặc trưng.

Do cường độ nhào trộn lớn có thể làm đứt mạch protein, cần phải bổ sung các chất oxy hóa có tác dụng nối các phân tử protein có chứa lưu huỳnh có trong bột mỳ. Thông thường sử dụng kết hợp chất oxy hóa nhanh (KIO_3) với chất oxy hóa chậm

($KBrO_3$).

Chất oxy hóa nhanh sẽ phát huy tác dụng trong suốt giai đoạn nhào trộn tăng cường, còn chất oxy hóa chậm cần trong giai đoạn cuối của quá trình lên men. Hiện nay hai chất oxy hóa này gần như không được sử dụng, thay vào đó là vitamin C (acid ascorbic). Vitamin C vừa là chất khử, vừa là chất oxy hóa. Trong quá trình nhào bột, acid ascorbic bị oxy hóa thành dehydroascorbic (DHA) dưới tác dụng của oxy và xúc tác của enzyme ascorbic oxidase có sẵn trong bột mỳ. Lượng acid ascorbic sử dụng phải thấp hơn 200ppm. Khi sử dụng acid ascorbic cần có thêm giai đoạn lên men sơ bộ khoảng 10÷15 phút. Trong phương pháp CBP, hàm lượng men sử dụng và nhiệt độ lên men cũng cao hơn để đảm bảo sản sinh đủ lượng khí CO_2 trong thời gian ngắn và cũng cần một lượng nước nhiều hơn để hoạt động của men được thuận lợi.

Trong phương pháp này cũng không đòi hỏi phải sử dụng bột mỳ có hàm lượng protein cao như phương pháp BFP. Khối bột nhào cũng có thể được nạp khí bằng cách nhào trộn ở điều kiện áp suất chân không thấp giúp bột nở nhanh hơn ở áp suất khí quyển. Một phần chân không hoặc áp lực/chân không được tác động trong suốt quá trình nhào trộn nhằm điều chỉnh kích cỡ của bọt khí và cấu trúc cuối cùng của sản phẩm bánh. Do phương pháp CBP không có công đoạn vỗ đập và việc lên khuôn trước khi men xảy ra hoạt động mạnh nhất, kích cỡ của bọt khí phân bố trong khối bột nhào vào cuối giai đoạn nhào trộn ảnh hưởng đến thể tích ổ bánh mỳ nhiều hơn phương pháp BFP. Do bột nhào phát triển nhanh trong quá trình nhào trộn nên hương thơm đã không phát triển nhiều như phương pháp BFP. Do đó cần bổ sung thêm các enzyme tạo hương trong thực đơn bánh mỳ và thực hiện lên men sơ bộ làm theo phương pháp CBP.

3.2.4. So sánh hai phương pháp

Các thông tin ở bảng 2.12 cho ta thấy sự khác nhau cơ bản của hai phương pháp sản xuất bánh mỳ BFP và CBP.

Bảng 2.12. So sánh hai phương pháp sản xuất bánh mỳ BFP và CBP

Hạng mục	*Phương pháp BFP*	*Phương pháp CBP*
Thành phần nguyên liệu	Bột Nước Men ~ 1% Muối	Bột Nước Men ~ 2,5% Muối Chất oxy hóa (acid ascorbic) Chất béo, Chất nhũ hóa * Hàm lượng protein thấp hơn và lượng nước nhiều hơn BFP
Nhào trộn	Tốc độ chậm hơn (8÷15 phút) Năng lượng thấp (5÷15 kJ/kg)	Tốc dộ nhanh (<3 phút) Năng lượng cao (40kJ/kg) Chân không từng phần hoặc áp lực - chân không

Hạng mục	*Phương pháp BFP*	*Phương pháp CBP*
Lên men	Lên men 3÷24 giờ ở 26°C Nhào lại trong giai đoạn lên men để loại bỏ bọt khí thừa	Lên men lần đầu 10÷15 phút ở nhiệt độ phòng Lên men lần cuối 40 phút ở 40^{0}C
Nướng	20÷25 phút ở 200^{0}C	Như BFP

3.3. Thuyết minh quy trình công nghệ sản xuất bánh mỳ

3.3.1. Chuẩn bị nguyên liệu

Bước đầu tiên trong việc chuẩn bị cho việc phối trộn là tập hợp, xử lý sơ bộ và cân nguyên liệu. Một số nguyên liệu yêu cầu phải có một sự chuẩn bị đặc biệt.

- Men, dù sử dụng men nén hay men khô cũng phải được ngâm trong nước theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chú ý không bao giờ được ngâm men khô trong nước lạnh vì các tác nhân không tốt chứa trong men sẽ được phóng thích vào bột nhào và sẽ làm yếu gluten. Đôi khi, nhưng không phải tất cả các nhà làm bánh cho men nén trực tiếp vào bột nhào mà không ngâm trong nước, đặc biệt khi sử dụng một vài dạng men mới.

- Nhiệt độ của nước là rất quan trọng trong việc điều chỉnh nhiệt độ bột nhào, nếu thiết bị lạnh cơ học không được sử dụng để làm lạnh các thành phần bằng nước, thì yêu cầu dùng nước đá. Hầu hết các nhà làm bánh được trang bị thiết bị nhào trộn cơ học mà có nước tuần hoàn để làm lạnh, làm lạnh thông qua ống xoắn ruột gà giữa các thành của chậu nhào trộn. Trong trường hợp đó thì không dùng nước đá. Tuy nhiên nếu cần dùng nước đá, lượng nước đá cần dùng phải được xác định theo nhiệt độ nước yêu cầu để nhận được nhiệt độ nhào thích hợp.

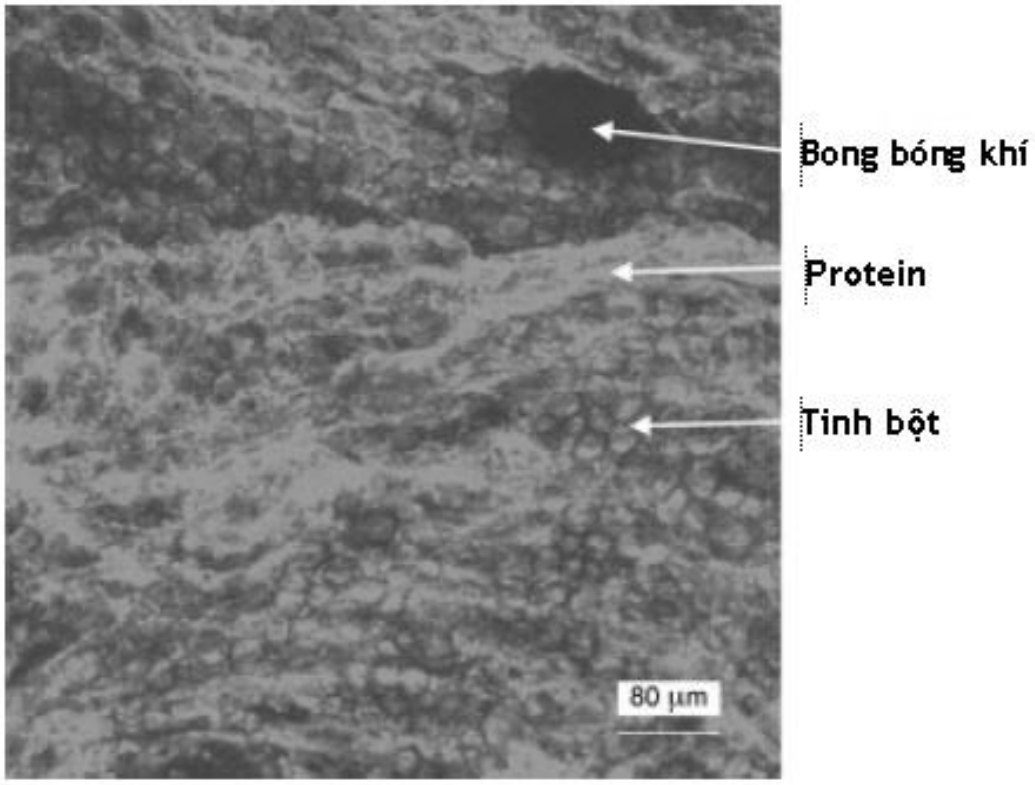
- Để khống chế nhiệt độ bột nhào trong suốt quá trình nhào trộn, các thông số cần phải biết và cần phải áp dụng để tính toán: Nhiệt độ bột nhào mong muốn sau khi hoàn tất việc nhào trộn; Nhiệt độ nước dùng để nhào bột; Số kg nước dùng theo thực đơn; Nhiệt lượng thu vào của 1kg đá khi nó chảy từ dạng rắn thành lỏng; Nhiệt độ của phòng nhào trộn; Nhiệt độ của bột; Ma sát sinh ra trong quá trình nhào (lượng nhiệt này sẽ sinh ra trong suốt quá trình nhào)...

3.3.2. Tạo khối bột nhào

Mục đích của việc nhào trộn là phân phối các tế bào nấm men đều khắp khối bột nhào, phân phối thực phẩm cho men, hình thành và phát triển gluten.

Trong quá trình nhào trộn, xãy ra sự chuyển pha. Từ hai pha rắn (bột mỳ) - lỏng (nước và nguyên liệu phụ ở dạng dung dịch) chuyển thành một pha nhão - bột nhào dạng paste. Trong khối bột nhào có cả 3 pha: rắn, lỏng và khí phân bố đều với nhau. Pha rắn bao gồm các màng gluten và pentosan không tan bao bọc các hạt tinh bột. Pha lỏng là nước chứa các chất tan như muối, đường, các protein hòa tan, dextrin .... Pha khí được tạo nên do sự tích lũy các bọt không khí khi nhào và do nấm men tạo ra. Vai trò chính trong việc hình thành nên cấu trúc của bột nhào là gliadin và glutenin. Gluten được hình thành khi hai protein của bột mỳ, gliadin và glutenin thủy hợp với nước. Gluten không tạo thành một cách tự nhiên khi bột và nước được trộn lẫn; cần phải cung cấp năng lượng (tức là, năng lượng được cung cấp trong quá trình nhào trộn thực tế) để cho các liên kết phân tử trái bị bẻ gãy và tái tạo như cấu trúc gluten.

Trong thời gian nhào trộn, các thành phần nguyện liệu cùng với sự hình thành gluten đã làm cho khối bột trở nên dẻo và đàn hồi. Độ nhớt, dẻo, đàn hồi của bột nhào giảm xuống khi nhào đến một thời gian xác định. Vì vậy, trong quá trình nhào, phải xác định thời gian dừng để đạt thể tích bánh lớn nhất. Tại thời điểm dừng, khối bột đặc hơn và trở nên mướt và sáng. Gluten lúc này bao gồm các mảnh protein mà trong đó các hạt tinh bột được gắn vào. Ngoài ra, các lipid không phân cực và glycolipid được kết hợp dưới dạng phức nhờ các liên kết hydro. Một phần quan trọng trong việc hình thành bột nhào sự là kết hợp của không khí, đặc biệt là nitơ. Điều này tạo thành bong bóng khí không tan trong khối bột và trở thành chỗ mà tại đây thu thập khí CO_2 sinh ra trong quá trình lên men sau đó. Hình 2.16 là ảnh vi cấu trúc của bột nhào cho thấy gluten, tinh bột và các bong bóng không khí trong giai đoạn đầu của giai đoạn lên men.



Hình 2.16. Ảnh vi cấu trúc của bột nhào chụp bằng kính hiển vi quét

Đối với phương pháp sản xuất CBP, mục đích của việc nhào trộn còn có tác dụng nạp không khí vào trong khối bột nhào.

Thời gian cần thiết để phát triển gluten phụ thuộc vào độ mạnh của bột mỳ và tốc độ của máy nhào trộn. Nói chung, bột càng mạnh thì càng cần nhiều thời gian để phát triển gluten và tốc độ máy nhào càng nhanh thì thời gian càng ngắn. Một nhà làm bánh có kinh nghiệm dễ dàng xác nhận khi nào gluten đã được phát triển hoàn toàn bằng cách lấy một mẫu nhỏ bột ra khỏi máy nhào trộn và kéo căng mỏng mẫu bột nhào giữa các ngón tay. Bột nhào phát triển một cách thích hợp sẽ không dính và có thể kéo mỏng như một tờ giấy, gần như trong suốt mắt thường có thể nhìn qua. Đặc tính của bột nhào được xác định bằng tổng số protein hiện có và tỉ lệ tương đối của các protein gluten.

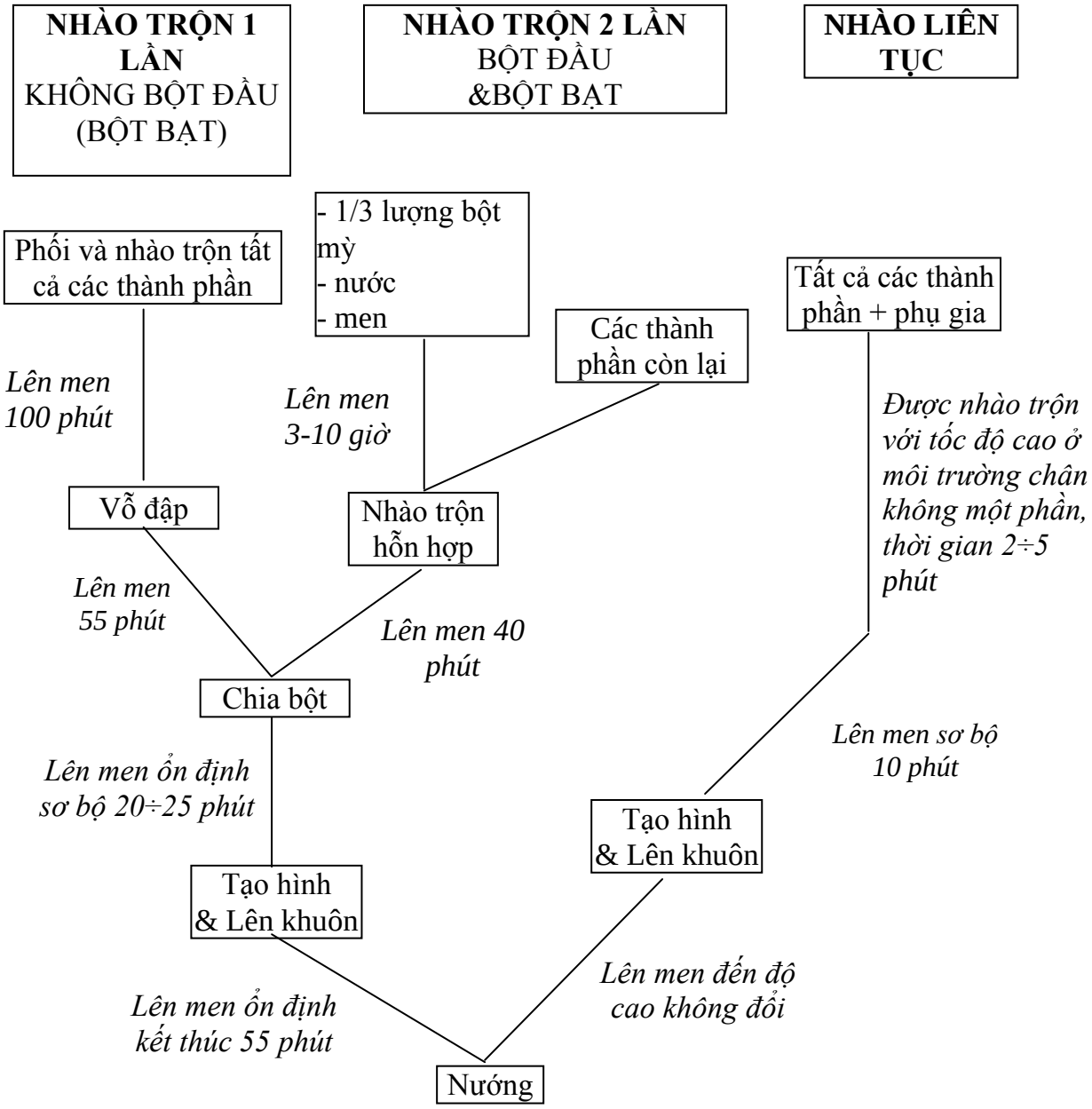
* Các phương pháp tạo khối bột nhào

Trong các cơ sở vừa và nhỏ sản xuất bánh mỳ theo phương pháp truyền thống

(BFP) sử dụng 2 phương pháp: trộn một lần (không bột đầu), lên men và trộn 2 lần (bột đầu và bột bạt).

Trong các cơ sở quy mô công nghiệp sản xuất bánh mỳ theo phương pháp hiện đại (CBP) sử dụng phương pháp nhào trộn liên tục.

Hình 2.17 minh họa các phương pháp tạo khối bột nhào tiêu biểu.



Hình 2.17. Các phương pháp tạo khối bột nhào trong sản xuất bánh mỳ

- Phương pháp trộn một lần: nghĩa là các nguyên liệu chính và phụ theo thực đơn đều cho vào nhào cùng một lúc và chuẩn bị cho quá trình lên men đơn giản. Khối bột nhào thu được gọi là bột bạt. Thời gian lên men đối với khối bột nhào trộn một lần khoảng 2,5÷3 giờ. Các loại bột nhào này cũng được vỗ đập sau khoảng 80% thời gian lên men và để thêm khoảng 20% thời gian lên men trước khi tạo hình. Bột nhào tạo theo phương pháp này cho sản phẩm bánh mỳ có kết cấu hạt thô và ruột bánh không mềm như các phương pháp khác và sản phẩm có thể tích nhỏ.

- Phương pháp lên men và trộn 2 lần thì chia thành 2 giai đoạn: giai đoạn bột đầu

(giai đoạn sponge) và giai đoạn bột bạt. Trong phương pháp này có hai giai đoạn nhào trộn và hai giai đoạn lên men. Một phần các nguyên liệu có trong thực đơn được hòa trộn và để cho lên men, giai đoạn này gọi là bột đầu, đây là khối bột nhão hơi cứng được làm từ một phần bột mỳ, men, đường và một phần nước. Những thành phần này nhào trộn hoàn toàn với nhau, đậy lại và để lên men trong một thời gian nhất định tương ứng với một nhiệt độ xác định. Thời gian được xác định bằng số lượng của nấm men được sử dụng và có thể kéo dài 14÷16 giờ. Sau khi quá trình lên men bột đầu hoàn tất, giai đoạn thứ hai được gọi là tạo bột bạt.

Về cơ bản, bột đầu sau khi lên men được cho trở lại vào máy nhào trộn với phần bột mỳ còn lại, đường và nước, shortening hoặc magarin, muối và đôi khi một lượng nhỏ men, tất cả được trộn chung thành khối bột nhào mượt và hơi cứng, khối bột bạt được để lên men, sau khi gluten đã được phát triển hoàn toàn, khối bột nhào được vỗ đập trong các máng bột nhào bằng thép không rỉ và để cho một thời gian lên men lần thứ hai. Nếu so sánh với thời gian lên men bột đầu, thì thời gian lên men bột bạt rất ngắn (15 đến 20 phút). Phương pháp này có nhiều ưu điểm: chất lượng bánh tốt, thơm ngon hơn, nở to và bọt nở trong ruột bánh nhỏ, tiết kiệm men. Tuy nhiên cũng còn những nhược điểm như: thời gian lên men dài, tốn nhiều thiết bị và tổn thất chất khô nhiều hơn so với lên men không bột đầu.

- Phương pháp nhào liên tục sử dụng rất phổ biến hiện nay. Bánh mỳ được sản xuất theo phương pháp này kết cấu hạt rất mịn gần giống như kết cấu hạt của các thớ bánh bông lan. Hệ thống làm bánh mỳ liên tục thực hiện các bước cơ bản :

+ Nấm men được cho vào bột nhào với lượng đủ.

+ Các thành phần nguyên liệu được chuẩn bị sẵn bao gồm dịch lên men lỏng đã được ủ chín, bơm vào máy để nhào trộn với các thành phần nguyên liệu còn lại. Hỗn hợp bột nhào được làm mát bằng cách sử dụng hệ thống ống xoắn ruột gà bố trí giữa các thành của thùng chứa cho đến khi sẵn sàng để sử dụng.

+ Khối bột nhào có thể được chia nhỏ và tạo hình trong các khuôn rồi cho vào phòng lên men hoặc để cho lên men trong các thùng bằng thép không rỉ dưới các điều kiện nhiệt độ có thể khống chế được trong vài giờ.

Công nghệ này loại bỏ việc cài đặt chế độ bột đầu và bột bạt nhưng cần các máng bột nhào và các phòng lên men rộng lớn. Phương pháp này kết hợp các thành phần nguyên liệu lại với nhau một cách liên tục với một tỉ lệ thích hợp để tạo thành bột nhào.

Sau khi đi qua thiết bị nhào trộn, những gì xảy ra tiếp theo là khác nhau đối với các cơ sở khác nhau. Một vài hiệu bánh đưa bột nhào qua các thiết bị chia bột nhào và cuối cùng được chia đều vào các khuôn bánh chuyển động liên tục. Hoặc có thể tạo hình truyền thống, đúng hơn là ấn bột nhào vào các khuôn bởi vì yêu cầu phải tạo ra các ổ bánh mỳ có chất lượng tốt hơn.

* Hệ thống vận chuyển bột nhào: Có rất nhiều cách được sử dụng để vận chuyển bột nhào từ điểm này đến điểm khác. Có thể tóm lượt như sau:

- Cắt bột nhào thành các mảnh lớn bằng tay và chuyển bột từ máng đến thiết bị nhào trộn hoặc thiết bị chia;

- Bằng cách đặt thiết bị nhào trộn trên tầng thứ 2, bột nhào được đổ từ máng vào phễu của thiết bị chia thông qua một lỗ thông ở trên sàn;

- Các cần trục máng bột nhào được thiết kế để nâng các máng chứa đầy bột đầu đã lên men đổ vào máy nhào để nhào thành bột bạt; Chúng cũng được thiết kế để

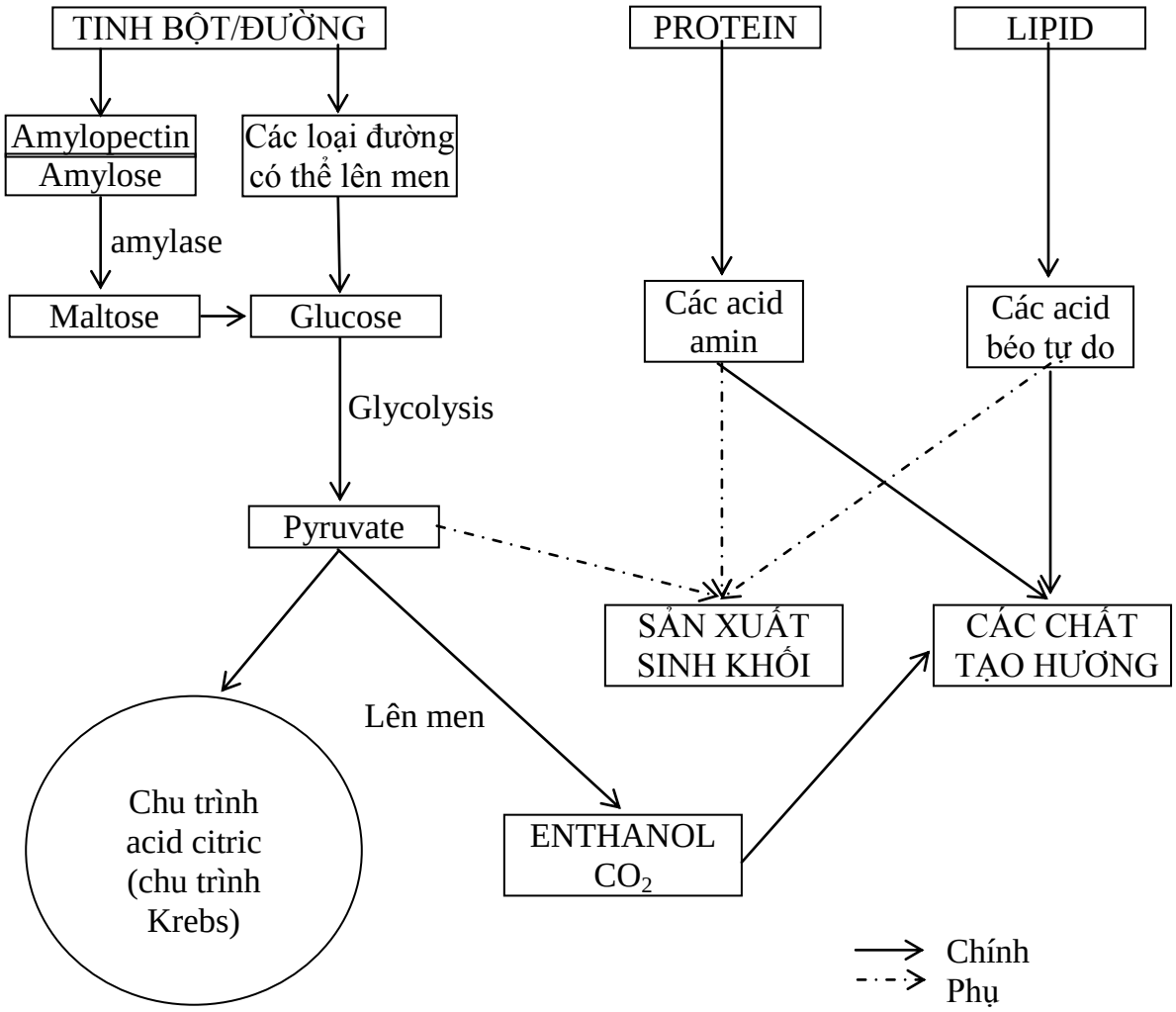
chuyển khối bột bạt từ máy nhào vào phễu chứa của thiết bị chia.

- Các phương pháp khác cũng có thể được sử dụng: hệ thống vận chuyển dạng băng tải, bơm bột nhào, phễu cấp quay hoặc Chunkers. Một vài dạng bột nhào lạnh, bột nhào cứng … không thích hợp để vận chuyển bằng bơm. Một lý do tại sao nó không thích hợp đối với loại bột nhào này là do nó sinh nhiệt trong quá trình vận chuyển.

3.3.3. Lên men

Quá trình lên men bắt đầu ngay lập tức sau khi men được cho vào hỗn hợp. Tuy nhiên giai đoạn lên men được tính bắt đầu khi bột đầu hay bột bạt được lấy ra khỏi thiết bị nhào trộn và cho vào máng bột nhào đưa vào phòng lên men để giữ ở nhiệt độ và độ ẩm thích hợp. Các thay đổi hóa học xảy ra liên tục cho đến khi men bị giết bởi nhiệt độ lò nướng. Điều này xảy ra khi nhiệt độ bên trong đạt 60^0C. Giai đoạn lên men được xem là kết thúc khi bột nhào đưa vào máy chia và được chia thành nhiều ổ bánh riêng lẻ (theo phương pháp BFP).

Diễn biến sinh hóa xảy ra trong quá trình lên men được mô tả ở hình 2.18.



Hình 2.18. Những biến đổi sinh hóa trong giai đoạn lên men bánh mỳ

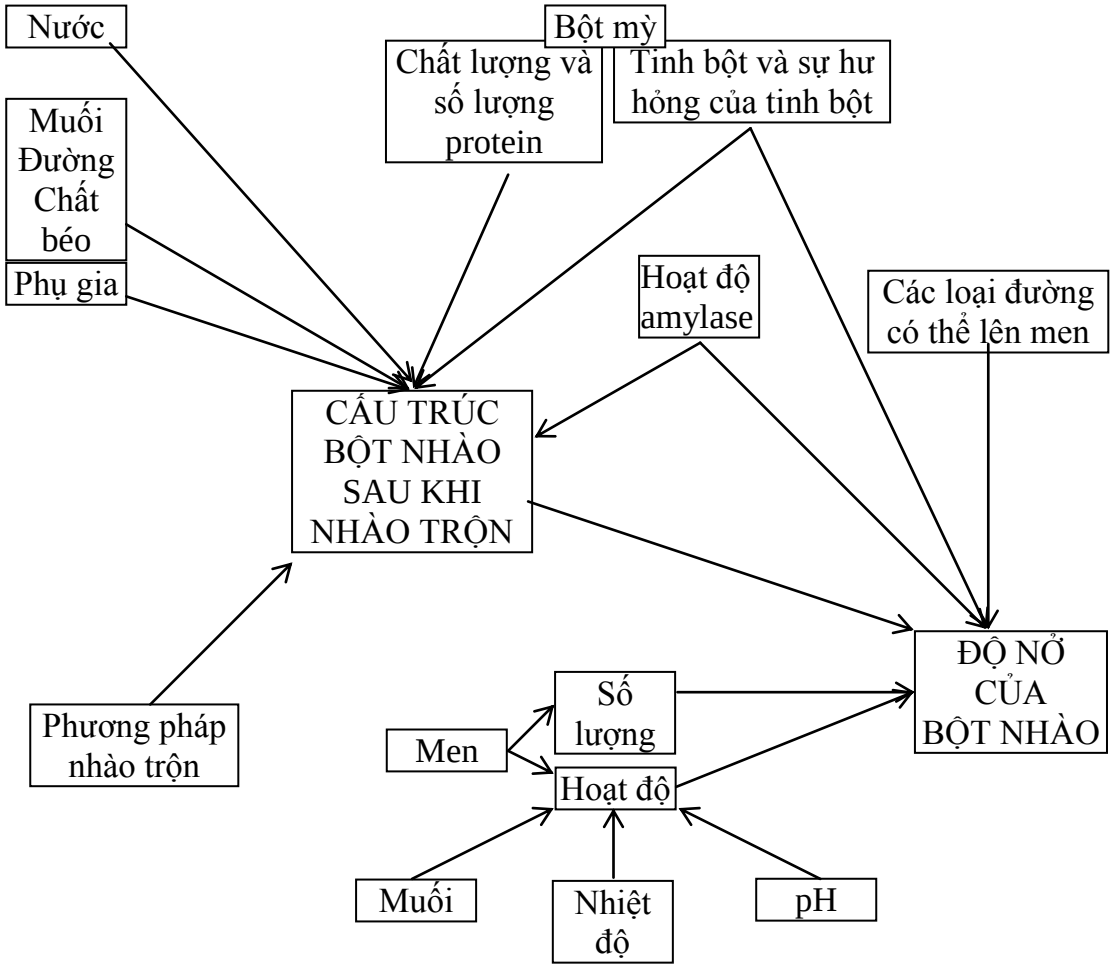
Lên men ethanol là dạng lên men mong muốn nhất của quá trình lên men. Để đảm bảo rằng dạng lên men này chiếm ưu thế, bột nhào phải được lấy ra khỏi máy nhào ở nhiệt độ $26 \div 28^0$C và được giữ ở 27^0C. Phòng lên men có độ ẩm tương đối trên

75%. Do các thay đổi hóa học xảy ra trong suốt giai đoạn lên men, nhiệt độ bột đầu hay bột bạt sẽ tăng lên khoảng 30÷32^{0}C và trong khoảng nhiệt độ này vẫn còn xảy ra quá trình lên men ethanol.

Trong giai đoạn lên men ethanol, một lượng nhỏ acid acetic và lactic được sinh ra và rất có lợi. Tuy nhiên nếu ở nhiệt độ cao hơn một lượng lớn acid này sẽ sinh ra cùng với acid butyric đây là loại acid không mong muốn; Kết quả mang lại là sản phẩm kém chất lượng vì có mùi và vị không mong muốn. Vỏ bánh sẽ có màu vàng rơm lợt đi, bánh có hình dạng bất đối xứng và kết cấu hạt rất thô (không mịn), ruột bánh sẽ có màu hơi vàng vàng.

Làm nở bột nhào là một trong những mục đích chính của quá trình lên men. Khí CO_2 sinh ra được mạng gluten giữ lại. Điều này giúp cho toàn bộ khối bột nhào giãn nở, tác động đến gluten và làm chín bột. Nhưng độ nở bột nhào lại chịu ảnh hưởng của rất nhiều yếu tố.

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men bột nhào (hình 2.19 minh họa sự tác động của các yếu tố đến độ nở của bột nhào và có ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng sản phẩm sau này), bao gồm:



Hình 2.19. Các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến độ nở của bột nhào và bánh mỳ

- *Chất lượng và khối lượng men dùng:* men có chất lượng tốt thì hoạt lực lên men mạnh nên rút gắn thời gian lên men. Lượng men dùng trong bột nhào sẽ tác động trực tiếp lên quá trình và tỉ lệ sản xuất khí. Men tạo nhiều khí CO_2 thì sản xuất càng nhanh. Tuy nhiên, lượng men dùng quá mức sẽ ảnh hưởng tiêu cực tới hương vị của bánh.

- *Nhiệt độ:* nấm men hoạt động tốt nhất ở nhiệt độ khoảng 28÷35^{0}C. Tỉ lệ sản xuất khí lớn nhất đạt được với nhiệt độ khoảng 40^{0}C. Khi nhiệt độ cao hơn sẽ giết chết các tế bào của men và vì vậy sẽ giảm lượng khí được sản xuất. Nhiệt độ 50^{0}C là nhiệt độ giết chết toàn bộ các tế bào của quá trình lên men. Nhiệt độ bột nhào giảm đến 4^{0}C cũng đồng nghĩa với việc sinh khí dừng lại.

- *Muối:* lượng muối càng cao thì tỉ lệ sản xuất khí càng thấp. Thực tế cho thấy nếu lượng muối sử dụng lên đến 1,5÷2% quá trình lên men bị kìm hãm nhiều. Trong sản xuất chú ý không nên để men và muối tiếp xúc nhau trực tiếp trước khi trộn.

- *pH môi trường:* chủng nấm men hoạt động thích hợp ở môi trường acid. Nếu môi trường có pH càng cao càng làm giảm khả năng hoạt động của nấm men nên hiệu suất làm nở kém. Đồng thời trong quá trình lên men một lượng acid hình thành nên pH môi trường cũng giảm.

- *Đường:* là một yếu tố dinh dưỡng quan trọng đối với men và bột là nguồn chính. Lượng đường cho vào bột nếu dưới 5% trên trọng lượng bột sẽ có ảnh hưởng rất nhỏ tới việc sản xuất khí. Khi lượng đường tăng, tỉ lệ khí được sản xuất sẽ giảm.

- *Chất béo:* khi lượng chất béo trong bột nhào tăng lên mức nước trong bột nhào giảm xuống để trung hòa bột nhào. Mức nước thấp có nghĩa là nước trong vỏ bánh bị tập trung lại hơn và làm giảm hoạt động của men

* Vỗ đập bột nhào là một thao tác cần thực hiện trong thời gian lên men khi sử dụng phương pháp lên men với số lượng lớn. Khi thời gian thích hợp để vỗ đập bột nhào đã đến, sử dụng cả hai tay và đẩy xuống xuyên qua tâm từ đầu này đến đầu kia khối bột nhào trong máng. Sau đó bằng cả hai tay ôm lấy một đầu của bột nhào và kéo lên phía trước. Lặp lại các thao tác như vậy, tạo nếp gấp lên phía bên kia bột nhào. Hình 2.20 minh họa thao tác vỗ đập khối bột nhào.

Hình 2.20. Thao tác vỗ đập khối bột nhào

Tác dụng của vỗ đập bột nhào nhằm làm nhiệt độ đồng đều trong toàn khối bột nhào, gluten được thư giản sau khi bị căng ra liên tục trong giai đoạn giản nở. Điều này giúp làm bền và phát triển gluten hơn nữa.

Thời gian lên men sau khi vỗ đập có thể xác định chính xác bằng cách sử dụng tỉ số lên men. Ví dụ, nếu thời gian lên men trước khi vỗ đập là 2 giờ và trong kế hoạch được lập yêu cầu sử dụng tỉ số lên men là 80/20 thì thời gian lên men sau vỗ đập được xác định bằng cách chia 120 phút cho 80% được 150 phút. Lấy 150 trừ 120 được 30. Đây là thời gian lên men còn lại sau khi vỗ đập. Tỉ số lên men được qui định dựa trên độ mạnh của bột hoặc số lượng các chất làm tăng độ mạnh của bột được bổ sung vào thực đơn. Thông thường nếu bột trung bình sử dụng tỉ số 80/20, nếu bột mạnh hơn thì dùng tỉ số 70/30 thì sẽ cho kết quả lên men tốt.

3.3.4. Tạo hình

Tạo hình bao gồm các công đoạn: chia khối bột, vê tròn, để yên, định hình, lên khuôn

Sản xuất bánh mỳ theo phương pháp CBP thì công đoạn tạo hình thực hiện ngay sau khi nhào trộn hoặc sau khi lên men sơ bộ. Nhờ sử dụng thiết bị nhào trộn thích hợp, các tác nhân oxy hóa và các enzyme bổ sung vào thực đơn, bột nhào phát triển hoàn toàn khi ra khỏi máy nhào; có thể kéo căng, duỗi thẳng thuận lợi cho việc tạo hình. Thiết bị chia bột nhào cải tiến giảm bớt sự dáy xéo bột, cũng vậy máy vê tròn dây đai có khả năng vê và hàn bột nhào mà không cần sử dụng bột áo.

Sự phát triển mới rõ rệt nhất là trong thiết bị cách ly để yên, ở đây thời gian cách ly đã giảm xuống 3 phút hoặc ít hơn nhờ sự bổ sung các thành phần trong bột nhào và máy chia kiểu ấn. Bột có thể định hình trên các khay khuôn và sau đó để lên men trong một thời gian nhất định và đạt được một thể tích nhất định trước khi đưa vào nướng.

Các thông tin dưới đây giải thích các thủ tục tạo hình được sử dụng trước khi có các phát minh mới và hiện nay vẫn được nhiều nhà sản xuất sử dụng:

- Chia và xác định tỉ lệ bao gồm cắt bột nhào (bằng tay hoặc bằng máy) thành các miếng có kích cỡ của ổ bánh và cân từng miếng để đảm bảo đồng dạng. Do tổn thất trung bình khoảng 12% trong giai đoạn tạo hình, nướng và làm nguội, tổn thất này phải tính đến để xác định khối lượng cân phù hợp nhằm tạo ra sản phẩm có khối lượng mong muốn.

- Vê tròn là quá trình biến miếng bột đã cân thành viên bi tròn với bề mặt tổng thể láng bóng không rạn nứt. Bề mặt không rạng nứt sẽ giữ lại khí sinh ra trong giai đoạn để yên.

- Để yên cách ly là một giai đoạn cho những miếng bột đã vê tròn một thời gian nghỉ ngắn (khoảng 12 đến 15 phút, thời gian này gọi là lên men ổn định sơ bộ) để phục hồi lại cấu trúc do ảnh hưởng của máy chia và máy vê. Giai đoạn để yên cho phép bột nhào thư giãn sau khi trải qua nhiều áp lực từ đầu ấn của máy chia. Nếu không có giai đoạn để yên bột nhào sẽ chật (khó cử động) và giống cao su và như thế khi đi qua các tấm lăn của máy định hình sẽ bị rách. Các máy để yên cách ly có một cái túi hoặc cái rỗ nhỏ được bọc bằng vải bạt di chuyển trong một vùng tự do có bạt phủ xung quanh.

- Định hình: sau khi hoàn tất giai đoạn để yên, các miếng bột nhào được định thành hình dạng mong muốn. Trong máy định hình bột nhào đi qua 3 tầng riêng biệt. Việc dát mỏng được thực hiện trong các ống cán đầu của máy định hình. Thứ nhì, các ống cán tấm ép bột nhào thành miếng phẳng và các ống cán xoắn và ống cán ren xoay miếng bột nhào đã được làm phẳng và tạo cho nó dạng hình trụ. Tiếp đến, trống hoặc tấm áp lực cuốn và hàn các ổ bánh thành hình dạng cuối cùng. Các máy định hình truyền thống uốn bột nhào cùng một hướng để tạo thành tấm. Máy định hình xoắn cuốn bột nhào từ hai phía đối diện nhau và từ đó nó được tạo thành tấm.

- Lên khuôn: lên khuôn là thủ tục chuyển các mảnh bột nhào đã được tạo hình vào khuôn hoặc khay; sau đó nhanh chóng chuyển khuôn, khay nhanh vào buồng cách ly mà đã được bảo ôn tốt và được giữ ở nhiệt độ 35÷37°C và độ ẩm tương đối 85%. Giai đoạn này gọi là lên men ổn định kết thúc. Trong những năm gần đây các thợ làm bánh đã tăng nhiệt độ của buồng cách ly lên 43÷45°C với độ ẩm tương đối 90%. Dưới những điều kiện này ổ bánh mỳ được cho phép cách ly khoảng 45-60 phút. Vào cuối giai đoạn cách ly chúng có kích cỡ gấp đôi.

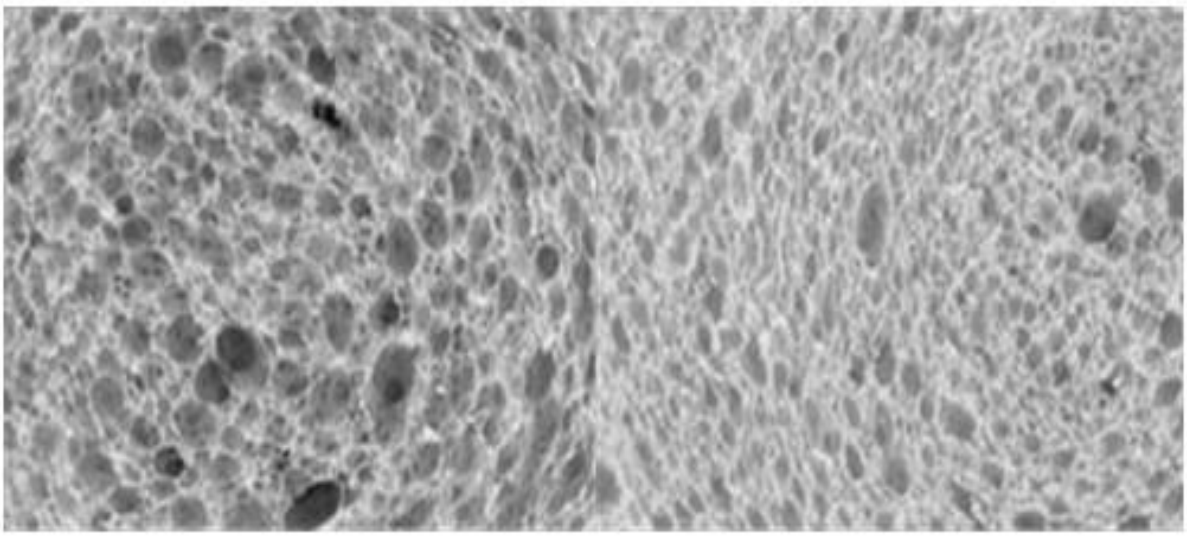
3.3.5. Nướng bánh

Tại cuối giai đoạn cách ly khuôn, ổ bánh mỳ được đưa nhanh chóng nhưng cẩn thận vào lò để nướng. Đối với các nhà sản xuất lớn, các ổ bánh mỳ không sử dụng khuôn được chuyển tự động trên các băng tải đai và được tải tự động vào lò nướng. Nhiệt độ của lò thay đổi từ 218÷232^{0}C.

Trong suốt những phút đầu tiên của quá trình nướng. Khí CO_2 trong bột nhào dãn nở. Sự dãn nở này làm cho kích cỡ bột nhào tăng rất nhanh. Quá trình lên men xảy ra mạnh mẽ và nhanh hơn bất cứ giai đoạn nào trước đây. Khi nhiệt độ bên trong của ổ bánh mỳ đạt 60^{0}C, men bị chết quá trình lên men dừng. Sau đó các thay đổi lớn từ từ xảy ra trong khối bánh. Một luợng ẩm bốc hơi, tinh bột bị hồ hóa và trở nên dễ tiêu hóa hơn, gluten và các protein khác bị đông tụ. Hình dạng bánh ổn định, nhiệt nóng bên ngoài đã làm khô phần bề mặt và hình thành vỏ.

Đến cuối giai đoạn nướng, nhiệt độ tại vỏ bánh đạt cao hơn 100^{0}C, thường khoảng xấp xỉ 150^{0}C, vỏ chuyển thành màu vàng nâu, màu vàng nâu của vỏ là kết quả của sự thay đổi hóa học trong tinh bột, đường và sữa được biết qua phản ứng Mailar và caramen. Trong ổ bánh mỳ, ruột bánh gần với vỏ bánh phụ thuộc vào nhiệt độ vỏ, nhiệt độ giảm từ từ về phía tâm của bánh và đạt khoảng 100^{0}C. Ở nhiệt độ nước bốc hơi mạnh, gluten trở nên cứng đủ để cho ổ bánh mỳ định hình lâu dài và duy trì cấu trúc này.

Những thay đổi về tính chất vật lý trong quá trình nướng dẫn đến một sự thay đổi từ một cấu trúc bọt kín tạo ra cấu trúc xốp. Cấu trúc xốp nhiều hay ít thay đổi tùy theo phương pháp sử dụng để sản xuất bánh mỳ (hình 2.21).



Hình 2.21. Cấu trúc xốp của bánh mỳ sau nướng

Sự hình thành các hợp chất hương bánh mỳ trải qua hai giai đoạn. Trước tiên, các hợp chất này tự nó được hình thành trong giai đoạn lên men chính; Sau đó trong giai

đoạn nướng, một số các hợp chất này có thể phản ứng với nhau hoặc với các thành phần bánh mỳ để tạo thành các hợp chất tạo hương vị khác.

Một số hợp chất tạo hương vị hình thành trong lên men có thể bị mất do nhiệt độ cao khi nướng, nhưng chúng vẫn còn lưu lại và lan tỏa trong ruột bánh mỳ sau khi làm nguội. Trong thời gian bảo quản, các hợp chất hương bị gảm do bay hơi. Có hơn 200 hợp chất tạo hương và vị cho bánh mỳ đã được xác định.

Khi quá trình nướng được hoàn tất ổ bánh mỳ được tháo ra bằng tay hoặc tự động và được bốc lên các khay làm mát chuyển đến các vùng có gió làm nguội đến khi nhiệt độ bên trong lòng ổ bánh đạt 37^0C.

Cắt và đóng gói. Cắt và bao đóng gói tự động bằng máy đã hoàn tất các công đoạn trong sản xuất bánh mỳ. Bánh sẵn sàng được giao đến các cửa hàng để tiêu thụ.

3.4. Các lỗi sản phẩm và phương pháp đánh giá chỉ tiêu cảm quan của bánh mỳ

3.4.1. Các lỗi bên ngoài sản phẩm

Nguyên nhân gây ra các lỗi bên ngoài bánh mỳ nướng được trình bày ở bảng 2.13.

Bảng 2.13. Bảng các lỗi bên ngoài sản phẩm bánh mỳ nướng

Nguyên nhân có thể	*Các lỗi*				
	Thiếu khối lượng	*Thừa khối lượng*	*Màu vỏ bánh nhạt*	*Màu vỏ bánh đậm*	*Các lỗi khác về hình dạng*
Bột nhào quá chặt, đặc biệt đối với các bánh mỳ tạo hình trong khuôn thiết	*				*
Bột nhào lạnh trong suốt quá trình lên men	*				
Nhiệt độ bột nhào quá cao			*		
Bột nhào thấm nước trong suốt giai đoạn lên men			*		
Bột nhào quá nhão		*			
Bột nhào chưa chín	*			*	*
Bột nhào quá chín	*		*		
Quá nhiều men			*		
Không đủ men	*			*	
Thời gian lên men không đủ	*				*
Đóng khuôn quá lỏng		*			
Nhiệt độ lò nướng quá cao	*			*	*

Nguyên nhân có thể	*Các lỗi*				
	Thiếu khối lượng	*Thừa khối lượng*	*Màu vỏ bánh nhạt*	*Màu vỏ bánh đậm*	*Các lỗi khác về hình dạng*
Nhiệt độ lò nướng thấp		*	*		
Quá nhiều muối	*			*	
Không đủ muối		*	*		
Sử dụng hóa chất cải thiện quá mức	*			*	
Nước thừa			*		
Bột có hàm lượng maltose cao				*	
Bột có hàm lượng maltose thấp	*		*		*
Chất tẩy trắng bột quá mức	*				
Bột mỳ quá mạnh	*				
Lên men quá lâu		*			
Vỏ cứng tạo thành trước khi bột nở tối đa					*

3.4.2. Các lỗi bên trong sản phẩm

Nguyên nhân gây ra các lỗi bên trong bánh mỳ nướng được trình bày ở bảng 2.14.

Bảng 2.14. Bảng các lỗi bên trong sản phẩm bánh mỳ nướng

Các nguyên nhân có thể	*Các lỗi*						
	b1	*b2*	*b3*	*b4*	*B5*	*b6*	*b7*
Bột nhào quá chặt, đặc biệt đối với các bánh mỳ tạo hình trong khuôn thiết		*	*		*	*	
Bột nhào lạnh trong suốt quá trình lên men				*	*		
Nhiệt độ bột nhào quá cao		*	*	*	*	*	
Bột nhào quá nhão	*	*					
Bột nhào được nhào trộn không đúng cách	*	*	* (quá mức)	* (chưa đủ)	*		
Các mảnh bột nhào rớt ra từ máy		*		*	*		
Bột nhào xù xì							*

Các nguyên nhân có thể	*Các lỗi*						
	b1	*b2*	*b3*	*b4*	*B5*	*b6*	*b7*
Bột nhào chưa chín			*		*	*	* (bột nhào lạnh)
Bột nhào quá chín		*	*			*	
Bột mỳ không được sàng hoặc phối trộn thích hợp				*			
Bột có hàm lượng maltose thấp							*
Bột có hàm lượng maltose cao		*		*			
Bột mỳ quá mạnh kết hợp với thừa men					*		
Bột mỳ quá mạnh		*			*		
Quá nhiều bụi bột hoặc bột mỳ tạo vỏ trong quá trình lên men				*	*		
Bệnh nớt							* (ẩm ướt)
Quá nhiều men		*	*		*		
Men không đủ					*		
Quá nhiều muối			*		*		*
Muối không đủ		*	*			*	
Sử dụng quá mức các chất khoáng hoặc chất cải thiện hóa học			*	*		*	
Sử dụng quá mức sữa hoặc chất béo			*				*
Dầu mỡ từ các máy chia bột				*			
Quá nhiều dầu thoa khuôn				*	*		
Thời gian lên men không đủ					*		
Thời gian lên men quá nhiều	*	*			*		
Đóng khuôn lỏng	*				*		
Đóng khuôn không chính xác		*		*	*		
Nhiệt độ lò quá cao	*				*		
Nhiệt độ lò quá thấp	*	*	*		*	*	
Phân bố nhiệt trong lò không đều					*		
Nhiệt trên đỉnh lò quá mức					*		

Các nguyên nhân có thể	*Các lỗi*						
	b1	*b2*	*b3*	*b4*	*B5*	*b6*	*b7*
Nướng không đủ thời gian							*
Làm nguội không đúng cách				*			

(Ghi chú: b1. Kết cấu thô; b2. Màu ruột bánh nhạt; b3. Ruột bánh dễ vỡ vụn; b4. Các dấu vết của đường sọc, lõi, sẹo, khối đặc cứng trong ruột bánh; b5. Các lỗ hỗng trong ruột bánh; b6. Mau khô và nhanh thiu; b7. Ẩm ướt, dễ dính răng hoặc ruột bánh mỳ dính chặt)

3.4.3. Phương pháp đánh giá sản phẩm

Để đánh giá chất lượng bánh mỳ thường sử dụng phương pháp chấm điểm. Mục đích chấm điểm là tìm ra các lỗi và xác định nguyên nhân và biện pháp khắc phục.

Chấm điểm bánh mỳ không phải là phương pháp khoa học có độ chính xác tuyệt đối. Trong thực tế ý tưởng con người đóng vai trò quan trọng. Người mà chấm điểm phải có kiến thức khoa học về nướng bánh và khả năng đánh giá.

Một thang điểm đã được xây dựng để đánh giá chất lượng và diện mạo của ổ bánh sản xuất ra với các ổ bánh mỳ lý tưởng về mặt lý thuyết; 11 yếu tố được chỉ định như một giá trị số theo mức độ quan trọng tương đối của chúng, trong đó:

- Có 6 yếu tố được sử dụng để đánh giá đặc tính bên ngoài, đó là thể tích (ứng với khối lượng bột nhào đã cho) được chấm10 điểm, màu của vỏ bánh 8 điểm, hình dạng 3 điểm, độ đồng đều 3 điểm, bánh mỳ và vụn bánh 3 điểm tổng cộng thành 30 điểm;

- Có 5 yếu tố được sử dụng để đánh giá đặc tính bên trong. Đánh giá độ mịn 10 điểm, màu của ruột bánh 10 điểm, kết cấu 15 điểm, mùi thơm 15 điểm và vị 20 điểm tổng cộng 70 điểm;

Một ổ bánh mỳ hoàn hảo đạt 100 điểm mặc dầu thực tế rất khó đạt được.

Một số chỉ tiêu cảm quan được sử dụng trong đánh giá bánh mỳ:

- Hình dáng bên ngoài: đồng đều, cân đối, bề mặt vỏ bằng phẳng, không nứt, vỏ nhẵn bóng.

- Màu sắc: vàng nâu hoặc vàng rơm, không cháy đen, không trắng

- Bề mặt: không dính tro, bột sống ...

- Trạng thái ruột: ruột bánh phải dính với vỏ, chín kỹ, ruột bánh nở đồng đều, độ xốp đều, đàn hồi (ấn nhẹ tay ruột phải trở lại trạng thái ban đầu), có màu đặc trưng của ruột bánh mỳ, không dính, không có màu xám và không lẫn những tạp chất khác như bột sống, bụi cát ..

- Vị và mùi đặc trưng của bánh mỳ; không có mùi vị lạ như chua, mặn, đắng, mốc và mùi vị lạ khác.

4. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NƯỚC CHẤM

Nước chấm có nơi còn gọi là nước tương. Nước chấm vừa là chất điều vị, kích thích tiêu hóa để ăn ngon miệng, đồng thời là một thực phẩm cung cấp một lượng đạm nhất định. Có hai phương pháp sản xuất nước chấm: phương pháp hóa giải và phương pháp lên men. Công nghệ sản xuất nước chấm từ bánh dầu đậu phộng hoặc đậu nành nếu sản xuất theo phương pháp hóa giải thì thời gian thủy phân nhanh, giá thành rẻ, ít

chiếm mặt bằng, mùi vị được người tiêu dùng ưa chuộng, nhưng cũng có những nhược điểm khó khắc phục như hư hao nhà xưởng, gây ô nhiễm cho người trực tiếp sản xuất, môi trường xung quanh và nhất là sản phẩm tạo ra chứa độc tố 3 MCPD (3-monochloropropane-1,2-diol hoặc 3-chloro-1,2-propanediol) vượt mức cho phép nhiều lần có nguy cơ gây bệnh ung thư cho người tiêu dùng. Do đó, phần đông các nước trên thế giới hạn chế việc sản xuất nước chấm bằng phương pháp hóa giải mà đa số sản xuất bằng phương pháp lên men.

Để chế biến các loại nước chấm lên men có thể dùng phương pháp lên men tự nhiên theo dân gian - tức là sử dụng chính những nấm mốc du nhập từ không khí vào nguyên liệu một cách tùy tiện. Làm như vậy có một nhược điểm rất đáng ngại là không thể kiểm soát được sự gây nhiễm, trong đó có cả những loại phát sinh độc tố. Bởi vậy, cách tốt nhất là nên sử dụng các giống thuần đã được kiểm tra kỹ về hoạt tính phân giải nguyên liệu cũng như được đảm bảo rằng chúng không gây độc. Nhật là quốc gia đầu tiên sử dụng " Phương án sản xuất Shinshiki" đó là phương án sản xuất nước chấm từ đậu nành bằng sự kết hợp giữa phương pháp sử dụng enzyme và phương pháp hóa giải, ưu điểm là rút ngắn thời gian, nồng độ 3 MCPD dưới mức cho phép, nhưng giá thành sản phẩm cao hơn phương pháp hóa giải nhiều vì giá enzyme protease cao.Viện sinh học nhiệt đới đã nghiên cứu cải thiện quy trình công nghệ sản xuất nước chấm từ đậu nành lên men với chủng *Aspergillus oryzae* đã được chọn lọc có hoạt lực amylase và protease cao, không sinh aflatoxin. Tuy nhiên mùi vị nước chấm vẫn là của mùi lên men chưa quen với khẩu vị của người tiêu dùng Việt Nam.

4.1. Cơ sở sinh học trong sản xuất nước chấm

4.1.1. Vi sinh vật

a) Giống vi sinh vật

Trong sản xuất công nghiệp, điều quan trọng là phải tạo được vi sinh vật thuần chủng. Giống nấm mốc dùng trong sản xuất nước chấm có thể là *A.oryzae, A.soyae, A.teriol, A.mellieus, A.niger, A.ochracos*…

Tất cả các giống mốc được đưa vào sản xuất nước chấm lên men cần phải đạt được đầy đủ các điều kiện sau đây: giống thuần khiết; có khả năng sinh enzyme protease với hoạt lực cao; có sức phát triển mạnh, có khả năng lấn át các tạp khuẩn khác; không sinh độc tố aflatoxin, orchatoxin … ; tạo hương thơm cho sản phẩm.

Điều kiện môi trường thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của các giống mốc phân giải protein là: độ ẩm 45÷50%; nhiệt độ 27÷30^{0}C; thời gian 60÷72 giờ.

b) Quá trình phát triển của vi sinh vật

Tùy từng loại nguyên liệu cần chế biến mà người ta sử dụng các chủng giống mốc khác nhau; song nhìn chung, quá trình phát triển của mốc trong nguyên liệu diễn ra theo các giai đoạn sau:

- Giai đoạn 1 (sinh trưởng): Sau khi cấy giống vào nguyên liệu từ 8÷10 giờ mốc bắt đầu phát triển, phân chia và hoạt động hô hấp làm cho nhiệt độ trong khối nguyên liệu tăng dần, nhưng khối lượng khuẩn ty lúc này vẫn còn ít.

- Giai đoạn 2 (lên meo): Sợi mốc (khuẩn ty) phát triển mạnh, tỏa nhiệt nhiều hơn làm khối nguyên liệu nóng lên, sợi mốc có màu trắng, kết thành từng tảng và phủ khắp mặt khối nguyên liệu.

- Giai đoạn 3 (phân giải): Sau 24 giờ bào tử mốc hình thành nhiều và có màu

vàng nhạt hoặc hồng nhạt (tùy loại giống). Đồng thời lúc này nấm mốc mới bắt đầu tiết vào môi trường các loại enzyme đặc trưng, mà quan trọng nhất là các protease, các enzyme này hoạt động phân giải nguyên liệu, phân hủy các mạch peptide của các phân tử protein, giải phóng ra các acid amin tự do. Chính vì vậy mà giá trị dinh dưỡng của nguyên liệu tăng lên, đồng thời nguyên liệu có mùi thơm đặc trưng. Lúc này nguyên liệu đã đạt trạng thái "chín sinh học". Công việc tiếp theo chỉ còn là chiết rút lấy sản phẩm (nếu cần) rồi lưu giữ và bảo quản.

4.1.2. Vai trò của các hệ enzyme trong sản xuất nước chấm

Các chủng giống *Aspergillus* dùng trong sản xuất nước chấm thường tạo ra 3 loại enzyme quan trọng: hệ enzyme protease, hệ enzyme amylase, hệ enzyme oxy hóa khử. Cơ sở khoa học của công nghệ sản xuất nước chấm là dựa trên cơ sở thủy phân protein bằng protease thành hỗn hợp các acid amin tạo vị ngọt chính cho nước chấm, các hệ enzyme khác góp phần tạo vị và màu cho sản phẩm.

a) Hoạt động của hệ protease

Đầu tiên là hoạt động của enzyme protease exopeptidase, pH thích hợp cho hoạt động của chúng là 6,5, lượng protease exopeptidase đạt cực đại sau khoảng 36÷42 giờ kể từ khi cấy giống vào nguyên liệu. Lúc này exopeptidase bắt đầu hoạt động mạnh, chúng tác dụng vào các cầu peptide mạch ngắn trong lòng phân tử, đồng thời các exopeptidase tiếp tục phân giải để giải phóng ra các acid amin đơn phân tử. Hoạt động của hệ protease càng mạnh thì sự phân giải nguyên liệu càng triệt để và hàm lượng đạm amin trong nguyên liệu càng cao, điều đó có nghĩa là giá trị dinh dưỡng của sản phẩm càng lớn và vị ngọt càng đậm đà. Mỗi loại acid amin có mặt trong nước chấm đều góp phần tạo nên vị ngọt đặc trưng của sản phẩm. Ví dụ: glutamine tăng vị ngọt của đạm; methionine và cysteine tạo vị thơm của nước chấm; lysine, alanine, proline, leucine.v.v… góp phần tạo nên một vị đậm đà giúp ăn ngon miệng. Hoạt động của hệ enzyme protease đóng vai trò hàng đầu trong quá trình phân giải nguyên liệu và đó là yếu tố quyết định chủ yếu đối với chất lượng sản phẩm.

b) Hoạt động của hệ amylase

Hệ enzyme amylase của *Aspergillus* gồm hai thành phần α-amylase và glucose amylase. Khoảng pH tối ưu của chúng là 4,7÷4,9. α-amylase thủy phân thành phần glucid trong nguyên liệu thành maltose và dextrin. Tiếp đó glucose amylase phân cắt hai thành phần trên thành glucose. Chính vì vậy nước chấm có vị ngọt của đường.

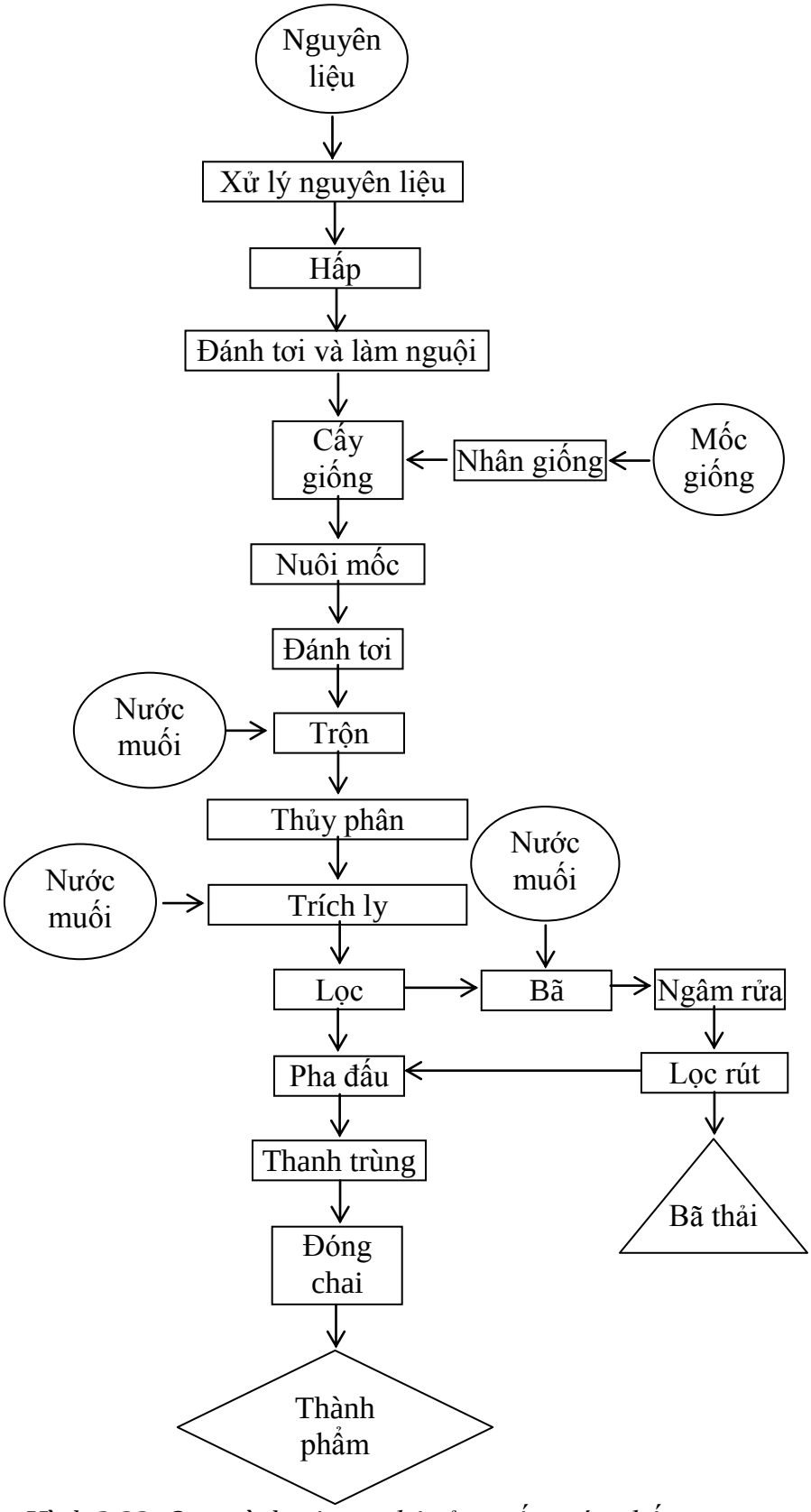
c) Hoạt động của hệ oxy hóa khử

Hệ enzyme này cũng gồm 3 thành phần chính. Hoạt động của nó có tác dụng tạo màu và góp phần ngăn cản sự gây nhiễm của các tạp khuẩn. Cụ thể, enzyme peroxydase: oxy hóa các acid amin dạng L, nhờ vậy tạo màu đỏ nâu cho nước chấm; glucose oxydase: ngăn ngừa sự biến đổi trạng thái màu sắc của sản phẩm, nó xúc tác cho phản ứng chuyển hóa glucose thành gluconic và H_2O_2; catalase: xúc tác cho phản ứng khử H_2O_2 tạo nước và oxy.

Toàn bộ các phản ứng trên lập thành một hệ thống kín, chuyển hóa liên tục, tạo nên một hiệu quả kháng khuẩn, nghĩa là nó giúp cho nước chấm lên men giảm tỉ lệ nhiễm bẩn bởi các vi sinh vật khác.

4.2. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất nước chấm

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất nước chấm bằng phương pháp lên men được mô tả ở hình 2.22.



Hình 2.22. Quy trình công nghệ sản xuất nước chấm bằng phương pháp lên men

4.3. Thuyết minh quy trình

4.3.1. Xử lý nguyên liệu

Sản xuất nước chấm bằng phương pháp lên men, sử dụng nguyên liệu từ thực vật

giàu protein, hàm lượng glucid thấp và hàm lượng chất béo càng ít càng tốt. Các loại nguyên liệu thường dùng: khô lạc, khô đậu nành, ngô mảnh, lúa mỳ,... các loại hạt có dầu đã được ép dầu, hàm lượng protein trong khô dầu có thể tới 50÷60%, tinh bột khoảng 30÷40%. Nói chung là các khô dầu đã qua giai đoạn gia nhiệt, cần phải khô (độ ẩm <10%).

Nguyên liệu đưa vào sản xuất cần được xử lý như sau:

- Xay nhỏ đạt kích thước 1,5÷2 mm, trộn với 10% bột ngô hoặc bột mỳ. Nhờ được làm nhỏ mà diện tích tiếp xúc giữa nguyên liệu với hơi nước và mốc giống sẽ tăng lên, đồng thời tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân tiếp theo;

- Có thể trộn nguyên liệu với trấu nhỏ (3÷5%) để tăng độ xốp cho nguyên liệu;

- Trộn nước: trộn nước đều vào nguyên liệu để nguyên liệu hút nước, trương nở hấp chóng chín và đạt độ ẩm thích hợp theo yêu cầu (ít nước, nguyên liệu bị khô, khó chín, nhiều nước quá gây biến tính ảnh hưởng đến quá trình phát triển của mốc);

- Sau khi trộn, nguyên liệu thường có độ ẩm 58÷60% đưa đi hấp.

4.3.2. Hấp nguyên liệu

Mục đích nhằm phá vỡ cấu tạo hạt tinh bột và các màng bao bọc, chuyển các chất dinh dưỡng từ trạng thái không hòa tan sang trạng thái hòa tan để mốc sử dụng. Đồng thời làm yếu một phần các liên kết peptit, liên kết disunphua …tạo điều kiện thủy phân dễ dàng, tiêu diệt các tạp khuẩn nhiễm vào sản phẩm.

Nguyên liệu sau khi hấp: chín đều, thơm, có độ ẩm thích hợp theo yêu cầu.

Sau khi hấp chín xong khối nguyên liệu cần được đánh tơi để tăng độ xốp nhằm làm cho khối nguyên liệu thông thoáng tốt và làm giảm nhiệt độ của nó đến nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của nấm mốc giống, thông thường nguyên liệu hấp xong được đưa qua hệ thống làm nguội đến nhiệt độ 36÷38^{0}C.

4.3.3. Nuôi cấy mốc giống

Chọn mốc giống phải đạt tiêu chuẩn qui định; Thường sử dụng chủng giống *Aspergillus* chủ yếu là *Asp. Oryzae.*

Để giữ giống người ta thường sử dụng các loại môi trường thạch nghiêng:

- Môi trường nước malt: lấy 100g bột malt trộn với 400g nước rồi đun nóng và đường hóa ở 60÷63^{0}C trong thời gian 4÷6giờ. Sau đó lọc và đun sôi dịch lọc trong 10 phút rồi để nguội ta sẽ được môi trường nước malt.

- Môi trường nước nấm vàng: lấy gạo nếp hay gạo tẻ đem ngâm trong 12÷24 giờ cho đạt độ ẩm 50÷55%, để ráo nước rồi hấp trong thời gian 1÷1,5 giờ cho gạo chín đều, làm nguội xuống 36÷38^{0}C, sau đó trộn mốc *Asp. oryzae* với tỉ lệ 1÷2%. Tiếp theo đem ủ đống trong 4÷5 giờ rồi trải thành lớp dày 3÷4 cm và nuôi ở 30÷32^{0}C, độ ẩm của không khí 98÷100% trong thời gian 24÷36 giờ. Khi nào thấy bào tử nấm mốc chớm mọc thì kết thúc quá trình nuôi. Lấy mốc đem ngâm trong nước đun sôi để nguội 65^{0}C, tỉ lệ mốc/nước là 1/4 và tiến hành đường hóa trong 4÷5 giờ. Kết thúc quá trình đường hóa thì đem lọc, đun sôi, để nguội và điều chỉnh pH.

- Môi trường nước đậu: lấy đậu tương hay đậu xanh đem ngâm 6÷8 giờ, vớt ra để ráo, cho đậu vào nước theo tỉ lệ đậu/nước là 1/4, đun sôi trong 3÷4 giờ, gạn lấy nước (100g đậu lấy 200ml).

- Môi trường nước khoai tây: lấy khoai tây gọt vỏ trộn với cám (300g khoai tây/100g cám) và cho vào nước đun sôi 30 phút và gạn lấy nước trong.

Để có môi trường thạch, người ta lấy 2% thạch đem ngâm, rửa sạch rồi cho vào các môi trường trên, đun cho tan hết thạch và đổ vào ống nghiệm để làm môi trường thạch nghiêng.

Để nhân giống, người ta có thể sử dụng các loại môi trường tổng hợp hoặc tự nhiên. Ví dụ như đối với nhân giống thạch nghiêng có thể sử dụng môi trường tổng hợp.

Còn nhân giống bình tam giác thì sử dụng môi trường tự nhiên (nước đậu, mỳ hạt, cám và bột mỳ). Các loại nguyên liệu này được hấp chín rồi mới đưa vào nuôi cấy.

Để nuôi cấy trung gian người ta thường dùng các loại nguyên liệu chính cho sản xuất nước chấm để làm môi trường.

Sau khi trộn đều môi trường đã được làm nguội với mốc giống theo tỉ lệ 1÷2% thì đem phân phối vào thiết bị nuôi và đem nuôi trong phòng đặc biệt điều chỉnh được độ ẩm không khí, nhiệt độ và sự thông khí. Trong quá trình nuôi có xảy ra các hiện tượng sau:

- Hiện tượng tỏa nhiệt: trong quá trình phát triển của mình, nấm mốc đã tiến hành hô hấp và tỏa nhiệt. Lượng nhiệt sinh ra phụ thuộc vào thành phần dinh dưỡng của môi trường và quá trình sinh tổng hợp của chúng. Nhiệt lượng tỏa ra làm tăng nhiệt độ của môi trường. Nếu nhiệt độ tăng quá cao (38÷40^{0}C) sẽ kìm hãm sự phát triển và giảm khả năng tích lũy enzyme của nấm mốc. Vì vậy, cần có biện pháp để giữ nhiệt độ của môi trường nuôi luôn luôn ở mức thích hợp.

- Sự trao đổi không khí: Nấm mốc chỉ phát triển trong điều kiện nuôi hiếu khí bắt buộc. Do đó, trong quá trình nuôi cần phải thông khí liên tục nhằm để cung cấp đầy đủ oxy cho nấm mốc phát triển.

- Sự thay đổi hàm ẩm của môi trường: độ ẩm của môi trường nuôi cấy giảm liên tục trong quá trình nấm mốc phát triển. Độ ẩm ban đầu 58÷60%, sau khi gieo mốc 4÷5 giờ độ ẩm bắt đầu giảm cho đến khi kết thúc quá trình nuôi. Sự giảm độ ẩm biểu thị sự phát triển của vi sinh vật nhưng cũng làm giảm hoạt tính của enzyme theo quan hệ tuyến tính. Vì vậy, trong quá trình nuôi mốc cần phải khống chế độ ẩm luôn luôn ở mức thích hợp.

Nuôi nấm mốc nhằm thu nhận được số lượng và chất lượng enzyme protease cao. Chính vì vậy các yếu tố trên đóng vai trò rất quan trọng. Thường nuôi nấm mốc ở 28÷32^{0}C và độ ẩm không khí 85÷90%. Trong quá trình nuôi nấm mốc cần trang bị quạt ly tâm có lưu lượng gió 6000 m^3/tấn nguyên liệu giờ với áp lực 100 mmH_2O.

4.3.4. Lên men

- Mục đích: tạo điều kiện cho enzyme protease của nấm mốc hoạt động thủy phân protein của nguyên liệu thành các acid amin.

- Nếu quá trình thủy phân sâu sẽ tạo ra NH_3, H_2S ... Do vậy quá trình thủy phân phải được kết thúc ở giai đoạn tạo ra sản phẩm chủ yếu là các acid amin.

- Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân:

+ Nhiệt độ: nhiệt độ thích hợp cho hệ enzyme protease hoạt động 45÷50°C.

+ Nồng độ enzyme protease: nồng độ enzyme hòa tan khi nấm mốc mọc đạt yêu cầu thì phụ thuộc vào hàm lượng nước. Nếu nước ít quá, enzyme chưa đủ hòa tan để xảy ra các phản ứng sinh hóa bình thường nên quá trình thủy phân xảy ra chậm, không triệt để. Nước nhiều quá, nồng độ enzyme loãng, hoạt động yếu và chậm, các loại vi khuẩn khác dễ xâm nhập.

Kinh nghiệm của các cơ sở sản xuất nước chấm cho thấy lượng nước cho vào tốt nhất thường là 30÷40% so với nguyên liệu, tương đương với 60÷70% so với khối lượng nấm.

Sau khi thủy phân xong, căn cứ vào hàm lượng nước trong dịch thủy phân để tính lượng muối và nước muối cần bổ sung sao cho đạt được nồng độ quy định và số lượng nước chấm cần thiết.

+ Nồng độ muối : lượng muối cho vào nhiều quá để ức chế enzyme hoạt động , nếu thấp quá và các điều kiện khác không đảm bảo thì vi khuẩn gây thối rửa hoạt động, vì vậy cho lượng muối vừa bảo đảm cho enzyme protease hoạt động , vừa kích thích quá trình thủy phân và hạn chế vi khuẩn gây thối rửa hoạt động.

+ Thời gian thủy phân: Tùy thuộc vào từng điều kiện cụ thể có thể ngắn hoặc dài. Quan sát quá trình lên men thấy sản phẩm có màu thẫm , thơm mùi nước chấm , nhiệt độ bắt đầu giảm có thể kết thúc quá trình lên men.

+ pH: độ pH thích hợp cho enzyme protease hoạt động là 4,7÷5,5

- Bản chất của quá trình thủy phân: Gồm 2 quá trình: sinh hóa và hóa lý

+ Quá trình sinh hóa là quá trình quan trọng nhất do hoạt động chủ yếu của enzyme protease, là quá trình hình thành các sản phẩm của quá trình thủy phân như : polypeptide, acid amin, một số đường , vitamin… Nhưng ở đây , chú ý nhất đến quá trình tác dụng của hệ enzyme protease lên protein của nguyên liệu mà không yêu cầu các sản phẩm khác nhiều đường.

+ Hóa lý: quá trình thẩm thấu và khuếch tán 2 pha để đến khi được một hỗn hợp đồng nhất. Các acid amin sinh ra hòa tan trong nguyên liệu bắt đầu khuếch tán ra dung dịch nước muối loãng , trích ly ra được thành phẩm nước chấm . Như vậy, ngoài việc bảo đảm các điều kiện thích hợp cho enzyme protease hoạt động mạnh , quá trình khuếch tán đạm ra khỏi nguyên liệu vào dung dịch cũng rất quan trọng . Đồng thời với quá trình khuếch tán còn có quá trình thẩm thấu, thường dùng nước muối để tăng quá trình hòa tan, thẩm thấu tận bên trong nguyên liệu hòa tan các chất chủ yếu là globulin.

- Các phương pháp thủy phân:

** Phương pháp lên men ướt nhiều muối*

Đây là phương pháp cổ truyền, dài ngày. Để lên men người ta sử dụng nước muối có nồng độ 25÷30% đem trộn với nguyên liệu đã lên mốc (1,5÷2,5 lít/kg nguyên liệu) rồi để lên men. Sau khi thủy phân kết thúc, nước chấm được tách khỏi bã bằng cách gạn hoặc lọc ép Thời gian lên men của phương pháp này phụ thuộc vào nhiệt độ ngoài trời. Mùa hè có thể kéo dài 3÷4 tháng, còn mùa đông 6÷7 tháng.

Cách tiến hành thủ công: sau khi trộn với nước muối thì đem hỗn hợp phơi nắng. Sáng mở nắp phơi và khuấy trộn 1 lần, chiều đậy nắp lại. Cứ tiếp tục như vậy trong 30 ngày thì tiến hành rút lần 1. Sau khi rút xong lại cho nước muối mới vào và lại phơi rồi rút nước 2 sau 1 tháng. Làm tương tự để rút nước 3. Pha trộn 3 nước lại với nhau và tiếp tục phơi 5÷6 nắng nữa để tạo hương.

Phương pháp này có những nhược điểm sau:

- Lên men nhiều nước nên nồng độ enzyme thấp dẫn tới thời gian thủy phân dài và khó thủy phân triệt để.

- Hàm lượng muối cao nên enzyme bị ức chế.

** Phương pháp lên men ướt không muối*

Để lên men cũng tiến hành trộn nước không có muối (1,5÷2,4 lít/kg nguyên liệu)

với khối nguyên liệu đã lên mốc và có tiếp nhiệt. Nhiệt độ lên men 50÷55^{0}C, lên men 3 ngày thì ép lọc để thu dung dịch 1 và sau đó cho nước để lên men tiếp rồi thu dung dịch 2. Tổng thời gian lên men của phương pháp này khoảng 7÷8 ngày.

Nhược điểm của phương pháp này là do sử dụng nhiều nước nên nồng độ enzyme thấp làm cho hiệu suất thủy phân kém và năng suất thấp.

** Phương pháp lên men ẩm trích ly*

Phương pháp này khác với các phương pháp trên ở 2 điểm:

- Lên men với hàm lượng nước vừa phải (hàm ẩm của nguyên liệu 50÷60%) nên có thể ủ nhiệt sinh lý và bảo đảm nồng độ enzyme cao nên xúc tác thủy phân nhanh.

- Sau khi lên men kết thúc thì cho nước muối vào ngâm để trích ly các chất.

- Cách tiến hành: quá trình lên men ẩm trích ly gồm 2 công đoạn là làm tơi trộn nước và ủ ẩm. Làm tơi nhằm tạo điều kiện cho khối mốc ngấm nước đều, các hệ enzyme thủy phân dễ dàng hoạt động. Có thể làm tơi bằng thủ công hoặc bằng máy. Sau khi làm tơi xong, dùng nước muối 3÷5% trộn với khối mốc cho đạt độ ẩm 50÷60%. Để quá trình lên men tiến triển được tốt, người ta tiến hành ủ nhiệt sinh lý hoặc tiếp nhiệt để giữ nhiệt độ của khối nguyên liệu trong khoảng 45÷60^{0}C. Thời gian ủ ấm khoảng 3÷4 ngày, khi có mùi thơm nước chấm thì quá trình lên men kết thúc.

4.3.5. Dội rút, trích ly

- Mục đích của quá trình này là nhằm trích ly acid amin và đường bằng nước nóng hay nước muối có nồng độ thích hợp.

- Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình dội rút:

+ Nhiệt độ của nước ngâm rút: nhiệt độ càng cao thì khả năng hòa tan của các chất cũng càng tăng nên hiệu suất thu hồi cũng tăng theo. Nhưng nếu nhiệt độ cao quá thì acid amin dễ bị phân hủy, dễ xảy ra phản ứng melanoidin, gây tổn thất đường, acid amin và làm giảm mùi vị sản phẩm. Nếu nhiệt độ thấp thì thời gian trích ly bị kéo dài, các chất hòa tan ít. Do đó làm giảm hiệu suất thu hồi. Nhiệt độ nước ngâm rút tốt nhất là 60^{0}C.

+ Lượng nước ngâm rút: nước nhiều thì các chất hòa tan nhiều nên hiệu suất thu hồi tăng. Nhưng nước quá nhiều sẽ làm nước chấm bị loãng. Lượng nước thường dùng là 300÷400% so với lượng nguyên liệu ngâm rút. Ngâm rút có thể 3÷4 lần tùy theo yêu cầu của sản phẩm.

+ Nồng độ muối: nồng độ muối thấp sẽ làm tăng khả năng hòa tan của các chất vào dung dịch. Nhưng nếu nồng độ muối quá nhỏ thì vi sinh vật có hại dễ phát triển hơn. Nồng độ muối cao có khả năng gây hiện tượng muối liên kết với acid amin biến thành đạm keo sẽ gây đục cho sản phẩm, đồng thời nhiều muối sẽ làm cho sản phẩm bị mặn. Nồng độ nước muối thích hợp nhất là 15÷28%.

+ Thời gian ngâm: phụ thuộc vào lần ngâm mà ta chọn thời gian ngâm thích hợp: nước 1: ngâm 8÷10 giờ; nước 2: ngâm 6÷8 giờ; nước 3: ngâm 4÷6 giờ; nước 4: ngâm 2÷4 giờ.

- Cách tiến hành: Sau khi ủ ấm xong, dùng nước muối có nồng độ 15÷28%, nhiệt độ 60÷70^{0}C, tỉ lệ nước/nguyên liệu là 1/1, ngâm trong 8÷10 giờ rồi rút để thu hồi nước 1. Tiếp tục ngâm để rút nước 2, nước 3 và nước 4.

4.3.6. Bảo quản và hoàn thiện sản phẩm

- Bảo quản sản phẩm: nước chấm là sản phẩm dễ bị vi sinh vật gây chua, thối, đóng ván... phát triển. Do đó, sau khi chiết rút xong, nước chấm được gia nhiệt để

thanh trùng ở 80^0C trong thời gian 0,5÷1 giờ. Đồng thời phải cho thêm các chất bảo quản như acid sorbic hoặc natribenzoat tỉ lệ 1/1000 khi đóng chai.

- Hoàn thiện: tùy theo yêu cầu về chất lượng của từng loại sản phẩm mà người ta tiến hành pha đấu dịch 1, 2, 3 và 4 theo một tỉ lệ thích hợp. Để thuận tiện cho việc sử dụng, người ta có thể rót nước chấm vào các loại chai có dung tích khác nhau.

5. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT TƯƠNG

Tương là một món ăn thông dụng từ xưa đến nay. Tương được sản xuất chủ yếu từ gạo nếp và đậu nành, nên trong tương có nhiều chất đường, các acid amin, chất béo, vitamin... Tương dễ làm, ăn ngon, ngọt và cũng như các loại nước chấm khác làm tăng thêm gia vị cho bữa ăn và là nguồn cung cấp thêm đạm.

Sản xuất tương có tính chất cổ truyền, lâu đời, trước kia và hiện nay vẫn còn nhiều cơ sở, hộ gia đình sản xuất tương sử dụng hệ vi sinh vật tự nhiên, có nhiều loại vi khuẩn, nấm mốc và nấm men khác nhau mà quá trình trao đổi chất giữa chúng, ngoài sản phẩm có lợi còn có những sản phẩm không tốt hoặc độc tố có hại ảnh hưởng đến sức khỏe.

Hiện nay, sản xuất tương đã phát triển ở quy mô công nghiệp. Nhờ ứng dụng các thành tựu của công nghệ vi sinh vật đã cho ra các sản phẩm đảm bảo chất lượng và vệ sinh an toàn thực phẩm.

5.1. Cơ sở sinh học trong sản xuất tương

5.1.1. Giống vi sinh vật

Trong phương pháp cổ truyền, nhân dân ta thường dùng vi sinh vật có sẵn trong tự nhiên. Thường là các loài nấm mốc: *Mucor mucedo, M. rouxii, Rhizopus nignicans, A. oryzae, A. flavus, A. niger, P. notatum, P. prolatum, P. expansum, Monilia sitofila, Trichoderma lignorum.* Chính vì thế trong nguyên liệu nấm mốc thấy có nhiều màu sắc khác nhau. Các nghiên cứu về tương cho thấy nấm mốc có ý nghĩa lớn nhất trong sản xuất tương là nấm *A. oryzae*.

Trong sản xuất tương công nghiệp ứng dụng chủ yếu nấm mốc *A. oryzae* thuần chủng, khi phát triển trong khối nấm mốc thấy chỉ có màu vàng. Điều kiện sinh trưởng của loài nấm mốc như sau: Độ ẩm:45÷55%; pH môi trường: 5,4÷6,5; Độ ẩm không khí: 85÷95%; Nhiệt độ: 27÷30^0C; Thời gian: 30÷ 36 giờ

Nấm mốc *A. oryzae* có các loại enzyme sau: amylase, protease, các enzyme oxy hóa khử như glucooxydase.

5.1.2. Bản chất hóa sinh

Bản chất hóa sinh chủ yếu nhất trong quá trình sản xuất tương là sự thủy phân tinh bột (chủ yếu là của gạo) và thủy phân protein (chủ yếu là của đậu) bởi các enzyme amylase và protease do vi sinh vật tạo ra.

Ngoài ra do hoạt động của một số vi sinh vật tạo hương và những phản ứng hóa học thứ cấp, một số chất có hương vị đặc biệt đã được hình thành và làm cho tương có hương vị riêng của nó. Mặt khác cũng cần nhận thấy rằng trong sản xuất đã sử dụng một hệ vi sinh vật tự nhiên có nhiều loài vi khuẩn, nấm mốc khác nhau mà quá trình trao đổi chất của chúng đã hình thành những chất có hương vị không tốt, hoặc một số chất kháng sinh, độc tố có hại cho cơ thể. Điều này giải thích tại sao một số người không thích tương.

5.1.3. Hoạt động của hệ enzyme vi sinh vật trong từng giai đoạn sản xuất tương

Quá trình sản xuất tương cổ truyền có thể chia ra làm ba giai đoạn: làm mốc

tương, làm nước đậu và ngả tương (tức trộn hai bán thành phẩm trên).

Sau đây trình bày các biến đổi chủ yếu trong các giai đoạn này:

* Trong quá trình ủ mốc tương thủ công, hoạt động amylase của mốc tương thường đạt tới cực đại sau năm ngày, tiếp đó giảm dần. Hoạt động protease của mốc đạt tới cực đại sau sáu ngày, rồi giảm tương đối nhanh. Hàm lượng đường khử cuối cùng đạt tới cực đại ở ngày thứ năm (26,2%). Như vậy trong phương pháp ủ thủ công tự nhiên, nấm mốc phát triển chậm và mốc thích hợp để đem muối hoặc ngả tương chỉ vào khoảng 5÷6 ngày sau khi ủ.

* Trong quá trình làm nước đậu, phần cái và phần lỏng của nước đậu tuy khác nhau, nhưng các biến đổi trong hai phần này có nhiều điểm tương tự nhau. Các nghiên cứu cho thấy hoạt động amylase của nước đậu đạt tới cực đại ở khoảng 9÷10 ngày sau khi ngâm. Hoạt động protease đạt tới cực đại ở ngày thứ 9. Độ hoạt động protease của nước đậu thấp, còn độ hoạt động amylase thì rất thấp, gần như không đáng kể. Lượng đạm toàn phần của nước đậu chủ yếu là nằm trong phần cái. Trong quá trình ngâm, sự hòa tan các dạng đạm khác nhau vào phần lỏng tiến hành rất chậm. Do hoạt động của enzyme protease thấp, nên mức độ thủy phân protein của đậu không đáng kể. Lượng đạm amin đều thấp trong phần cái cũng như trong phần lỏng. Sau 9 ngày ngâm, tỉ lệ đạm amin đối với đạm toàn phần trong phần cái nước đậu chỉ có 4,2%. Hàm lượng đạm amin trong phần lỏng chỉ đạt tới 0,830 gam/lít. Cách thủy phân đậu sau khi ngâm bằng mốc làm tăng các quá trình sinh hóa có ích. Nhưng trong khâu ngâm đậu vẫn còn xảy ra những quá trình sinh hóa của vi sinh vật có hại. Đậu là một sản phẩm giàu protein, được ngâm lâu trong nước không có muối, nên trong quá trình ngâm đã xảy ra sự thối rữa protein. Quá trình này đã hình thành một số chất có hại cho cơ thể và cũng đưa lại cho nước đậu ngoài mùi vị tương có những mùi vị khó chịu.

Để làm cho tương có giá trị thực phẩm cao hơn (kể cả giá trị hương vị, hàm lượng đạm amin) và đảm bảo yêu cầu vệ sinh, ta có thể bỏ khâu ngâm đậu trong sản xuất tương mà tiến hành thủy phân đậu rang bằng mốc tương. Các sản xuất thí nghiệm đã cho kết quả tốt. Tương làm ra có mùi vị của tương cổ điển nhưng có mùi vị dịu và thơm hơn. Mùi vị này tạo ra do sản phẩm của sự thủy phân và một số quá trình lên men (rượu và acid), do hương vị của đậu rang và do phản ứng thứ cấp xảy ra giữa các sản phẩm trên với các thành phần khác có trong nguyên liệu.

* Trong giai đoạn ngả tương, các enzyme amylase và protease vẫn tiếp tục hoạt động thủy phân. Các phân tích cho thấy trong mốc tương sau khi ủ xong, lượng đường khử chỉ chiếm khoảng 30÷40% tổng số các sản phẩm thủy phân tinh bột, còn trong tương đã để chín lượng này chiếm 70÷80%, nghĩa là tăng gấp đôi. Tỉ lệ đạm amin trên đạm toàn phần của nước đậu đã ủ 7 ngày đêm chỉ có 4,2%, còn của tương đã chín là khoảng 20÷25% như vậy là tăng 5÷6 lần.

Trong quá trình chín, một lượng không nhiều các hợp chất melanoidin cũng được hình thành do sự kết hợp của các acid amin với đường. Do đó tương trở nên có màu sẫm hơn lúc mới ngả.

5.2. Nguyên liệu sản xuất tương

5.2.1. Nguyên liệu giàu tinh bột

Thường sử dụng 2 loại nguyên liệu là gạo nếp và đậu nành; gạo nếp thường chiếm 70÷80% còn đậu nành 20÷30%.

Đặc điểm gạo nếp có nhiều tinh bột (75÷80%), đậu nành có nhiều protein (36÷43%) và chất béo (17÷22%), khi phối hợp 2 loại nguyên liệu này, tương sẽ là một

loại thực phẩm khá cân đối về thành phần dinh dưỡng. Có thể thay thế gạo nếp bằng các loại ngô, khoai, sắn, bột mỳ...

Yêu cầu của nguyên liệu giàu glucid đưa vào sản xuất phải không bị mọt, mốc.

5.2.2. Muối

Muối dùng trong sản xuất tương thường là NaCl, phải có độ tinh khiết 92÷97%, khi pha vào nước không có vị chát.

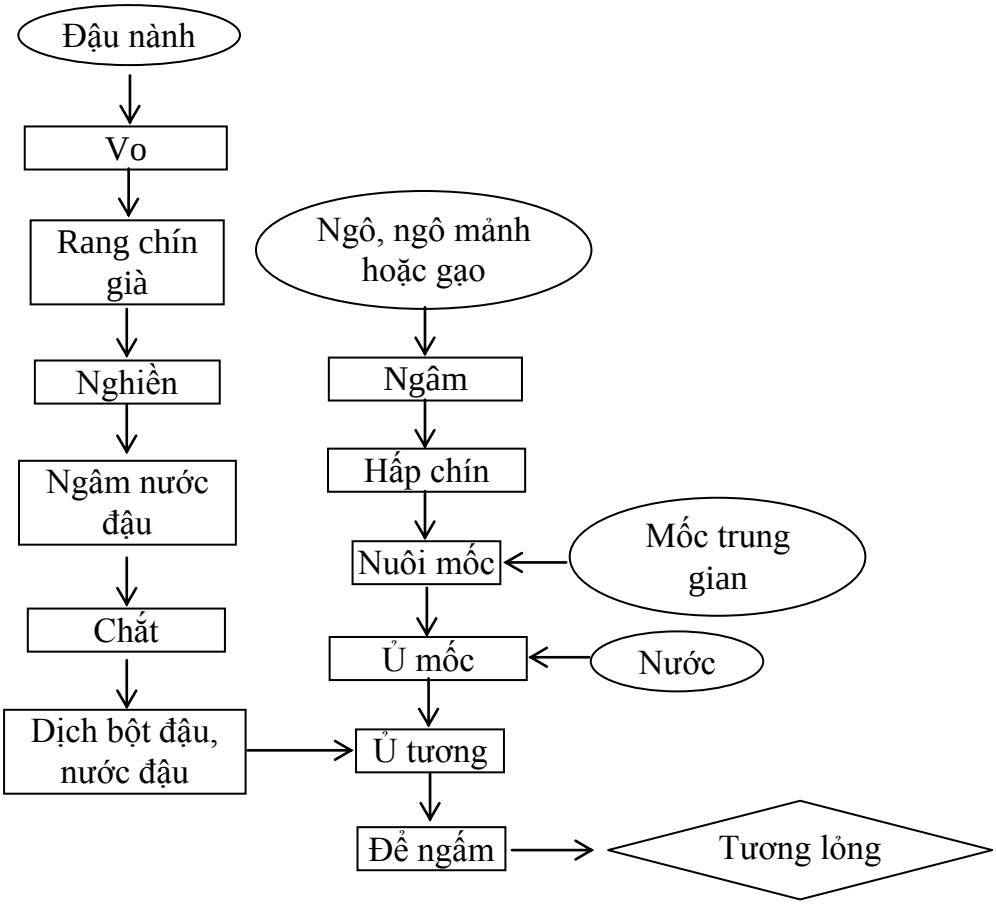
5.2.3. Nước

Nước dùng sản xuất tương phải đáp ứng được những yêu cầu về nước uống: Không có mùi vị, không màu, trong suốt; Độ cứng chung, mg đương lượng, không quá 7; Hàm lượng cặn khô không quá 1000 mg/l; Các chất khoáng và các chất hữu cơ khác không quá 850 mg/l; Tổng số vi sinh vật có trong 1ml không quá 100; Không cho phép nước có mặt amoniac và các muối của acid nitrit, vết các muối kim loại nặng; Độ oxy hóa của nước không được quá 3 mg O_2/lít.

5.3. Kỹ thuật sản xuất tương thủ công

5.3.1. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất tương lỏng

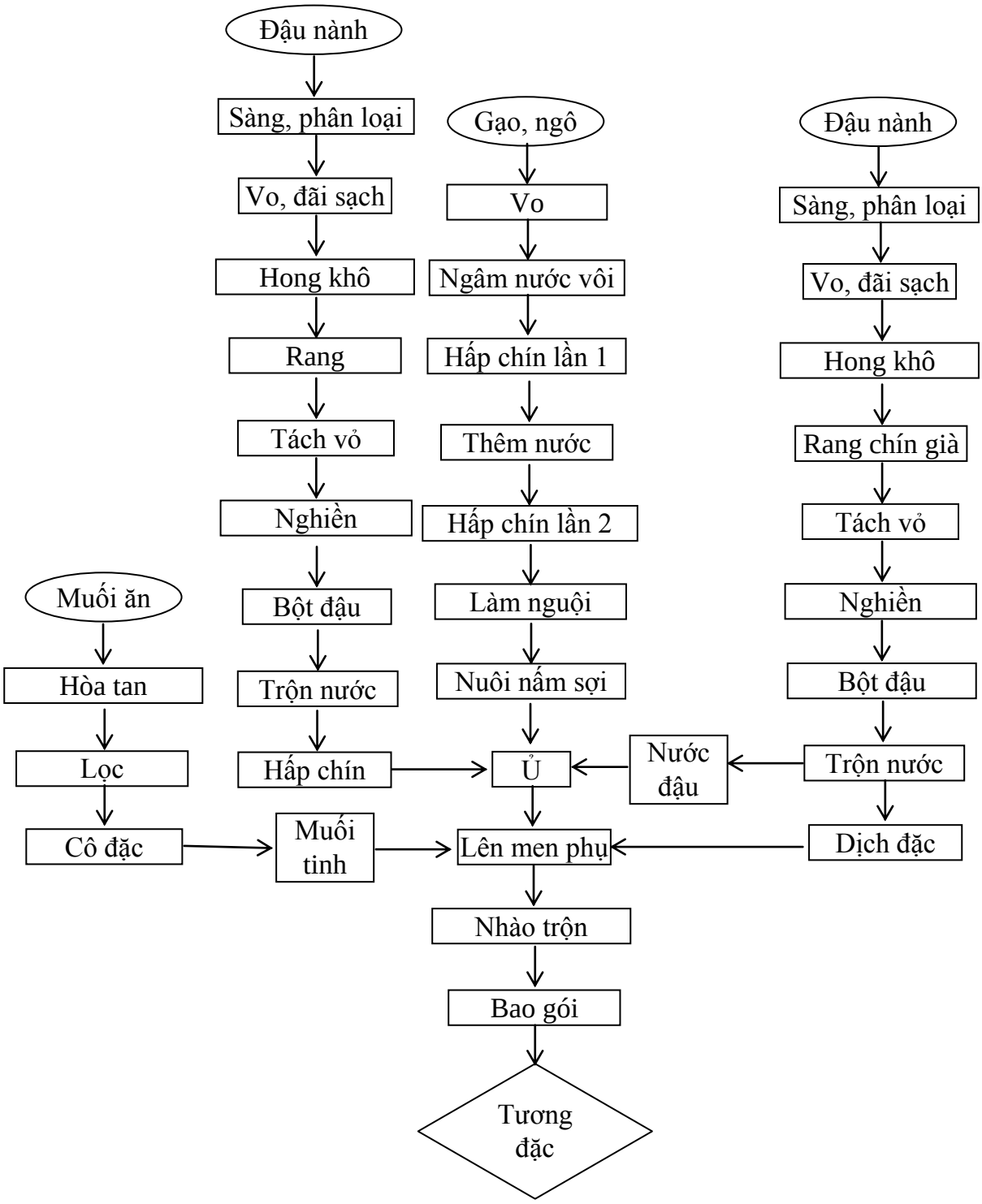
Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất tương thủ công dạng lỏng được trình bày ở hình 2.23.



Hình 2.23. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất tương lỏng

5.3.2. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất tương đặc

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất tương thủ công dạng đặc được trình bày ở hình 2.24.



Hình 2.24. Sơ đồ quy trình sản xuất tương đặc

5.3.3. Thuyết minh quy trình

Quá trình sản xuất tương có thể chia làm 3 giai đoạn: làm mốc tương, làm nước đậu, ngả tương và để chín. Hai giai đoạn đầu có tính chất quan trọng, quyết định chất lượng của tương, giai đoạn sau là trộn 2 bán thành phẩm đã sản xuất ở trên và để chín.

Thời gian cần thiết để làm mốc tương trung bình khoảng 5÷7 ngày, làm nước đậu 7÷9 ngày, sau khi ngả tương để chín khoảng 5÷10 ngày là ăn được. Theo trình tự thì đầu tiên ta phải làm mốc tương trước 3÷4 ngày (có thể lâu hơn) sau đó mới rang đậu và ngâm đậu trong nước, vì khi mốc đã được thì có thể muối để hãm lại, càng muối lâu

tương càng ngon, trái lại nước đậu khi được rồi tức là đã đến lúc cần ngả tương mà không làm kịp thời thì thối hỏng.

Tổng cộng thời gian làm một mẻ tương thủ công mất khoảng 18÷22 ngày.

a) Làm mốc tương

* Các bước làm mốc:

Gạo, ngô → Ngâm → Hấp chín → Làm nguội → Nuôi mốc → Ướp muối → Lên men phụ→ Bao gói→ Thành phẩm

* Thuyết minh:

- Nguyên liệu có thể dùng gạo nếp, ngô, khoai.

- Chuẩn bị gạo nếp: Có thể làm mốc tương từ nếp cái hoặc nếp con, 30÷33kg nếp cho 100 lít tương.

- Đồ xôi: Vo đãi sạch gạo nếp, ngâm nước xăm xắp một đêm (8÷12 giờ). Tốt nhất nên đồ xôi bằng chõ.

- Ủ mốc :

+ Kiểu thông thường: xôi sau khi đồ trải ra nong hoặc thúng cho nguội, lớp xôi dày 2÷2,5cm. Vừa lắc vừa dấp nước cho xôi tơi đều, lượng nước dấp 100ml/1kg xôi. Nên đậy bao tải tốt hơn lá, ủ nơi kín, tránh nắng, gió. Sau 4 hoặc 5 ngày nếu ủ tốt thì hạt xôi nào cũng mọc mốc, nhiều bụi bào tử, mốc trở nên nhẹ hơn, có vị ngọt, lúc đó ta có thể bóp mốc cho tơi đều và ủ thêm một ngày nữa, như vậy tất cả khoảng 5 ngày.

+ Ủ kiểu Cự đà (mốc mật): xôi đồ xong ủ như trên, nhưng sau khi ủ được khoảng 3 ngày thì lấy ra bóp cho mốc rời thành hạt. Đổ vào rỗ to sàn nhanh 3÷4 phút cho hết bụi bào tử, đừng làm cho mốc bị nát, để vài giờ cho ráo nước rồi ủ vào thúng hoặc nong thanh đống cao 0,3÷0,5m. Dưới thúng hoặc nong lót rơm, trên đậy bao tải. Thường ta ủ như vậy 2 ngày thì đảo từ trong ra ngoài và để thêm 2 ngày nữa là được. Lúc đó mốc đã trở thành một khối khá nhuyễn nát, mềm, vị ngọt cần đưa đi ngả tương hoặc muối mốc để bảo quản. Vì khối mốc đã ủ có màu mật (nâu đậm) và dính nên ta còn gọi phương pháp ủ mốc Cự Đà là ủ mốc mật.

- Muối mốc:

Mốc sau khi ủ xong nếu nước đậu vừa kịp thì có thể ngả tương ngay, nếu nước đậu chưa kịp thì cần đem muối mốc để lúc nào thích hợp sẽ ngả tương. Mốc ủ theo kiểu thông thường đem bóp cho tơi để loại bớt bào tử. Cho vào vại sành cứ một lượt mốc một lượt muối. Lượng muối dùng khoảng ¾ toàn bộ lượng muối của cả mẻ tương. Đổ nước vào vừa xăm xắp mặt, trộn đều cho tan muối. Mốc và muối nên trộn đều, phơi nắng hàng ngày. Mốc đã muối có thể dùng ngả tương luôn hoặc để sau ít lâu, trường hợp chưa cần có thể để qua năm sau mới ngả tương cũng được.

b) Làm nước đậu

- Rang đậu : thời gian rang đậu từ 30÷60 phút, khi thấy đậu đã tróc vỏ, nhân vàng nâu, dòn, thơm là được. Đậu rang xong để nguội, xát và sàng sẩy cho hết vỏ, có thể xay nhỏ hoặc chà cho đậu tách đôi.

- Ngâm đậu: Ngâm với nước trong chum, vại, cứ 1kg đậu cho 5÷6 lít nước, chum ngâm đậu thường để ngoài sân, hàng ngày mở ra phơi nắng. Khoảng 2÷5 ngày sau khi bắt đầu ngâm, một số quá trình lên men xảy ra, làm đậu tương nổi lên mặt nước, ta có thể lấy que khuấy cho đậu chìm xuống. Sau 7÷9 ngày, nước đậu sẽ được, có mùi vị tương rõ rệt. Khi nước đậu được cần đem ngả tương ngay nếu để lâu hơn nước đậu sẽ bị thối hỏng.

c) Ngả tương, để chín và bảo quản

Ngả tương là đem 2 bán chế phẩm đã sản xuất ở trên trộn vào nhau và thêm nước muối cho đủ tỉ lệ, rồi nghiền nhỏ. Trong giai đoạn ủ chín ta nên để chum tương ngoài sân, ban ngày phơi nắng, đêm đậy lại, tránh mưa và ruồi nhặng. Mỗi buổi sáng dùng que tre đánh cho tương chóng nhuyễn.

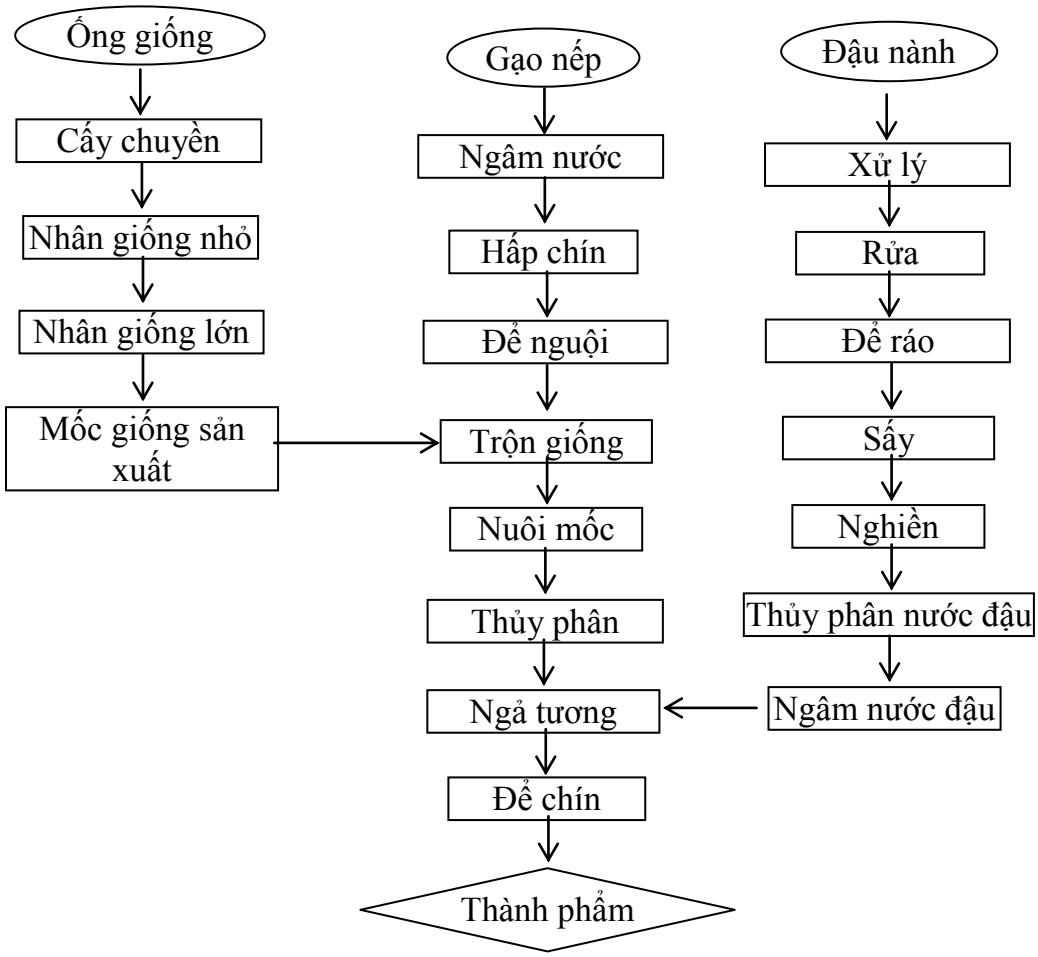
5.4. Kỹ thuật sản xuất tương công nghiệp

Phương pháp sản xuất tương công nghiệp cũng có nội dung, các giai đoạn sản xuất tương tự như phương pháp sản xuất tương thủ công. Tuy nhiên, phương pháp này cũng có một số đặc điểm đặc trưng sau:

Sử dụng loài nấm mốc thuần chủng, chủ yếu là các chủng thuộc *Aspergillus oryzae*. Đảm bảo được các điều kiện nuôi nấm hoàn toàn ổn định, do đó chất lượng tương sẽ hoàn toàn ổn định; Có thể điều chỉnh được các điều kiện lên men, thủy phân trong quá trình sản xuất nên chất lượng tương càng cao và ổn định hơn.

5.4.1. Sơ đồ quy trình sản xuất tương công nghiệp

Hình 2.25 trình bày sơ đồ quy trình sản xuất tương công nghiệp.



Hình 2.25. Sơ đồ quy trình sản xuất tương công nghiệp

5.4.2. Thuyết minh quy trình

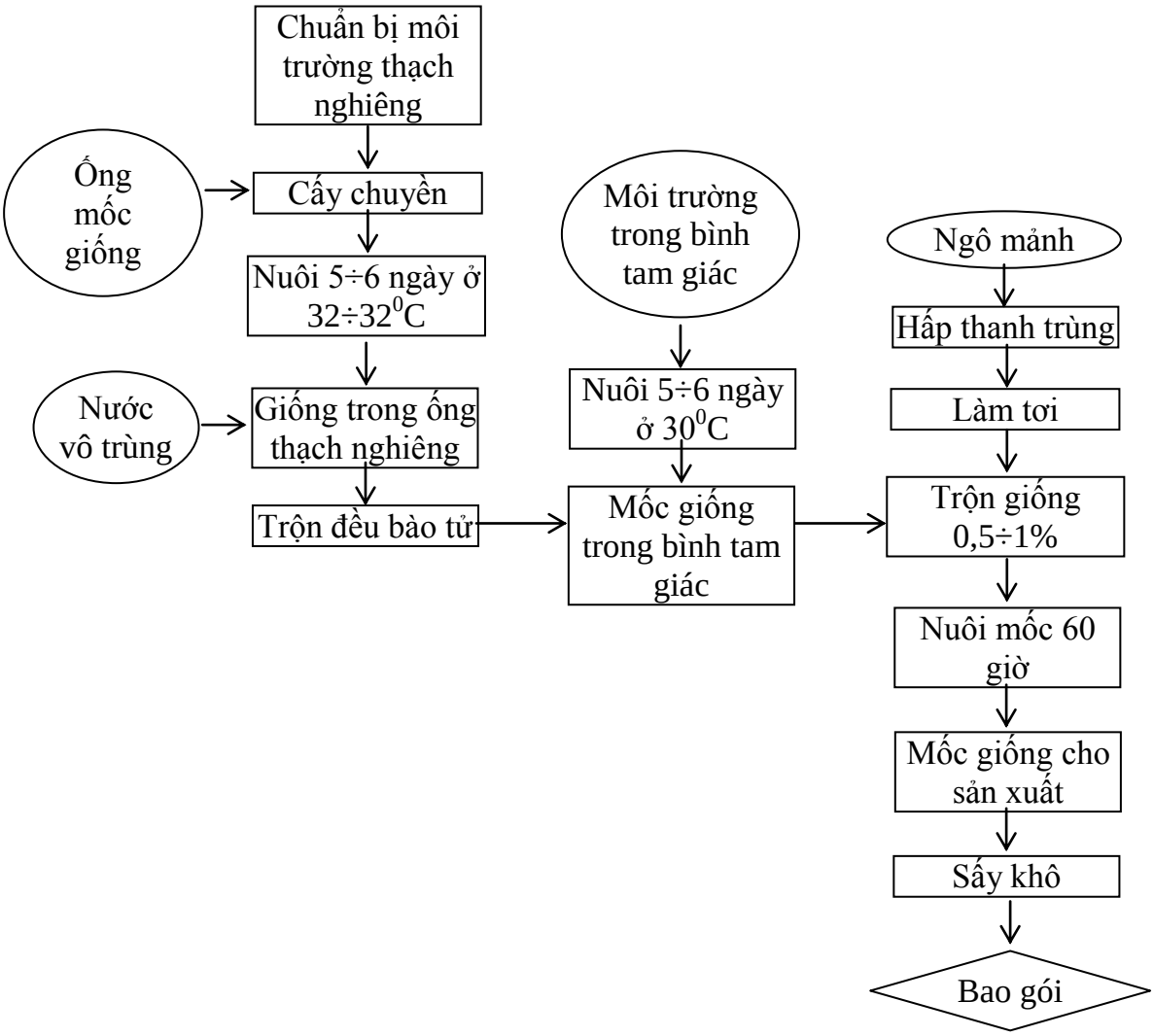
a) Làm mốc tương

Mục đích của giai đoạn này là tạo được lượng giống vừa đủ cho sản xuất với lượng bào tử đạt được là cao nhất. Đồng thời giống nấm mốc phải được thuần khiết về chủng loại.

Làm mốc tương công nghiệp được tiến hành theo 3 công đoạn: mốc giống, mốc sản xuất và xử lý mốc sản xuất.

* Giai đoạn làm mốc giống

Quy trình làm mốc giống trong sản xuất tương công nghiệp được mô tả ở hình 2.26.



Hình 2.26. Quy trình làm mốc giống trong sản xuất tương công nghiệp

Giai đoạn làm mốc giống cần phải tiến hành theo 3 bước: Nuôi cấy giống trong ống thạch nghiêng hay là giữ giống trong ống nghiệm; Nuôi cấy trong bình tam giác (Nhân giống nhỏ); Nuôi cấy trên sàng, nia (Nhân giống lớn).

- Nuôi cấy trong ống thạch nghiêng:

Lấy ống giống cấy chuyền sang ống thạch khác. Yêu cầu ống giống phải tuyệt đối đảm bảo thuần khiết, không được lẫn bất kỳ một loài vi sinh vật nào khác. Môi trường thạch nghiêng phải đảm bảo đầy đủ chất dinh dưỡng

- Nuôi cấy giống trong bình tam giác (nhân giống nhỏ): Cách làm môi trường trong bình tam giác:

+ Môi trường gạo: gạo tẻ loại tốt, nấu cơm, hạt cơm chín đều, không quá nhão, quá khô; độ ẩm khoảng 45%; để nguội, bóp rời thành từng hạt; cho vào bình tam giác thành lớp dày khoảng 1cm.

Đậy nút bình và giấy chống ẩm. Hấp thanh trùng áp lực 1 atm trong vòng 30÷45 phút.

+ Môi trường ngô mảnh: ngô mảnh (kích thước 0,2÷0,5mm) cho nước theo tỉ lệ 90% khối lượng so với ngô, trộn đều trong khay hoặc xoong để 1÷2 giờ cho ngấm nước đều. Bóp tơi cho vào bình tam giác khác nhau thành lớp dày khoảng 1cm. Đậy nút bình và giấy chống ẩm. Hấp thanh trùng đồng thời làm chín ở áp suất 1atm (120^0C) trong thời gian 60 phút, lấy ra để nguội lắc cho khỏi vón cục.

+ Môi trường cám: chọn cám tốt, mới nhưng loại thô không cần mịn hạt, sau đó làm như đối với ngô mảnh. Thường sử dụng các bình tam giác dung tích 0,3÷0,5 lít hay 1 lít có miệng rộng. Sau khi chuẩn bị môi trường trong bình thủy tinh ta tiến hành gieo cấy giống vi sinh vật. Trước tiên cần phải chuẩn bị lấy 5ml nước vô trùng vào trong các ống nghiệm. Sau đó đổ nước vô trùng cho bào tử hòa vào trong nước đồng thời cấy chuyền chúng sang bình tam giác.

Trung bình cứ 1 ống giống có thể cấy chuyền thành 2÷3 bình tam giác, có dung tích khoảng 1 lít. Lắc cho giống phân bố đều trong môi trường và tiến hành nuôi chúng trong điều kiện thích ứng. Thường nuôi khoảng 5÷6 ngày là được. Yêu cầu cơ bản trong giai đoạn này là làm sao tạo được nhiều bào tử phát triển mạnh khỏe. Trường hợp nào thấy bình bị nhiễm thì phải loại bỏ ngay.

- Nuôi cấy mốc trên mành, dần, sàng hoặc khay (nhân giống lớn):

Chuẩn bị môi trường làm mốc trên mành: nguyên liệu thường dùng là ngô mảnh có kích thước khoảng 0,2÷0,5mm, trộn với nước theo tỉ lệ 80÷90% trọng lượng so với ngô nếu hấp dưới áp lực cao. Trộn xong để 3÷4 giờ cho ngô ngấm nước đều rồi hấp chín. Thời gian hấp ngô mảnh khoảng 3÷4 giờ, dài hơn so với thời gian hấp cám hoặc gạo nếp. Nguyên liệu sau khi hấp xong phải chín đều, không được quá bết hoặc quá khô. Độ ẩm còn lại khoảng 45÷50% là vừa.

Cách gieo cấy và nuôi mốc trên mành: nguyên liệu dỡ ra, làm nguội nhanh. Nếu ít có thể bóp bằng tay cho tơi ra, nếu nhiều cho qua máy đánh tơi và dùng quạt thổi. Sau khi làm nguội đến 26÷38^0C thì trộn giống từ bình tam giác vào, tỉ lệ 0,5÷1% hoặc có thể cao hơn. Sau khi trộn giống, ủ môi trường vào mành, khay thành luống cao 0,3m. Khay, mành được đặt ở 30÷32^0C, độ ẩm 85÷100%. Thời gian ủ khoảng 6÷8 giờ. Sau 3÷4 giờ trộn đều 1 lần.

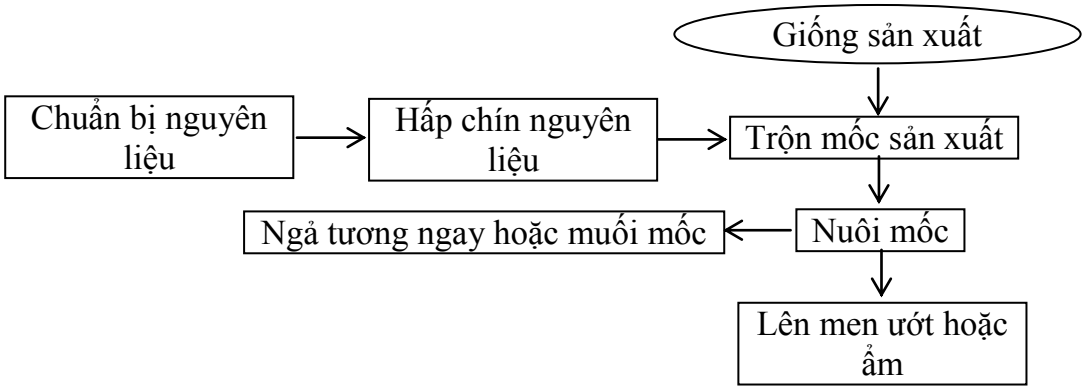
Mốc đã muối có thể dùng ngả tương luôn hoặc để sau ít lâu, sau 6÷8 giờ nhiệt độ khối môi trường lên tới 34÷36^0C và bào tử đã nảy mầm gần hết, nhưng chưa hình thành sợi dài. Lúc này cần rải mỏng môi trường thành lớp dày 1,5÷2cm. Cần giữ cho nhiệt độ môi trường không vượt quá 36^0C. Lượng nhiệt tỏa ra nhiều nhất ở khoảng 10÷24 giờ sau khi trộn giống. Sau khi nuôi 34÷36 giờ, nhiệt độ trong khối nuôi bắt đầu giảm, cần phải điều chỉnh lên 34÷35^0C để duy trì sự hình thành bào tử của nấm mốc. Thời gian nuôi mốc giống trên khay, mành thường vào khoảng 60 giờ. Nếu thấy hình thành bào tử chậm thì có thể kéo dài đến 70÷72 giờ. Mốc giống khi lấy ra thường có độ ẩm 32÷35% có thể dùng ngay làm giống cho công đoạn mốc sản xuất. Nếu không dùng ngay thì phải đem sấy khô đến độ ẩm 8% giữ dùng dần hay cung cấp cho các nơi sản xuất. Nhiệt độ phòng sấy không được quá 40^0C. Các bao mốc giống cần được bảo quản nơi khô ráo, mát (có thể trong tủ lạnh 4÷5^0C) tránh ánh nắng. Thời gian bảo quản tùy điều kiện có thể 1÷2 tháng hoặc lâu hơn.

* Giai đoạn làm mốc sản xuất

Trong công đoạn này ta sản xuất ra 1 bán thành phẩm của tương và vẫn thường

gọi là mốc tương để đưa vào chế biến thành tương. Yêu cầu của mốc sản xuất khác về cơ bản so với mốc giống. Ở đây ta không làm ra sản phẩm có nhiều bào tử để làm giống, mà phải làm ra sản phẩm trong đó tinh bột được chuyển hóa nhiều thành đường và có enzyme amylase, protease hoạt động.

Quy trình sản xuất (hình 2.27)



Hình 2.27. Quy trình làm mốc sản xuất trong sản xuất tương công nghiệp

Thuyết minh:

- Chuẩn bị nguyên liệu: nguyên liệu là gạo nếp, có thể dùng ngô để thay thế một phần hoặc toàn phần. Ngô cần được nghiền thành mảnh nhỏ 0,3÷0,5mm trên máy nghiền, sao đó sàng bỏ mày. Trung bình sản xuất 100 lít tương cần 30÷33 kg gạo nếp hoặc ngô mảnh.

- Hấp chín: gạo nếp đem vo sạch, ngâm nước xăm xắp mặt 8÷12 giờ. Ngâm xong vớt ra để cho ráo rồi cho vào hấp. Hàm lượng nước của gạo đã ngâm thường là 34÷36%. Ngô mảnh và nước tỉ lệ 90÷100% khối lượng ngô nếu hấp dưới áp lực cao, theo tỉ lệ 80÷90% nếu đồ (hấp áp lực thường). Trộn xong để 3÷4 giờ cho ngô ngấm nước đều, rồi đưa hấp. Hấp khoảng 3÷4 giờ nếu hấp áp lực thường, 1÷2 giờ nếu áp suất cao hơn. Nhiệt độ hấp thường là 100^0C hoặc cao hơn.

- Trộn giống: xôi hoặc ngô đã hấp chín được dùng xẻng đánh tơi và làm nguội hoặc cho qua máy đánh tơi và dùng quạt thổi nguội. Khi nhiệt độ hạ thấp xuống 38÷40^oC thì trộn mốc giống vào. Tỉ lệ giống là 0,5÷1%. Có thể dùng nước sôi để nguội trộn cho nhanh và tốt hơn. Sau khi trộn giống ta rải mỏng nguyên liệu lên mành tre, nong hoặc khay thành lớp dày 2÷2,5cm rồi đưa vào buồng nuôi mốc.

+ Nuôi mốc: nhiệt độ trung bình phòng nuôi mốc là 30÷32^0C không được để quá 38^0C. Thời gian nuôi mốc sản xuất tương công nghiệp khác nhau tùy theo cách xử lý mốc tiếp theo. Thời gian nuôi mốc nhanh gấp 2 lần so với phương pháp thủ công.

+ Nếu mốc sau khi nuôi dùng tiến hành thủy phân (lên men ướt và ủ mốc mật) thì thời gian ra mốc khoảng 36÷48 giờ sau khi trộn giống. Lúc đó hoạt động của amylase, protease của mốc đều nằm ở khoảng cực đại, còn hàm lượng đường khử thì vào khoảng 20÷25%.

+ Nếu mốc sau khi nuôi không thủy phân mà tiến hành ngả tương hoặc muối mốc ngay thì thời gian ra mốc cần kéo dài khoảng 60÷70 giờ. Lúc đó hàm lượng đường khử đạt tới mức cao 34÷36%, như vậy mốc sẽ ngọt hơn khi ở 36÷48 giờ.

* Giai đoạn xử lý mốc sản xuất

Xử lý mốc sản xuất sau khi lấy ra với mục đích giữ mốc lại ở trạng thái thích

hợp, hoặc tiến hành thủy phân (lên men) thêm để mốc trở nên ngọt hơn.

Có thể chia ra xử lý không thủy phân và xử lý bằng thủy phân:

- Xử lý không thủy phân (ngả tương ngay hoặc muối mốc):

+ Ngả tương ngay: là cách làm đơn giản nhất, mốc lấy ra không qua một chế biến đặc biệt nào nữa. Cách làm này nhanh gọn nhưng tương không ngon bằng muối mốc hoặc có xử lý thủy phân.

+ Muối mốc: mốc lấy ra bóp thành những hạt rời cho vào thùng hay chum vại, trộn với nước muối, lượng muối dùng là ¾ toàn bộ lượng muối của mẻ tương. Lượng nước cho vừa xăm xắp mặt mốc (1kg muối khoảng 1÷1,2 lít nước).

- Xử lý mốc bằng thủy phân (lên men ướt hoặc ẩm): những mốc được xử lý bằng thủy phân thì thời gian lấy mốc ra khỏi phòng nuôi khoảng 36÷48 giờ sau khi trộn giống là thích hợp. Xử lý mốc bằng thủy phân có 2 cách: lên men ướt và lên men ẩm.

+ Lên men ướt (còn gọi là đường hóa): Mốc lấy ra được trộn với 100÷150% trọng lượng nước đun sôi để nguội 60^0C. Để tránh dùng nhiều nước làm loãng tương, có thể dùng nước đậu để trộn. Nghiền hoặc xay nhỏ hỗn hợp, cho vào nồi hoặc thùng chứa trên các lò tiếp nhiệt và giữ ở nhiệt độ 55÷58^0C, pH tự nhiên 5,5÷5,7. Trong điều kiện này tinh bột được thủy phân nhanh chóng và thời gian đường hóa chỉ cần 6÷8 giờ. Để lâu hơn hàm lượng đường không tăng mà độ acid tăng làm tương chua. Đường hóa xong có thể đưa ngả tương hoặc đem muối như trên để giữ lại.

+ Lên men ẩm: tức là đường hóa theo kiểu ủ mốc mật Cự Đà. Thực chất của phương pháp này là lợi dụng sự tự bốc nóng của khối mốc trong điều kiện có độ ẩm vừa phải, để đưa nhiệt độ lên vừa thích hợp cho quá trình thủy phân.

Cách tiến hành: mốc sau khi lấy ra được bóp rời từng hạt. Trộn với nước, lượng nước bằng 25÷30% trọng lượng mốc.

Trộn xong ủ trên nong thành đống cao khoảng 0,5m chung quanh phủ bạt, hoặc đổ vào thùng vại trên đậy nắp. Toàn bộ thời gian ủ mốc mật thường khoảng 4 ngày đêm là được. Mốc sau khi ủ có thể ngả tương ngay hoặc đem muối để giữ lại.

b) Làm nước đậu

Có thể chia theo 3 cách sau:

* Kiểu ngâm nước đậu thông thường

Tương tự như ngâm nước đậu thủ công, tiến hành qua 2 giai đoạn: rang đậu và ngâm đậu. Nếu có máy sấy thì có thể sấy đậu ở 180÷200^0C trong 45÷60 phút, sấy xong để nguội, nghiền thành bột rồi đưa vào ngâm hoặc thủy phân. Trộn bột với nước tỉ lệ 1/5, đun sôi hỗn hợp trong 45÷60 phút rồi đổ vào thùng hoặc chum vại để ngâm. Để rút ngắn thời gian và tránh nước đậu hỏng, ta cho vào hỗn hợp 10% nước đậu của đợt trước. Ngâm ở nhiệt độ 30÷32^0C trong 6÷7 ngày là thích hợp.

* Kiểu ngâm nước đậu có thủy phân

Đậu rang ngâm bình thường như trên, khi đã được, vớt lấy toàn bộ phần cái trộn đều vào hỗn hợp nước và mốc chuẩn bị để lên men ướt (đường hóa) trong cách xử lý mốc bằng thủy phân. Hỗn hợp cái đậu, nước và mốc được nghiền nhỏ rồi cho thủy phân ở 55÷58^0C trong 6÷8 giờ. Nếu ta sản xuất mốc không theo kiểu có đường hóa thì có thể thủy phân riêng cái đậu, nhưng cần có một ít mốc (nuôi sau 36÷48 giờ) để dùng thủy phân. Nước được trộn vào với lượng 15÷20% trọng lượng cái đậu, xay nhỏ hỗn hợp cho vào nồi trên lò tiếp nhiệt và giữ 55÷58^0C trong khoảng 14÷15 giờ. Sau đó cho ngả tương như trên.

* Kiểu thủy phân đậu không ngâm

Bột đậu rang, trộn với nước theo tỉ lệ 1:1 rồi trộn vào mốc đã nuôi 36÷48 giờ, sau đó tiến hành ủ mốc như bình thường. Mốc mật ủ xong được đem ngả tương. Thủy phân đậu cùng với việc lên men ướt mốc (đường hóa). Bột đậu rang trộn vào hỗn hợp mốc và nước đã chuẩn bị để đường hoá. Nghiền nhỏ hỗn hợp cho vào các nồi trên lò tiếp nhiệt. Giữ ở nhiệt độ 55÷58^{0}C trong thời gian 6÷8 giờ. Sau đó đem ngả tương như thường lệ.

c) Ngả tương, để chín, bảo quản

Ngả tương là đem các bán chế phẩm được sản xuất từ nguyên liệu có nhiều bột đường (gạo, nếp, ngô) và từ nguyên liệu có nhiều protein (đậu nành) đã được chế biến ở trên trộn vào nhau, cho thêm nước và muối đúng theo phối liệu rồi nghiền nhỏ. Ngả xong rồi để một thời gian cho tương chín rồi đưa bảo quản hoặc xuất xưởng. Thời gian để chín khoảng 5÷10 ngày trong nhiệt độ của mùa hè, về đông thời gian này cần để lâu hơn.

6. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHAO

Chao là một sản phẩm lên men từ sữa đậu nành đông đặc do vi sinh vật tiết ra enzyme để chuyển biến protein, chất béo, glucid có trong sữa đậu nành thành những phân tử đơn giản như acid amin, acid béo, các đường đơn. Nhờ vậy chao có mùi thơm, béo đặc biệt.

Chao có nguồn gốc từ Trung Quốc. Do Trung Quốc sử dụng khá nhiều tiếng địa phương và có nhiều trở ngại trong quá trình chuyển đổi từ tiếng Trung Quốc sang tiếng Anh, nên hiện nay chao có rất nhiều tên gọi, ví dụ như: tosufu, fu–su, fu–ru, tou–fu–ru, teou–fu–ru, fu–ju, fu–yu và foo–yue. Một số tên gọi khác của chao đi kèm với các thương hiệu nổi tiếng như to–fu–zu ở Mandarin, hay tau–zu (tao–hu–yi) ở Taiwan. Từ "sufu" là tên đầu tiên của chao xuất hiện trên các tài liệu. Sufu có nghĩa là sữa lên mốc.

Ở các nước phương Tây, một số nhà nghiên cứu như Hesseltine, Wang gọi các sản phẩm chao là phô mai Trung Quốc. Họ đưa ra quy trình sản xuất như sau: ngâm đậu nành qua đêm, nghiền ướt để tạo chất sệt, đun sôi dịch này, lọc để lấy dịch chiết (sữa đậu nành), thêm vào muối biển hay muối sunphat Ca, Mg khi dịch vẫn còn nóng, sau đó kết lắng protein và lipid, gọi là dịch sữa đông. Kế đến đem đi ép, tách nước để thu sản phẩm.

Về mặt dinh dưỡng chao có đầy đủ các chất bổ dưỡng của sữa đậu nành, nhưng dễ tiêu hóa vì các protein, lipid, glucid đã được các enzyme của vi sinh vật chuyển hóa ra các phân tử đơn giản dễ dàng được tiêu hóa và hấp thụ.

Ở nước ta, việc làm chao đã có từ lâu đời. Đây là một sản phẩm truyền thống, có tính chất cổ truyền. Chao được làm và để lên men tự nhiên. Những mốc có sẵn trong không khí, cứ ủ là lên men và sau khi lên men, cho vào keo, đổ đủ nước muối và rượu, thêm gia vị để cho chao chín, một thời gian sau là dùng được.

Với phương pháp cổ truyền này, năng suất không cao, thời gian dài và nhất là bị tạp nhiễm nhiều loại vi sinh vật. Không những mốc chao mà còn có những mốc khác, nấm men và vi khuẩn cũng phát triển có khi có vi khuẩn gây bệnh, vi sinh vật gây thối, mốc làm đắng, có tiết độc tố mycotoxin… cho nên, đối với sản xuất công nghiệp, làm chao cần phải dựa trên cơ sở khoa học, làm có kỹ thuật để nâng cao năng suất và chất lượng.

6.1. Vi sinh vật trong sản xuất chao

Việc chọn giống để sản xuất chao rất quan trọng. Tiêu chuẩn đối với một chủng vi sinh vật để sản xuất chao như sau:

- Khuẩn ty thể của nấm phải tròn, bóng, có màu trắng hoặc màu hơi vàng để chao sản xuất ra có màu đặc trưng.

- Cấu trúc của sợi nấm phải chặt, dày, tạo một lớp màng vững chắc trên mặt bánh đậu để giữ được hình dạng ban đầu.

- Không tạo ra mùi vị khó chịu do nấm bị nhiễm.

- Tạo được enzyme có hoạt tính thủy phân đạm cao.

Vì thế muốn chao có chất lượng tốt, sản phẩm ổn định, trong sản xuất phải có vi sinh vật thuần chủng và tạo các điều kiện tối thích như nhiệt độ, độ ẩm, môi trường, pH, … để phát huy hết tính ưu việt của chúng.

Vi sinh vật dùng trong sản xuất chao là một loại mốc thuộc dòng *Mucor* và có tên là *Mucor sufu*. Nhìn chung, sợi nấm của giống *Mucor* dày hơn của giống *Rhizopus*. Vì thế, giống *Mucor* tạo một lớp màng dày và bám chặt vào bề mặt chao. Tuy nhiên, nhiệt độ phát triển của *Rhizopus* khoảng 12^0C, ở nhiệt độ này, vi khuẩn khó phát triển. Còn nhiệt độ phát triển của *Mucor* khoảng $15 \div 20^0$C. Wai (1968) cho rằng loài *Actinomucor elegant* được sử dụng rộng rãi nhất và là một trong những loài tốt nhất cho việc sản xuất chao. Ngoài ra còn có các loài *M. hiemalis, M. silvaticus, M. praini*.

Một vấn đề của các nhà sản xuất hiện nay khi sử dụng *Actinomucor repens* là khi thời tiết nóng lên (nhất là vào mùa hè) thì các hoạt động của vi sinh vật này bị ức chế, gây ảnh hưởng đến sản xuất. Tuy nhiên, một tiến sĩ Trung Quốc là Bei–Zhong Han, đã tìm ra rằng *Rhizopus oligosporus* lại hoạt động bình thường ở mức nhiệt độ cao như thế. Tuy nhiên, sản phẩm chao sẽ có màu xám hơn.

6.2. Kỹ thuật sản xuất chao truyền thống

Chao Việt Nam sản xuất theo phương pháp truyền thống có ba giai đoạn: làm miếng chao, lên mốc chao, để chao chín.

6.2.1. Làm miếng chao

Đậu nành tốt, đều hạt được ngâm qua đêm (5÷6 giờ tùy tình trạng của đậu); Đậu được xay dưới dòng nước và thu được một khối lỏng, mịn. Lược qua vải thô để loại bỏ phần bã, còn lại là phần sữa lỏng. Pha thêm nước cho đủ tỉ lệ một phần đậu, mười phần nước và nấu dung dịch sữa lỏng này trong vòng 30 phút cho sôi chín và bốc mùi thơm. Dung dịch sữa lỏng để nguội xuống 50^0C (có thể dùng đồ khuấy cho mau nguội) và dùng nước chua để cô kết.

Nước chua là nước ép của miếng chao để cho chua lên men lactic và thêm acid (ở lần làm chao đầu tiên có thể sử dụng acid từ dấm ăn hay acid acetic pha ra có pH= 3).

Lượng nước chua cho vào vừa đủ (đến khi có hiện tượng cô kết đủ). Khi cho nước chua vào, phải khuấy mạnh, khi cho đủ, thì ngưng khuấy và để cho cô kết từ từ.

- Khi cô kết hoàn toàn, khối kết đã đứng yên, phần nước ở trên được hút ra, phần đặc được cho khung gỗ có bề dày 2÷2,5cm, có vải mịn, dùng vật nặng ép lên để loại bỏ hết nước, có được miếng đậu phụ. Nếu dùng 18kg đậu nành tốt, có thể thu được 55,5kg đậu phụ có 88÷90% nước.

Đậu phụ này có hàm lượng nước cao, không thích hợp cho lên men chao vì dễ thối và vi khuẩn dễ phát triển. Nên cần ép thêm cho đến khi hàm lượng nước không quá 83% và cho cắt ra từng miếng nhỏ có kích thước 2x2x1cm hay 1x1x0,7cm.

Đậu phụ dùng làm chao có hàm lượng nước 83%, đạm không tan 9,1%, đạm tan 0,4%, chất béo 4%.

6.2.2. Lên mốc chao

Các miếng chao được xếp vào khay có đục lỗ dưới đáy và được xếp cách đều nhau một khoảng cần thiết cho thông thoáng để mốc chao mọc đều khắp trên bề mặt của miếng chao.

Đem các khay xếp vào phòng ủ và được xếp cách đều cho thông thoáng.

Tùy điều kiện nhiệt độ, độ ẩm và độ thông thoáng, trong vòng 36÷48 giờ, mốc chao có trong không khí mọc lên miếng chao. Khi miếng chao đã phủ đầy các khuẩn ty từ trắng, ngả sang vàng xám là được.

Không có mốc xanh, mốc đen phát triển, không có mùi khó ngửi là miếng chao tốt, có hàm lượng nước 74%, đạm tan 2,3%, đạm không tan 10,4% và béo 4,3%. Tùy theo mùa (mùa khô mát và mùa mưa ẩm) nên tạo điều kiện "tiểu khí hậu" thích hợp cho phòng ủ để mốc chao phát triển tốt, vi sinh vật tạp (nhất là mốc đen, mốc xanh, vi khuẩn gây thối rửa) không phát triển và các côn trùng ruồi, gián, chuột không xâm phạm được vào trong phòng ủ.

6.2.3. Để chao chín

Khi mốc chao đã đủ chín, có mùi đặc trưng của chao, không có mùi úng thối thì đem sắp vào keo, lọ để đổ dung dịch mặn vào và tiếp tục cho chao chín.

Tùy theo lượng muối trong miếng chao và nồng độ muối trong nước chao mà người ta có khuynh hướng làm hai loại chao: chao nổi và chao chìm. (Thật ra thì không đáng để phân loại như thế). Chao ít muối (chao nổi) mau chua hơn chao nhiều muối (chao chìm) nhưng dễ bị thối. Để làm loại chao này không thối, người ta phải dùng bột chống mốc Sodium benzoat. Nên sử dụng nước muối 13÷14^{0}Be và 10% rượu etylic cùng với gia vị để lên men yếm khí làm cho chao chín từ từ. Thường thì từ 40 đến 60 ngày thì chao chín.

Hấp keo chao ở lò nóng để thanh trùng trước khi phân phối tiêu dùng. Chất gia vị thường được dùng để làm màu sắc và tăng hương vị chao. Người ta dùng gạo lứt đỏ và đậu nành rang nghiền ra thành bột để cho vào dung dịch mặn, cùng với ớt xay nhỏ để làm chao có màu đỏ hoặc dùng gạo lên men, nghiền thành bột để cho thêm hương vị rượu cho chao. Đôi khi cũng dùng tiêu, hương hoa hồng.

Theo phương pháp truyền thống, các công đoạn diệt khuẩn rất cần thiết để ngăn sự tạp nhiễm vi sinh vật nhất là vi khuẩn chưa được quan tâm nên phẩm chất chao thường xảy ra có mùi hôi thối, vị đắng. Để sản xuất chao có chất lượng tốt, một số công đoạn và yêu cầu vệ sinh cần được bổ sung vào quy trình cho hoàn chỉnh như sau:

- Khi cô sữa đậu nành bằng nước chua, nên lưu ý cho tỉ lệ khoảng 6% muối ăn để giúp ngăn ngừa vi sinh vật tạp nhiễm phát triển làm ung thối chao;

- Nên dùng $CaSO_4$ hay $MgSO_4$ với nồng độ 0,03÷0,04N thay cho nước chua để cô kết sữa đậu nành;

- Trước khi cho lên mốc, các miếng chao cần được thanh trùng (hấp ở 100^{0}C trong khoảng 15 phút để diệt khuẩn);

- Nên phân lập và nuôi nhân mốc chao thuần chủng trong khi gieo miếng chao để ủ, để các loại mốc đen, mốc xanh không phát triển được;

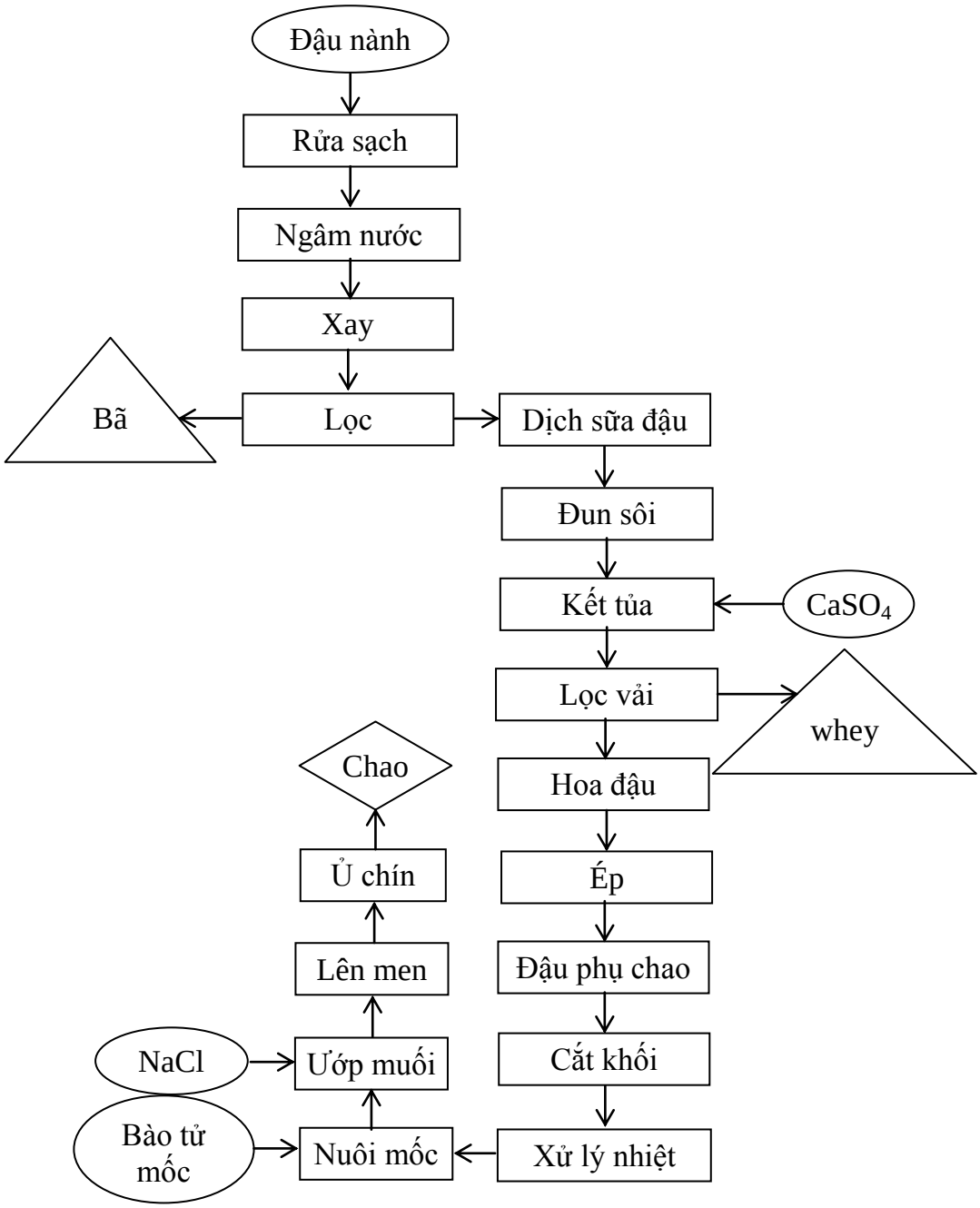
- Các mốc *Mucor elegans, Mucor hiemalis, Mucor silvaticus, Mucor subtilissimus* đều có đặc tính lên men chua tốt nhưng mốc *Mucor elegans* là tốt nhất.

Chao thành phẩm tốt, khi các miếng chao còn nguyên miếng, bề mặt nguyên vẹn, nhẵn mịn. Trạng thái của chao chắc, không rã nát, lợn cợn hạt, có màu vàng ngà đặc trưng, không đen thâm hoặc xanh đen, nước chao không đục. Chao có mùi chua đặc trưng không có mùi thối hoặc hôi. Vị của chao béo, thơm và hơi chua, dịu, không có vị đắng, tanh hoặc vị khó chịu nào khác. Chao làm từ đậu nành sạch, nước muối lắng tốt… sẽ không có cát hoặc vật thể lạ. Chao làm từ nước chua lên men lactic ở 41^0C có hàm lượng đạm toàn phần, tính trên chất khô khoảng 55%, từ acid acetic hàm lượng đạm có thể lên đến 57,1% và so với cô đặc bằng $CaSO_4$ là 54% tính trên chất khô.

6.3. Kỹ thuật sản xuất chao theo phương pháp hiện đại

6.3.1. Quy trình sản xuất

Sơ đồ quy trình sản xuất chao theo phương pháp hiện đại được trình bày ở hình 2.28.



Hình 2.28. Quy trình sản xuất chao theo phương pháp hiện đại

6.3.2. Thuyết minh quy trình

Có rất nhiều loại chao khác nhau nhưng về cơ bản quy trình công nghệ nào cũng gồm 5 bước: Sản xuất đậu phụ làm chao; Nuôi mốc; Ướp muối; Lên men và chế biến; Đóng gói.

a) Chuẩn bị đậu phụ chao

Đậu nành qua lựa chọn đem phơi khô, rửa sạch rồi ngâm nước khoảng 5÷6 giờ để vỏ đậu mềm, sau đó xả nước và đãi cho tróc bớt vỏ đi. Xay ướt trong cối đá đến khi được dịch sữa đậu nành.

Để đảm bảo đậu phụ chao không chứa vi sinh vật tạp và vi sinh vật kỵ khí, sữa phải được đun sôi ngay và giữ ở nhiệt độ này trong 5 phút, sau đó lọc qua vải màn để tách phần bã còn lại. Lượng sữa được đem đi kết tủa protein.

* Mục đích: Đây là công đoạn đông tụ sữa đậu thành hoa đậu bằng cách đưa dịch sữa đậu về khoảng pI của protein đậu nành (pI ≈ 4).

* Tác nhân kết tủa

- Có thể dùng $CaSO_4$, $MgSO_4$ hoặc nước chua (nước ép sau khi làm đậu phụ kỳ trước, để lại mấy ngày cho chua). Trong sản xuất chao thực tế người ta thấy $CaSO_4$ giúp thu hồi protein tốt nhất. Hàm lượng thường dùng là 2g/l, sau khi nâng nhiệt độ của dịch sữa lên 100^0C thì lượng đạm Nitơ còn lại trong nước lọc rất ít, chỉ khoảng 4÷5% so với tổng lượng Nitơ.

- Nếu so với sử dụng nước chua để kết tủa như trong ngành sản xuất đậu phụ thường dùng thì $CaSO_4$ có những ưu điểm rõ rệt: Trong dịch kết tủa không có tạp khuẩn gây thối và các vi khuẩn kỵ khí; dễ kiếm, rẻ tiền; thao tác đơn giản, do đó có thể cơ giới hóa; khi dùng đúng lượng sẽ ép được bánh đậu rắn chắc, có lượng nước phù hợp với yêu cầu phát triển của nấm mốc.

* Phương pháp thực hiện

- Đem 1 kg $CaSO_4$ (loại 98% Ca^{2+}) hòa trong 15 lít H_2O, lọc bỏ rác cặn, đun sôi dung dịch này.

- Khi cho dung dịch $CaSO_4$ vào phải tiến hành khuấy đều, nhẹ tay từ dưới lên trên để tránh hiện tượng xảy ra đông tụ cục bộ. Kinh nghiệm cho thấy khi trên mặt dịch sữa xuất hiện những luồng nước trong, màu vàng nhạt, lẫn trong hoa đậu là được. Để lắng 2÷3 phút, sau đó chắt bỏ phần nước (whey, có thể dùng nuôi gia súc). Kết tủa đem đi ép sẽ được bánh đậu phụ dùng để sản xuất chao. Thông thường hoa đậu được đưa vào một mảnh vải đặt trong khuôn ép, gói lại rồi ép. Bánh đậu sau khi ép xong không được có chiều dày lớn hơn 2cm, vì nếu quá dày thì enzyme của mốc sau này không thẩm thấu vào giữa được, làm cho bánh chao có phẩm chất không đồng đều.

* Lưu ý

- Lượng tác nhân kết tủa để sản xuất đậu phụ chao cao hơn 20% so với sản xuất đậu phụ thường, vì vậy bánh đậu này rắn chắc hơn bánh đậu ăn hàng ngày rất nhiều. Lượng protein kết tủa khoảng 2,5÷3,5% khối lượng chất khô ban đầu của đậu nành. Cần chú ý nếu cho quá nhiều $CaSO_4$, trên mặt bánh đậu sẽ có những khoang trắng loang lổ, dễ làm cho chao có vị nồng và đắng chát, đồng thời giảm vị béo ngậy của chao sau này.

- Bánh đậu được coi là có chất lượng tốt là bánh đậu sau khi ép xong phải rắn chắc, lấy dao cắt để lại vết cắt mịn, không có lỗ rỗng. Thành phần bánh đậu như sau là tốt nhất: hàm lượng nước nhỏ hơn 60% (cao hơn dễ ảnh hưởng đến quá trình nuôi

mốc), tuy nhiên thông thường hàm ẩm khoảng 63÷72%, pH = 6÷6,5.

b) Nuôi mốc

Là giai đoạn quan trọng nhất trong quá trình sản xuất chao. Sự phát triển của mốc có ý nghĩa rất lớn trong sự chuyển hóa protein và làm cứng bánh chao. Bản chất của quá trình này là sinh tổng hợp hệ enzyme cho giai đoạn lên men.

* Phương pháp thực hiện

- Bánh đậu thu được đem cắt khối, kích thước thông thường là 4x4x2 cm, có thể thay đổi tùy thị hiếu người tiêu dùng. Mục đích việc này là tăng diện tích bề mặt nuôi mốc.

- Trước khi cấy mốc, bánh đậu cần được xử lý nhiệt để tiêu diệt vi sinh vật tạp nhiễm. Có thể chần nước sôi hoặc sấy ở 100^0C trong 15 phút.

- Mốc chao sau khi đã được sản xuất ở dạng bào tử, cấy trực tiếp vào bánh đậu không cần phải thêm chất dinh dưỡng nào khác, ta có thể cấy giống mốc vào bánh chao bằng máy hoặc thủ công. Lượng giống mốc cho vào theo tỉ lệ: 100kg bánh đậu cần dùng 0,5kg giống mốc bào tử, 500kg bánh đậu cần 1kg và 1000kg ta dùng 1,2kg. Nếu cho mốc bằng phương pháp thủ công thì lượng giống mốc phải nhân với hệ số 0,2÷0,3.

- Sau khi cấy mốc xong thì phải đảm bảo nuôi ở nhiệt độ 28÷30^0C, hàm ẩm không khí là 90% ở những giờ đầu. Sau 14÷16 giờ nuôi, trên bề mặt đậu xuất hiện những khuẩn ty màu trắng ta phải đưa hàm ẩm lên 95%. Ở những giờ cuối nuôi mốc cần phải làm giảm hàm ẩm xuống để hạn chế sự phát triển của nấm mốc, vì nếu mốc quá tốt (khuẩn ty dài trên 2,5cm) sẽ có hoạt lực enzyme quá cao, thủy phân protein quá mạnh, làm cho chao nặng mùi không hợp với thị hiếu người tiêu dùng.

- Đối với khí hậu nước ta, kinh nghiệm trong sản xuất thường điều chỉnh hàm ẩm của bầu không khí xung quanh bánh đậu nuôi mốc bằng cách: 5 giờ đầu phủ xô màn ướt lên các giá mốc, sau 12 giờ nhúng nước khăn một lần. 28÷30 giờ sau, bỏ khăn ẩm để giảm ẩm tránh tình trạng kéo dài thời gian nuôi, đồng thời khống chế được hàm lượng men cho phù hợp với yêu cầu của công nghệ sản xuất.

- Khống chế hàm ẩm thích hợp với điều kiện sinh trưởng và phát triển của nấm mốc là vấn đề hết sức phức tạp, phải nắm vững 3 yếu tố có liên quan mật thiết với nhau để điều chỉnh cho thích hợp: Hàm ẩm của bánh đậu sau khi ép; Hàm ẩm của phòng nuôi mốc; Hàm ẩm của không khí.

- Đặc biệt những tháng hạn khô, độ ẩm của không khí có khi xuống tới 60÷70% phải tăng cường độ ẩm, những tháng ẩm ướt phải tùy theo thời gian sinh trưởng của mốc mà khống chế hàm ẩm của phòng nuôi cho thích hợp. Nói chung độ ẩm của không khí thấp thì mốc sẽ cằn cỗi, nếu độ ẩm cao nuôi sẽ không đúng thời gian quy định, mốc sẽ lâu già làm cho các khâu trong dây chuyền sản xuất không nhịp nhàng.

- Nuôi mốc đúng kỹ thuật sau 36÷42 giờ mốc có hoạt lực thủy phân protein cao nhất là 2,8÷3,5 đơn vị protease. Khi thấy mốc chuyển từ màu trắng sang màu hung nâu là kết thúc giai đoạn nuôi mốc. Lúc này khuẩn ty của mốc có thể đạt đến 2cm.

- Để việc nuôi mốc tốt cần lưu ý phòng nuôi mốc phải có thiết bị điều chỉnh nhiệt độ (10÷20^0C), giữ được ẩm và nền phòng phải có khả năng thoát nước. Một phòng chỉ nên nuôi mốc trong 1000kg đậu. Thông thường đối với các phòng thông gió tự nhiên 100kg bánh đậu dùng để nuôi mốc cần có dung tích 6÷7m^3 khí trên diện tích 2m^2.

- Ở Trung Quốc, vào mùa xuân hoặc thu, sau 3÷7 ngày thấy hệ nấm mốc trắng

mọc trên bề mặt các miếng đậu phụ, lúc này ngừng quá trình nuôi mốc và đậu phụ được lấy ra ngay để ướp muối.

c) Ướp muối

* Mục đích: ngừng sự phát triển của nấm mốc, chuẩn bị chuyển sang lên men.

* Phương pháp thực hiện

- Đậu phụ chao lên mốc được chuyển vào các hũ sành lớn. Xếp vào hũ sành cứ một lớp đậu một lớp muối. Lượng muối thích hợp để ngâm là 130÷150g/kg bánh đậu đã mọc mốc. Đến lớp đậu cuối cùng thì phủ một lớp kín bề mặt đậu. Muối để ướp phải sạch. Thời gian ướp muối khoảng 24 giờ (ở Trung Quốc là 3÷4 ngày), sau đó các miếng đậu được lấy ra, rửa nước sạch và xếp vào hũ khác để chế biến.

- Ngoài phương pháp ướp muối, còn có phương pháp nhúng muối, thực hiện như sau: chuẩn bị dung dịch muối có nồng độ 300÷320g/l và nhúng bánh đậu đã lên men trong liên tục 6÷7 giờ thì nhấc lên, để khô 24 giờ, sau đó cho vào thiết bị lên men.

d) Lên men và chế biến

* Mục đích

Sau nuôi mốc, lên men là công đoạn rất quan trọng, giai đoạn này quyết định chất lượng của sản phẩm. Trong giai đoạn này các enzyme của nấm mốc sẽ tham gia hàng loạt các phản ứng sinh hóa, mà chủ yếu là protease với sự thủy phân protein thành các acid amin, lipid và các ester thơm, tạo thành các sản phẩm và hương vị đặc trưng cho chao. Hương vị này do 4 nhóm chính tạo nên: các acid amin và NH_3, các sản phẩm thủy phân protein, các acid béo và methyl acetone.

* Phương pháp thực hiện

Thiết bị hũ lên men khoảng 80 lít, thường bằng sành.

- Đầu tiên phải chuẩn bị hỗn hợp áo ngoài (dressing mixture), các hỗn hợp này rất đa dạng vì có rất nhiều loại chao. Ví dụ: *Chao đỏ:* bổ sung red Koji (cơm mọc mốc *M.purpureus*); *Chao Kwangtung (Đài Loan):* dùng bột ớt đỏ, hồi bên cạnh muối và red Koji.

- Xếp lần lượt từng lớp đậu và hỗn hợp áo ngoài vào hũ đến 80% thể tích hũ sau đó cho vào dung dịch nước muối nồng độ khoảng 20%.

Mặc dù có nhiều loại hỗn hợp áo ngoài cho chao, nhưng công thức chung như sau: Muối ăn 2kg; Bột đậu nành nghiền 1kg; Red Koji 0,6kg; Jaggery 0,6kg; Nước 0,6kg;

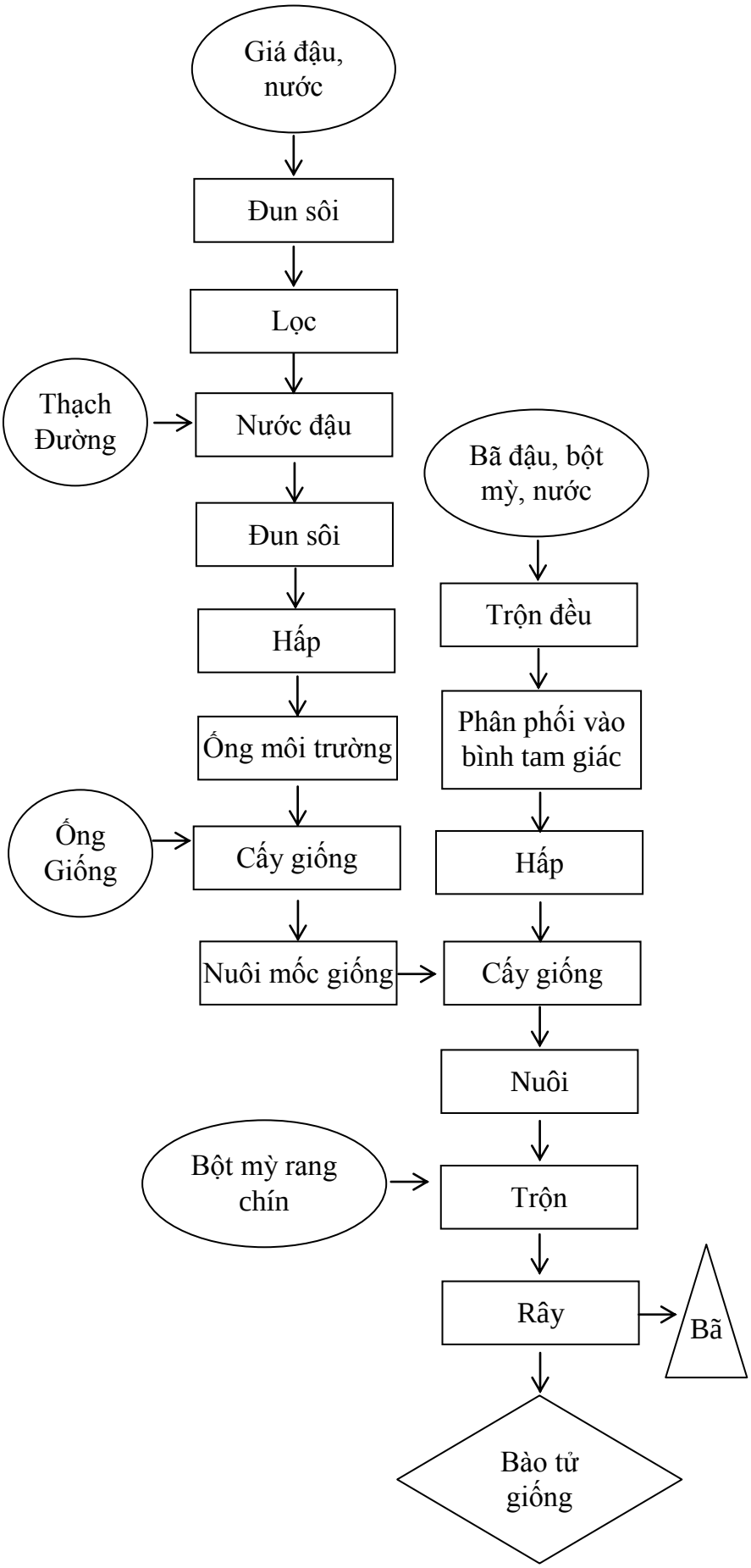
Một số công thức khác: Chao hồng (rose sufu): bổ sung thêm tinh chất hoa hồng; Chao Tsao (Tsao sufu): bổ sung thêm hèm rượu gạo.

- Sau đó cho thêm rượu trắng vào, mục đích chính là để bảo quản: chống vi sinh vật, đặc biệt là vi sinh vật gây thối. Các hũ sành được đậy bằng nắp gỗ và ủ kín trong vòng 3 tháng (về nguyên tắc chao để càng lâu càng ngon).

- Trong phương pháp truyền thống, đậu phụ được đem phơi nắng khoảng vài giờ, mục đích là tận dụng UV của ánh sáng mặt trời tiệt trùng bề mặt đậu phụ. Tuy nhiên phương pháp này sẽ dẫn đến tổn thất do sự phân hủy của đậu phụ.

6.3.3. Kỹ thuật sản xuất bào tử mốc

Kỹ thuật sản xuất bào từ giống trong sản xuất chao được trình bày trên sơ đồ hình 2.29.



Hình 2.29. Sơ đồ sản xuất bào tử giống trong sản xuất chao

a) Sản xuất giống ống thạch

Sản xuất giống ống thạch là khâu đầu tiên của công tác giống vì vậy phải hết sức thận trọng, mọi công việc đều phải tiến hành trong điều kiện vô trùng để giống không bị tạp nhiễm. Môi trường nuôi cấy có nhiều loại, môi trường tiêu biểu có thành phần như sau: Thạch 18÷20g; Đường 20g; Nước giá đậu 1000ml

Cách làm:

- Rửa sạch 300g giá đậu cho vào 1000ml nước, đun sôi nửa giờ, chắt lấy nước, bổ sung thêm nước cho đủ 1000ml, cho thạch và đường vào đun sôi, lọc, lại đun sôi tiệt trùng lần nữa, điều chỉnh pH môi trường đạt 4,5÷5,0 bằng acid citric hoặc acid acetic.

- Trường hợp nếu không có giá đậu có thể lấy hạt đậu nành, ngâm vào nước từ 6÷8 giờ, tùy theo thời tiết khác nhau. Rửa sạch gạn bỏ nước, cho nước mới vào theo tỉ lệ một đậu bốn nước, đun 3÷4 giờ, chắt lấy nước. Thường 100g đậu lấy được 200ml dung dịch. Cứ 1000ml dung dịch lại cho thêm 25÷30g thạch và 4% đường maltose, lọc qua vải màn ta được môi trường.

- Trước khi phân phối môi trường vào các ống nghiệm, ống nghiệm phải được cọ sạch, thanh trùng, đậy nút bông, sấy ở nhiệt độ 100^0C trong 1 giờ. Môi trường chứa trong mỗi ống nghiệm chỉ được bằng 1/5 dung tích của nó, không để dính môi trường vào miệng ống dễ gây nhiễm.

Sau khi phân phối xong đậy nút bông, lấy giấy dầu bịt kín đầu ống nghiệm, đưa vào thanh trùng ở áp lực 1,2 kg/cm^2 trong 1 giờ. Nếu không có nồi hấp áp lực thì dùng phương pháp thanh trùng gián đoạn (hấp cách thủy 1giờ lấy ra để trong tủ ấm 28÷30^0C trong một ngày rồi lại hấp tiếp đủ 3 lần). Sau lần hấp cuối cùng đặt nghiêng ống nghiệm để tạo thành ống môi trường có mặt nghiêng, rồi đặt vào tủ ấm 28÷30^0C giữ 3 ngày. Kiểm tra lại không thấy có khuẩn lạc xuất hiện mới cấy giống. Dùng que cấy giống, nuôi ở nhiệt độ 28÷30^0C trong 4÷5 ngày khi thấy mốc có màu hung là được, vì lúc này mốc ở thời kỳ có đủ bào tử. Giống ống thạch chỉ nên dùng qua 7 thế hệ, sau đó phải thay giống gốc mới.

b) Sản xuất mốc giống trung gian

Giống trung gian là loại giống đã được nhân từ ống thạch ra, sử dụng trực tiếp cấy vào nguyên liệu sản xuất. Có 2 cách nuôi giống trung gian: nuôi trong bình tam giác và nuôi trong hộp nhôm.

* Nuôi giống trong bình tam giác

- Đối với những xưởng sản xuất quy mô nhỏ (500÷1000kg chao/ngày) có thể dùng bình tam giác cỡ 1 lít để nhân giống trung gian. Thành phần môi trường: Bã đậu phụ 1kg; Bột mỳ 0,5kg. Các nguyên liệu này được phối hợp với nước để cho môi trường có hàm ẩm 70÷72%, pH của môi trường được điều chỉnh 5,5÷6,0 bằng acid citric hoặc acid acetic.

- Môi trường phân phối vào mỗi bình tam giác từ 50÷60g, đậy nút bông, dùng giấy bạc hoặc giấy dầu bịt kín miệng, hấp ở áp lực 1,2 kg/cm^2 trong 45 phút (nếu hấp ở áp lực thường phải 2 giờ).

Môi trường sau khi hấp xong có màu nâu nhạt là tốt, đậm quá là hỏng vì protein đã bị biến tính là do môi trường quá acid, thời gian hấp quá dài, áp lực hấp quá cao, nhiệt độ hấp quá lớn. Hoặc có trường hợp môi trường sau khi hấp xong bị vón cục do hàm ẩm quá cao hoặc quá thấp.

Môi trường sau khi hấp xong phải lắc ngay để nguyên liệu trong bình có đủ độ tơi và xốp giúp cho mốc phát triển tốt. Khi môi trường nguội đến 30÷35^{0}C, cấy giống ống thạch vào. Nuôi ở nhiệt độ 28÷30^{0}C khoảng 18÷24 giờ sau thấy xuất hiện các khuẩn ty ngắn màu trắng, 3÷4 ngày sau các khuẩn ty phát triển dài đến 3÷4cm.

* Nuôi trong các hộp bằng nhôm

- Ở những xưởng sản xuất quy mô lớn (1 tấn/ngày trở lên), phải dùng các hộp nhôm để nhân giống trung gian. Hộp nhôm có kích thước phù hợp là loại có đường kính 30cm, cao 12cm, có nắp đậy vừa khít, đặt trong các phòng tương đối vô trùng để nuôi.

- Thành phần môi trường cũng như đối với bình tam giác nhưng hàm ẩm phải thấp hơn 60÷67% nếu hấp trong điều kiện thủ công, 62÷67% trong điều kiện áp lực cao để sau khi hấp xong môi trường có hàm ẩm 70% phù hợp với yêu cầu phát triển của nấm mốc.

- Phương pháp hấp cũng như nuôi tiến hành giống như nuôi trong bình tam giác, tuy nhiên thời gian nuôi ngắn hơn chỉ khoảng 48÷56 giờ là được.

c) Sản xuất mốc bột bào tử

Mốc giống trung gian cho vào bột mỳ đã rang chín vàng với tỉ lệ 1/1, dùng tay sạch bóp thật nhỏ môi trường để các bào tử trên khuẩn ty quyện lẫn vào bột, rây lấy bột ta có mốc bột bào tử. Khi chưa dùng, đem bột sấy ở nhiệt độ 40^{0}C trong 4 giờ, đóng vào các túi polypropylen hai lớp, bảo quản ở nhiệt độ 0÷3^{0}C, sử dụng dần trong 7÷8 ngày.

6.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng chao

6.4.1. Ảnh hưởng của muối

Khả năng tiết enzyme protease của hệ nấm *M.hiemalis* khi cho phát triển trên môi trường đậu nành thì chỉ có một phần nhỏ enzyme này được vi sinh vật tiết ra vào trong dịch lọc môi trường, còn phần lớn protease đều nằm ở bề mặt của hệ sợi. pH tối thích cho enzyme protease là 3,0÷3,5. Khi hình thành các enzyme cố định trên hệ sợi, nếu thêm NaCl hay các muối ion hóa vào môi trường nuôi cấy, các muối này sẽ tách một số enzyme ra khỏi bề mặt hệ nấm. Khi nồng độ NaCl lên đến 0,3M, lượng protease được giải phóng là cực đại. Các hợp chất không có khả năng ion hóa như urea, glucose và saccharose sẽ không thích hợp cho quá trình tách rửa protease. Do đó, có thể kết luận rằng các enzyme protease đã liên kết với bề mặt hệ nấm bằng các liên kết ion.

Trong quá trình giải phóng các enzyme này, sẽ không có sự tham gia của các phản ứng hóa sinh, bởi vì quá trình tách rửa này diễn ra nhanh chóng ngay cả ở 0^{0}C. Vì vậy, nếu vi sinh vật được cấy trên một môi trường không có muối, sẽ chỉ có một phần nhỏ protease có mặt trong dịch lọc môi trường cấy, còn hầu hết các enzyme này sẽ nằm dính với hệ sợi.

Khi nấm mốc phát triển trong môi trường có chứa muối, không những có thể phục hồi được một lượng lớn hoạt tính của enzyme trong dịch lọc mà còn làm tăng cao tổng hoạt tính của protease, vì quá trình tách liên tục protease khỏi bề mặt hệ nấm sẽ làm cho vi sinh vật có thể tổng hợp được nhiều enzyme protease hơn.

Khi nghiên cứu, *M. Hiemalis* được phát triển trên môi trường có nồng độ muối thấp, do đó các protease sẽ bám trên hệ sợi, từ đó ta có thể nghiên cứu vị trí của các enzyme trước khi được tách ra và có thể hiểu được quá trình ngâm muối trong lên men

chao.

Như vậy, chức năng của NaCl trong quá trình lên men chao gồm có:

- Ức chế sự phát triển của nấm mốc và các vi sinh vật gây hại.

- Tạo vị mặn cho sản phẩm.

- Giải phóng các protease cố định trên bề mặt hệ nấm. Trong quá trình lên men chao, nấm mốc được cố định trên bề mặt khối đậu phụ, nhưng hệ nấm không thể thâm nhập sâu vào khối này, mặt khác các enzyme của nấm mốc tiết ra không phải là enzyme ngoại bào và chúng chỉ liên kết lỏng lẻo với hệ nấm bằng các liên kết ion. Vì vậy, các enzyme này dễ dàng bị tách rửa bởi NaCl hay các dung dịch muối ion khác, từ đó các protease này sẽ thấm vào đậu phụ đã lên mốc và tiến hành phân giải protein.

Một tổ chức kiểm tra vệ sinh và an toàn thực phẩm ở Trung Quốc khi kiểm tra các sản phẩm trên thị trường đều phát hiện các vết nhiễm độc do vi khuẩn. Tuy nhiên, hàm lượng của độc tố endotoxin trong sản phẩm rất thấp nên không gây nguy hiểm, nhưng điều đó lại cho thấy có vấn đề trong khâu vệ sinh khi chế biến. Vì nồng độ muối cao nên vi sinh vật không phát triển được, nhưng endotoxin có thể gây độc nếu nồng độ muối được giảm xuống.

6.4.2. Ảnh hưởng của sự thủy phân

Mùi vị của chao ngày càng đậm đà trong quá trình ngâm muối và ủ. Lúc này, các enzyme do nấm mốc tiết ra sẽ phân hủy các chất nền, tạo ra các sản phẩm của quá trình thủy phân protein và lipid, là những thành phần chính gây nên mùi vị êm dịu và đặc trưng cho chao. Protein của đậu nành sẽ được protease của nấm mốc thủy phân thành các peptide và acid amin. Điều này được chứng minh bằng sự có mặt của các acid amin tự do như acid aspartic, acid glutamic, serine, alanine, leucine/isoleucine trong dịch chiết. Các lipid của đậu nành bị thủy phân thành một lượng lớn các acid béo. Khi bổ sung rượu vào dung dịch, sẽ tạo nên phản ứng hóa học nhằm hình thành các ester, những hợp chất này tạo ra hương thơm dễ chịu cho sản phẩm. Ngoài ra, rượu etylic cũng có tác dụng ngăn ngừa sự phát triển của các vi khuẩn không mong muốn.

6.4.3. Ảnh hưởng của các phương pháp bảo quản

Phương pháp bảo quản truyền thống là ngâm chao trong ethanol và nước muối, với phương pháp này ethanol sẽ tạo ra vị gắt cho sản phẩm, nước muối dùng cho ngâm đậu sẽ tạo vị quá mặn. Do đó mà các phương pháp bảo quản truyền thống bị hạn chế, làm giảm lượng tiêu thụ sản phẩm.

Để tránh các hiện tượng trên, nên thực hiện phương pháp áo ngoài toàn bộ khối đậu lên mốc một lớp parafin (ở nhiệt độ 60^0C). Khối đậu này đầu tiên được ngâm trong dung dịch NaCl 7%, sau đó được phủ một lớp parafin nóng chảy. Khi parafin đông đặc lại, sản phẩm được cho vào một thùng chứa bằng thủy tinh, để ở nhiệt độ phòng trong một tháng, lúc đó lớp parafin sẽ nứt ra, phần sản phẩm bên trong sau khi kiểm tra cảm quan cho thấy kết quả đạt yêu cầu về chất lượng.

6.4.4. Ảnh hưởng của các peptide

Theo một nghiên cứu của một số trường Đại học ở Trung Quốc và các trung tâm nghiên cứu ở Nhật về hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa và tăng huyết áp của hai sản phẩm sufu (Bắc Kinh, Trung Quốc) và tofuyo (Okinawa, Nhật) – là một sản phẩm tương tự như chao; kết quả cho thấy các enzyme chống oxy hóa và tăng huyết áp trong chao có hoạt tính khá cao. Người ta cho rằng điều này là do trong chao chứa nhiều peptide có khối lượng phân tử khoảng 10 kDa.

6.5. Một số hiện tượng hư hỏng của chao.

6.5.1. Hiện tượng chao bị đắng

Hiện tượng này thường thấy ở chao bánh. Nguyên nhân là do mốc xấu, nuôi trong điều kiện không đạt yêu cầu. Khi lượng protease tổng hợp được không nhiều, khả năng thủy phân protein kém, trong đó còn tồn tại một số peptide gây nên vị đắng.

Vị đắng càng rõ khi hàm lượng acid glutamic trong sản phẩm thấp hơn 3gam/1kg. Một nguyên nhân khác là do nhiễm vi khuẩn gây bị đắng. Trường hợp này dễ phát hiện khi thấy bánh đậu lúc lên men có màng nhớt, có mùi rất khó chịu.

Vị đắng tạo thành cũng có thể do dùng quá nhiều $CaSO_4$ khi kết tủa hoặc cũng có thể do các chất đắng có sẵn trong nguyên liệu một số loại đậu nành.

6.5.2. Chao có mùi khó chịu

Sản phẩm đạt chất lượng là các bánh chao có màu vàng và mùi thơm hấp dẫn. Tuy nhiên bánh chao có thể có màu đen, xám và có mùi khó chịu như mùi mắm tôm. Nguyên nhân có thể do bị nhiễm mốc đen, có thể do mốc phát triển quá mạnh. Khi đó khả năng thủy phân sẽ rất cao, kết quả là sản phẩm cuối cùng của quá trình thủy phân tạo ra những sản phẩm gây mùi, hoặc cũng có thể do bánh đậu sau khi ép còn độ ẩm quá cao dễ bị nhiễm các vi sinh vật khác.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày các chất dinh dưỡng, kháng dinh dưỡng và độc tố trong ngũ cốc và ý nghĩa của công nghệ lên men thực phẩm từ ngũ cốc.
2. Nêu một số sản phẩm đường tinh bột và ứng dụng của chúng trong đời sống và trong công nghiệp thực phẩm.
3. Trình bày các bước thủy phân tinh bột bằng enzyme. Nêu nguồn gốc, cơ chế tác dụng của các enzyme được sử dụng trong thủy phân tinh bột.
4. Trình bày công nghệ sản xuất mật tinh bột.
5. Nêu vai trò của các nguyên liệu sử dụng trong sản xuất bánh mỳ. Trình bày các phương pháp sản xuất bánh mỳ và ưu, nhược điểm của từng phương pháp.
6. Phân tích các điều kiện kỹ thuật của các công đoạn: chuẩn bị nguyên liệu, tạo khối bột nhào, lên men và nướng trong sản xuất bánh mỳ.
7. Yêu cầu của vi sinh vật sử dụng trong sản xuất nước chấm và vai trò của các hệ enzyme trong sản xuất nước chấm.
8. Trình bày công nghệ sản xuất nước chấm bằng phương pháp lên men.
9. Phân tích các điểm thuận lợi và khó khăn trong kỹ thuật sản xuất tương thủ công. Trình bày kỹ thuật sản xuất tương công nghiệp.
10. Phân tích các điểm thuận lợi và khó khăn trong sản xuất chao truyền thống. Trình bày sản xuất chao theo phương pháp hiện đại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Nguyễn Thị Hiền (2004), *Công nghệ sản xuất mỳ chính và các sản phẩn lên men cổ truyền*, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội

[2]. Nguyễn Đức Lượng (2003), *Công nghệ vi sinh vật - Tập 2, 3, Thực phẩm lên men truyền thống,* Đại học Kỹ thuật TP Hồ Chí Minh.

[3]. Lê Văn Việt Mẫn (Chủ biên) (2010), *Công nghệ chế biến thực phẩm*, NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

[4]. Lê Văn Nhương, Quảng Văn Thịnh (1968), *Kỹ thuật sản xuất tương và nước chấm*, NXB Khoa Học Kỹ Thuật.

[5]. Lương Đức Phẩm, Hồ Sưởng (1978), *Vi sinh tổng hợp,* NXB Khoa học và Kỹ Thuật, Hà Nội.

[6]. PGS.TS Trần Minh Tâm (2000), *Công nghệ vi sinh ứng dụng,* NXB TP Hồ Chí Minh.

[7]. PGS. Lê Ngọc Tú (2003), *Hóa học thực phẩm,* NXB Khoa học và Kỹ thuật.

[8]. James G. Brennan (2006), *Food Processing Handbook,* Copyright © WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ISBN: 3-527-30719-2.

[9]. Norman F. Haard, S.A. Odunfa, Cherl-Ho Lee, Dr. R. Quyntero-Ramírez, Dr. Argelia Lorence-Quyones, Dr. Carmen Wacher-Radarte (1999), *Fermented cereals. A global perspective,* Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, M-17 ISBN 92-5-104296-9.

[10]. Hans Sejr Olsen (2010) 3rd edition *Enzymesatwork* , Novozymes A/S Denmark.

Chương 3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ RAU QUẢ

Rau quả không những là nguồn thực phẩm cung cấp một lượng lớn vitamin trong khẩu phần ăn hàng ngày của con người, mà còn có tác dụng cân bằng các chất dinh dưỡng.

Khi thu hoạch, rau quả trải qua suy thoái nhanh chóng, đặc biệt là ở vùng nhiệt đới ẩm ướt nơi mà điều kiện môi trường đẩy nhanh quá trình phân hủy. Mặc dù có rất nhiều công nghệ để bảo quản rau quả sau thu hoạch: sấy khô, đông lạnh, đóng hộp .... nhưng đôi khi các công nghệ này không thích hợp để sử dụng trên quy mô nhỏ ở các nước đang phát triển. Ví dụ các loại rau đóng hộp ở quy mô nhỏ khó đảm bảo về an toàn thực phẩm, còn đông lạnh rau quả không phải là hiệu quả kinh tế ở quy mô nhỏ. Lên men rau quả không cần nhiều máy móc thiết bị hiện đại, kỹ thuật lên men được sử dụng bảo quản thực phẩm để tiêu dùng vào một ngày sau đó và để cải thiện tính an toàn thực phẩm. Nhờ vậy, trong lúc chính vụ việc chế biến rau quả bằng công nghệ lên men sẽ giải quyết được sự thừa ứ nguyên liệu và sẽ đáp ứng được nhu cầu nguyên liệu cũng như thực phẩm khi trái vụ.

Chương Công nghệ sản xuất thực phẩm lên men từ rau quả giới thiệu chủ yếu về muối chua rau quả, cụ thể là trình bày công nghệ muối chua bắp cải, dưa chuột, cải bẹ và kim chi. Đây là các sản phẩm đại diện cho 2 dạng cơ bản của muối chua rau quả là muối khô và muối trong dung dịch, trong đó kim chi là một dạng sản phẩm lên men truyền thống có tính chất địa phương nhưng đã được phát triển thành một sản phẩm công nghiệp và trở thành phổ biến hiện nay.

1. KHÁI QUÁT CHUNG

1.1. Nguyên liệu rau quả

1.1.1. Phân loại nguyên liệu rau quả

Rau thuộc những cây thân thảo gồm những phần mà con người có thể ăn chín hoặc sống. Rau được chia làm hai nhóm chính: nhóm quả và nhóm sinh dưỡng.

- Nhóm quả, có phần sử dụng được là quả và hạt gồm: họ cà chua (cà chua, cà tím, ớt…); họ đậu (đậu hà lan, đậu đũa…); họ bầu bí (bí đao, mướp, bầu, bí ngô, dưa chuột…)

- Nhóm sinh dưỡng, phần ăn được là thân, lá, hoa, củ, rễ gồm: rau ăn lá (rau muống, rau ngót, xà lách…); rau ăn rễ (củ cải, cà rốt ...); rau ăn củ (su hào..); rau ăn hoa (hoa súp lơ, hoa bí, hoa thiên lý...).

Quả có nhiều nhóm như: quả hạch (mận, mơ, đào…); quả nhân (lê, táo ...); quả mọng hạt lẫn lộn vào thịt (dâu tây, thanh long…) và phân nhóm như: quả nhiệt đới (chuối, dứa, xoài, đu đủ, chôm chôm, nhãn, ổi ...); quả á nhiệt đới (hồng, vải, lựu…); quả có múi á nhiệt đới (cam, chanh, quít, bưởi…)

1.1.2. Thành phần hóa học chung của rau quả

Rau quả tươi bao gồm hai thành phần chính là chất khô và nước. Nước chiếm tỷ lệ rất lớn trong rau quả.

a) Chất khô

Chất khô bao gồm chất khô hòa tan và chất khô không hòa tan có trong nguyên liệu, hàm lượng chất khô là một trong những chỉ tiêu quan trọng nhất của nguyên liệu

rau quả.

- Glucid: là chất khô chủ yếu trong rau quả chiếm khoảng 90%, gồm các loại đường, tinh bột, cellulose, hemicellulose và pectin.

+ Đường: Đường trong rau quả nhiều nhất là glucose, fructose và saccharose ở trạng thái tự do và kết hợp. Các loại đường có vị ngọt khác nhau, thành phần các loại đường trong các loại rau quả không hoàn toàn giống nhau. Đường dễ hòa tan trong nước, nhất là nước nóng. Trong môi trường nước, saccharose có thể thủy phân thành hỗn hợp đường glucose và fructose (đường khử). Khi đun nóng lâu ở nhiệt độ cao, đường trong rau quả bị caramen hóa và xảy ra phản ứng tạo thành các chất melanoidin giữa đường và acid amin.

+ Tinh bột: có nhiều trong củ và hạt, trong quả chín ít chứa tinh bột (dưới 1%).

+ Cellulose: không tan trong nước, cellulose giúp tăng cường độ chắc cho nguyên liệu.

+ Hemicellulose: là polysaccharide cao phân tử, cùng với cellulose tạo ra màng tế bào của thực vật. Phần lớn hemicellulose không tan trong nước, trừ một số pentosan.

+ Pectin: trong quả xanh có nhiều protopectin. Trong quá trình chín, một phần protopectin phân hủy, tạo thành pectin hòa tan.

- Chất đạm: phần lớn nằm trong rau ở dưới dạng protein, kèm theo một số acid amin và các amide. Ngoài ra còn có các nitrate và muối amôn. Chất đạm có trong rau quả không nhiều, thường dưới 1%, trừ nhóm đậu và nhóm cải khoảng 3,5÷5,5%. Mặc dầu có hàm lượng nhỏ, nhưng chất đạm trong rau quả có ảnh hưởng đến quá trình chế biến.

- Chất béo: rau quả chứa rất ít chất béo (0,1÷1%).

- Acid hữu cơ: acid hữu cơ có trong rau quả dưới dạng tự do hay kết hợp. Rau quả chua có độ pH=2,5÷5,5; rau quả không chua có pH=5,5÷6,5. Trong rau quả thường gặp acid malic, acid citric, acid tactric; các acid oxalic, acid formic cũng có nhưng hàm lượng rất thấp. Các loại acid trong rau quả có tác dụng xúc tác các quá trình trao đổi chất. Trong quá trình chế biến, acid hữu cơ có tác dụng chống hiện tượng hồi đường và chống oxy hóa. Acid hữu cơ còn làm tăng giá trị cảm quan trong thực phẩm.

- Tanin: chất tanin rất thường gặp trong rau quả, làm cho rau quả có vị chát. Trong quả chứa khoảng 0,1÷0,2% tanin, còn trong rau chứa ít hơn.

- Glucozit: glucozit tan trong nước, dưới tác dụng của enzyme hay acid, glucozit bị thủy phân thành đường và các thành phần khác không phải đường gọi là aglucon. Glucozit làm cho nguyên liệu có hương vị đặc trưng. Các glucozit có ảnh hưởng tới chất lượng sản phẩm và công nghệ chế biến là amidalin, solanine, naringin và hesperidin. Ngoài các glucozit trên, người ta còn thấy trong quả có múi có citronin, trong mận, táo có acid glucosuccinic.

- Các chất màu: rau quả chứa nhiều sắc tố khác nhau nên có màu sắc khác nhau. Các chất màu trong quả gồm có 3 nhóm chính: chlorophyll, anthocyanin, carotenoid.

+ Chlorophyll: không tan trong nước, làm cho rau quả có màu xanh lá cây. Trong thực vật, chlorophyll chiếm 1% chất khô. Trong phần xanh của thực vật có 2 loại chlorophyll: chlorophyll A chiếm 75%, chlorophyll B chiếm 25%.

+ Anthocyanin: là nhóm sắc tố làm cho rau quả có nhiều màu khác nhau, từ đỏ

đến tím. Về bản chất hóa học, anthocyanin là glucozit khi bị thủy phân cho đường và anthocianidin. Anthocyanin hòa tan trong nước dễ dàng và có tính sát trùng.

+ Carotenoid: làm cho quả có nhiều màu khác nhau, từ vàng đến đỏ. Phổ biến nhất là caroten, lycopin và xanthophyll. Tỉ lệ giữa các carotenoid trong quả tùy thuộc loại nguyên liệu và điều kiện khí hậu nơi trồng. Carotenoid không tan trong nước nhưng tan trong chất béo.

- Tinh dầu: là những chất bay hơi có hương thơm đặc trưng, trong rau quả nó tập trung ở vỏ nhiều hơn. Rau thơm chứa nhiều tinh dầu (0,05÷0,5%), có khi tới 1%. Họ quả có múi có nhiều tinh dầu: trong vỏ quít có 1,8÷2,5% so với khối lượng vỏ. Trong tỏi có 0,01%, hành có 0,05% tinh dầu. Các loại rau quả khác có hàm lượng tinh dầu thấp, không quá 0,001%. Phần lớn tinh dầu không tan trong nước và có tính chất sát trùng.

- Muối: ngoài các hợp chất hữu cơ, trong rau quả còn chứa cả muối khoáng. Hàm lượng muối khoáng xác định bằng lượng tro. Độ tro của rau quả trong khoảng 0,25÷1,0%.

- Vitamin: là vi chất dinh dưỡng rất cần cho cơ thể người. Thực vật có khả năng tổng hợp vitamin. Hàm lượng vitamin trong sản phẩm khác nhau được tính bằng mg%. Phần lớn các vitamin là các chất không bền. Vitamin cơ bản được chia làm 2 nhóm: vitamin tan trong chất béo (vitamin A, vitamin K, vitamin D, vitamin E) và vitamin tan trong nước (vitamin C, vitamin B, vitamin PP, vitamin H). Rau có nhiều vitamin C, vitamin B, khoáng và chất xơ, mỗi loại rau khác nhau có thành phần khác nhau; Quả có nhiều vitamin C.

- Phytocide

Trong thực vật có nhiều chất mang tính chất sát trùng, người ta còn gọi là những chất kháng sinh thực vật hay phytocide. Nhiều loại rau quả chứa phytocide và có bản chất hóa học khác nhau. Ví dụ: phytocide của tỏi là allicin (C_3H_5-S-SO-C_3H_5) có tính chất kháng sinh ngay ở nồng độ 1/250.000; Phytocide của khoai tây là solanine; Phytocide của quả là anthocyanin, của cà rốt là hợp chất lưu huỳnh, cà tím, súp lơ không có phytocide.

- Enzyme

Các quá trình trao đổi chất và biến đổi hóa học xảy ra trong mô thực vật dưới tác dụng xúc tác của các hệ thống enzyme. Các enzyme chứa trong chất nguyên sinh có tác dụng xúc tác các quá trình tổng hợp tạo thành các chất phức tạp hơn, còn enzyme ở trong dịch quả có tác dụng thủy phân. Trong mô thực vật có các loại enzyme sau: oxy hóa khử, pectase, phosphotase, carbohydrase, phosphorylase.

b) Nước

Trong rau quả nước ở 2 trạng thái tự do và kết hợp, hàm lượng nước ở rau quả rất cao, trung bình 80÷90%, có khi đến 93÷97%. Lượng nước phân bố không đều trong các mô.

Nước trong mô bào ít hơn trong nhu mô. Ví dụ, trong cam quít, hàm lượng nước trong vỏ 74,7%, còn trong múi tới 87,2%. Sau khi thu hoạch, trong rau quả xảy ra hiện tượng mất nước, làm rau quả héo.

Thành phần hóa học của một số loại rau phổ biến để muối chua được trình bày ở bảng 3.1 như sau:

Bảng 3.1. Thành phần hóa học của một số loại rau

Thành phần	*Đơn vị*	*Nguyên liệu*			
		Cải thảo	*Củ cải*	*Dưa chuột*	*Bắp cải*
Nước	%	93	92	95	90
Protein	%	1,6	1,5	0,8	1,8
Carbohydrate	%	4,9	5,2	3,7	7,0
Cellulose	%	2,6	1,5	0,7	1,6
Vitamin					
C	mg%	17,1	24,4	5,0	30,0
E		0,2	0,01	0,05	5,4
B1		0,03	0,04	0,03	0,06
B2		0,04	0,04	0,04	0,05
Carotenoid	µg%	55,4	21,4	220,0	5.100
Folate		52,1	38,0	16,0	60,0
Khoáng					
K	mg%	150,0	490,0	173,6	560,5
Na		14,8	35,0	12,6	48,2
Ca		45,0	41,0	23,0	48,0
P		37,0	40,0	27,0	31,0
Mg		15,0	19,0	17,0	13,0
Fe		0,2	0,8	1,0	1,1

1.2. Sản phẩm rau quả muối chua

1.2.1. Lợi ích của rau quả muối chua

Rau quả muối chua có nguồn gốc từ 2000 năm trước, bắt nguồn từ Châu Á, ngày nay rau quả muối chua được sản xuất ở nhiều nơi trên thế giới. Công nghệ sản xuất các sản phẩm thực phẩm này đã được truyền từ đời này qua đời khác, theo thời gian các sản phẩm lên men ngày càng được mở rộng cả về chủng loại và phương pháp chế biến. Do tính chất đặc biệt của từng loại sản phẩm lên men, mỗi sản phẩm có vị trí riêng cho từng vùng, mang sắc thái của một nền văn hóa riêng. Trên thế giới, rau muối chua được sản xuất nhiều từ dưa chuột, bắp cải, cà chua và một số rau quả khác. Ở nước ta, các loại rau được muối chua nhiều là cải bẹ, bắp cải, cà pháo, hành củ …

Các sản phẩm lên men truyền thống nói chung và sản phẩm rau quả muối chua nói riêng có một vị trí quan trọng trong đời sống của dân tộc Việt Nam. Muối chua rau quả có ý nghĩa lớn trong việc bảo quản rau quả và giải quyết cho việc phục vụ bữa ăn của con người. Khó có thể giữ được các loại rau cải, su hào, bắp cải, cà chua, ớt... trong một thời gian dài để có thể cung cấp cho người tiêu dùng khi giáp vụ và giải quyết sự khan hiếm khi trái vụ. Vì thế, sản phẩm rau quả muối chua nói riêng và các sản phẩm lên men lactic nói chung là cần thiết.

Đối với hầu hết các loại rau quả muối chua, mặc dù đa dạng về thành phần và

chủng loại, hầu như được sản xuất theo cùng một nguyên lý. Quá trình sản xuất các loại rau quả muối chua đều liên quan đến việc ướp muối và sử dụng hệ vi khuẩn lactic trong quá trình lên men. Sản phẩm rau quả muối chua được quan tâm đặc biệt vì có nhiều ưu điểm như: vẫn giữ nguyên được khoáng chất và vitamin, acid lactic tạo thành làm cho rau quả có vị chua dịu mà không có loại rau quả tươi nào có được, sản phẩm rau quả muối chua có thể sử dụng trong thời gian khá lâu, đặc biệt là trong những thời điểm khan hiếm rau. Lên men lactic là một công cụ quý giá cho việc bảo quản và chế biến một phổ rộng các loại rau quả khác nhau. Việc muối chua rau quả vừa nhằm mục đích bảo quản rau quả, vừa làm tăng giá trị cảm quan của sản phẩm nguyên liệu. Rau quả muối chua có hương vị đặc trưng, có thể sử dụng ăn ngay mà không phải chế biến.

Qua nghiên cứu khi rau được làm chua sẽ sinh ra các vi sinh vật có lợi cho hệ tiêu hóa của con người. Rau chua làm thực phẩm sẽ góp phần bổ sung thêm các vi sinh vật cho đường ruột, tăng cường hệ miễn dịch cho cơ thể. Dưa chua có tác dụng kích thích tiêu hoá nhờ có men lactic, ăn ngon miệng hơn, tốt hơn cho cơ thể. Các vi sinh vật có lợi trong rau chua tạo các enzyme phân hủy protein trong thức ăn, giúp cơ thể nhanh chóng hấp thụ dinh dưỡng.

Sản phẩm rau quả muối chua với việc sử dụng giống chuẩn vi khuẩn lactic, đã được tuyển chọn và bảo quản, sẽ đáp ứng được vấn đề tiêu thụ rau quả chính vụ và đồng thời cũng làm tăng chất lượng, tăng thời gian bảo quản, loại trừ được vấn đề ngộ độc thực phẩm.

1.2.2. Các vấn đề cần chú ý khi sử dụng rau quả muối chua

Vấn đề an toàn thực phẩm là một trong những vấn đề quan trọng đặc biệt hàng đầu và hiện nay, đây là vấn đề mà cả xã hội đang quan tâm sâu sắc. Trong khi đó các sản phẩm lên men lactic, đặc biệt rau quả muối chua, là một trong những loại thực phẩm có nguy cơ cao vì các sản phẩm muối chua chủ yếu sản xuất theo phương pháp thủ công, quá trình lên men lactic diễn ra tự nhiên, do đó sản phẩm dễ bị nhiễm tạp. Nếu chúng ta không chú trọng đến việc cải tiến công nghệ trong quá trình lên men các sản phẩm này thì sẽ dễ dàng gây ngộ độc cho người tiêu dùng khi tiêu thụ sản phẩm.

Theo kết quả nghiên cứu, trong rau nguyên liệu, hàm lượng nitrit rất nhỏ, nhưng khi rau được muối chua thì hàm lượng nitrit sẽ tăng cao trong một vài ngày đầu do vi sinh vật chuyển hóa nitrat trong rau thành nitrit. Khi đưa sản phẩm muối chua vào cơ thể, acid trong dạ dày sẽ tạo điều kiện cho nitrit tác động với các acid amin từ các thực phẩm khác như cá, thịt…để tạo thành hợp chất Nitrosamine. Hợp chất này có khả năng gây ung thư trên động vật thí nghiệm.

Để hạn chế quá trình hình thành Nitrosamine trong cơ thể làm ảnh hưởng đến sức khoẻ, chuyên gia sức khỏe khuyên nên tránh ăn rau quả muối chua khi còn cay hay ăn dưa đã bị khú. Thông thường, hàm lượng nitrit sẽ giảm dần và mất hẳn khi dưa đã được muối chua vàng và tăng cao trở lại khi dưa bị khú (*dưa muối hỏng và có mùi*).

Nhiều tài liệu khoa học cũng chứng minh: dưa, cà muối cũng ảnh hưởng xấu đến sức khỏe người tiêu dùng nếu nguyên liệu chế biến có chứa nhiều dư lượng thuốc trừ sâu, rày.

Chúng ta nên tự làm dưa cho gia đình của mình với nguồn nguyên liệu sạch để đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm.

2. CƠ SỞ LÝ THUYẾT CỦA QUÁ TRÌNH MUỐI CHUA

2.1. Bản chất của quá trình muối chua rau quả

Muối chua rau quả là quá trình lên men lactic. Thường thì muối chua rau quả

được tiến hành chủ yếu nhờ tác dụng muối ăn (NaCl). Trong sản phẩm rau muối chua, muối ăn có nhiều tác dụng tích cực. Muối có tác dụng chủ yếu là gây ra hiện tượng co nguyên sinh ở tế bào rau làm cho dịch bào tiết ra. Trong dịch bào có chứa nhiều đường và một số chất dinh dưỡng khác, tạo điều kiện thuận lợi cho các vi khuẩn lactic phát triển. Ngoài ra, muối còn tạo hương vị đặc trưng cho sản phẩm và có tác dụng bảo quản sản phẩm.

Sản phẩm đã lên men lactic hoàn toàn có thể sử dụng để ăn ngay, không cần chế biến thêm. Acid lactic và các sản phẩm khác được tạo thành trong quá trình lên men làm cho sản phẩm có hương vị đặc trưng. Ngoài ra, acid lactic còn có tác dụng làm giảm pH của sản phẩm, ức chế hoạt động của nhiều loại vi sinh vật gây hư hỏng.

Lên men lactic là quá trình phân giải carbohydrate trong điều kiện yếm khí với sự tích lũy acid lactic trong môi trường lên men. Đây là quá trình oxy hóa khử không hoàn toàn. Dựa vào sản phẩm sinh ra trong quá trình lên men, vi khuẩn lên men lactic chia làm 2 nhóm: Nhóm vi khuẩn lên men lactic điển hình (đồng hình) và nhóm vi khuẩn lên men lactic không điển hình (dị hình).

2.2. Vi sinh vật trong muối chua rau quả

2.2.1. Nhóm vi sinh vật có lợi

Quá trình lên men lactic trong rau quả muối chua là kết quả hoạt động của một số vi khuẩn và một số nấm men. Các giống vi khuẩn lactic được sử dụng trong sản xuất rau quả lên men và đặc điểm của một vài giống thường dùng trong muối chua rau quả được mô tả chi tiết trong các bảng 3.2, bảng 3.3 và bảng 3.4.

Bảng 3.2. Các vi khuẩn lactic chính được sử dụng trong sản xuất rau quả lên men

Đồng hình	Đồng hình tùy thích	Dị hình
Enterococcus faecium	*Lactobacillus bavaricus*	*Lactobacillus brevis*
Enterococcus faecalis	*Lactobacillus casei*	*Lactobacillus buchneri*
Lactobacillus acidophilus	*Lactobacillus coryniformis*	*Lactobacillus cellobiosus*
Lactobacillus lactis	*Lactobacillus curvatus*	*Lactobacillus confusus*
Lactobacillus delbrueckii	*Lactobacillus plantarum*	*Lactobacillus coprophilus*
Lactobacillusleichmannii	*Lactobacillus sake*	*Lactobacillus fermentatum*
Lactobacillus salivarius		*Lactobacillus sanfrancisco*
Streptococcus bovis		*Leuconostoc dextranicum*
Streptococcus thermophilus		*Leuconostoc mesenteroides*
Pediococcus acidilactici		*Leuconostoc paramesenteroides*
Pedicoccus damnosus		

Bảng 3.3. Đặc điểm của một số loại vi khuẩn lactic đồng hình

Đặc điểm	*Streptococcus lactis*	*Streptococcus thermophilus*	*Lactobacillus plantarum*	*Lactobacillus axitophilus*	*Lactobacillus bulgaricus*
Hình dạng	Cầu khuẩn	Cầu khuẩn	Trực khuẩn	Trực khuẩn	Trực khuẩn
Lượng acid lactic	0,8÷1%	1%	1,3%	1,5÷2,5%	2,5÷3%
Nhiệt độ sinh trưởng	Ưa ấm, t^0_{op}=30÷35^{0}C	Ưa nhiệt, t^0_{op}=40÷45^{0}C	Ưa ấm, t^0_{op}=30^{0}C	Ưa nhiệt, t^0_{op}=37÷45^{0}C	Ưa nhiệt, t^0_{op}=40÷45^{0}C

Bảng 3.4. Đặc điểm của một số loại vi khuẩn lactic dị hình

Đặc điểm	*Leuconostoc mesenteroides*	*Lactobacillus pentoaceticus*	*Lactobacillus brevis*	*Bacterium-coli-acrogenes*
Hình dạng	Cầu khuẩn	Trực khuẩn	Trực khuẩn	Cầu khuẩn
Lượng acid lactic	1÷1,2%	0,8÷1%	1,2%	1÷1,2%
Nhiệt độ sinh trưởng	Ưa ấm, t^0_{op}=30÷35^{0}C	Ưa ấm, t^0_{op}=30÷35^{0}C	Ưa nhiệt, t^0_{op}=40 ÷ 45^{0}C	Ưa ấm, t^0_{op}=35÷38^{0}C

2.2.2. Nhóm vi sinh vật gây hại

Trong quá trình muối chua rau quả, ngoài các vi sinh vật lactic còn có một số vi sinh vật "lạ" khác nữa, như vi khuẩn butyric, vi khuẩn acetic, các vi khuẩn gây thối cũng như một số vi khuẩn khác... Các loại nấm mốc, nấm men phát triển làm cho acid lactic bị phân huỷ và tạo thành nhiều chất làm giảm chất lượng hoặc làm hư hỏng sản phẩm.

Quá trình muối chua rau quả cần tiến hành sao cho vi khuẩn lactic hoạt động mạnh nhưng đồng thời ức chế được hoạt động của các "vi sinh vật lạ" này.

Bảng 3.5 trình bày đặc điểm của một số loại vi sinh vật gây hại thường thấy trong muối chua rau quả.

Bảng 3.5. Đặc điểm của một số loại vi sinh vật gây hại

Đặc điểm	*Vi khuẩn butyric*	*Vi khuẩn gây thối*	*Nấm men*	*Nấm mốc*
Kiểu hô hấp	Kỵ khí	Hiếu khí, kỵ khí	Hiếu khí, kỵ khí	Hiếu khí
Sản phẩm cuối/Tác hại	- Acid butyric, CO_2, H_2, rượu etylic, rượu butylic, aceton, acid acetic, acid capronic và acid caprilic. - Sản phẩm có mùi vị khó chịu, thối, độc.	- H_2S, NH_3, indol, CO_2, H_2O … - Sản phẩm có mùi vị khó chịu, hôi thối, sinh nhiều bọt khí, độc, gây váng.	- Rượu ethanol, aldehyd, acid acetic, CO_2, H_2O - Có mùi vị lạ, sinh nhiều bọt khí nhưng đôi khi lại tạo hương cho sản phẩm.	- Rượu ethanol, acid acetic, aldehyd, CO_2, H_2O … - Sản phẩm có mùi vị lạ, trạng thái mềm nhũn, nhầy nhớt.
Nhiệt độ sinh trưởng	Ưa ấm, t^0_{op}=30÷40^{0}C	Ưa ấm, ưa nhiệt, t^0_{op}=25÷50^{0}C	Ưa ấm, t^0_{op}=28÷32^{0}C	Ưa ấm, t^0_{op}=28÷32^{0}C

2.3. Các hình thức muối chua rau quả

Có 2 dạng cơ bản: muối khô và muối trong dung dịch. Yêu cầu chất lượng muối sử dụng trong muối chua rau quả phải thật tinh khiết, bởi vì các tạp chất trong muối sẽ ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Muối có lẫn tạp chất vôi sẽ làm giảm độ chua của sản phẩm cuối cùng và giảm tuổi thọ của sản phẩm. Còn với các tạp chất sắt có thể dẫn đến sự tối màu của sản phẩm. Tạp chất Mg sẽ truyền vị đắng vào sản phẩm, tạp chất cacbonat có thể làm cho sản phẩm mất độ giòn hoặc bị mềm.

2.3.1. Muối khô

Với cách ướp muối khô, thường sử dụng cho các loại rau có hàm lượng nước cao, các chiết xuất nước ép từ rau sẽ tạo ra nước muối ngâm sản phẩm. Thông thường, rau được rửa trong nước lạnh sạch và để ráo nước, sau đó ướp muối với tỉ lệ tối đa 3kg muối/100 kg nguyên liệu. Lần lượt là lớp rau rồi đến lớp muối, chiều dày lớp rau khoảng 2,5 cm và lớp trên cùng là lớp muối. Hỗn hợp rau muối không vượt quá 3/4 vại chứa (chiều cao lẫn thể tích) và được nén chặt trong vại. Ngay sau khi ướp, dung dịch nước muối ngâm được hình thành, thông thường mất khoảng 24 giờ để có đủ một lượng nước muối ngâm; khi hiện tượng lên men xảy ra, bong bóng của khí CO_2 bắt đầu xuất hiện. Lên men kéo dài từ một đến bốn tuần tùy theo nhiệt độ môi trường xung quanh. Lên men được hoàn tất khi không có bong bóng xuất hiện hàng loạt, cần thêm một thời gian ngắn nữa để dưa tạo hương, sau đó có thể đóng gói hoặc phối trộn với dầu, dấm và các gia vị tạo các hỗn hợp sản phẩm khác nhau.

2.3.2. Muối trong dung dịch (ngâm nước muối)

Ngâm nước muối được sử dụng cho các loại rau có hàm lượng nước thấp. Dung dịch nước muối ngâm được chuẩn bị bằng cách hòa tan muối trong nước (dung dịch muối 5÷10%). Thông thường, quá trình lên men bắt đầu xảy ở trong dung dịch nước muối ngâm khoảng 5%. Yêu cầu quan trọng là rau phải ngập chìm trong nước muối ngâm. Nồng độ muối cao trong nước ngâm sẽ trích đường và nước ra khỏi rau và vì thế sẽ làm giảm nồng độ muối. Điều cốt yếu là nồng độ muối không thấp dưới 5%, nếu không sẽ không đủ điều kiện để lên men. Để đảm bảo điều kiện này, một lượng muối cần được bổ sung định kỳ vào hỗn hợp nước ngâm. Rau ngâm nước muối chứa đựng trong các vại kín thì hệ vi sinh vật sẽ nhanh chóng phát triển. Các điều kiện tự nhiên có ảnh hưởng đến quần thể vi sinh vật của rau quả lên men bao gồm nồng độ muối và nhiệt độ của nước muối ngâm, các cơ chất lên men, số lượng và chủng loại các vi sinh vật có mặt tại thời điểm lên men. Tốc độ lên men có tương quan với nồng độ muối và nhiệt độ dung dịch nước muối ngâm.

2.4. Cơ chế của quá trình muối chua rau quả

2.4.1. Các giai đoạn của quá trình muối chua rau quả

Quá trình lên men lactic trong rau quả có thể chia làm 3 giai đoạn:

Trong giai đoạn đầu thì do muối ăn gây áp suất thẩm thấu lớn nên đường và các chất dinh dưỡng khác có trong nguyên liệu khuếch tán vào trong nước và bắt đầu có sự hoạt động của một số vi sinh vật lactic và một số vi sinh vật khác. Trên bề mặt của nước muối thấy xuất hiện những bọt khí, đó là do hoạt động của một số vi sinh vật có khả năng sinh khí. Trong giai đoạn này, ở sản phẩm có thể tích tụ một lượng rượu rất nhỏ do vi khuẩn lactic tạo ra, lượng acid lactic trong giai đoạn này rất nhỏ (khoảng thấp hơn 1%).

Trong giai đoạn lên men chính, các vi khuẩn lactic phát triển mạnh mẽ và acid lactic được tích tụ nhiều, nên pH của dịch lên men bị giảm rất nhanh mà phần lớn các

vi sinh vật gây thối bị ức chế ở môi trường có pH thấp khoảng 3÷3,5, vì vậy các vi sinh vật gây thối bị giảm đi rất nhanh. Thời kỳ này là thời kỳ quan trọng nhất trong quá trình lên men lactic vì sản phẩm tích tụ được lượng acid cao và có hương vị đặc trưng. Chất lượng sản phẩm phụ thuộc chủ yếu vào thời kỳ này.

Và ở giai đoạn cuối, lượng acid lactic đã tích tụ khá cao thì chính các vi khuẩn lactic cũng bị ức chế. Khi ấy các nấm men và nấm mốc có khả năng phát triển mạnh làm giảm chất lượng của sản phẩm, vì chúng có thể phân huỷ acid lactic mạnh. Do đó, cần phải ngăn ngừa các hiện tượng này bằng cách bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ thấp khoảng 2÷4^{0}C hoặc bảo quản trong điều kiện yếm khí, bảo quản bằng các chất sát trùng như: acid sorbic, natri benzoat.

2.4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình muối chua rau quả và chất lượng sản phẩm muối chua

Quá trình lên men rau quả sẽ bị tác động bởi rất nhiều các yếu tố như: hàm lượng muối, hàm lượng đường, độ acid, nhiệt độ và hàm lượng khí oxy. Các yếu tố này vừa ảnh hưởng đến tốc độ lên men vừa ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm. Vì vậy trong quá trình muối chua cần đặc biệt quan tâm đến các yếu tố này để đảm bảo chất lượng sản phẩm sau cùng.

a) Thứ tự lên men tự nhiên của các vi sinh vật trong quá trình lên men

Ở giai đoạn đầu, dù lượng acid lactic tạo ra rất ít nhưng ta không thể bỏ qua giai đoạn này. Nếu ta cố tình bổ sung các chủng vi khuẩn có khả năng tổng hợp acid lactic mạnh ở 2 giai đoạn sau vào giai đoạn đầu thì sản phẩm thu được sẽ có chất lượng kém. Như vậy thứ tự lên men tự nhiên của các vi sinh vật ứng với mỗi giai đoạn lên men có ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm.

Mức độ thuần khiết của vi khuẩn lactic có ảnh hưởng đến chất lượng rau quả muối chua. Lượng vi khuẩn lactic càng nhiều và mức độ thuần khiết càng cao thì tốc độ của quá trình lên men càng nhanh và sản phẩm có chất lượng càng tốt. Ngược lại, lượng vi khuẩn lactic càng ít và mức độ thuần khiết càng thấp, các vi khuẩn gây hại càng có điều kiện phát triển làm hư hỏng sản phẩm.

b) Hàm lượng đường có trong nguyên liệu đầu

Đường trong nguyên liệu sẽ được vi sinh vật chuyển hóa thành acid lactic trong quá trình lên men.

Nếu hàm lượng đường trong nguyên liệu đầu thấp thì lượng acid lactic tích tụ trong sản phẩm sẽ không đạt mức yêu cầu. Khi ấy sản phẩm sẽ có hương vị kém và dễ bị hư hỏng trong quá trình tồn trữ. Vì vậy khi muối chua cần chọn loại nguyên liệu có hàm lượng đường đạt mức yêu cầu và khi cần thì phải bổ sung thêm đường ở ngoài vào.

c) Nhiệt độ

Nhiệt độ môi trường ảnh hưởng lớn đến thời gian lên men và lượng acid tạo thành. Mỗi loại vi sinh vật có một khoảng nhiệt độ thích hợp để hoạt động, ở nhiệt độ cao quá hoặc thấp quá nó sẽ bị ức chế.

Nhiệt độ khoảng 0÷10^{0}C sẽ ức chế hoạt động của *Bacterium coli*, vi khuẩn butyric và một số nấm mốc. Ở nhiệt độ này sự lên men lactic không bị đình chỉ nhưng tiến hành rất chậm. Nhiệt độ 10÷20^{0}C, sự lên men lactic xảy ra rất chậm, nhiệt độ này cũng ức chế được sự hoạt động của các vi sinh vật lạ nhưng một số nấm mốc có thể phát triển được. Nhiệt độ 20÷30^{0}C, tốc độ lên men tuy chậm nhưng sản phẩm có

hương vị thơm ngon và để được lâu hơn. Nhiệt độ 30÷37^{0}C, tuy tốc độ lên men nhanh, nhưng ở nhiệt độ này những vi khuẩn có hại cũng phát triển song song nên sản phẩm mau hư. Ở nhiệt độ lớn hơn 40^{0}C các vi khuẩn gây chua sẽ bị ức chế.

Nhiệt độ để muối dưa thích hợp là 20÷30^{0}C cũng là nhiệt độ bình thường của thời tiết nước ta đạt được thích hợp cho sản xuất. Nhiệt độ tối ưu để các vi khuẩn lactic hoạt động là 36÷42^{0}C, nhưng ở nhiệt độ này các vi sinh vật bất lợi cũng phát triển. Do đó người ta thường giữ nhiệt độ lên men không quá 20^{0}C, tùy thuộc dạng nguyên liệu sử dụng. Nhưng chú ý cũng không nên đưa nhiệt độ xuống quá thấp. Ở nhiệt độ 0÷4^{0}C, quá trình lên men không bị đình chỉ nhưng diễn ra rất chậm.

d) Độ pH

Nồng độ acid của môi trường ảnh hưởng đến sự hoạt động của vi khuẩn gây chua, độ pH thấp sẽ làm vi khuẩn kém hoạt động và sự chuyển hoá của nó sẽ chậm lại. Đồng thời các vi sinh vật có khả năng hoạt động ở môi trường acid cao sẽ phát triển, ngăn cản tác dụng của vi khuẩn gây chua. Do đó cần tạo môi trường có độ acid thích hợp cho các vi khuẩn lactic hoạt động.

Độ pH tối thích cho hoạt động của vi khuẩn lactic là 5,5÷6, bị ức chế ở pH < 5 và có thể bị tiêu diệt ở pH < 4.

e) Hàm lượng oxy

Quá trình lên men lactic là sự lên men yếm khí. Nếu có O_2 trong quá trình lên men thì vi khuẩn sẽ ưu tiên phát triển sinh khối mà không sinh tổng hợp acid lactic. Đồng thời điều kiện yếm khí cũng góp phần ức chế các vi sinh vật gây hại.

g) Muối

Muối có vai trò rất quan trọng, không những nồng độ muối ảnh hưởng đến sự lên men tốt hay xấu mà còn ảnh hưởng đến vị của sản phẩm. Muối có tác dụng hạn chế sự hoạt động của các vi khuẩn gây thối, tăng cường hoạt động của vi khuẩn lactic làm cho nước cùng với đường trong tế bào rau thoát ra ngoài, đi vào môi trường cung cấp nguồn dinh dưỡng cho vi khuẩn lactic phát triển. Thường các vi khuẩn gây thối không chịu được áp suất thẩm thấu cao. Khi dung dịch muối có nồng độ cao làm ngưng sự phát triển của các loại vi sinh vật kể cả vi khuẩn lactic. Nhưng vi khuẩn lactic có khả năng chịu được tác dụng của muối cao hơn các vi sinh vật khác. Vì vậy khi muối chua rau quả, phải tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn lactic và ức chế hoạt động của các vi sinh vật không có lợi cho quá trình muối chua. Thường tỉ lệ muối thích hợp thay đổi theo loại nguyên liệu rau và nhiệt độ môi trường.

h) Giống khởi động

Việc sử dụng các chủng khởi động phân lập từ nguồn thực vật ngày càng được quan tâm nhiều hơn. Cũng giống như trong lên men các sản phẩm sữa, giống khởi động góp phần làm tăng sự ổn định của sản phẩm. Sử dụng giống khởi động có thể làm giảm sự hình thành một số amin độc hại trong sản phẩm như histamine.

Bổ sung các chủng *Leuconostoc mesenteroides*, thành phần quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, có thể góp phần nâng cao chất lượng và hương vị của sản phẩm. Tuy nhiên điều này làm ảnh hưởng đến trình tự phát triển của các loài liên quan. Việc bổ sung *Lactobacillus curvatus* và *Lactobacillus sake* sẽ làm tăng lượng acid acetic, giảm lượng acid lactic và quá trình lên men sẽ không thể hoàn tất.

Tương tự như vậy, khi sử dụng *Lactobacillus plantarum* là giống khởi động, quá trình lên men cũng sẽ không hoàn tất được, đồng thời cũng sản sinh các vị đắng và sản

phẩm cũng dễ bị nấm men xâm nhập.

Nhìn chung, dịch lên men chất lượng cao từ mẻ trước có thể sử dụng thay giống khởi động. Chất lượng sản phẩm phụ thuộc vào hệ vi sinh vật và độ acid của dịch. Dịch lên men làm giống khởi động không được quá chua.

3. CÔNG NGHỆ MUỐI CHUA MỘT SỐ RAU QUẢ

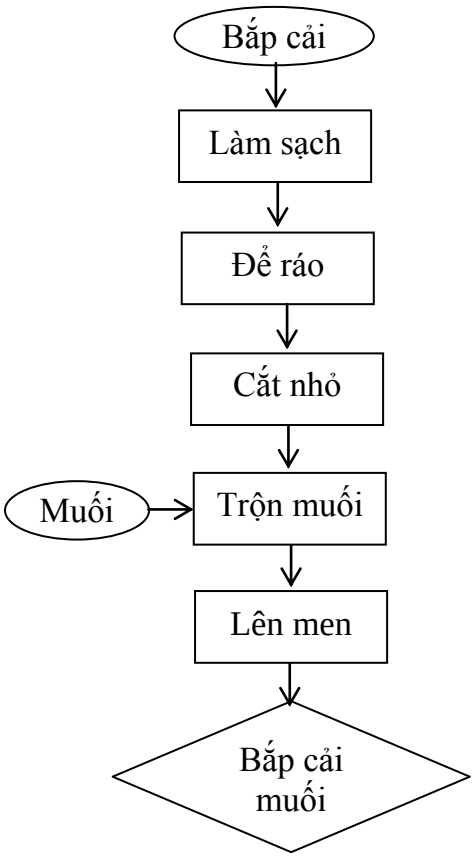
3.1. Công nghệ muối chua bắp cải

Bắp cải muối chua là một trong những loại thực phẩm lên men khá phổ biến và được sản xuất ở quy mô công nghiệp tại nhiều nước. Quá trình lên men bắp cải là một quá trình tự phát, trong đó vi khuẩn chuyển hóa đường có mặt trong nguyên liệu thành acid, rượu và khí CO_2.

Trong những năm gần đây, để đảm bảo độ ổn định của sản phẩm và giảm thời gian lên men, một số cơ sở đã áp dụng chủng giống thuần khiết. Quá trình lên men cũng được tiến hành trong điều kiện yếm khí tốt hơn. Acid lactic tạo ra có tác dụng kiểm soát quá trình lên men thông qua việc ức chế những vi sinh vật gây thối. Chất lượng sản phẩm được quyết định rất nhiều bởi lượng acid tạo ra cũng như loại ester hình thành. Muối bắp cải thuộc hình thức muối khô.

3.1.1. Sơ đồ quy trình công nghệ

Hình 3.1 trình bày sơ đồ sản xuất bắp cải muối chua



Hình 3.1. Sơ đồ sản xuất bắp cải muối chua

3.1.2. Thuyết minh quy trình

Để sử dụng cho muối chua, dùng loại bắp cải có hàm lượng đường cao và mô lá không quá giòn để sản phẩm đỡ bị gãy nát. Dùng loại bắp cải to lợi hơn vì tỷ lệ phế liệu thấp hơn so với bắp cải nhỏ, không dùng bắp cải quá non, quá già hoặc có bệnh tật.

Sau khi thu hoạch, lá xanh và lõi bắp cải được loại bỏ. Bắp cải được rửa sạch và cắt nhỏ thành từng sợi có bề ngang khoảng 2,5cm. Khối nguyên liệu được xếp thành từng lớp, cứ một lớp nguyên liệu, một lớp muối (lớp đầu tiên và lớp cuối cùng là muối). Lượng muối bổ sung khoảng 2÷2,5% so với nguyên liệu sẽ giúp quá trình co tế bào và thoát dịch mô ra môi trường.

Để tạo điều kiện yếm khí, bắp cải được nén chặt. Dịch bắp cải có chứa các loại đường có thể lên men được cũng như các chất dinh dưỡng khác cần thiết cho sự phát triển của vi sinh vật. Chính điều kiện yếm khí tạo thuận lợi cho vi khuẩn lactic. Quá trình lên men được thực hiện tốt nhất trong một tháng ở nhiệt độ 14^0C. Cứ sau 2÷4 ngày cần kiểm tra các thông số cơ bản của quá trình lên men một lần. Những thông số cần thiết bao gồm: nồng độ acid, nồng độ đường, nồng độ muối, độ pH. Các thông số về vi sinh vật cũng được quan tâm (tổng số tế bào, loại vi sinh vật).

3.1.3. Nhân giống vi sinh vật lactic trong muối chua bắp cải

Trong quá trình muối bắp cải người ta có thể sử dụng những vi sinh vật có sẵn trong bắp cải và cho lên men tự nhiên. Tuy nhiên để tăng chất lượng sản phẩm và rút ngắn thời gian lên men người ta thường bổ sung thêm các chủng vi sinh vật lên men lactic thuần khiết, được đưa vào dưới dạng dịch men hoặc được phun đều lên trên bề mặt từng lớp bắp cải xếp trong bể muối.

Để điều chế dịch lên men, dùng các chủng thuần khiết không sinh hơi của vi khuẩn lactic *B.brassicae fermentati* và nấm men *S. brassiae fermentati* mà các cơ sở chế biến nhận về ở dạng môi trường lỏng, đựng trong chai thủy tinh. Điều chế dịch lên men bằng cách: nhân giống các chủng vi sinh vật thuần khiết. Điều chế dịch lên men từ vi khuẩn và nấm men phải tiến hành riêng rồi sau mới trộn lại (tuy cách tiến hành giống nhau). Môi trường để điều chế dịch lên men là nước dưa và canh bắp cải.

- Nước dưa: Sau ngày thứ ba, thứ tư (tính từ ngày tiến hành muối bắp cải), lấy nước dưa ra khỏi bể muối. Không nên lấy nước dưa ở thời điểm muộn hơn vì khi ấy nước dưa chỉ còn lại ít chất dinh dưỡng do các vi sinh vật lactic có trong nước dưa đã sử dụng chất dinh dưỡng cho quá trình lên men lactic. Nếu nước dưa lấy ở bể muối ra chưa đủ số lượng cần thiết, có thể pha thêm nước theo tỉ lệ 1:1 và cho thêm đường với tỉ lệ 1% khối lượng hỗn hợp nước dưa và nước lã. Lọc rồi đun sôi trong 1 giờ để tiệt trùng. Trong khi đun nếu xuất hiện bọt thì hớt bỏ bọt.

- Canh bắp cải: Điều chế bằng cách nấu bắp cải tươi trong nước, cứ 100 lít nước nấu với 20÷25 kg bắp cải. Khi bắp cải đã nhừ, lọc lấy nước canh để pha vào nước dưa. Môi trường để điều chế dịch lên men cần có hàm lượng acid lactic là 0,3÷0,4%.

Để loại trừ ảnh hưởng của các vi sinh vật lạ, môi trường điều chế từ nước dưa và canh bắp cải cần được tiệt trùng bằng hơi nước trong thời gian 30÷40 phút, ở nhiệt độ $105÷110^0$C. Sau khi đã được tiệt trùng, để môi trường vào thùng gỗ, làm nguội xuống nhiệt độ 35^0C rồi cho vào thùng 1% dịch men thuần khiết qua lỗ miệng thùng. Khuấy đều rồi để trong 3 ngày ở nhiệt độ $25÷30^0$C. Để vi sinh vật lạ không phát triển được, thùng phải được rửa sạch và khử bằng hơi nước. Miệng thùng, nhiệt kế, dụng cụ… trước khi rót dịch men thuần khiết vào cần được sát trùng bằng rượu.

Dịch men điều chế được từ vi khuẩn lactic có trạng thái đục, hương vị chua dịu, hấp dẫn, trên bề mặt có nhiều bọt. Trên mặt dịch men không được có lớp váng vì như vậy là biểu hiện có vi sinh vật lạ hoạt động.

Sau khi đã nhân giống chủng men và chủng vi khuẩn thuần khiết theo phương pháp nói trên, trộn lẫn chúng và cho dịch hỗn hợp vào bắp cải ở trong bể muối với tỉ lệ

1,25% (trong đó gồm 1% dịch vi khuẩn và 0,25% dịch nấm men). Có thể dùng dưa bắp cải đã lên men bằng các chủng vi sinh vật thuần khiết để lên men dưa bắp cải ở các bể khác. Làm như vậy cũng thu được kết quả tốt, sản phẩm có chất lượng cao.

3.1.4. Hoạt động của vi sinh vật trong muối chua bắp cải

Chỉ sau vài giờ lên men, các chủng vi sinh vật như *Leuconostoc mesenteroides* bắt đầu lên men và sinh acid. Khi nồng độ acid trong dịch đạt khoảng 0,25÷0,3% (theo acid lactic), nhóm cầu khuẩn bắt đầu phát triển chậm lại và chết dần. Tuy nhiên, enzyme của chúng thoát ra do tự phân vẫn tiếp tục tham gia vào quá trình lên men. Khi nồng độ acid đạt khoảng 0,7 tới 1%, hầu như không còn dạng cầu khuẩn nữa. Lúc này *Lactobacillus plantarum và Lactobacilus brevis* hoạt động và nâng độ acid lên tới 1,5÷2%. Cuối cùng, các loài *Lactobacillus curvatus* và *Lactobacillus sake* kết thúc quá trình lên men nâng độ acid tới khoảng 2,0÷2,5%.

Sản phẩm tạo ra trong quá trình lên men bắp cải chứa một lượng lớn acid lactic (không bay hơi) và một lượng nhỏ acid acetic, acid propionic (bay hơi), hỗn hợp khí trong đó chủ yếu là CO_2, một lượng nhỏ ethanol và nhiều loại este thơm. Ethanol trong tương tác với nhiều loại acid sẽ sinh ra các ester đặc trưng của dưa chua.

Tới khi kết thúc quá trình lên men lượng đường sót lại hầu như không đáng kể, trong khi đó nồng độ acid lactic lại khá lớn. Acid acetic và ethanol được sinh ra bởi *Leuconostoc mesenteroides* trong giai đoạn đầu của quá trình lên men. Acid lactic được tạo ra chủ yếu bởi loài vi khuẩn *Lactobaciluss* lên men đồng hình và không sinh khí. Bất kỳ thay đổi nào trong thứ tự của các quá trình sẽ ảnh hưởng đến hương vị và chất lượng của sản phẩm.

3.1.5. Sự hư hỏng của bắp cải muối

Quá trình thối hỏng của bắp cải muối chủ yếu do vi sinh vật hiếu khí gây nên. Chúng ít tác động lên thành phần đường mà chủ yếu lên protein và do vậy tạo ra nhiều hậu quả không mong muốn. Tuy nhiên những vi sinh vật này nhanh chóng bị ức chế trong quá trình lên men lactic.

Nấm men không bị ảnh hưởng bởi acid và do vậy có thể là nguyên nhân gây thối hỏng. Nấm mốc cần oxy cho sinh trưởng và phát triển, do vậy sẽ bị ức chế trong điều kiện lên men yếm khí.

- Bắp cải bị nhớt, kém chất lượng: Vi khuẩn, nấm men và nấm mốc là tác nhân gây hỏng. Lý do là nguyên liệu không được bảo đảm vệ sinh trong quá trình gặt hái và chế biến.

- Bắp cải bị nhày, dính: Hiện tượng này ít gặp. Hương vị bắp cải không bị ảnh hưởng nhiều. Nguyên nhân là do chất nhày tạo bởi một số nhóm vi khuẩn như *Pediococcus acidilactici*. Vi sinh vật này phát triển mạnh trong điều kiện nhiệt độ môi trường cao.

- Bắp cải bị mềm: Hiện tượng này có một loạt nguyên nhân, ví dụ như lượng oxy (không khí) cao, lượng muối cho vào không đủ (dưới 0,8%) và do sự thay đổi nhiệt độ.

- Bắp cải bị tối màu: Đây là hiện tượng phổ biến nhất và gây ra bởi vi sinh vật gây thối. Để tránh hiện tượng này, cần đảm bảo độ đồng đều của dịch trong khối lên men.

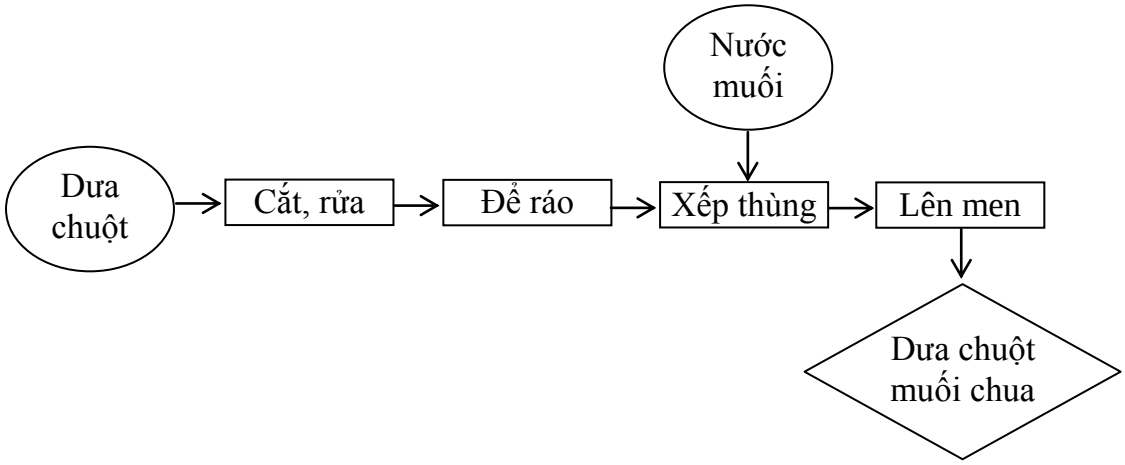
- Bắp cải ngả hồng: Nguyên nhân chủ yếu là do sự phát triển của một số chủng nấm men có khả năng tạo sắc tố (ví dụ như *Rhodotorula glutinis*)

- Bắp cải có hương vị kém: Nguyên nhân là do vi khuẩn lactic lên men dị hình bị

ức chế (không tạo ra acid acetic và một số sản phẩm lên men khác)

3.2. Công nghệ muối chua dưa chuột

3.2.1. Sơ đồ quy trình công nghệ (hình 3.2)



Hình 3.2. Sơ đồ công nghệ muối chua dưa chuột

3.2.2. Thuyết minh quy trình

Dưa chuột muối chua là một loại thực phẩm được nhiều người ưa chuộng. Để sản xuất dưa chuột muối chua cần thu hoạch dưa chuột từ khi chúng còn non. Dưa cần được bảo quản tránh va đập và nên chừa lại một phần cuống dài 1÷2cm. Không nên bảo quản dưa chuột quá 6÷8 giờ kể từ khi thu hoạch cho tới khi muối, vì quá trình thối hỏng diễn ra khá nhanh.

Dưa chuột muối thuộc hình thức muối trong dung dịch. Có thể muối dưa chuột bằng muối tinh thể, tuy nhiên sẽ không tốt bằng nước muối do khi muối bằng muối khô, dưa bị biến dạng nhiều và giảm nhiều về thể tích cũng như về khối lượng mà sau đó không phục hồi được.

Dưa đưa vào muối phải đảm bảo chất lượng. Kích thước quả dưa, hàm lượng đường trong dưa ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Dưa chuột dùng để muối chua cần có hàm lượng đường không thấp hơn 2%.

Trước khi muối, dưa được phân loại theo kích thước (chiều dài). Dưa trong cùng một nhóm, có chiều dài chênh lệch nhau không quá 2÷3cm, không để lẫn dưa thuộc các nhóm khác với nhau.

Có thể sử dụng thêm gia vị, thường dùng: thì là, cần tây, hành, tỏi, ớt, lá quế. Tỉ lệ gia vị chiếm 3÷8 % lượng dưa chuột. Gia vị có tác dụng làm tăng hương vị, làm giàu vitamin C cho sản phẩm. Một số gia vị còn có tác dụng diệt các vi sinh vật lạ trong sản phẩm.

Dưa chuột có thể được muối trong các dụng cụ bằng gỗ, sành sứ hoặc thủy tinh. Đầu tiên pha dung dịch nước muối nồng độ 6÷10%. Dưa chuột sau khi rửa được ngâm vào dung dịch muối và nhấn chìm bằng một miếng gỗ. Dưa chuột chứa 90% nước và do vậy trong quá trình muối, nồng độ muối trong dung dịch sẽ giảm dần. Dung dịch cần được điều chỉnh về độ muối 10% để ức chế các vi sinh gây thối. Tuy nhiên nồng độ muối cũng không được giữ quá cao vì có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn lactic. Sau 5÷6 tuần, nồng độ muối cần được chỉnh về 15%. Việc bổ sung muối nhằm để giữ sản phẩm có thể tồn trữ dài ngày mà không bị hỏng.

Trong quá trình muối, dưa sẽ chuyển màu từ xanh sáng sang vàng xanh do tác dụng của acid lên chlorophyll. Thịt quả sẽ chuyển thành trong suốt do các bọt khí trong quả bị loại dần.

3.2.3. Hoạt động của vi sinh vật trong muối chua dưa chuột

Vi sinh vật có sẵn trên quả sẽ bắt đầu quá trình lên men. Trong quá trình này có những vi sinh vật tham gia: *Leuconostoc mensenteroides, Enterococus faecalis, Pediococcus cerevisiae, Lactobacillus brevis và Lactobacillus plantarum*. Trong số đó những vi sinh vật như *Pediococcus* và *Lactobacillus plantarum* là quan trọng và không thể thiếu được, còn những vi sinh vật như *Lactobacillus brevis* không mong đợi bởi vì chúng có khả năng sinh khí.

Trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, một số lượng lớn các loài vi khuẩn, nấm men và nấm mốc không liên quan có thể có mặt trong dịch lên men. Trong sự lên men tự nhiên, vi sinh vật của nhóm này có số lượng lớn hơn nhiều so với vi khuẩn lactic và có nguồn gốc từ môi trường xung quanh. Chính vì lẽ đó, giai đoạn đầu tiên này đóng vai trò rất quan trọng quyết định chất lượng sản phẩm. Trong thời gian này, số lượng vi khuẩn lactic và nấm men (cả nhóm lên men và nhóm oxy hóa) phát triển nhanh chóng về số lượng. Các vi sinh vật gây thối giảm số lượng cũng rất nhanh và thậm chí có thể biến mất hoàn toàn. pH môi trường cũng giảm nhanh, lượng acid tạo ra càng nhiều.

Trong giai đoạn giữa của quá trình lên men, hỗn hợp vi sinh vật thuộc nhóm chịu acid thấp *Leuconostoc* và nhóm chịu acid cao như *Lactobacilluss* và *Pediococus* đóng vai trò chủ chốt. Các vi sinh vật thuộc nhóm *Coliform* ở hàng thứ yếu và biến mất sau 10÷14 ngày. Một số lượng nhỏ nấm men cũng có mặt trong môi trường trong khi nồng độ acid vẫn tiếp tục tăng.

Các loại vi sinh vật như *Pediococcus cerevisiae, Lactobacillus brevis và Lactobacillus plantarum* hoàn thành giai đoạn cuối cùng của quá trình lên men và đưa nồng độ acid tới đỉnh điểm. Các loại nấm men oxy hóa vẫn tồn tại nhưng không phát triển tiếp trong giai đoạn này.

3.2.4. Các hiện tượng làm giảm chất lượng dưa chuột muối chua

- Hiện tượng phồng nở

Đây là vấn đề nghiêm trọng khi lên men dưa chuột và nhìn chung thường xảy ra nặng nề hơn đối với các loại dưa kích thước lớn, nhiệt độ lên men cao. Nguyên nhân là do sự tích lũy khí CO_2 trong dịch lên men.

Để giảm lượng khí CO_2 tạo ra, có thể thổi khí nitơ hoặc khuấy trộn nhẹ dịch lên men. Một số chủng vi khuẩn lactic lên men đồng hình trong quá trình lên men có thể sản sinh acid lactic và CO_2 và điều này còn làm trầm trọng thêm vấn đề.

- Hiện tượng dưa mềm hoặc nhăn

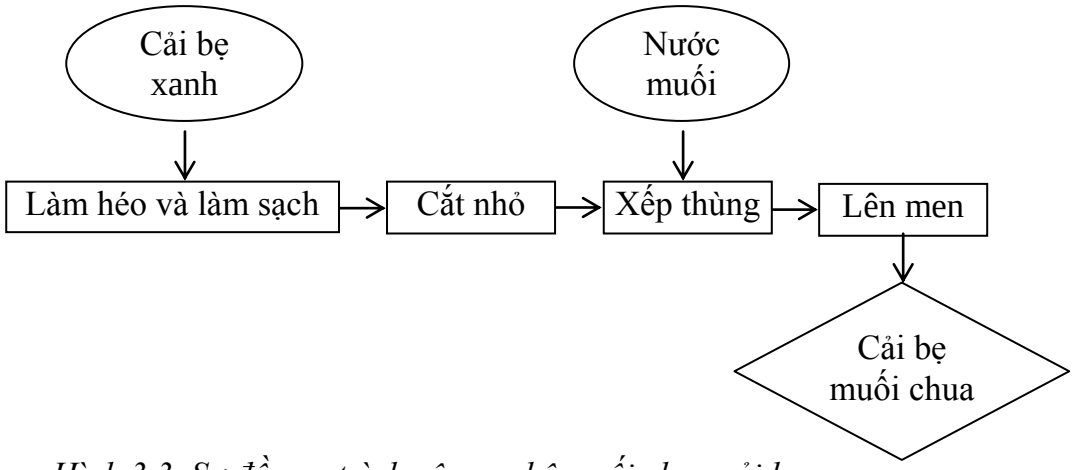
Nguyên nhân có thể do một lượng lớn acid tạo ra bởi *Leuconostoc mensenteroides.*

Sự phát triển của một số vi sinh vật oxy hóa acid hữu cơ như *Mycoderma* cũng có thể là vấn đề bởi chúng làm thay đổi giá trị pH và ảnh hưởng tới trật tự của quá trình lên men.

3.3. Công nghệ muối chua cải bẹ

3.3.1. Sơ đồ quy trình công nghệ

Sơ đồ quy trình công nghệ muối chua cải bẹ được trình bày ở hình 3.3



Hình 3.3. Sơ đồ quy trình công nghệ muối chua cải bẹ

3.3.2. Thuyết minh quy trình

a) Chọn nguyên liệu

Dùng cây cải có bẹ, khối lượng trung bình mỗi cây là 2÷3kg, hàm lượng đường trung bình trong nguyên liệu là 3÷3,5%. Không nên dùng cải quá già hoặc quá non (do có hàm lượng đường thấp, làm giảm chất lượng sản phẩm), nên sử dụng cải mới chớm có hoa.

b) Cắt - rửa

- Cắt bỏ cuống già ở sát gốc cây. Loại bỏ các lá có khuyết tật, héo, giập nát, bị sâu, rệp. Nếu dùng cải bẹ đã ủ vàng hoặc phơi héo thì tỉ lệ hao hụt cao và vitamin C bị thất thoát nhiều. Trong sản xuất quy mô công nghiệp thường dùng cải tươi nên tỉ lệ thất thoát thấp.

- Rửa: loại đất cát, tạp chất và sạch một phần vi sinh vật có trên lá dưa. Tránh làm giập lá khi rửa.

c) Muối dưa

Muối dưa trong các vại sành, thùng gỗ hoặc trong bể ximăng.

Dùng muối ăn trắng sạch để muối dưa. Tỉ lệ muối 6÷9% so với khối lượng nguyên liệu cải pha với nước, tỉ lệ nước sử dụng là 20% khối lượng nguyên liệu cải. Trước khi muối có thể cho thêm 5% hành tươi để tạo hương vị cho sản phẩm. Đồng thời hành cũng có tác dụng hạn chế một số vi sinh vật có hại và bổ sung thêm đường cho dưa.

d) Lên men

Nhiệt độ thích hợp 20÷25°C sản phẩm có hương vị tốt, trạng thái giòn. Nếu để ở nhiệt độ 30÷35°C: dưa có màu xỉn, mềm, có mùi vị lạ. Thời gian: 15÷16 ngày. Hàm lượng acid lactic đạt được 2,5÷3,6 g/l. Để quá trình lên men lactic ổn định có thể pha nước dưa cũ vào nước dưa mới muối.

e) Bảo quản

Bảo quản trong kho lạnh với nhiệt độ 0÷2^{0}C; Bảo quản bằng acid sorbic (0,07÷0,1%) chống được sự phá hoại của nấm men, nấm mốc đồng thời giữ được màu sắc tự nhiên và hương vị đặc trưng của sản phẩm. Thời gian bảo quản 90 ngày ở nhiệt độ phòng. Tạo điều kiện yếm khí cao cho sản phẩm bằng cách phủ lên dưa một màng polyetylen rồi đổ nước muối lên, vừa tạo điều kiện yếm khí vừa làm vật nén sản phẩm.

Thời gian bảo quản: 5÷6 tháng ở nhiệt độ phòng.

3.4. Công nghệ sản xuất kim chi

3.4.1. Sơ lược về kim chi

Kim chi (La-tinh hóa: gimchi hoặc kimchee) là một món ăn truyền thống của người Triều Tiên (Hàn Quốc và Bắc Triều Tiên). Thời xưa trong tiếng Triều Tiên thường được phát âm là chim-chae (Hangeul; chữ Hán), nghĩa là "rau củ ngâm". Món ăn này được làm bằng cách lên men từ các loại rau củ (chủ yếu là cải thảo) và ớt, có vị chua cay. Kim chi được xem như một trong những món ăn điển hình của ẩm thực Triều Tiên. Ở Triều Tiên. Mặc dù có hàng trăm loại kim chi khác nhau nhưng hầu hết các loại kim chi đều có mùi thơm nồng và cay đặc trưng. Lượng men *Lactobacilli* có mặt trong quá trình lên men kim chi cao, điều này dẫn đến lượng acid lactic trong sản phẩm cuối cùng còn cao hơn cả trong sữa chua.

Tạp chí Sức khỏe của Mỹ (Health Magazine) đã từng gọi Kimchi là một trong "năm thực phẩm có lợi cho sức khỏe nhất" của thế giới, với khẳng định rằng món ăn này giàu vitamin giúp tiêu hóa tốt và thậm chí còn có thể có tác dụng phòng bệnh ung thư. Trong khi đó, các nhà khoa học khác lại cho rằng các loại rau bảo quản không chứa vitamin và do nó chứa lượng Nitrite cao, nếu ăn quá nhiều có thể gây ung thư. Các tính chất của kim chi liên quan đến sức khỏe xuất phát từ nhiều nhân tố. Kim chi thường được làm từ bắp cải, hành, tỏi, những loại rau này đều có lợi cho sức khỏe. Cũng như sữa chua, kim chi còn có các men vi khuẩn sống có ích.

Thành phần nguyên liệu để chế biến kim chi gồm: cải thảo, bắp cải, củ cải, tỏi, ớt, hành, gừng, muối ăn, đường và có khi có cả cá, mực, tôm, sò hoặc các hải sản khác. Có nhiều món kim chi có thành phần khác, trong đó kim chi kkakdugi làm bằng củ cải và không dùng cải thảo, kim chi oisobaegi làm từ dưa chuột. Kim chi kkaennip làm bằng lá kkaennip (kkaennip - một loại cây tương tự tía tô) muối trong xì dầu, ớt, tỏi, hành và các gia vị khác. Bảo tàng về kim chi ở Seoul đã ghi nhận có 187 loại kim chi từ xưa đến nay. Nếu không có cải thảo hoặc cảm thấy loại cải thảo Triều Tiên có mùi quá hăng, người ta có thể làm kim chi từ bắp cải thường, nhưng ít khi. Mùi vị của kim chi làm theo kiểu này có xu hướng nhẹ hơn và ít cay.

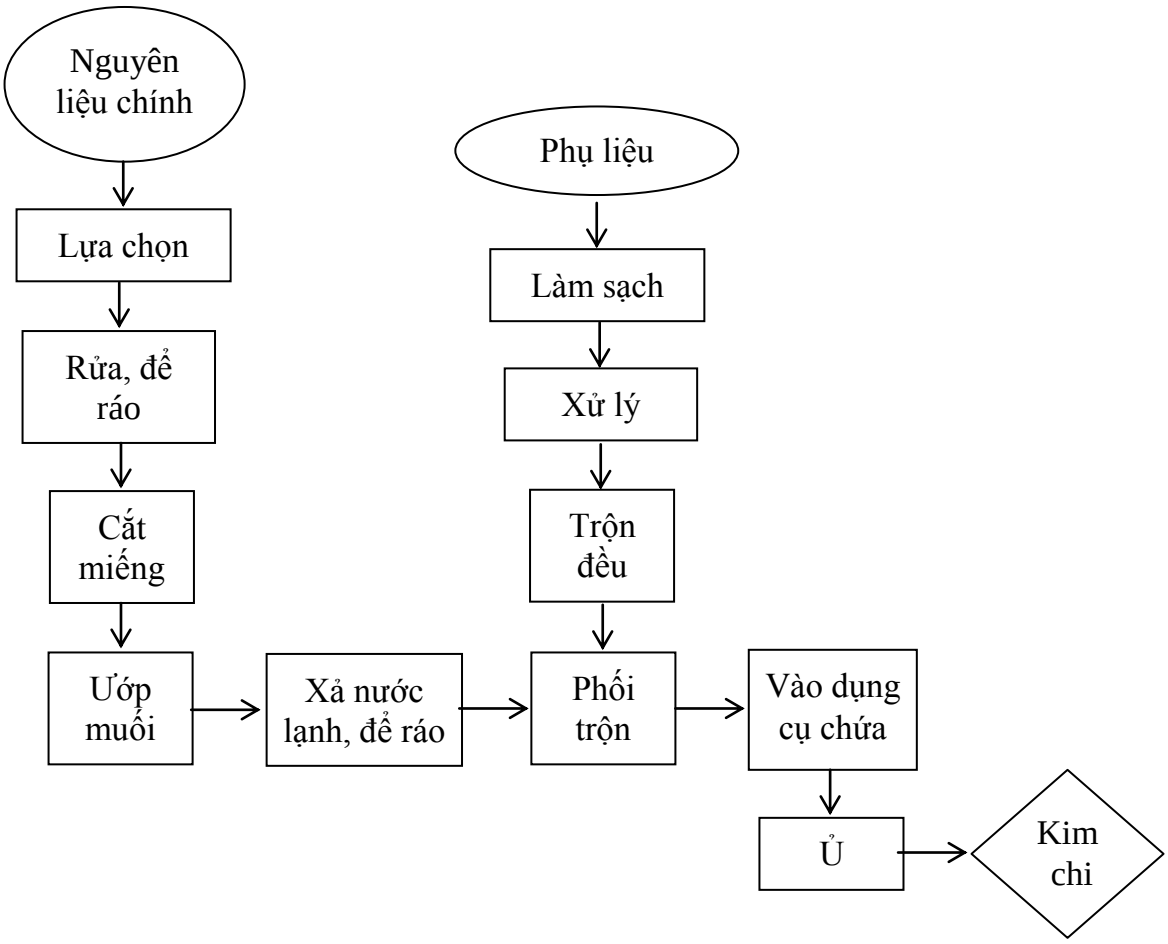
Beachu Kim chi (Kim chi bắp cải) là loại Kim chi được dùng phổ biến nhất vào mùa đông. Tuy cùng loại Kim chi bắp cải nhưng cách chế biến lại khác nhau tuỳ theo từng vùng ở Hàn Quốc như miền Bắc khí hậu lạnh và miền Nam ấm áp. Kim chi miền Bắc không cay và nhạt, trong khi Kim chi miền Nam thì mặn, cay và nhiều nước. Còn ở miền Trung thì rất mặn và nhiều nước. Lượng gia vị dùng để ướp Kim chi cũng rất khác nhau giữa các miền. Ở miền Bắc người ta không dùng nhiều gia vị hỗn hợp "so" mà chủ yếu sử dụng củ cải thái mỏng đã ướp gia vị rải sơ giữa các bẹ cải. Trong khi ở miền Trung, Kim chi được ướp nhiều gia vị hỗn hợp "so". Nhưng riêng ở miền Nam, người ta còn trộn thêm hỗn hợp gia vị với nước mắm nhỉ, phủ một lớp gạo nếp bọc nguyên bắp cải.

Tùy theo quy mô sản xuất, mục đích sản xuất, kim chi có thể lên men ngắn ngày hoặc dài ngày trong các điều kiện nhiệt độ tương ứng và được đóng gói, bảo quản trong loại "dụng cụ chứa" phù hợp để lưu trữ dài ngày hay phân phối sử dụng.

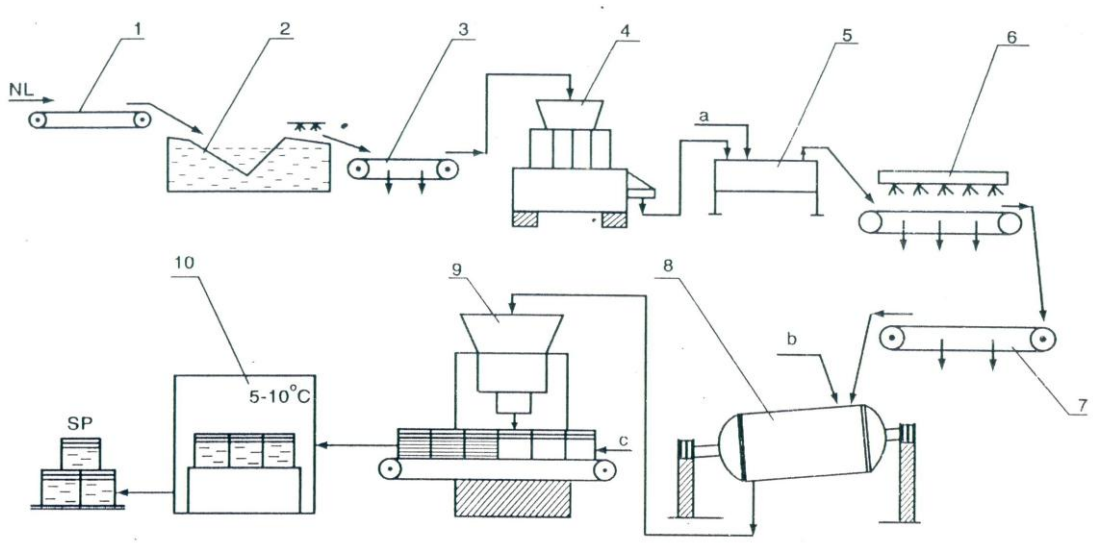
3.4.2. Quy trình công nghệ sản xuất kim chi

a) Sơ đồ quy trình công nghệ

Sơ đồ quy trình công nghệ và sơ đồ mô hình thiết bị sản xuất kim chi được mô tả ở hình 3.4 và 3.5.



Hình 3.4. Sơ đồ quy trình sản xuất kim chi



Hình 3.5. Sơ đồ mô hình thiết bị sản xuất kim chi

1-Thiết bị lựa chọn nguyên liệu; 2-Thiết bị rửa; 3- Băng tải để ráo nguyên liệu; 4-Thiết bị cắt miếng; 5-Thiết bị ướp muối; 6-Băng tải xả nước lạnh; 7-Băng tải làm ráo; 8-Thiết bị phối trộn; 9-Thiết bị đóng nắp bao bì; 10-Phòng lên men. NL-Nguyên liệu; SP-Sản phẩm; a-muối; b-gia vị

b) Thuyết minh quy trình

- Lựa chọn nguyên liệu

Nguồn nguyên liệu dùng trong sản xuất kim chi rất phong phú, đa dạng. Trong đó nguyên liệu chính thường dùng là bắp cải, cải thảo và củ cải.

Bắp cải: dùng các loại có hàm lượng nước cao và mô lá không quá giòn để sản phẩm đỡ gãy nát. Độ chín kỹ thuật của bắp cải biểu hiện ở chỗ: lá cuốn chặt, hàm lượng chất khô khoảng 10% trong đó bao gồm 4÷5% đường, 1÷2% protein để tạo điều kiện cho vi khuẩn lactic phát triển thuận lợi. Dùng bắp cải to sẽ lợi hơn vì tỉ lệ phế liệu thấp hơn so với bắp cải nhỏ, không dùng bắp cải quá non, quá già hoặc bị sâu bệnh. Chọn những bắp cải tươi, loại bỏ lá úa ở ngoài cắt bỏ những lá xanh và lá có khuyết tật, rửa sạch và để ráo.

Cải thảo: cải thảo dùng để làm kim chi phải tươi và sạch, với nhiều lá xanh, lớp lá mỏng, bắp cải thảo càng lớn càng tốt

- Cắt miếng

Tùy theo yêu cầu sản phẩm mà thực hiện công đoạn cắt bắp cải hoặc bắp cải thảo thành những miếng to nhỏ hoặc cắt đôi hay cắt ba...

Cắt thủ công : Để cắt đôi bắp cải, cắt ở phần cuốn xuống đến một phần ba bắp cải; Dùng tay tách đôi bắp cải. Hoà nước muối và rửa bắp cải qua nước muối, để ráo.

- Ướp muối

Quá trình ướp muối sẽ lấy bớt một phần ẩm ra khỏi nguyên liệu, giúp cho cấu trúc nguyên liệu mềm hơn, dễ thấm gia vị. Ướp muối sẽ ức chế một phần vi sinh vật trong nguyên liệu và góp phần tạo vị cho sản phẩm.

Kim chi là sản phẩm truyền thống, dù ở qui mô công nghiệp, quy trình sản xuất vẫn còn sử dụng nhiều phương pháp thủ công. Thường quá trình ướp muối do công nhân thao tác trên bàn trộn. Ngoài ra có thể sử dụng thiết bị trộn kiểu thùng quay để thực hiện công đoạn ướp muối.

Cho muối hột vào bên trong từng cọng cải và bao quanh bắp cải. Xếp bắp cải đã muối vào trong hũ. Hoặc cho các bắp cải đã được chuẩn bị vào trong một dung dịch muối (8÷15%) để 2÷7 giờ nhằm nâng hàm lượng muối bắp cải từ 2,0 đến 4,0% (w/w). Sau đó rửa nhiều lần bằng nước sạch và để ráo nước. Để loại bỏ lượng nước dư thừa có thể ly tâm hoặc để dựng bắp cải.

Hình 3.6 trình bày các hình ảnh các thao tác thủ công làm kim chi cải thảo.

- Lựa chọn, làm sạch và xử lý nguyên phụ liệu

Ngoài nguyên liệu chính và muối, các loại nguyên phụ liệu khác gồm: Củ cải trắng, gừng, tỏi, ớt, cần nước, cải xanh, hành barô, tảo biển, mắm cá hoặc tôm ...Trong đó, ớt là phụ liệu chủ đạo còn tảo biển và mắm chỉ dùng cho một số kim chi đặc biệt.

Các nguyên liệu rau quả chọn loại còn xanh tươi, đạt độ chín thu hái, rửa sạch và để ráo. Cắt củ cải thành miếng dài 2mm sau đó thái sợi mỏng; Gọt tỉa và rửa hành lá, cải xanh, cần nước sau đó cắt khúc dài 4cm. Cắt xéo phần đầu hành barô. Cho củ cải đã thái vào ớt bột đã chuẩn bị và trộn cho đến khi củ cải chuyển sang màu đỏ; Tỏi, gừng băm, tôm ngâm chua và tôm tươi đã xay nhuyễn…

Trộn đều: Trộn tỏi băm, gừng băm, tôm ngâm chua và tôm tươi đã xay nhuyễn, cần nước, cải xanh, hành lá đã cắt vào hỗn hợp củ cải vừa ướp vào với nhau cho thật đều.

- Phối trộn, cho vào dụng cụ chứa

Nhằm tạo hỗn hợp sản phẩm cuối cùng. Các bắp cải đã ướp muối và hỗn hợp phụ liệu đã xử lý được trộn đều với nhau. Quá trình thẩm thấu bắt đầu xảy ra, dịch bào từ trong nguyên liệu được tách ra, còn gia vị sẽ thấm vào.

Hình 3.6. Hình ảnh các thao tác làm kim chi cải thảo

1. Cắt đôi bắp cải thảo; 2. Tách đôi bắp cải thảo; 3. Xả bắp cải thảo qua nước muối; 4. Xát muối vào bắp cải; 5. Cho bắp cải vào hũ; 6, 7, 8. Xử lý nguyên liệu phụ; 9. Trộn đều hỗn hợp phụ liệu; 10,11. Phối trộn phụ liệu vào bắp cải; 12. Lên men

Quá trình phối trộn có thể được thực hiện bằng phương pháp thủ công trên bàn trộn hoặc sử dụng thùng trộn. Tỉ lệ giữa nguyên liệu chính và phụ liệu có thể thay đổi và thường là 70÷90:30÷10. Mặc dù thành phần nguyên liệu chính và phụ rất quan trọng nhưng yếu tố ảnh hưởng lớn đến mùi vị kim chi là nồng độ muối.

Thực hiện ướp hỗn hợp các phụ liệu vào từng lớp bẹ và lá cải. Giữ ngữa phần thân bắp cải để cho các gia vị ướp nằm bên dưới. Gói chặt bắp cải lại bằng các lá bên ngoài và xếp từng bắp cải trong chum, hủ sành. Phủ lên trên một lớp lá và đè chặt. Rải lên một lớp muối. Đối với loại sản phẩm cắt nhỏ, dụng cụ chứa có thể là các loại bao bì thủy tinh hoặc bao PE kích thước nhỏ vừa, đóng gói thủ công hoặc sử dụng những máy đóng gói thông dụng.

- Ủ kim chi: nhằm lên men tạo hương vị đặc trưng cho kim chi diễn ra trong giai đoạn bảo quản kim chi. Nếu muốn kim chi mau chín thì lên men ở nhiệt độ cao, kim chi ngon nhất khi được ủ ở 5÷10^{0}C trong thời gian 2 đến 3 tuần, giá trị dinh dưỡng của kim chi đạt cao nhất ở độ pH là 4, nhưng có thể kết thúc quá trình lên men khi pH trong khoảng 3÷4,5.

Cất giữ là vấn đề khó nhất cần giải quyết khi sản xuất kim chi với số lượng lớn, vì sau khi lên men đủ vi khuẩn vẫn tiếp tục hoạt động làm thay đổi các thành phần, hiện tượng này gọi là chín rữa thường thấy ở kim chi sản xuất trong mùa hè.

Trong giai đoạn cuối lên men, enzyme polygalactulonase phân hủy pectin làm cho mềm cọng cải kim chi và làm tăng nhanh lượng nước sốt kim chi. Khi kim chi đã đủ chua việc bảo quả và phân phối là vấn đề quan trọng. Vòng đời kim chi sẽ khá ngắn nếu không có biện pháp điều chỉnh nhiệt độ thích hợp, thường sử dụng phòng lạnh chuyên dùng để kiểm soát nhiệt độ khi lên men kim chi.

c) Bảo quản kim chi

Bảo quản kim chi là một công đoạn cần nhiều công sức cũng như công đoạn làm

kim chi. Chọn lựa dụng cụ chứa kim chi cũng là một công việc cần sự đầu tư. Kim chi nên được bảo quản ở nhiệt độ ổn định để quá trình lên men diễn ra theo hướng tốt nhất nhằm đạt được hương vị tốt và bảo quản trong thời gian dài. Nguồn gốc bảo quản kim chi của tổ tiên người Hàn được định hướng theo mùa và khu vực. Trong mùa hè, kim chi được cất giữ ở giếng nước hoặc suối mát và vào mùa đông, một nồi sành được chôn dưới đất để giữ cho kim chi không bị đông lạnh và giữ lại hương vị kim chi trong một thời gian dài.

Trong thời gian bảo quản, vi khuẩn phát triển trên bắp cải và các thành phần khác của kim chi. Một số bị trôi đi hoặc biến mất trong suốt quá trình lên men, nhưng những hoạt động sống trước đó của chúng góp phần tạo mùi và vị tự nhiên của kim chi. Vào giai đoạn chín của kim chi, vi khuẩn sinh acid lactic phát triển mạnh trong khi vi khuẩn có hại và ký sinh trùng giảm dần. Các acid hữu cơ như acid lactic, rượu và acid carbonic được sản sinh và kết hợp với nhau tạo ra một vị chua độc đáo.

Các dụng cụ chứa kim chi được chọn từ các loại như: dok, jungduri, bataengi và hangari tùy theo loại kim chi và mùa sản xuất. Công việc chế tạo dụng cụ chứa là một nhân tố quan trọng mang lại mùi vị tối ưu của kim chi. Việc chọn lựa đất hoặc đất sét để chế tạo dụng cụ chứa cũng phải được thực hiện đúng cách (ví dụ như phải lấy đất sau cơn mưa đầu mùa của năm hoặc khi côn trùng ra ngoài sau thời gian trú ẩn mùa đông; dụng cụ chứa được tạo hình và nung trong các lò truyền thống...). Thông thường, để ngăn chặn kim chi mau chua, kim chi được chứa trong một dok đôi đặt trong một cái hangari để ở trong giếng hoặc suối có luồng nước mát nhằm lưu giữ ở nhiệt độ không đổi. Còn trong mùa đông, kim chi được chứa trong hangari và được chôn dưới đất. Dok và hangari sử dụng để cất giữ kim chi là các loại đồ gốm. Đồ gốm cung cấp điều kiện tối ưu cho kim chi nhằm tạo ra quá trình lên men vừa phải như các lỗ hỗng bé xíu được hình thành trên tất cả các đồ gốm khi được nung trong lò. Đồ gốm khác nhau về hình dạng và màu sắc theo khu vực.

** Kimchiwan (Nhà cất giữ kim chi)*

Hình 3.7. Các hình thức bảo quản kim chi

Sự thơm ngon của kim chi là nhờ hoạt động của vi khuẩn sản sinh ra các acid hữu cơ. Tuy nhiên, nếu kim chi được chôn vùi dưới lòng đất sẽ trở nên đông lạnh, hương thơm sẽ bị mất đi và vì thế nhu cầu có một kho chứa kim chi cung cấp điều kiện tối ưu cho quá trình lên men kim chi là cần thiết

Khu cất giữ kim chi được hình thành. Các dok kim chi cũng được chôn dưới đất và phía trên, các tấm gỗ mỏng đan với nhau thành nón được đặt lên, sau đó phủ rơm lên. Tuyết và mưa không làm thay đổi nhiệt độ, cho phép kim chi chín và bảo quản trong thời gian dài. Các hình thức cất giữ kim chi hiện đang được thực hiện tại Hàn Quốc (hình 3.7):

1. Khu vực phía Nam: Dok kim chi chôn dưới đất sau đó phủ rơm.

2. Miền Trung và miền Bắc: Đào một hố hình nón chôn các Dok kim chi.

3. Ở qui mô hộ gia đình mở rộng: Một phần sau của nhà chính được xây dựng để được sử dụng như nhà lưu trữ kim chi.

d) Vi sinh vật lên men

Có khoảng 200 loài vi khuẩn phân lập được từ kim chi, phổ biến là các loài: *Lactobacillus plantarum, L.Brevis, Streptococcus faecalis, Leuconostoc mesenteroides, Pediococcus pentosaceus*

Trong giai đoạn đầu của quá trình lên men thì những vi khuẩn hiếu khí sẽ phát triển nhưng sẽ giảm dần trong giai đoạn tiếp theo.

Trong giai đoạn giữa thì các vi khuẩn kỵ khí sẽ tiếp tục phát triển mạnh mẽ.

Ở giai đoạn cuối thì các vi khuẩn hiếu khí lại tiếp tục phát triển nhanh chóng cùng với sự phát triển của nấm men.

Leu. mesenteroides phát triển mạnh mẽ trong giai đoạn đầu lên men do đó tạo ra nhiều acid lactic và CO_2 làm acid hoá kim chi và tạo môi trường yếm khí ngăn cản sự phát triển của các vi khuẩn hiếu khí. *Streptococcus* cũng phát triển nhanh trong giai đoạn đầu, *Pediococcus* ở giai đoạn giữa, *L. plantarum* và *L. brevis* hoạt động ở giai đoạn cuối có nhiệm vụ làm chín kim chi. Như vậy, các vi sinh vật trong quá trình lên men kim chi cũng giống các quá trình lên men dưa cải khác.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Bản chất của quá trình muối chua rau quả là gì?

2. Trình bày các giai đoạn của quá trình muối chua.

3. Phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm muối chua.

4. Trình bày công nghệ muối chua bắp cải, dưa chuột, cải bẹ.

5. So sánh điểm giống và khác nhau trong công nghệ muối chua bắp cải và sản xuất kim chi từ nguyên liệu chính là bắp cải.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Huỳnh Thị Dung, Nguyễn Thị Kim Hoa (2003), *Bảo quản và chế biến rau quả thường dùng ở Việt Nam*, NXB Phụ Nữ, Hà Nội.

[2]. Quách Đĩnh, Nguyễn Vân Tiếp, Nguyễn Văn Thoa (1996), *Công nghệ sau thu hoạch và chế biến rau quả,* NXB Khoa học - Kỹ thuật, Hà Nội.

[3]. Lâm Thị Việt Hà, Nguyễn Văn Mười, *Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men bắp cải muối chua*, Tạp chí khoa học công nghệ tháng 5/ 2005.

[4]. Hồ Sưởng, Lương Đức Phẩm, Lê Văn Tố, Nguyễn Thị Hoa (1982), *Vi sinh vật trong bảo quản và chế biến rau quả*, NXB Nông Nghiệp.

[5]. Mr. Mike Battcock and Dr. Sue Azam-Ali, **(**1998) *Fermented frutis and vegetables.A global perspective,* Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome , M-17 ISBN 92-5-104226-8

[6]. *Storing Kimchi* (http://koreakimchi.or.kr/phps/menu/menu.php?S=S02&M=030301000000).

Chương 4. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ THỊT CÁ

Thịt, cá là nguồn cung cấp protein động vật chủ yếu cho con người. Ngoài những cách chế biến thông thường thịt, cá còn được chế biến dưới dạng các sản phẩm lên men như: tré, nem chua, xúc xích lên men, nước mắm, mắm cá và một số dạng sản phẩm lên men cổ truyền khác. Công nghệ sản xuất thực phẩm lên men từ thịt, cá chủ yếu dựa vào nguồn enzyme có sẵn trong nguyên liệu hoặc bổ sung từ ngoài vào để tiến hành lên men tạo các sản phẩm có cấu trúc, màu sắc và hương vị đặc trưng cho từng loại sản phẩm.

Hiện nay, đa số các sản phẩm lên men từ thịt, cá đều được sản xuất theo phương pháp cổ truyền, trong phạm vi chương này sẽ trình bày công nghệ sản xuất hai sản phẩm lên men từ thịt, cá tương đối phổ biến là nước mắm và nem chua.

1. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NƯỚC MẮM

Nước mắm là dung dịch đạm mà chủ yếu là các acid amin, được tạo thành do quá trình thủy phân protein cá nhờ hệ enzyme protease có trong cá. Nước mắm có màu từ vàng rơm đến cánh gián hoặc nâu vàng, có mùi thơm đặc trưng, vị mặn – ngọt đạm, được sử dụng để làm gia vị trong chế biến thực phẩm quy mô công nghiệp cũng như hộ gia đình. Ngoài ra, nước mắm để lâu năm còn có tác dụng chữa một số bệnh như: đau dạ dày, phục hồi cơ thể suy nhược…

Ở Việt Nam, nghề làm nước mắm đã có từ lâu đời, được lan truyền từ đời này sang đời khác và được cải tiến thích hợp với thị hiếu và khí hậu của từng vùng. Hiện nay trên cả nước có rất nhiều cơ sở sản xuất nước mắm, trong đó một số nhãn hiệu nổi tiếng như: Thanh Hà, Hưng Thịnh (Phú Quốc); Thủy Tài (Bình Định); Nam Ô (Đà Nẵng), Nha Trang, Phan Thiết….

Nước mắm cũng được sản xuất ở hầu hết các nước Châu Á. Mỗi nước có kiểu sản xuất khác nhau tạo ra sản phẩm có giá trị dinh dưỡng và giá trị cảm quan khác nhau.

1.1. Nguyên liệu sản xuất nước mắm

1.1.1. Cá

Cá dùng để sản xuất nước mắm phải là loại cá đạt tiêu chuẩn của cá biển ướp muối làm chượp theo TCVN 3251-79. Nguyên liệu cá sản xuất nước mắm có thể được ướp đá hoặc ướp muối.

Theo tập tính sinh sống, cá có thể được phân thành cá nổi (cá sống ở tầng nước trên và tầng nước giữa) và cá đáy (cá sống ở tầng đáy).

a) Cá nổi

Cá nổi ven bờ có khoảng 70 loài, đây là những loài có kích thước nhỏ, tuổi thọ thấp, sức sinh sản cao, sống tập trung ở những vùng nước nóng gần bờ, có cơ sở thức ăn phong phú, như: cá trích, cá nục, cá cơm… những loài chủ yếu cung cấp cho hoạt động sản xuất nước mắm.

- Cá cơm (*Anchoviella*) (hình 4.1)

Cá cơm là nguồn nguyên liệu chính, chủ yếu và được sử dụng rộng rãi nhất trong công nghệ sản xuất nước mắm ở Việt Nam, đặc biệt ở Phú Quốc. Có ba loài: cá cơm mờm, cá cơm than và cá cơm sọc.

Thành phần hóa học: 75,14% nước, 11.25% protein, 2,1% lipid.

Đặc điểm: Cá thường sống ở tầng nước giữa, thường sinh sống và di chuyển theo từng đàn lớn. Mùa thu hoạch vào khoảng tháng 4÷5. Kích thước lúc thu hoạch khoảng từ 6÷9 cm.

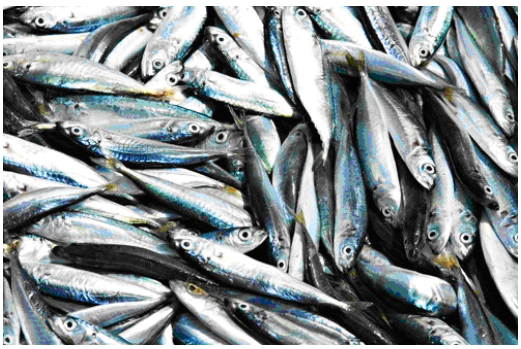
- Cá nục (hình 4.2)

Cá nục tuy không được sử dụng nhiều như cá cơm nhưng người ta vẫn sử dụng nó để sản xuất nước mắm vì cho độ đạm cao. Ở vùng biển Phan Thiết họ cá nục có hai loại: nục sồ (*Decapterus Maruadso*), chiếm khoảng 40÷50% sản lượng cá nổi nói chung và cá nục thuôn (*Dlejang*) tỷ lệ thấp hơn.

Thành phần hóa học: 76,8.% nước, 21,75% protein, 0,85% lipid.

Về đặc điểm và mùa vụ thu hoạch cá nục giống cá cơm nhưng kích thước lúc thu hoạch lớn hơn khoảng từ 12÷18 cm, trọng lượng 50÷70gr.

Hình 4.1. Cá cơm



Hình 4.2. Cá nục

- Cá trích (*Sardinella*) (hình 4.3)

Cá trích có nhiều ở vịnh Bắc Bộ và Tây Nam Bộ. So với cá cơm và cá nục, cá trích có thành phần lipid cao hơn, thành phần hóa học gồm: 75,3% nước, 17,5% protein, 6% lipid. Cá trích được khai thác gần như quanh năm với kích thước 10÷18cm.

Ngoài cá cơm, cá nục, cá trích người ta còn dùng một số loài cá nổi khác trong sản xuất nước mắm như: cá mòi, cá lầm…

Hình 4.3. Cá trích

b) Cá đáy

Nước mắm sản xuất từ cá đáy cho chất lượng nước mắm thấp hơn cá nổi, tuy nhiên vì nhiều lý do khác nhau mà người ta dùng một số loại cá đáy trong sản xuất nước mắm như cá giò, cá sơn, một số loại cá tạp khác để thay thế cho cá cơm, cá nục nhằm tận thu nguồn đạm rất hiệu quả.

Các loại cá đáy cho chất lượng nước mắm không bằng của cá cơm nhưng khi kéo rút qua bã cá cơm cho chất lượng nước mắm vẫn tốt.

c) Các loại phụ phẩm từ cá

Ngoài hai nguồn cá nổi và cá đáy là nguyên liệu chính cho sản xuất nước mắm,

các cơ sở sản xuất nước mắm hiện nay còn dùng các loại phụ phẩm khác từ cá như: ruột cá, đầu cá… để sản xuất nước mắm. Với các loại nguyên liệu này nước mắm làm ra chất lượng không bằng của cá nổi và cá đáy nhưng nếu được kéo rút qua bã chượp tốt thì chất lượng vẫn đảm bảo.

1.1.2. Muối

Muối thường có 2 nguồn là muối biển và muối mỏ, trong đó loại muối được dùng trong sản xuất nước mắm là muối biển.

Muối trong sản xuất nước mắm có một vai trò vô cùng to lớn, là nguyên liệu không thể thay thế được trong chế biến nước mắm. Muối sử dụng trong sản xuất nước mắm đóng vai trò phòng chống thối do có tác dụng kìm hãm hoạt động của vi sinh vật gây thối cá, nhưng vẫn thuận lợi cho các enzyme và vi sinh vật gây hương phát triển. Mặt khác muối còn tạo ra vị mặn cho nước mắm.

Muối dùng trong sản xuất nước mắm là loại muối tinh khiết (hàm lượng NaCl trên 97%), tốt nhất là sử dụng loại muối kết tinh nhỏ, có độ rắn cao, trắng óng ánh, không bị vón cục, không ẩm ướt, không vị đắng.

Trong muối ăn, nếu có lẫn các muối khác như $CaCl_2$, $MgCl_2$, KCl... đều ảnh hưởng đến tốc độ hòa tan và tính thẩm thấu của NaCl vào cá. Đặc biệt là làm cho sản phẩm có vị đắng chát. Trong chế biến nước mắm phải sử dụng muối cũ, muối được bảo quản càng lâu càng tốt do các muối tạp $MgCl_2$ và $CaCl_2$ dễ bị hút ẩm và chảy nước, nên nếu bảo quản càng lâu thì lượng tạp chất này sẽ bị hút ẩm và chảy nước hết và chỉ còn lại muối NaCl.

Thường muối được thu mua từ tháng 5÷7 của năm trước rồi đem sử dụng vào tháng 4÷5 năm sau.

1.1.3. Một số phụ gia sử dụng trong chế biến nước mắm

Những chất phụ gia thường được bổ sung vào sau khi nước mắm đã ra thành phẩm và chuẩn bị đi vào công đoạn đóng chai. Các phụ gia được bổ sung vào nước mắm với mục đích làm tăng giá trị cảm quan cho sản phẩm nhằm phù hợp với nhu cầu thị hiếu người tiêu dùng.

- Chất điều vị: Monosodium glutamate (MSG)
- Chất tạo ngọt: Sodium inosinate, Acesulfam-Kali, Saccarin
- Chất bảo quản: Kali sorbat, natri bezoat có tác dụng chống nấm men, nấm mốc
- Chất ổn định : Xathangum, có tác dụng ổn định trạng thái của sản phẩm nước mắm
- Chất tạo màu: màu caramel, phẩm màu tổng hợp Brown HT (nâu HT) cho nước mắm có màu nâu cánh dán phù hợp với nhu cầu cảm quan người tiêu dùng

Cũng có thể bổ sung một số chất để làm tăng giá trị dinh dưỡng như bổ sung sắt vào nước mắm.

Ngoài những phụ gia trên, tùy theo đặc điểm của từng địa phương người ta có thể cho thêm thính nhằm tạo cho nước mắm có màu đỏ đẹp và tăng mùi thơm, thính có thể được làm từ gạo tẻ, gạo nếp hoặc ngô rang vàng và xay mịn. Các gia vị khác như ớt, riềng, thơm (dứa) cũng có thể cho vào trong quá trình chượp nhằm tạo vị ngọt, cay và hương thơm cho sản phẩm.

1.2. Bản chất của quá trình sản xuất nước mắm

Bản chất của quá trình sản xuất nước mắm là quá trình thủy phân protein trong

thịt cá nhờ hệ enzyme protease có sẵn trong cá (hoặc bổ sung từ ngoài vào) thành các acid amin trong môi trường nước muối ở nồng độ thích hợp. Trong quá trình này cũng có sự tham gia một phần của vi sinh vật, chủ yếu tạo hương vị đặc trưng cho nước mắm. Bên cạnh đó còn có sự thủy phân đường và chất béo… thành các acid hữu cơ và rượu.

$$\text{Protein} \xrightarrow{\text{enzyme}} \text{Polypeptide} \xrightarrow{\text{enzyme}} \text{Peptide} \xrightarrow{\text{enzyme}} \text{Acid amin}$$

Quá trình xảy ra càng triệt để bao nhiêu, chất lượng nước mắm càng cao, độ đạm càng lớn. Tuy nhiên ngoài những vi sinh vật hữu ích tiết ra protease thúc đẩy cho quá trình thủy phân, còn có các vi sinh vật gây thối nếu không khống chế kịp thời sẽ tạo ra một số loại khí có mùi rất khó chịu như NH_3, H_2S, mercaptan... Các sản phẩm khí này có thể sẽ tan trong nước mắm, cũng có thể bay hơi tạo ra mùi rất khó chịu. Chính vì thế trong sản xuất nước mắm, cần kìm hãm quá trình này xảy ra.

Trong quá trình chế biến nước mắm, sự tham gia vào quá trình thuỷ phân protein của vi sinh vật tương đối yếu nhưng về sự hình thành của mùi vị nước mắm trong quá trình chế biến thì vi khuẩn đã tham gia khá tích cực. Những vi khuẩn gây hương yếm khí, bản thân không ưa muối nhưng trong môi trường chế biến chượp chúng thích nghi với độ mặn và phát huy tác dụng.

Nổi bật hơn cả về khả năng gây hương là 8 chủng thuộc giống *Clostridium*; họ *Bacillaceae*; bộ *Eubacteriales*; lớp *Schizomycetes*. Chúng phát triển tốt ở nhiệt độ 35÷40°C, tối thích là 37°C; pH = 5,0÷9,0, tối thích là 7,0; Nồng độ muối 0,5÷3% , tối thích là 1%.

1.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sản xuất nước mắm

1.3.1. Nhiệt độ

Là yếu tố quan trọng để tăng cường khả năng hoạt động của các loại enzyme trong quá trình phân giải protein thịt cá . Khi nhiệt độ tăng thì vận tốc phản ứng tăng , đến một nhiệt độ nhất định vận tốc phản ứng sẽ không tăng nữa và có thể giảm xuống do nhiệt độ cao làm cho hệ enzyme protease mất hoạt tính, quá trình thủy phân kém hoặc dừng lại.

Nhiệt độ 45÷50°C thích hợp cho quá trình sản xuất nước mắm.

Nhiệt độ dưới 37°C tác dụng của enzyme giảm sút rõ rệt.

Nhiệt độ 70°C trở lên hầu hết các hệ enzyme trong cá mất hoạt tính.

1.3.2. pH

Mỗi enzyme hoạt động ở một pH xác định. Quá trình thủy phân thịt cá từ protein đến acid amin có rất nhiều loại enzyme tham gia, ở đây ta xét đến hai loại enzyme chính đóng vai trò chủ yếu trong quá trình thủy phân thịt cá, đó là pepsin và trypsin. Trypsin hoạt động mạnh ở môi trường pH = 8,0÷9,0. Pepsin hoạt động tốt ở môi trường acid có pH = 1,5÷2,2.

Qua thực nghiệm, nếu điều chỉnh môi trường có độ pH = 1,5÷2,0 thích hợp cho pepsin hoạt động thì màu sắc của chượp đẹp nhưng tốc độ thuỷ phân chậm, mùi vị kém hơn chượp chế biến bằng phương pháp tự nhiên. Còn nếu giữ cho môi trường có độ pH = 7,5÷8,5 thích hợp cho trypsin hoạt động thì tốc độ thủy phân nhanh nhưng đạm thối nhiều, màu sắc nước mắm không đẹp.

Chượp chế biến ở môi trường tự nhiên pH = 5,5÷6,5 tuy không ưu tiên cho việc

phát triển loại enzyme nào nhưng cả 2 loại enzyme chính là pepsin và trypsin đều phát triển được. Mặt khác, lại có tác dụng ức chế một phần hoạt động của vi sinh vật gây thối. Do vậy, khi sản xuất chượp, ta không cần phải xét đến môi trường pH hoạt động của enzyme vì môi trường tự nhiên là ưu việt hơn cả.

1.3.3. Nồng độ muối

Muối là nguyên liệu quan trọng cho quá trình sản xuất nước mắm, có tác dụng ức chế hoạt động của vi sinh vật gây thối rữa.

Nồng độ muối thấp có tác dụng thúc đẩy quá trình thủy phân protein nhanh hơn, chượp mau chín, nhưng không đủ khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây thối.

Nồng độ muối quá cao có tác dụng ức chế mạnh đến sự phát triển của vi khuẩn gây thối nhưng đồng thời cũng làm mất hoạt tính của enzyme, quá trình thủy phân chậm lại, thời gian thủy phân kéo dài.

Nồng độ muối thích hợp cho vào chiếm tỉ lệ khoảng 20÷25% so với khối lượng cá. Trong trường hợp sản xuất chượp theo phương pháp cho muối nhiều lần, có châm thêm nước thì lượng muối có thể chiếm tỉ lệ cao hơn. Tuy nhiên cần phải xác định số lần cho muối, tỉ lệ muối của mỗi lần và khoảng cách giữa các lần cho muối để không ảnh hưởng đến quá trình sản xuất và chất lượng của nước mắm.

1.3.4. Diện tích tiếp xúc

Các enzyme trong cá thường có nhiều ở nội tạng, để tăng diện tích tiếp xúc giữa enzyme và thịt cá người ta thường tiến hành xay nhỏ, đập dập hoặc cắt khúc nguyên liệu cá. Tùy vào từng loại cá, kích thước cá mà người ta sẽ thực hiện theo phương cách nào. Đối với các loại cá có kích thước nhỏ vừa thì phương pháp đập dập được sử dụng nhiều hơn do cá đập dập sẽ giữ được hình dạng ban đầu, cơ thịt bên trong bị mềm ra, tổ chức cơ thịt lỏng lẻo giúp enzyme dễ ngấm vào trong thịt. Cá đập dập xương cá không bị vỡ vụn, khi chượp chín kéo rút dễ dàng.

Đối với phương pháp xay nhỏ cá sẽ cho diện tích tiếp xúc lớn nhưng protein dễ bị biến tính do tác dụng cơ học và dung dịch khó lọc, dễ bị hiện tượng tắc lù. Phương pháp cắt khúc, diện tích tiếp xúc có tăng nhưng thịt cá vẫn còn chắc nên enzyme khó ngấm vào để phân giải thịt cá.

1.3.5. Bản thân nguyên liệu

Những loài cá khác nhau thì thành phần hóa học, cấu trúc, hệ enzyme tồn tại trong cá khác nhau nên khi sản xuất nước mắm sẽ tạo ra các loại nước mắm có màu sắc, mùi vị và chất lượng khác nhau. Cá sống ở tầng nước trên và giữa như cá cơm, cá nục, cá mòi…cho chất lượng nước mắm tốt hơn nhiều so với cá sống ở tầng nước dưới và tầng đáy như cá phèn, cá mối…

Cá có kết cấu tổ chức cơ thịt lỏng lẻo quá trình thủy phân và chín của nước mắm xảy ra nhanh hơn đối với các loại cá có cơ thịt cứng, dày, chắc.

Nước mắm làm từ cá có nhiều mỡ thường có mùi ôi khét khó chịu do chất béo bị oxy hóa hoặc có mùi vị chua do chất béo bị thủy phân tạo thành các loại acid yếu dễ bay hơi.

Độ tươi của nguyên liệu cũng ảnh hưởng đến chất lượng nước mắm. Sử dụng cá tươi trong chế biến, nước mắm sẽ có chất lượng tốt hơn đối với cá ươn.

Nước mắm chế biến từ cá cơm có mùi thơm nhẹ nhàng, màu sắc vàng đẹp hơn cá nục, cá nục màu vàng nghiêng về cánh gián, cá chỉ vàng có màu trong vắt sóng

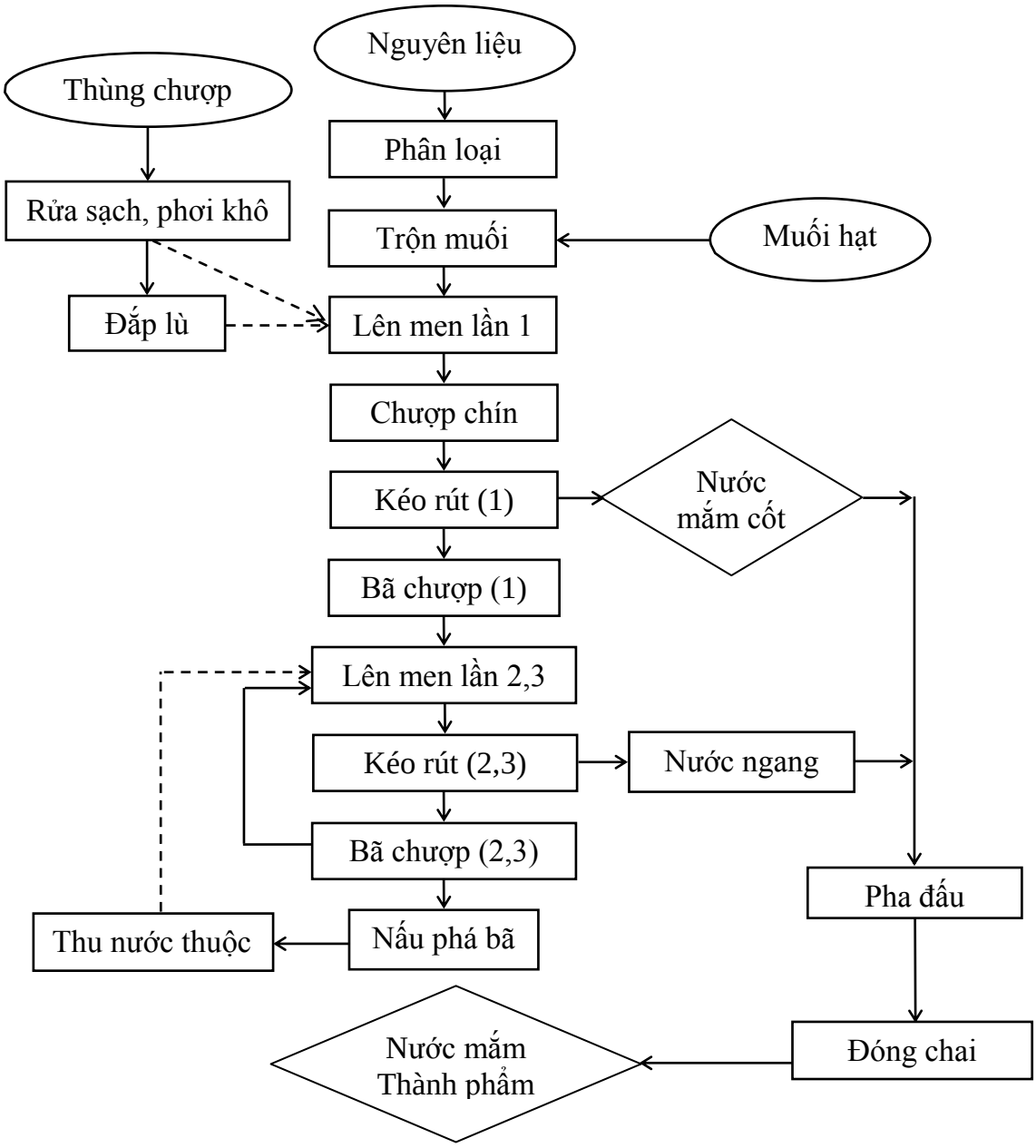
sánh và thơm ngon, cá ngừ đại dương cho độ đạm cao, cá mòi vừa dùng để chế biến nước mắm, vừa làm mắm. Nước mắm chế biến bằng cá nục cho hàm lượng đạm cao hơn cá cơm.

1.4. Công nghệ sản xuất nước mắm bằng phương pháp cổ truyền

Thường có 2 phương pháp chủ yếu là phương pháp gài nén và phương pháp đánh khuấy.

1.4.1. Quy trình công nghệ chung

Quy trình công nghệ chung sản xuất nước mắm được trình bày ở hình 4.4.



Hình 4.4. Sơ đồ quy trình chung sản xuất nước mắm theo phương pháp cổ truyền

1.4.2. Thuyết minh quy trình

Trong quy trình sản xuất nước mắm, sản xuất chượp bằng phương pháp gài nén và phương pháp đánh khuấy có khác nhau về thao tác trong các công đoạn trộn muối và lên men (gài nén, chăm sóc chượp) còn các công đoạn khác tiến hành tương tự nhau.

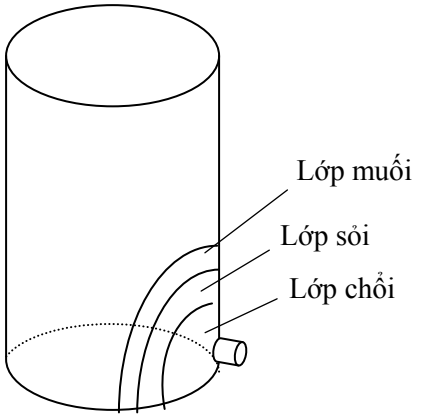
a) Sản xuất chượp bằng phương pháp gài nén

a.1) Chuẩn bị

- *Chuẩn bị muối:* Muối sử dụng chượp là muối cũ vì vậy muối cũng phải được mua sẵn và bao đóng vào bao bảo quản trong kho khoảng 3 tháng đến 1 năm trước khi sử dụng.

- *Chuẩn bị các long (thùng chượp) và các dụng cụ chứa đựng*: Nếu sử dụng thùng mới thì phải buộc lại cẩn thận, vệ sinh sạch sẽ cho cả long mới và cũ, các thiết bị chứa xong đem ra nắng phơi khô ráo. Thực hiện tương tự đối với bể chượp bằng xi măng.

- *Chuẩn bị đắp lù và các dụng cụ gài nén*: Đắp lù là đặt một hệ thống lọc sát đáy thùng, tùy thuộc vào loại cá và cỡ long mà ta chọn phương pháp đắp lù khác nhau nhưng thông thường đối với cá cơm người ta đắp lù theo kiểu số 1: gồm 1 lớp chổi (từ 3÷7 bó tùy vào kích cỡ lù, bó hình rẻ quạt) áp sát lỗ lù ở đáy thùng, tiếp theo là 1 lớp sỏi nhỏ đã được làm sạch và phơi khô (cũng có thể thay lớp sỏi bằng lớp trấu), đến một lớp muối (hột) và phủ ngoài lớp muối là một lớp cót hoặc lá cọ. Chuẩn bị tiếp phên tre, các thanh tre, cây ém để gài nén, đá để dằn… Tất cả phải được chuẩn bị trước lúc cho khối cá vào.



Hình 4.5. Mô hình vị trí đắp lù

a.2) Tiếp nhận và phân loại nguyên liệu

Nguyên liệu khi tiếp nhận được phân thành 2 loại cá: cá nổi (chủ yếu là cá cơm, cá nục), và cá tạp (là các loại cá khác như: cá liệt, sơn, giã cào…). Đối với cá nổi không cần rửa mà chỉ cần loại bỏ tạp chất là được, còn cá tạp thì phải rửa sạch. Đối với cá ướp đá thì phải rửa sạch đá trước khi trộn muối nếu không nước mắm sẽ dễ bị thối.

Nguyên liệu cũng có thể là các loại đầu cá, ruột cá. Loại nguyên liệu này được chế biến riêng, sau đó cho kéo rút qua bã cá cơm để cải thiện chất lượng nước mắm.

a.3) Trộn muối và bổ sung enzyme

Trộn muối: Muối sau khi được chuẩn bị lúc này người ta sẽ lấy ra và trộn với cá, đối với cá nhỏ thì muối được trộn đều với cá hoặc muối theo lớp (1 lớp cá + 1 lớp muối). Một số loại cá lớn trước khi trộn muối người ta có thể xay nhỏ hoặc cắt khúc nhằm tăng diện tích tiếp xúc và trộn một lớp muối một lớp cá như vậy lượng muối sẽ phân bố đều hơn. Tỉ lệ muối trộn vào từ 20÷25% so với khối lượng cá, tỉ lệ này được áp dụng cho tất cả các loại cá cũng như ruột cá. Mức độ cho muối phụ thuộc vào độ tươi của cá, cá ươn lượng muối cho nhiều hơn so với cá tươi. Lượng muối bổ sung vào không được quá nhiều như vậy sẽ ức chế các hệ enzyme hoạt động, kéo dài thời gian thủy phân; nếu cho quá ít thì khối cá dễ bị thối rữa, vì vậy việc tính toán lượng muối cho vào có một ý nghĩa hết sức quan trọng.

Bổ sung enzyme: Để cho quá trình thủy phân được nhanh người ta có thể cho thêm 3% protease thô lấy từ thực vật như papain, bromelin… có trong dứa và đu đủ bằng cách bổ sung trực tiếp dứa hoặc đu đủ xay nhỏ (chượp dùng dài ngày từ 2÷3 năm thì người ta không dùng dứa vì như vậy sẽ làm cho nước mắm bị chua). Cũng có thể bổ sung nguồn enzyme lấy từ động vật như ruột các loại cá để tận dụng các enzyme

như trypsin, pepsin … nhưng không phổ biến vì nước mắm thường bị đen. Có thể sử dụng enzyme lấy từ vi sinh vật: dùng các chủng nấm mốc như *Apergillus oryzae* để thủy phân.

Sau khi đã trộn đều cá và muối, cho tất cả hỗn hợp vào thùng chượp, khi đã đầy thùng thì phủ lên trên mặt một lớp muối để chống ruồi nhặng, có thể đậy kín bằng nylon hoặc nong tre. Sau đó rút nước bổi ra phơi nắng, sau 1÷2 ngày thùng chượp sẽ xẹp xuống lúc này ta tiếp tục đổ cá vào thêm cho đầy thùng, phủ một lớp muối lên mặt. Có thể để lên men khô yếm khí một vài ngày trước khi gài nén.

a.4) Tiến hành gài nén

Gài nén nhằm để giữ khối cá chìm trong nước để tạo điều kiện lên men yếm khí và tạo thành lớp bọc để lọc trong nước mắm.

Sau khi trộn cá với muối, cho vào thùng từ 1 dến 2 ngày người ta bắt đầu gài nén theo các bước sau:

- *Mở nước:* Mở lù cho nước bổi trong khối chượp chảy ra hết. Chứa nước bổi trong các thùng hay các bể khác.

- *Trải cót:* Khi nước bổi chảy hết xong, san bằng mặt khối chượp, sau đó trải một lớp cót (tấm phên đan bằng tre có các lỗ cho nước có thể chảy qua mà cá không bị nổi lên) kín bề mặt của thùng hay bể chượp.

- *Gài tre:* Dùng các thanh tre đã chặt sẵn phù hợp với kích thước dụng cụ chứa xếp song song nhau trên mặt cót, từng thanh tre cách nhau khoảng 20÷30cm.

- *Đặt cây ém:* thanh ém làm bằng gỗ chắc hoặc cây tre lớn , được đặt lên trên mặt lớp thanh tre. Với bể chượp từ 3÷5 tấn thì cần 2÷3 thanh ém với bề dày của thanh gỗ khoảng (15x15)cm, chiều dài tùy theo kích thước của dụng cụ chứa.

- *Gài nén:* đối với các dụng cụ chứa không có gờ , gài nén bằng loại đá xanh (đá hộc) đặt đều trên các cây ém. Khối lượng đá nén đủ nặng để giữ chặt khối cá sao cho khối chượp không bị nổi lên.

Đối với thùng có gờ, dùng các đòn gỗ chắc chống thẳng đứng từ cây ém đến các vị trí gờ của thùng hay bể theo chiều thẳng đứng hoặc dùng dây buộc các cây ém vào gờ ở thân thùng.

Ở Phan Thiết, Phú Quốc người ta dùng các đòn ém là những thanh tre hoặc gỗ (còn gọi là đòn gánh) được đặt nằm vắt ngang mặt thùng. Dùng cây chống (gạn nống) chống từ thanh tre đến các đòn ém trên mặt thùng, nhằm làm cho cá được nén chặt xuống, không thể nhô lên khỏi mặt. Người ta dùng dây mây buộc chặt thanh tre vào mấy chiếc ốc (gỗ) nằm sát vòng niềng (dây đai) trên cùng của thùng (hình 4.6).

Hình 4.6. Các thùng chượp đã được gài nén

- *Đổ nước bổi trở lại:*

Sau gài nén xong, lượng nước bổi rút ra tạm chứa tại bể khác được đưa trả lại bể chượp cho đến khi ngập trên mặt cót 20÷30cm. Lượng nước bổi còn lại trong dụng cụ chứa được phơi nắng hàng ngày. Như vậy là hoàn thành công đoạn gài nén.

a.5) Chăm sóc chượp bằng náo đảo, giang phơi

- *Mục đích:* Nhằm tăng cường nhiệt cho khối chượp, tăng cường sự thuỷ phân của cá và tăng cường sự hoà tan của các chất dinh dưỡng từ cá vào nước mắm.

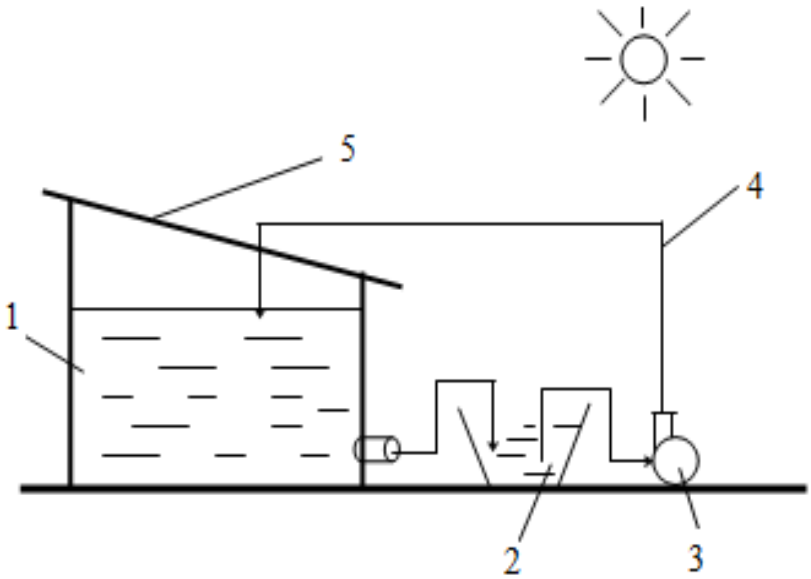
- *Kỹ thuật náo đảo, giang phơi:*

Náo đảo, giang phơi là thao tác thực hiện thường xuyên và kết hợp với nhau trong thời gian chăm sóc chượp trong phương pháp gài nén.

Náo đảo là thao tác mở dây lù cho nước bổi chảy ra các thùng chứa, sau một thời gian thì đổ trở lại khối chượp. Giang phơi là thao tác phơi nắng khối chượp trong thùng hoặc nước bổi rút ra từ các thùng chượp.

Với bể chượp ngoài trời: cho nước bổi chảy đầy 2/3 thùng chứa rồi phơi trực tiếp trong thùng. Sau khi phơi nắng 3÷4 giờ, nước bổi được bơm trở lại vào bể chượp, rồi lại mở nước khác trong bể chượp ra tiếp tục giang phơi. Một ngày tùy thời tiết nắng nhiều hay ít mà mở ra phơi rồi bơm lên từ 3÷4 lần.

Song song với việc mở nước bổi, người ta mở hết các tấm đậy nắp bể để phơi nắng, tận dụng nhiệt của mặt trời để làm tăng nhiệt độ khối chượp đối với các bể chượp ngoài trời. Đến chiều thì đậy nắp bể lại (hình 4.7)

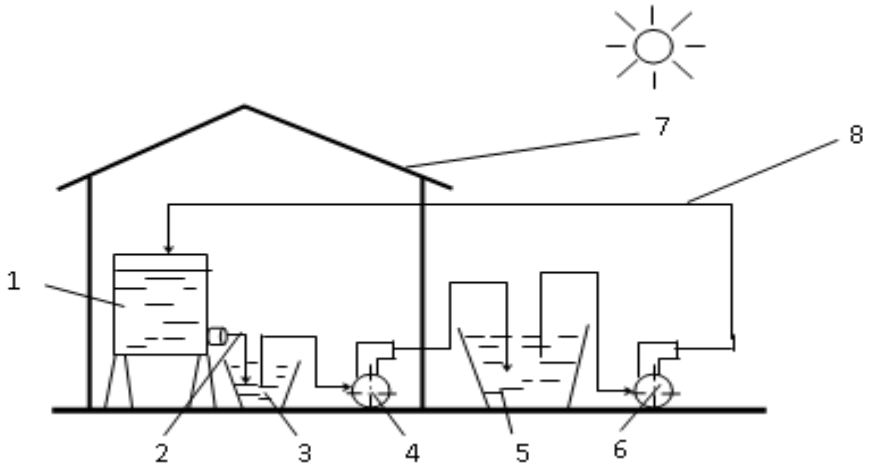


Hình 4.7. Náo đảo giang phơi với bể chượp ngoài trời

1. Bể chượp; 2. Thùng chứa (ga); 3. Bơm; 4. Đường ống dẫn; 5. Tấm đậy bể chượp.

Với thùng hoặc bể chượp trong nhà: nước bổi từ các thùng hứng được bơm ra các bể phơi ngoài trời. Lượng nước rút ra sao cho nước trong bể chượp vẫn còn ngập mặt ém là được.

Phơi nước bổi từ sáng, đến 4,5 giờ chiều thì bơm toàn bộ lượng nước bổi này trở lại bể chượp. Sau đó mở dây lù cho nước bổi nguội ở phía dưới chảy ra, nước bổi ấm ở phía trên xâm nhập vào khối chượp làm nhiệt độ khối chượp tăng lên. Lượng nước bổi mới chảy ra để ngày hôm sau tiếp tục phơi (hình 4.8)



Hình 4.8. Náo đảo giang phơi với bể chượp trong nhà

1. Thùng chứa chượp; 2. Dây lù; 3. Trổ hoặc thùng hứng nước bổi, 4,6. Bơm; 5. Bể phơi; 7. Nhà xưởng; 8. Đường ống dẫn

- *Tổ chức thực hiện chăm sóc chượp:*

Việc náo đảo và giang phơi trong thời gian chăm sóc chượp làm được càng nhiều thì chượp càng chóng chín.

Tuy vậy còn phụ thuộc vào thời tiết. Nếu trời không nắng kéo dài thì chỉ náo đảo chứ không giang phơi.

Trong tháng đầu khi mới muối cá cần náo đ ảo, giang phơi hàng ngày . Tùy theo điều kiện mà náo đảo giang phơi từ 1÷4 lần/ngày Khi náo đảo kiểm tra độ mặn của nước nếu không đủ thì gia thêm muối vào bằng cách bơm qua bể muối (cột muối). Độ mặn đạt yêu cầu thường nằm trong khoảng 22÷23°Bé.

Sau 2 tháng thì có thể giảm 1 tuần 1÷2 lần, cho đến khi chượp chín.

Sau 6÷8 tháng thì chượp chín, có thể tiến hành kéo rút nước mắm.

b) Sản xuất chượp bằng phương pháp đánh khuấy

Phương pháp này thường dùng để sản xuất nước mắm t ừ các loại cá đáy (cá giã cào, cá tạp) có giá trị kinh tế thấp, được tận dụng đưa vào chế biến nước mắm như : cá bơn, cá phèn, cá mối, cá giò.... Cá đáy trộn muối nhiều lần, có thể cho thêm nước lã và đánh khuấy liên tục. Phương pháp cho muối nhiều lần tăng cường được khả năng phân giải của enzyme và vi sinh vật, rút ngắn thời gian chế biến chượp. Cho thêm nước lã sẽ tạo môi trường lỏng giúp cho enzyme và vi sinh vật hoạt động được dễ dàng, làm cho tế bào thịt cá chóng được phân giải.

b.1) Trộn muối

Nguyên liệu đưa về được rửa sạch bùn đất, đối với loại cá to hoặc vảy dày, thịt dai xương cứng cần xay, cắt nhỏ, đập dập. Sau đó trộn muối 10% ÷ 15% (so với khối lượng cá). Cá sau khi trộn muối lần 1 cho vào các thùng chượp, phủ một lớp muối mặt, đậy kín để ngoài trời để tận dụng nhiệt tự nhiên.

Có thể thêm enzyme có nguồn gốc động vật, thực vật hoặc vi sinh vật để rút ngắn thời gian chế biến chượp. Sau 2÷3 ngày, cho thêm nước lã vào khối chượp (20÷30% so với chượp), đảo đều.

b.2) Bổ sung muối vào khối chượp

Sau 2-3 ngày (vào mùa hè) hoặc 3-4 ngày (vào mùa đông) kể từ khi cho nước

vào thùng chượp, cần theo dõi thường xuyên để phát hiện thời điểm "cá đòi muối" để tiến hành cho muối lần 2. Khi thấy có hiện tượng bụng cá vỡ, lườn cá tướp ra, khối cá dâng lên, bốc mùi tanh, chua nhẹ, cho cây đánh đảo vào khuấy thấy sủi bọt (như cơm sôi), gọi là hiện tượng "cá đòi muối", thì cho muối lần 2 (10÷12%) rồi dùng cào gỗ đánh đảo thật đều cho muối tan hết.

Sau khi cho muối lần 2, hàng ngày mở nắp thùng chượp ra để phơi nắng và dùng cây đánh đảo chượp từ 1 đến 2 lần/1ngày. Chiều khi gần hết nắng thì đậy nắp lại. Việc phơi nắng và đánh đảo như vậy làm chất dinh dưỡng trong thịt cá được thủy phân nhanh, hòa tan vào nước. Đồng thời các mùi hôi, khai do khí NH_3, CO_2, H_2S… sinh ra bốc hơi đi để dần dần chỉ còn lại mùi thơm của nước mắm.

Hằng ngày đánh đảo giang phơi khối chượp, tính từ lúc bổ sung muối lần 2 được 3 ngày (về mùa hè) hoặc 6 ngày (vào mùa đông); phần lớn cá đã ngấm muối và chìm xuống, còn một số cá mình dày và to vẫn chưa ngấm đủ muối thì còn nổi lên hoặc lơ lửng gần mặt nước, xông mùi chua nhưng khối chượp đã bắt đầu có mùi thơm của nước mắm. Khi ấy cần bổ sung muối lần 3 (10÷13%) sao cho tổng lượng muối cho vào cả 3 lần đạt khoảng 30÷35% so với cá.

Sau khi cho muối lần 3 vào thì đánh khuấy thật nhiều cho muối tan hết. Hằng ngày phơi nắng và dùng cào đánh khuấy kỹ. Khoảng chừng 1 tháng sau cá ngấm đủ muối, không còn trương nổi lên nữa, gọi là "đứng cá".

Cần lưu ý phải cho muối đúng lúc, nếu cho muối quá sớm sẽ làm hạn chế tác dụng của enzyme phân giải thịt cá, thịt cá rắn lại, quá trình chín của chượp bị chậm lại. Nếu cho muối muộn quá, tác dụng phân giải sẽ chuyển qua tác dụng phân huỷ làm chượp xông mùi hôi thối, ngả màu xám rồi đen và bị hỏng.

b.3) Chăm sóc chượp bằng đánh đảo, giang phơi

Sau khoảng 1 tháng kể từ lúc đủ muối, cá nát đều và chìm xuống, nước nổi lên có màu vàng, trong và bắt đầu có mùi nước mắm. Khi đó chượp đã "đứng mặt đầu". Hàng ngày mở nắp ra phơi nắng, đánh đảo 2 đến 3 lần/1 tuần. Sau khoảng 4÷5 tháng thì chượp chín hoàn toàn , có thể rút được . Lúc này nước mắm chỉ còn mùi thơm thuần túy, không còn nhiều mùi hỗn tạp của chượp nữa . Chượp sản xuất từ cá đáy có đạm nhưng hương vị rất kém nên phải kéo rút q ua bã mắm cá nổi để lấy hương vị, theo nguyên lý bã làm thay đổi nước.

Cần chú ý trong thời gian chăm sóc chượp tránh để nước mưa lẫn vào làm cho chượp bị nhạt muối dễ gây đen và thối chượp.

c) Kéo rút nước mắm

Trước khi tiến hành kéo rút để lấy sản phẩm cần phải xác định chính xác độ chín của chượp. Chượp chín phải đảm bảo các yêu cầu sau: về cảm quan nước mắm lấy ra có màu vàng từ vàng rơm đến vàng cánh dán (đối với cá cơm, cá nục còn cá tạp hoặc ruột cá thì màu có thể nâu sậm hơn); Nước mắm cốt phải có mùi thơm đặc trưng của nước mắm không lẫn mùi tanh hôi hoặc mùi lạ; Vị ngọt dịu không bị chua hoặc hôi. Khối chượp gài nén thì cá nguyên con nếu xé cá ra thì thịt và xương tách rời khỏi nhau, nếu khuấy lên thì khối chượp nát vụn và không có hiện tượng sủi bọt như cơm sôi. Bằng những dấu hiệu trên có thể xác định được thời điểm chín của khối chượp.

Sau khi lấy nước mắm thành phẩm, có thể kiểm tra lại một lần nữa bằng cách cho một ít nước mắm vào chai trắng hoặc ly thủy tinh trong đem phơi nắng khoảng 2 giờ hoặc đem lắc mạnh vài chục lần nếu không có biến đổi gì xảy ra so với ban đầu thì kết luận nước mắm đã chín; Còn nếu nước mắm bị biến xanh hoặc có hiện tượng khác thì

nước mắm chưa chín. Xác định chính xác nước mắm đã chín lúc này mới bắt đầu kéo rút để lấy sản phẩm.

c.1) Phương pháp kéo rút gián đọan

Sau khi đổ chượp vào thùng phải để yên 3 giờ mới tiến hành kéo rút. Trong quá trình kéo rút tiến hành náo đảo nhiều lần để thu được nước mắm thành phẩm có độ đồng nhất và chất lượng cao. Có hai cách náo đảo trong kéo rút gián đoạn gồm:

- Cách 1: Mở lù cho nước mắm chảy ra đến khi cạn hết nước mắm trong thùng chượp rồi mới đổ nước mắm thu được trở lại vào thùng chượp. Quá trình được lặp lại từ 3÷4 lần thì thu được nước mắm thành phẩm.

- Cách 2: Mở lù cho nước mắm chảy ra thùng chứa, chảy ra đến đâu thì đổ ngược lại vào thùng chượp. Thực hiện như vậy trong khoảng 7 ngày thì thu được nước mắm thành phẩm.

Sau khi thu nước mắm cốt, tiến hành thu nước ngang theo trình tự như sau:

Đầu tiên kiểm tra nút lù: nếu vẩy cá bao bọc thì phải gạt hết ra, nếu thiếu muối thì đắp thêm. Sau đó đảo khối chượp thật đều để quá trình kéo rút đạm được triệt để hơn.

Cho nước thuộc 9÷10 độ đạm vào, lúc đổ vào phải đổ qua rỗ tre, và để cho chượp đứng yên một thời gian rồi mới kéo rút nước mắm, ta thu được nước ngang 1.

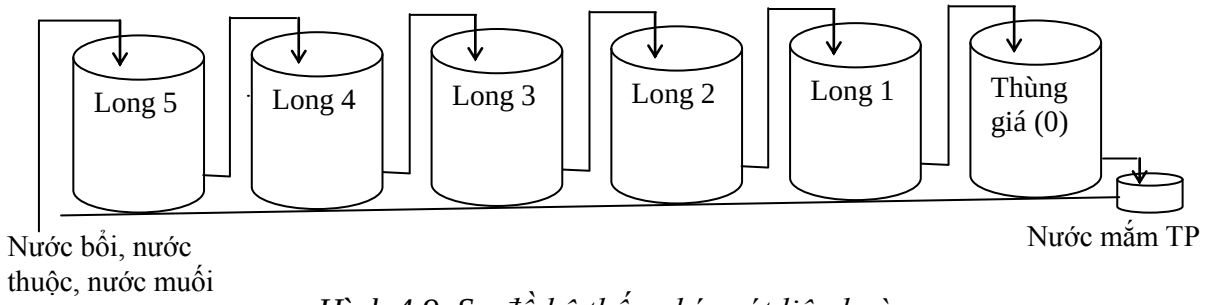
Tiếp theo, đổ nước thuộc 8÷9 độ đạm vào , và tiến hành tương tự thì thu được nước ngang 2, 3…

Sau cùng, lấy bã chượp cuối ra, thêm muối để nấu phá bã. Lúc này độ đạm trong bã chượp khoảng dưới 5 độ đạm. Nước nấu phá bã đem đi lọc thì thu được nước thuộc và bã chượp. Bã này đem phơi làm phân bón . Còn lù, bể hay thùng rửa sạch để dùng cho mẻ tiếp theo.

c.2) Phương pháp kéo rút liên tục

Quá trình kéo rút liên tục là quá trình rút đạm trong bã, không qua nấu, bằng cách dùng lượng nước bổi hoặc nước thuộc ít đạm cho chuyển lần lượt từ thùng này sang thùng khác để tăng độ đạm và hương vị.

Tùy theo cơ sở chế biến có nhiều thùng chượp hay ít mà bố trí hệ thống lọc liên hoàn nhiều thùng hay ít thùng. Càng nhiều thùng lọc thì càng tận dụng được nhiều đạm hơn, nước mắm có chất lượng ngon hơn. Thường một hệ thống lọc khoảng từ 10÷12 thùng, trong đó sử dụng 6 thùng thành một hệ thống lọc kéo rút liên hoàn (hình 4.9)



Hình 4.9. Sơ đồ hệ thống kéo rút liên hoàn

Thùng 1 đến thùng 5 gọi là thùng long, thùng 0 gọi là thùng giá. Thùng giá là thùng chượp chín có chất lượng và độ đạm cao nhất, nước mắm thành phẩm được lấy

ra từ thùng giá. Quá trình kéo rút được tiến hành như sau:

Nếu chúng ta lấy ra ở thùng giá 400 lít nước mắm ngon thì phải đồng thời lấy:

Ở thùng long 1 400 lít bù cho thùng giá

Ở thùng long 2 400 lít bù cho thùng 1

Ở thùng long 3 400 lít bù cho thùng 2

Ở thùng long 4 400 lít bù cho thùng 3

Ở thùng long 5 400 lít bù cho thùng 4

Và thùng long 5 sẽ thiếu hụt 400 lít, để bổ sung 400 lít thực hiện theo thứ tự sau: ban đầu là nước bổi, tiếp theo là nước nấu phá bã, cuối cùng là nước muối.

Tiến hành liên tục nhiều lần cho đến khi thùng long 5 gần hết đạm, thêm nước và muối vào để nấu phá bã. Bã của thùng 5 đem phơi làm phân bón.

Thêm một thùng chượp tốt vào làm thùng giá, thùng giá cũ trở thành thùng long 1, thùng long 1 trở thành thùng long 2,... và tiếp tục kéo rút liên hoàn như vậy. Chu kỳ sản xuất ra nước mắm thành phẩm là từ 8 tháng đến 1 năm.

d) Pha đấu nước mắm

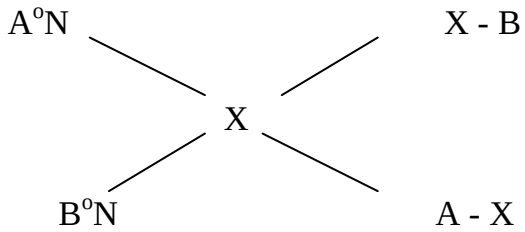
Thông thường nước mắm kéo rút ra không đúng hẳn độ đạm quy định, để bảo đảm độ đạm (^oN) theo tiêu chuẩn quy định hoặc phù hợp với nhu cầu của khách hàng người ta pha đấu các loại nước mắm có độ đạm khác nhau thành nước mắm thành phẩm như yêu cầu. Việc pha đấu thường được thực hiện theo quy tắc đường chéo.

Ví dụ: Có 2 loại nước mắm:

+ Loại $A^oN > 15^oN$

+ Loại $B^oN < 15^oN$

Để pha chế thành nước mắm X^oN, ta có công thức pha chéo là:

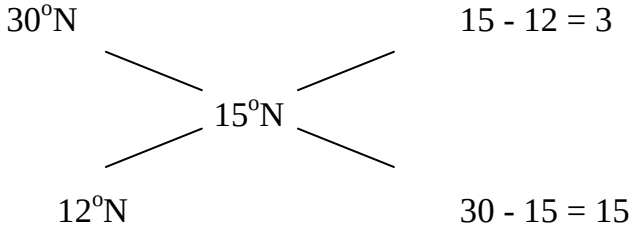


Ta có tỉ lệ:

$$\frac{(X - B) \text{ lít loại } A^oN}{(A - X) \text{ lít loại } B^oN}$$

Lấy nước mắm loại A với lượng là (X - B) lít pha với nước mắm loại B với lượng là (A - X) lít, ta sẽ được (X - B) + (A - X) lít nước mắm có độ đạm là X^oN.

Áp dụng: Có 2 loại nước mắm: loại thứ 1: 30^oN, loại thứ 2: 12^oN. Hãy pha đấu 2 loại nước mắm trên để được nước mắm có 15^oN.



Như vậy phải pha 3 lít nước mắm loại thứ 1 (30^oN) và 15 lít nước mắm loại thứ 2 (12^oN) thì sẽ được 18 lít nước mắm có 15^oN.

e) Đóng chai và bảo quản

Nước mắm sau khi pha đấu đạt yêu cầu về độ đạm sẽ được đưa đi đóng chai, dán nhãn và bảo quản.

Trước khi đóng chai, các chai đựng thành phẩm phải được súc rửa, vệ sinh sạch và làm khô. Nước mắm sau khi pha đấu có thể được bổ sung một số phụ gia cần thiết cho sản phẩm rồi đưa đi đóng chai. Công đoạn đóng chai, dán nhãn có thể được thực hiện bằng phương pháp thủ công, bán cơ giới hoặc đóng chai, dán nhãn trên dây chuyền chiết rót đóng chai tự động.

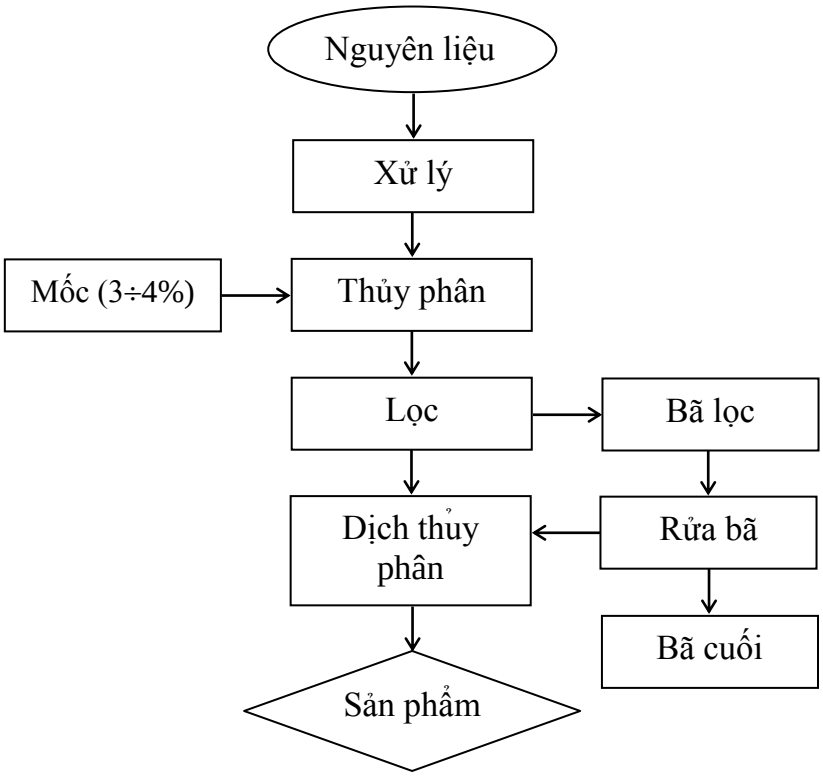
Nước mắm thành phẩm sau khi đóng chai, bao bì được bảo quản trong nhà có mái che thoáng mát, sạch sẽ, trong điều kiện tự nhiên của môi trường. Kho chứa sản phẩm không được ẩm ướt không bị ánh nắng chiếu vào và không có côn trùng phá hoại.

Do hàm lượng đạm cao nên nước mắm bảo quản được rất lâu, tuy nhiên bảo quản lâu thì hương vị và màu sắc nước mắm sẽ kém dần đi. Tuy nhiên đối với nước mắm pha chế có hàm lượng đạm thấp thì cần phải qua công đoạn thanh trùng để giữ nước mắm không bị thối trong quá trình bảo quản.

1.5. Công nghệ sản xuất nước mắm bằng phương pháp vi sinh vật

1.5.1. Sơ đồ quy trình công nghệ

Quy trình công nghệ sản xuất nước mắm bằng phương pháp vi sinh vật được trình bày hình 4.10.



Hình 4.10. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất nước mắm bằng phương pháp vi sinh

1.5.2. Thuyết minh quy trình công nghệ

a) Xử lý

Cá phải rửa sạch bùn, đất, tạp chất, cá to phải cắt nhỏ.

b) Thủy phân

Nấm mốc được chọn để thủy phân là *Aspergillus oryzae*. Trong nấm mốc *Aspergillus oryzae* có hệ enzyme protease như: innulase, imertase, glutaminase, proteolitic. Những enzyme này có khả năng thủy phân protein thành acid amin ở điều kiện pH và nhiệt độ thích hợp là: pH = 6,0÷8,0, nhiệt độ 37÷41°C.

- Mốc: Từ ống giống môi trường thạch nghiêng, mốc được nhân sinh khối trong môi trường dinh dưỡng thích hợp ở các bình tam giác rồi sau đó nuôi trên khay với khối lượng tăng dần để dùng trong sản xuất đại trà. Yêu cầu mốc phải có tốc độ sinh trưởng và phát triển nhanh, hình thái khuẩn ty to và mập, giai đoạn phát triển tốt nhất là sau 2 ngày ở nhiệt độ và độ ẩm thích hợp.

- Khi mốc mọc vàng đều, đạt số lượng thì trộn giống mốc vào khay nguyên liệu theo tỉ lệ giữa mốc và cá từ 3÷4% tính theo chế phẩm mốc thô và cá xay nhỏ trộn với mốc.

- Cho hỗn hợp nguyên liệu đã trộn mốc vào thùng lên men, cho vào một lượng nước nhất định. Lượng nước cho vào ban đầu là 5÷10% để vừa đủ ngấm ướt mốc, tạo điều kiện thủy phân được tốt, duy trì nhiệt độ thủy phân ở 37÷41°C trong thời gian 10÷15 ngày thì chượp chín. Trong giai đoạn thủy phân cần bổ sung một lượng muối khoảng 4÷6% so với khối lượng cá, nên sử dụng muối tinh thể nhỏ, màu sáng, độ trắng cao, không vón cục, không bị chát do lẫn các muối tạp.

c) Lọc, thu sản phẩm

Dung dịch sau khi thủy phân được đưa đi lọc để thu dịch thủy phân, phần bã sau khi lọc dùng nước nóng rửa 2÷3 lần, nước rửa bã được đổ chung vào dịch lọc. Lượng nước lọc và nước rửa bã chiếm khoảng 30% so với khối lượng cá.

Đun sôi dịch thủy phân ở nhiệt độ thích hợp để vừa bay bớ t nước trong dung dịch, vừa có tác dụng khử mùi , tiêu diệt vi sinh vật và loại chất bẩn . Bổ sung thêm muối để đạt đến độ mặn yêu cầu.

Nước mắm sản xuất theo phương pháp này thường hương vị kém nên cần kéo rút qua bã chượp tốt vài lần để có được hương vị của nước mắm.

d) Ưu, nhược điểm của phương pháp

Sản xuất theo phương pháp này thì thời gian sản xuất nước mắm ngắn hơn so với phương pháp cổ truyền. Tuy nhiên có nhược điểm là hương vị kém, nước mắm có thể bị chua do tinh bột lên men lactic hoặc do sinh ra acid dễ bay hơi khi cá bị ươn; Nước mắm cũng có thể bị đắng do xác vi sinh vật còn tồn tại hoặc do chất lượng của muối kém, có nhiều ion Ca^{2+}, Mg^{2+}.

1.6. Kiểm tra và bảo quản chượp, nước mắm

1.6.1. Các hiện tượng hư hỏng của chượp, nước mắm

a) Chượp bị chua

- Hiện tượng: Chượp bị chua thường bốc mùi chua, màu nước xám và đượm mùi tanh, thối khó chịu.

- Nguyên nhân:

Có hai nguyên nhân chính làm chượp bị chua:

+ Khi trộn muối vào cá lượng muối quá nhiều so với tỉ lệ muối cho phép làm toàn thân cá rắn chắc, bụng tóp lại, mắt lõm, thịt dai và khô, cá luôn chìm xuống đáy.

Cá bị mặn lớp bên ngoài nhưng bên trong bị nhạt muối làm thịt cá bên trong bị phân giải tạo thành các chất acid làm chượp bị chua.

+ Khi trộn muối vào cá lượng muối ít, cá bị nhạt muối không đủ sức kiềm hãm sự phát triển của vi sinh vật làm thịt cá bị phân giải sinh ra nhiều chất acid cùng với mùi tanh thối làm chượp bị chua.

- Biện pháp ngăn ngừa và xử lý chượp bị chua

Để ngăn ngừa và xử lý chượp chua cần thực hiện một trong các cách sau:

Cách 1. Để ngăn ngừa chượp bị chua, khi chế biến chượp cần trộn muối vào cá đủ và đều. Chăm sóc chượp cẩn thận, thường xuyên đo độ mặn của nước bổi khi náo đảo để kịp thời bổ sung muối khi chượp thiếu muối.

Cách 2. Khi thấy hiện tượng cá bị cứng và teo tóp do cá bị mặn thì tiến hành cho nước lã vào kịp thời để cá thoát bớt muối sau đó mới tiến hành chế biến tiếp theo.

Cách 3. Chượp bị chua có thể xử lý bằng cách rút nước bổi ra phơi nắng rồi đổ vào lại thùng chượp. Thực hiện náo đảo giang phơi nhiều lần để chượp bay hết mùi chua. Chượp bị chua thường giảm chất lượng nên khi kéo rút lấy nước mắm cần kéo rút qua bã chượp tốt để lấy hương.

Cách 4. Cũng có thể xử lý chượp bị chua bằng cách cho một ít rượu vào khối chượp và trộn đều, chượp sẽ bớt mùi chua và thơm hơn. Nếu bị chua nặng thì dùng muối cacbonat (($NaHCO_3$) (còn gọi là thuốc muối) cho vào chượp khuấy đều, để yên một lúc rồi dùng giấy đo pH nhúng vào chượp rồi so với bảng màu. Nếu pH <6,5 thì tiếp tục cho muối cacbonat cho đến khi màu giấy đo pH trùng với pH = 6,5 là được.

Cách 5. Gạo đem rang thật vàng cháy hoặc ngô đem ngâm nước một đêm, phơi cho ráo nước rồi rang thật vàng. Gạo hoặc ngô sau khi rang vàng được nghiền nhỏ gọi là thính. Dùng thính này cho vào chượp bị chua và khuấy đều. Chượp lúc này sẽ đỡ chua và bớt bốc mùi tanh, thối như ban đầu.

Cách 6. Đem chượp đi đun nóng trong 15 phút, sau đó tiếp tục náo đảo giang phơi và thực hiện kéo rút qua xác bã chượp tốt.

Chú ý: Trong các cách trên, cách 4 và 5 mang lại hiệu quả kinh tế không cao, do đó người ta thường cân nhắc khi sử dụng. Các cách còn lại thực hiện đơn giản và đỡ tốn kém hơn nên thường được dùng nhiều trong xử lý chượp chua.

b) Chượp bị đen

- Hiện tượng: Chượp bị đen là hiện tượng chượp bị chuyển sang màu đen bắt đầu từ phần nước rồi mới sang đến phần cái. Đầu tiên, nước có màu xám đen, cá nhợt nhạt, sau đó cá chuyển dần sang màu đen.

- Nguyên nhân:

Chượp bị đen do một số nguyên nhân sau:

+ Khi chế biến nước mắm từ nguyên liệu cá đáy, do cá có nhiều bùn đất tạp chất không được rửa sạch trước khi muối cá nên làm cho chượp bị đen.

+ Do nguyên liệu cá dùng để chế biến nước mắm là các loại cá quá béo hoặc có màu đen đậm, đỏ đậm toàn thân, nguyên liệu lẫn nhiều mực, khi đưa vào chế biến nước mắm có thể làm cho chượp có màu đen.

+ Do tỉ lệ trộn muối vào cá không đủ hoặc trộn muối vào cá không đều ở lúc ban đầu khi muối chượp và cho vào thùng, một số chỗ bị thiếu muối sẽ có hiện tượng thối rữa và biến đen, làm cho chượp bị đen và thối.

+ Khi dùng cá ướp nước đá để chế biến nước mắm, trước khi ướp muối, cá không được xả hết nước đá cũng là nguyên nhân gây ra hiện tượng chượp bị biến đen cục bộ, sau đó lây lan ra cả thùng.

- Biện pháp ngăn ngừa và xử lý chượp bị đen

Tùy thuộc vào nguyên nhân làm chượp bị đen mà có cách ngăn ngừa hay xử lý cho phù hợp. Một số cách ngăn ngừa và xử lý chượp đen như sau:

Cách 1. Rửa sạch bùn, nhớt, đất cát bám trên cá trước khi trộn muối. Nếu chượp đã bị đen do cá không được rửa sạch tạp chất, bùn đất thì xử lý bằng cách:

Rút hết nước bổi trong thùng chượp ra đem phơi nắng rồi gạn sạch phần bùn đất; Hòa nước muối 3% để rửa sạch cá; Trộn thêm muối vào cá (có thể trộn thêm một ít thính), gài nén lại và đưa nước bổi phơi nắng vào lại thùng chượp.

Cách 2. Khi tiếp nhận nguyên liệu cần nhặt mực để riêng (nếu có). Nếu chượp đã bị đen do dùng nguyên liệu có màu đen đậm, đỏ đậm toàn thân thì xử lý bằng cách:

Rút hết nước trong thùng chượp ra; Dùng gạo hoặc ngô rang thật vàng rồi giã nhỏ để làm thính, lấy bã chượp tốt và một ít thính trộn vào bã chượp bị đen, gài nén lại, sau đó cho lượng nước đã lấy ra cho vào lại trong thùng.

Tiến hành náo đảo giang phơi khối chượp, khoảng chừng một tháng sau màu sắc chượp sẽ tương đối tốt.

Cách 3. Nếu không kiểm soát được tỉ lệ muối khi trộn muối vào cá hoặc không kiểm soát được việc cá trộn không đều muối, cần phải thực hiện biện pháp ngăn ngừa chượp bị đen như sau:

+ Sau khi đổ chượp vào thùng cần tiến hành gài nén ngay và cho nước bổi đã bảo hòa muối của ngày hôm trước lên sấp mặt vỉ. Nếu chưa có nước bổi thì dùng nước muối.

+ Ngày hôm sau rút nước bổi ra và bơm lên thùng muối hạt (cột muối) sau đó cho vào lại thùng chượp. Chượp lúc này sẽ đủ muối.

Nếu chượp đã bị đen và thối do trộn muối không đều thì thực hiện xử lý như sau:

+ Khi phát hiện chượp trở mùi, rút hết nước bổi trong thùng chượp ra ngoài.

+ Đun sôi nước bổi (có thể bổ sung thêm muối nếu độ mặn của nước bổi không đạt yêu cầu 23°Bé), luc này màu đen sẽ bị phá hủy do bay hơi, vi sinh vật bị tiêu diệt.

+ Chờ nước bổi giảm nhiệt độ xuống 45-50°C, cho nước bổi trở vào lại thùng chượp và thực hiện náo đảo giang phơi khối chượp, chượp sẽ giảm đen và thối.

Cách 4. Nếu chượp bị đen do mỡ đóng thành mảng trên mặt chượp thì dùng vợt vớt hết lớp mỡ rồi lấy nước bổi thùng khác chuyển về để kéo rút.

c) Chượp bị thối

- Hiện tượng: Chượp bị thối thường có màu đen và mùi hôi thối.

- Nguyên nhân:

+ Chủ yếu do lỗi kỹ thuật khi muối chượp ban đầu, tỉ lệ muối ít, muối quá nhạt làm cho vi sinh vật có điều kiện hoạt động phân hủy các chất làm cho chượp bị thối.

+ Chượp bị nhiễm nước mưa hoặc vệ sinh dụng cụ không sạch.

- Biện phap ngăn ngừa và xử lý chượp bị thối

Chượp đã bị thối rất khó chữa. Cách ngăn ngừa và xử lý chượp thối tốt nhất là:

+ Tránh để nước mưa rơi vào chượp. Chượp bị nước mưa nhiễm vào thì có thể múc riêng phần đó ra cho muối vào, tăng cường phơi nắng náo đảo.

+ Dụng cụ chế biến nước mắm phải luôn được vệ sinh sạch sẽ. Không để chượp ở nơi ẩm thấp, bẩn thỉu.

+ Nếu chượp đã bị thối, hư hỏng nặng cần phải đưa ra phơi nắng. Có thể trộn với chượp khác cho vào nồi và đem nấu cho đạm thối bay đi. Nếu thối quá thì phải đổ bỏ phần nước bổi lấy ra và thay loại nước bổi tốt vào rồi thực hiện náo đảo giang phơi cho đến khi nước bổi chảy ra thùng trổ thấy trong và có hương thơm thì dừng xử lý dạng hư hỏng mà chỉ chăm sóc như chượp bình thường. Thùng chượp này thuộc loại chượp kém nên không chọn làm thùng giá trong hệ thống kéo rút liên tục được.

Chú ý: Khi xử lý chượp thối, hỏng không nên đưa nước bổi của thùng chượp thối qua thùng chượp tốt để náo đảo. Làm như vậy sẽ ảnh hưởng đến chất lượng nước mắm khi kéo rút.

d) Chượp khô khán

- Hiện tượng và nguyên nhân: Chượp khô khán là hiện tượng chượp gài nén không đảm bảo kỹ thuật, mặt vỉ bị nghiêng, chượp trong thùng đội trào lên, không phát hiện kịp thời, mặt chượp trồi lên khỏi mặt nước lâu trở nên khô và vàng bề mặt, có mùi khó chịu.

- Phương pháp ngăn ngừa và xử lý

Để ngăn ngừa hiên tượng chượp khô khán cần gài nén chượp đúng yêu cầu kỹ thuật. Trường hợp xảy ra hiện tượng chượp khô khán cần xử lý như sau:

Mở lù rút bớt nước bổi trong thùng chượp bị khô khán ra. Lấy các dụng cụ gài nén và vỉ ém ra khỏi mặt chượp. Dùng xẻng xúc hết lớp chượp bị khô khán trên bề mặt. Nếu số lượng chượp bị khô khán ít thì có thể cho thêm vào các thùng chượp ít đạm đã kéo rút và gài nén lại. Nếu số lượng nhiều thì cho vào thùng đã đắp lù sẵn, gài nén lại và cho nước bổi thừa vào ngập mặt chượp. Sau đó thực hiện chăm sóc, kéo rút để tận dụng.

Phần chượp không bị khô khán còn lại trong thùng thì cào bằng mặt chượp và thực hiện gài nén lại và chăm sóc bình thường.

e) Nước mắm thối

- Hiện tượng: Nước mắm thối nổi lên những bọt nhỏ và dần dần nước bị đục, có màu nâu xám đến xanh và xông lên mùi hôi thối.

- Nguyên nhân: Nước mắm có thể bị thối do các nguyên nhân sau:

+ Do chượp chưa chín mà đem kéo rút: chượp mới chưa đủ tháng và chưa chín mà đem kéo rút lấy nước mắm cùng với chượp cũ. Ban đầu khi kéo rút, nước mắm vẫn đạt độ trong và có mùi thơm đặc trưng nhưng chỉ sau hai tuần nước mắm bắt đầu

chuyển màu, bị đục và có mùi thối.

+ Do nước mắm lọc không trong một thời gian sau sẽ biến màu và có mùi thối.

+ Do bể thùng lọc hoặc dụng cụ chứa không sạch sẽ có khi lẫn cả xác chượp sống, các vi sinh vật có điều kiện phát triển làm hư hỏng nước mắm.

+ Do nước mắm bị nước mưa hay nước lã đổ vào làm nước mắm không đủ độ mặn nên vi sinh vật phát triển gây hư hỏng nước mắm.

- Biện phấp ngăn ngừa và xử lý nước mắm bị thối

Để tránh nước mắm bị thối cần vệ sinh sạch các dụng cụ chứa nước mắm, trong bảo quản không để nước mưa hoặc nước lã rơi vào. Trong chế biến cần tuân thủ các nguyên tắc và yêu cầu kỹ thuật khi kéo rút nước mắm, không kéo rút nước mắm khi chượp chưa chín, khi kéo rút nước mắm phải trong mới lấy thành phẩm.

Trường hợp để xảy ra nước mắm bị thối có thể xử lý bằng cách đem nước mắm đun lên, vớt váng nổi, lọc lấy nước trong, để nguội rồi chuyển qua thùng chượp chín kéo rút lại.

1.6.2. Giá trị dinh dưỡng của nước mắm

a) Các chất đạm

Các chất đạm và hàm lượng của chúng trong nước mắm là cơ sở để đánh giá giá trị dinh dưỡng và phân hạng nước mắm. Đạm trong nước mắm gồm 3 loại:

- Đạm tổng số (nitơ toàn phần): là tổng lượng nitơ có trong nước mắm, được tính bằng số gam nitơ toàn phần trong một lít nước mắm (g/l), Đạm tổng số là cơ sở để phân hạng của nước mắm được gọi tắt là độ đạm (^oN).

- Đạm amin (nitơ acid amin): là tổng lượng đạm nằm dưới dạng acid amin, được tính bằng số gam acid amin trong một lít nước mắm (g/l). Đạm amin quyết định giá trị dinh dưỡng của nước mắm.

- Đạm amon (nitơ amoniac): hàm lượng nitơ amoniac có trong nước mắm, được tính bằng số gam NH_3 trong một lít nước mắm. Đạm amon càng nhiều thì nước mắm càng kém chất lượng, phẩm cấp càng giảm.

Các acid amin cơ bản có trong nước mắm là lysin, acid aspartic, acid glutamic, glycin, alanin, serin, threonin, cystin, tyrosin, methionin, histidin, valin, leucin, isoleucin và phenylalanin, histidin tạo ra vị của nước mắm làm từ các loại cá béo. Ngoài ra còn có các thành phần khác như tripeptid, peptol, dipeptid là những thành phần trung gian làm cho nước mắm dễ bị hư hỏng do hoạt động của vi sinh vật.

b) Các chất bay hơi

Thành phần các chất bay hơi trong nước mắm rất phức tạp và đóng vai trò quyết định hương vị của nước mắm.

Các acid béo dễ bay hơi như acid formic, acid acetic, acid propionic, acid butyric là những hợp chất tạo mùi mạnh hơn cả của nước mắm. Các acid này là sản phẩm của sự phân hóa các acid amin.

Ngoài ra còn có các hợp chất bay hơi khác như các chất cacbonyl (formaldehyde), các amin (izopropylamin), các chất trung tính (acetaldehyde)

c) *Các chất khác*

Trong nước mắm còn chứa một số chất vô cơ như NaCl và một số các chất khoáng S, Ca, Mg, P, I, Br.

Các vitamin có nhiều trong nước mắm là: Vitamin: B1, B12, B2, PP.

1.6.3. Chỉ tiêu chất lượng của nước mắm

Theo TCVN 5107 – 2003, nước mắm được phân thành 4 hạng, dựa theo độ đạm như sau: Đặc biệt, Thượng hạng, Hạng 1, Hạng 2. Chỉ tiêu chất lượng của nước mắm được thể hiện qua các bảng 4.1, 4.2 và 4.3.

Bảng 4.1. Các chỉ tiêu cảm quan của nước mắm

TT	*Tên chỉ tiêu*	*Yêu cầu*			
		Đặc biệt	*Thượng hạng*	*Hạng 1*	*Hạng 2*
1	Màu sắc	Từ nâu cánh dán đến nâu vàng			
2	Độ trong	Trong, không vẩn đục			
3	Mùi	Thơm đặc trưng của nước mắm, không có mùi lạ			
4	Vị	Ngọt đậm của đạm, có hậu vị rõ	Ngọt của đạm, có hậu vị rõ	Ngọt của đạm, ít có hậu vị	Ngọt của đạm, không mặn chát
5	Tạp chất nhìn thấy bằng mắt thường	Không được có			

Bảng 4.2. Các chỉ tiêu hóa học của nước mắm

TT	*Tên chỉ tiêu*	*Mức chất lượng*			
		Đặc biệt	*Thượng hạng*	*Hạng 1*	*Hạng 2*
1	Hàm lượng nitơ toàn phần (g/l, không nhỏ hơn)	30	25	15	10
2	Hàm lượng nitơ acid amin (% so với Nitơ toàn phần, không nhỏ hơn)	55	50	40	35
3	Hàm lượng nitơ amoniac (% so với Nitơ toàn phần, không lớn hơn)	20	25	30	35
4	Hàm lượng acid (g/l theo acid acetic, không nhỏ hơn)	8,0	6,5	4,0	3,0
5	Hàm lượng muối NaCl (g/l, trong khoảng)	245÷280	260÷295		

Bảng 4.3. Các chỉ tiêu vi sinh vật của nước mắm

TT	*Tên chỉ tiêu*	*Mức tối đa cho phép*
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (số khuẩn lạc/1ml)	10^5
2	*Escherichia Coli* (SKL/1ml)	Không có
3	*Coliforms* (SKL/1ml)	10^2
4	*Clostridium perfringens* (SKL/1ml)	10
5	*Staphylococcus aureus* (SKL/1ml)	Không có
6	Tổng số bào tử nấm men và nấm mốc	10

Dư lượng kim loại nặng trong nước mắm: dư lượng tối đa của chì có trong nước mắm là 1mg/lít.

Chỉ được sử dụng các phụ gia thực phẩm theo quy định hiện hành.

2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NEM CHUA

Nem chua là một sản phẩm lên men truyền thống của Việt Nam thường được sản xuất theo phương pháp thủ công. Một số vùng nem ngon nổi tiếng ở Việt Nam như: nem làng Vẽ (Từ Liêm -Hà Nội), nem Phùng (Đan Phượng-Hà Tây), nem Phủ Từ (Bắc Ninh), nem chua An Cựu (Huế), nem chợ Huyện (Bình Định), nem Ninh Hòa (Khánh Hòa), nem Thủ Đức (TP Hồ Chí Minh), nem Lai Vung (Đồng Tháp), nem Tân Hưng (Tiền Giang), nem làng Ước Lễ (Hà Đông), nem Quảng Yên (Quảng Ninh...

Hiện nay, tại một số cơ sở sản xuất chế biến thịt đã đưa việc sản xuất nem chua truyền thống vào sản xuất công nghiệp. Nem chua được chế biến bằng thịt tươi cùng với quá trình lên men lactic chuyển hóa đường thành acid lactic dưới tác dụng chủ yếu của vi khuẩn *Lactobacillus*.

2.1. Nguyên liệu sản xuất nem chua

2.1.1. Nguyên liệu chính

a) Thịt heo nạc

Các yêu cầu của thịt

- Dùng thịt heo mới giết mổ, có màu hồng, mặt ngoài khô và sáng, thịt phải rắn chắc, có độ đàn hồi cao. Không dùng thịt cũ, sẫm màu, có mùi lạ. Để chất lượng nem chua được tốt nên dùng thịt nạc đùi sau hoặc thịt mông.

- Không nên dùng thịt để quá 5 giờ sau khi giết mổ vì khả năng giữ nước của thịt sẽ giảm. Thường thịt mới giết mổ có nhiệt độ khoảng 38÷39°C, pH = 5,6÷6,2.

- Thịt phải đảm bảo được cung cấp từ nguồn thịt đã được kiểm tra theo quy định, không mang mầm bệnh.

b) Da heo

Da thường sử dụng là da lưng, da không quá cứng (do heo già) và cũng không quá mềm (heo non) để tạo ra sản phẩm và có sự kết dính tốt hơn mà ít ảnh hưởng đến độ mịn của sản phẩm.

Da heo sử dụng trong sản xuất nem chua có vai trò là chất độn, chất kết dính các phân tử trong mô cơ, giúp định hình sản phẩm, làm tăng giá trị cảm quan, tăng độ giòn, dai.

2.1.2. Gia vị và phụ gia

a) Đường

Thường sử dụng đường saccharose, đường phải khô, tinh thể đồng nhất, hòa tan hoàn toàn trong nước. Tùy thuộc vào khẩu vị của từng vùng miền mà tỉ lệ đường trong sản xuất nem chua có sự thay đổi, tỉ lệ cho vào thường ở Miền Nam: 30÷35%, Miền Bắc: 10÷15%. Đường có tác dụng tạo hương vị cho nem và là cơ chất cho quá trình lên men tạo acid lactic, đồng thời còn có tác dụng giúp trạng thái gel thêm chặt.

b) Muối ăn

Muối sử dụng là muối natri clorua đã qua tinh chế, được bán rộng rãi trên thị trường, muối được đóng gói kín, các tinh thể trắng đều, mịn, khô (độ ẩm không quá 12%), không có lẫn tạp chất, không mùi vị lạ. khi hoà tan muối trong nước, ta thu được dung dịch trong, đồng nhất. Muối có vai trò tạo vị mặn cho sản phẩm, có tác

dụng ức chế vi sinh vật gây hư hỏng, tuy nhiên cần sử dụng với nồng độ thích hợp.

c) Mì chính

Mì chính là muối sodium natri của acid glutamic được dùng làm phụ gia điều vị. Mì chính có tác dụng làm tăng khẩu vị từ đó kích thích tiêu hoá. Trong sản xuất nem chua được sử dụng với liều lượng rất ít.

d) Tỏi

Tỏi có vị cay, mùi thơm đặc biệt, nâng cao tính cảm quan cho sản phẩm. Tỏi có tác dụng trợ tiêu, ngoài ra trong thành phần của tỏi chứa chất Alicin có tính diệt khuẩn như là một chất kháng sinh.

e) Tiêu

Tiêu là một loại gia vị được ưa chuộng khắp mọi nơi trên thế giới. Hạt tiêu có vị cay, có mùi thơm hấp dẫn. Hạt tiêu thương phẩm (tiêu đen hay tiêu trắng) có chứa từ 12÷14% nước và 80÷88% chất khô.

Trong thành phần hóa học của tiêu có chứa tinh dầu, các alkaloid (piperin và chavicin), cellulose và muối khoáng, ngoài ra tiêu còn chứa phitocide có tính kháng sinh thực vật. Vai trò của tiêu trong sản xuất nem chua là tạo vị cay, thơm, tăng tính cảm quan, kháng vi khuẩn, nấm mốc và kích thích tiêu hóa.

g) Ớt

Ớt là một loại cây rau gia vị được sử dụng lâu đời, có vị cay, gây cảm giác ngon miệng khi ăn, kích thích quá trình tiêu hoá.

Trong thành phần của ớt có chứa tinh dầu, vitamin C, vitamin K, caroten và một số chất khoáng. Ngoài ra còn chứa alkaloid tạo mùi thơm và vị cay, phitocide chất kháng sinh thực vật.

h) Phụ gia tạo màu

Trong nem chua một số nơi sử dụng chất màu ponceau 4R để tạo màu đỏ tự nhiên, làm tăng tính cảm quan của sản phẩm.

Các muối nitrit, nitrat hoặc hỗn hợp các muối này với một số muối khác được sử dụng nhằm tạo màu hồng tự nhiên cho nem chua và các sản phẩm chế biến từ thịt, cá. Ngoài ra còn có tác dụng bảo quản sản phẩm do có khả năng chống oxy hóa cao.

i) Các muối phosphat

Có thể sử dụng các loại muối phosphat như: diphosphat, triphosphat, polyphosphat hoặc hỗn hợp của các muối này trong sản xuất nem nhằm để tạo độ kết dính, tăng độ giòn, dai cho sản phẩm nem chua; Ổn định pH, giúp cho sản phẩm không bị nhớt trong quá trình bảo quản; Giữ cho màu sắc và mùi vị của sản phẩm tươi ngon.

k) Tinh bột biến tính

Dùng làm chất độn trong sản phẩm, tạo độ giòn và giữ nước trong sản phẩm, cải thiện cấu trúc sản phẩm.

l) Lactose

Đường lactose có tác dụng tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men chua ở nem.

m) Đường nho (GDL)

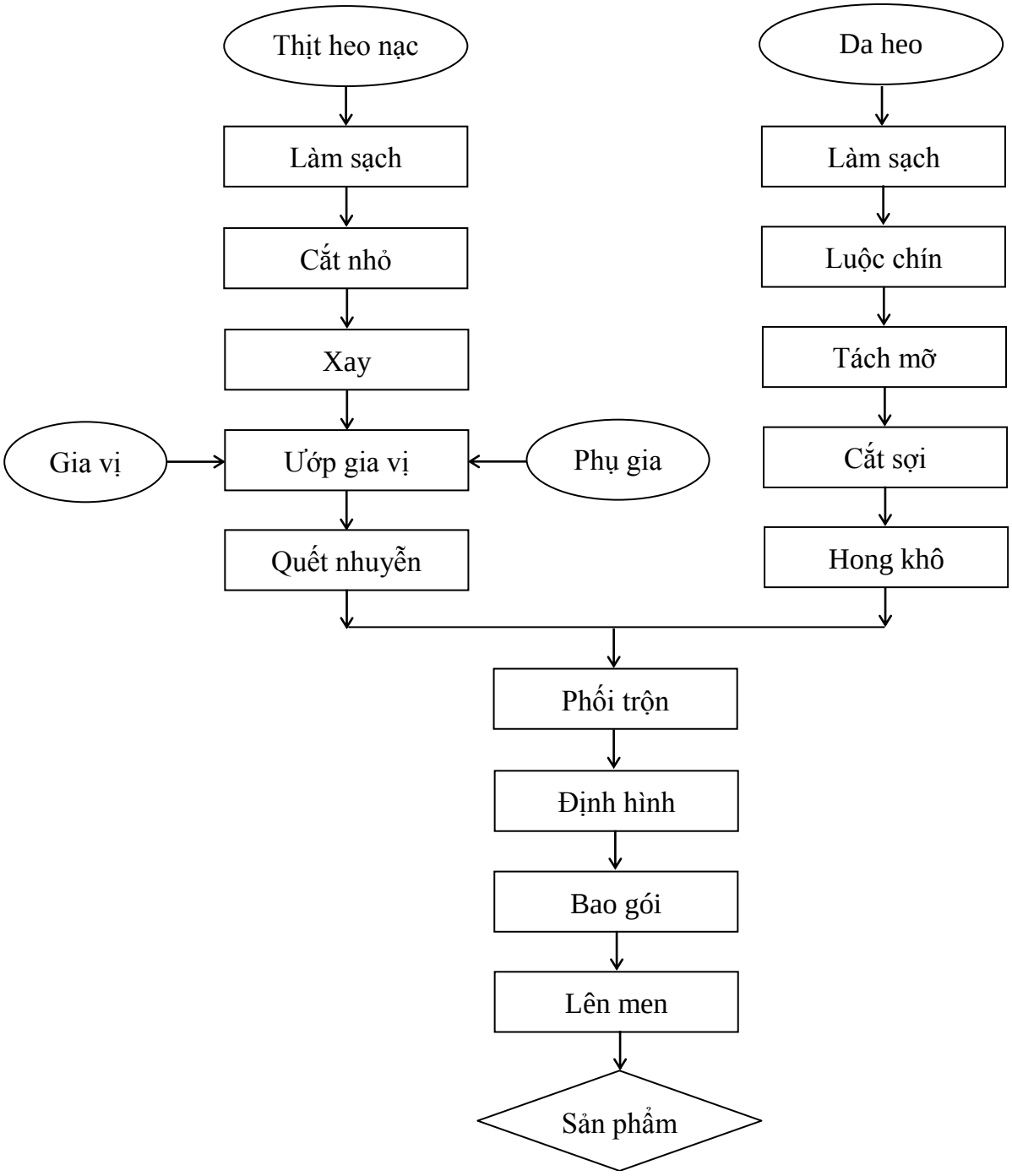
GDL (Glucono delta-lacton) là một phụ gia thực phẩm nguồn gốc tự nhiên, được sử dụng như là chất acid hóa hay chất ướp, ngâm, dầm hay tạo độ nở cho sản phẩm.

Nó là một ester vòng của D-acid gluconic. GDL tinh khiết là chất bột kết tinh màu trắng, không mùi. GDL được tìm thấy khá phổ biến trong mật ong, nước quả và rượu vang. Do có tính acid nên nó bổ sung vị thơm nồng cho thực phẩm, mặc dù nó có vị chua bằng khoảng một phần 3 của acid citric. GDL khi hòa tan trong nước nhanh chóng chuyển sang trạng thái cân bằng động với acid gluconic, làm cho dung dịch trở thành hỗn hợp của acid này với GDL. Tốc độ thủy phân GDL tăng lên ở nhiệt độ và pH cao.

Khi nếm GDL có vị ngọt rồi chuyển dần sang chua. GDL thủy phân trong nước thành acid, tạo kết tủa như chanh và giấm nhưng chậm hơn.

2.2. Sơ đồ quy trình công nghệ

Quy trình công nghệ sản xuất nem chua được trình bày ở sơ đồ hình 4.11.



Hình 4.11. Quy trình công nghệ sản xuất nem chua

2.3. Thuyết minh quy trình

Tùy theo khẩu vị từng vùng miền khác nhau sẽ có nhiều công thức chế biến nem khác nhau. Thông thường tỉ lệ giữa thịt heo nạc và da heo chiếm tỉ lệ 4/1 hoặc 3/1, các gia vị bổ sung như: muối, đường, thính, bột ngọt, tỏi, tiêu, ớt và một số phụ gia: lactose, tinh bột biến tính, muối phosphat, nuối nitrat, chất màu...

2.3.1. Xử lý nguyên liệu

Thịt heo nạc được rửa bằng nước sạch, thấm khô, tách bỏ gân, mỡ, thịt bạng nhạng. Sau đó thịt được tiến hành cắt nhỏ, xay và ướp gia vị, phụ gia cần thiết rồi quết nhuyễn (bằng máy hoặc bằng tay). Da heo được cạo sạch lông, rửa sạch rồi luộc chín, cắt nhỏ thành sợi và hong khô trước khi trộn với thịt heo. Da không nên luộc quá chín. Thính được làm từ gạo vo sạch, để ráo, đem rang vàng rồi giã nhỏ rây lấy thính mịn.

2.3.2. Phối trộn

Trộn thịt heo đã được quết nhuyễn với da heo cắt sợi, cho thính vào và bổ sung thêm gia vị vào hỗn hợp rồi trộn đều.

2.3.3. Định hình, bao gói

Tùy theo yêu cầu, nguyên liệu sau khi phối trộn được tạo thành viên hoặc khối (tròn, vuông, dài, tùy kích cỡ). Các viên thịt đã được chuẩn bị gói vào lá vông 1 hoặc 2 lớp, rồi các lớp lá chuối được buộc rất chặt và tiến hành lên men ở nhiệt độ phòng từ 3÷5 ngày. Có nơi sử dụng lá ổi, lá chùm ruột thay cho lá vông, Yêu cầu gói chặt tay, không để hở, nếu bị hở gió nem sẽ dễ bị thối. Cũng có thể cho thịt vào bao nilon sau đó gói lại bằng lá chuối.

2.3.4. Lên men

Thịt tươi được bao gói cẩn thận trong điều kiện yếm khí, giữ ở nhiệt độ 27÷30°C tạo điều kiện cho các vi khuẩn lactic hoạt động mạnh dần, chuyển hóa đường thành acid lactic làm cho thịt có mùi thơm và vị chua. Quá trình lên men là sự chuyển hóa xảy ra trong viên nem dưới tác dụng của các vi khuẩn lactic, acid lactic được tạo thành làm giảm pH của thịt, thay đổi cấu trúc thịt, làm ức chế và ngăn cản sự phát triển của những vi sinh vật gây thối và tạo vị chua cần thiết cho sản phẩm.

Quá trình lên men được bắt đầu bằng sự phân giải các glucid dưới tác dụng của enzyme và vi sinh vật thành glucose, glucose được chuyển hóa thành acid lactic trong điều kiện yếm khí. Chính sự tạo thành acid lactic này làm pH cơ thịt giảm từ 5,6÷6,2 xuống 4,5÷5,0 đến gần điểm đẳng điện của cơ thịt, tạo điều kiện cho quá trình đông tụ và biến tính protein để thúc đẩy quá trình tạo gel protein tạo cấu trúc rắn chắc cho sản phẩm nem chua.

Đồng thời với quá trình lên men là quá trình thay đổi màu sắc và tạo mùi thơm cho sản phẩm nem chua. Thành phần chất cơ của thịt có chứa myoglobin là protein hoàn thiện có màu đỏ thẫm, có tính chất quyết định đến màu sắc của thịt. Cấu trúc của myoglobin gồm các protein là globin và nhóm ngoại heme trong thành phần heme có chứa sắt, trạng thái oxy hóa của Fe (Fe^{2+}, Fe^{3+}) trong heme cũng như bản chất của các phân tử nối với Fe (O_2, NO, CO) là nguyên nhân làm thay đổi màu sắc của thịt. Do màu đỏ của myoglobin dễ bị oxy hóa chuyển sang màu nâu do có sự tạo thành metmyoglobin nên trong quá trình sản xuất nem chua người ta thường cho vào một ít muối nitrite, nitrate để cung cấp NO kết hợp với myoglobin tạo nên hợp chất nitrozo-myoglobin có màu đỏ tương đối ổn định nên giữ được màu sắc của thịt. Trường hợp không sử dụng các muối này có thể sử dụng các chất màu như ponceau 4R để tạo màu

đỏ tự nhiên, làm tăng tính cảm quan của sản phẩm.

Hương thơm đặc trưng cho nem chua tùy thuộc vào các loại gia vị phối chế và các loại acid sinh ra trong quá trình sản xuất nem cũng như một số chất thơm được tạo ra trong quá trình trao đổi chất của các hydratcacbon, protein và chất béo.

Tùy thuộc vào khẩu vị của từng vùng, miền về độ chua và hương vị của nem mà có thể điều chỉnh thời gian lên men cho thích hợp. Thời gian lên men càng dài, nem có vị chua càng mạnh.

2.3.5. Tiêu chuẩn sản phẩm

Sản phẩm nem chua đạt chất lượng khi ăn có độ dai của thịt, vị chua của acid lactic, vị cay của tiêu, của ớt, vị ngọt của đường, của bột ngọt, mùi thơm là sự hòa quyện của thịt chín lên men cùng với gia vị. Bề mặt của nem phải khô ráo, không nhầy nhớt, màu nem đỏ thẫm, tươi và không có nấm mốc phát triển. Chỉ tiêu vi sinh vật của nem chua được trình bày ở bảng 4.4.

Bảng 4.4. Các chỉ tiêu vi sinh vật của nem chua

TT	*Tên chỉ tiêu*	*Mức tối đa cho phép*
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (số khuẩn lạc/1ml)	3.10^5
2	*Escherichia Coli,* (SKL/1ml)	3
3	*Coliforms,* (SKL/1ml)	50
4	*Clostridium perfringens,* (SKL/1ml)	10
5	*Salmonella*	Không có
6	*Staphylococcus aureus* (SKL/1ml)	10

2.4. Một số hư hỏng nem chua thường gặp

Nem có màu sẫm, kém dai, dẻo, khi ăn cảm thấy hơi bở do thịt có độ tươi thấp, độ đàn hồi kém.

Nem mau bị lên men chua, bị mốc, có mùi lạ, màu sắc lạ, sớm hư hỏng do quá trình bao gói không kỹ, không tạo được lên men yếm khí, vệ sinh vật bao gói không sạch.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Quá trình thủy phân thịt cá trong sản xuất nước mắm diễn ra như thế nào? Làm thế nào để tăng cường sự thủy phân thịt cá trong quá trình sản xuất nước mắm?
2. Yếu tố nhiệt độ và pH ảnh hưởng như thế nào đến quá trình sản xuất nước mắm? Để tạo điều kiện cho các yếu tố này ảnh hưởng tốt đến quá trình sản xuất nước mắm cần phải làm gì?
3. Tác dụng của muối trong chế biến nước mắm là gì? Vì sao phải đảm bảo hàm lượng và chất lượng muối trong chế biến nước mắm?
4. Nêu quy trình sản xuất nước mắm theo phương pháp đánh khuấy và cho biết hiện tượng "cá đòi muối", "đứng cá", "cá đứng mặt đầu" là gì?

5. Nêu quy trình sản xuất nước mắm theo phương pháp gài nén và cho biết lù là gì? Vì sao trong quá trình sản xuất nước mắm cần phải đắp lù?
6. Mục đích của công đoạn gài nén trong sản xuất nước mắm là gì? Hãy nêu các bước thực hiện công việc gài nén khối chượp.
7. Làm thế nào để xác định được chượp đã chín để tiến hành kéo rút nước mắm?
8. Mục đích của quá trình kéo rút nước mắm là gì? Vì sao cần bổ sung nước thuộc, nước phá bã, nước muối trong quá trình kéo rút nước mắm?
9. Trong quá trình sản xuất nước mắm thường xảy ra các hiện tượng nào làm hư hỏng chượp và nước mắm thành phẩm. Giải thích vì sao?
10. Bài toán: Hãy tính tỉ lệ để pha chế 3 loại nước mắm có độ đạm lần lượt là: Nước mắm A: 30^oN, nước mắm B: 25^oN, nước mắm C: 15^oN thành loại nước mắm X: 20^oN.
11. Nem chua được sản xuất dựa trên cơ sở nào? Giải thích quá trình lên men của nem chua.
12. Trình bày công nghệ sản xuất nem chua, yêu cầu của nguyên liệu và vệ sinh trong sản xuất nem chua.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. TS.Nguyễn Trọng Cẩn, Đỗ Minh Phụng (1990), *Công nghệ chế biến thực phẩm thuỷ sản* (tập 2), NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

[2]. Lê Hải Đăng, Lê Bá Thanh (2005), *Làng nghề nước mắm ở Phan Thiết,* http://vn.360plus.yahoo.com/bathanhhs/article?mid=581, truy cập 28/08/2010.

[3]. PGS.TS. Nguyễn Thị Hiền (2004), *Công nghệ sản xuất mì chính và các sản phẩm lên men cổ truyền,* NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.

[4]. Nguyễn Đức Lượng (2006), *Công nghệ vi sinh tập 3 – Thực phẩm lên men truyền thống,* NXB ĐH Quốc gia TP HCM.

[5]. Th.S. Phan Thị Thanh Quế (2005), *Giáo trình công nghệ chế biến thủy hải sản,* Trường Đại học Cần Thơ.

[6]. Nguyễn Văn Vinh (2008), *Kỹ thuật sản xuất nem chua và mắm chua,* http://www.dostbentre.gov.vn/index.php?option=com_content&task=view&id=1365&Itemid=138, truy cập 01/12/2009.

[7]. *Quy trình sản xuất nước mắm Phú Quốc*, http://www.thanhhaco.com.vn/tiengviet/ vietnampage.htm, truy cập ngày 01/12/2007.

Chương 5. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỰC PHẨM LÊN MEN TỪ SỮA

Sữa bò được xem như là loại thực phẩm hoàn chỉnh và lý tưởng. Sữa của các loài khác cũng được sử dụng cho mục đích này như sữa trâu, dê, cừu và lạc đà. Sữa có thành phần dinh dưỡng cao rất cần thiết cho sự phát triển của cơ thể, sữa có thể cung cấp Ca, chất béo, chất dinh dưỡng, chất khoáng và một số vitamin khác.

Để bảo quản dài hạn kết hợp với chế biến sữa thành những sản phẩm dùng trong thực phẩm, chúng ta có thể dùng công nghệ lên men tự nhiên mang đến cho người tiêu dùng hương vị sản phẩm từ sữa thơm ngon. Sữa lên men (*fermented milks* hoặc *cultured milks*) là tên gọi chung cho các sản phẩm chế biến từ sữa nhờ quá trình lên men bởi nhóm vi khuẩn lactic hoặc tổ hợp vi khuẩn lactic và nấm men.

Chương này giới thiệu về nguyên liệu sữa và công nghệ sản xuất một số sản phẩm thực phẩm lên men từ sữa như yoghurt, kefir, phomat, bơ.

1. NGUYÊN LIÊU SỮA

1.1. Một số tính chất vật lý của sữa

Sữa là một chất lỏng đục. Độ đục của sữa là do các chất béo, protein và một số chất khoáng trong sữa tạo nên. Màu sắc của sữa phụ thuộc chủ yếu vào hàm lượng β-caroten có trong chất béo của sữa. Sữa bò thường có màu từ trắng đến vàng nhạt. Sữa gầy thường trong hơn và ngả màu xanh nhạt. Sữa bò có mùi rất đặc trưng và vị ngọt nhẹ. Một số chỉ tiêu vật lý quan trọng của sữa bò được thể hiện ở bảng 5.1.

Bảng 5.1. Một số chỉ tiêu vật lý quan trọng của sữa bò

Đại lượng	*Đơn vị đo*	*Giá trị*	*Đại lượng*	*Đơn vị đo*	*Giá trị*
pH	-	6,5÷6,7	Thế oxy hóa khử	*V*	0,10÷0,20
Độ chua	^0D	15÷18	Sức căng bề mặt ở 20^0C	*dynes/cm*	50
Tỷ trọng	g/cm^3	1,028÷1,038	Độ dẫn điện	*1/ohm.cm*	0,004÷0,005
Điểm đông đặc	^0C	-0,54÷-0,59	Nhiệt dung riêng	$cal/g.^0C$	0,933÷0,954

Giá trị pH của sữa

Sữa tươi có giá trị pH trung bình là 6,6. Sữa non (phần sữa đầu tiên trong một chu kỳ tiết sữa của động vật) có giá trị pH thường thấp hơn và khoảng chừng 6,0. Khi sữa bị nhiễm VSV như nhóm vi khuẩn lactic chúng sẽ chuyển hóa đường lactose trong sữa thành acid lactic làm giảm pH sữa.

Độ chua của sữa

Độ chua của sữa thường được biểu diễn bằng độ Soxhlet Henkel (^{o}SH), độ Thorner (^{o}Th), độ Dornic (^{o}D).

- Độ Soxhlet Henkel (^{o}SH): là số ml dung dịch NaOH N/4 cần thiết để chuẩn độ 100ml sữa có bổ sung vài giọt phenolphtalein cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 30 giây. Các nước Trung Âu thường sử dụng đơn vị này. Sữa bò tươi có độ chua

trung bình 7°SH.

- Độ Thorner (^{o}Th): là số ml dung dịch NaOH N/10 cần thiết để chuẩn độ 100ml sữa và 200ml nước cất có bổ sung vài giọt phenolphtalein cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 20 giây. Thụy Điển, Nga, Ucraina, Belarus sử dụng đơn vị này. Sữa bò tươi có độ chua trung bình 17°Th.

- Độ Dornic (^{o}D): là số ml dung dịch NaOH N/9 cần thiết để chuẩn độ 100ml sữa có bổ sung vài giọt phenolphtalein cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 20 giây. Các nước Pháp, Hà Lan thường sử dụng đơn vị này để biểu diễn độ chua của sữa.

Mối liên hệ giữa các đơn vị đo độ chua của sữa được trình bày ở bảng 5.2.

Bảng 5.2. Mối liên hệ giữa các đơn vị đo độ chua của sữa

	^{o}SH	^{o}Th	^{o}D
^{o}SH	1	2,5	2,25
^{o}Th	0,4	1	0,9
^{o}D	4/9	10/9	1

Tỷ trọng của sữa

Tỷ trọng của sữa do hàm lượng các chất khô trong sữa quyết định. Các chất béo có tỷ trọng nhỏ hơn 1g/cm^3. Hàm lương chất béo trong sữa càng cao thì tỷ trọng của sữa sẽ càng thấp, tỷ trọng của sữa bò thường từ 1,028÷1,038g/cm^3. Khi biết được thành phần khối lượng các chất béo và các chất không béo có trong sữa, ta có thể tính được tỷ trọng của sữa (ở 15,5^{o}C) theo công thức (5.1)

$$d^{15,5^oC} = \frac{100}{\frac{F}{0,93} + \frac{SNF}{1,608} + W}, \quad (g/cm^3) \qquad (5.1)$$

Trong đó:

- F (*fat*) là hàm lượng chất béo trong sữa (% khối lượng)

- SNF (*solids non fat*) là hàm lượng chất khô không béo trong sữa (% khối lượng)

- W (*water*) là hàm lượng nước trong sữa (% khối lượng), tính theo công thức (5.2)

$$W = 100 - F - SNF, \quad (\%) \qquad (5.2)$$

Ví dụ: Sữa bò tươi có hàm lượng chất béo là 3,2% và hàm lượng các chất khô không béo là 8,5%. Tỷ trọng của sữa ở 15,5^{o}C sẽ bằng:

$$d^{15,5^oC} = \frac{100}{\frac{3,2}{0,93} + \frac{8,5}{1,608} + (100 - 3,2 - 8,5)} = 1,0306 g/cm^3$$

Điểm đông đặc của sữa

Điểm đông đặc của sữa thường dao động trong khoảng từ -0,54÷-0,59^{0}C. Người ta thường sử dụng chỉ tiêu này để kiểm tra xem sữa tươi có bị pha loãng với nước hay không.

Tuy nhiên, khi xử lý sữa ở nhiệt độ cao, điểm đông đặc của sữa sẽ gia tăng do sự kết tủa của một số muối phosphate có trong sữa.

1.2. Thành phần hóa học của sữa

Sữa là một hỗn hợp với các thành phần chính bao gồm nước, lactose, protein, chất béo và chất khoáng. Ngoài ra, sữa còn chứa một số hợp chất khác với hàm lượng nhỏ như: chất màu, enzyme, vitamin, phospholipid và khí. Thành phần hóa học của sữa bò, sữa một số động vật và sữa người được trình bày ở bảng 5.3

Bảng 5.3. Thành phần hóa học của một số loại sữa (% khối lượng)

Loại sữa	*Protein*	*Casein*	*Whey protein*	*Chất béo*	*Carbonhydrate*	*Tro*
Sữa mẹ (người)	1,2	0,5	0,7	3,8	7,0	0,2
Sữa ngựa	2,2	1,3	0,9	1,7	6,2	0,5
Sữa bò	3,5	2,8	0,7	3,7	4,8	0,7
Sữa trâu	4,0	3,5	0,5	7,5	4,8	0,7
Sữa dê	3,6	2,7	0,9	4,1	4,7	0,8
Sữa cừu	5,8	4,9	0,9	7,9	4,5	0,8

Trong sản xuất nguồn nguyên liệu phổ biến là sữa bò. Hàm lượng các chất trong sữa bò có thể dao động trong khoảng rộng, phụ thuộc vào nhiều yếu tố như chủng động vật nuôi, tình trạng sinh lý của từng con vật, điều kiện chăn nuôi (bảng 5.4).

Bảng 5.4. Sự thay đổi hàm lượng các chất trong sữa bò (% khối lượng)

Các thành phần chính	*Khoảng biến thiên*	*Giá trị trung bình*
Nước	85,5÷89,5	87,5
Tổng các chất khô	10,5÷14,5	13,0
- Lactose	3,6÷5,5	4,8
- Protein	2,9÷5,0	3,4
- Chất béo	2,5÷6,0	3,9
- Khoáng	0,6÷0,9	0,8

Tổng chất khô *(Total solids-TS hoặc Dry matter-DM)* được hiểu là hàm lượng các chất còn lại trong sữa sau quá trình bài khí và làm bốc hơi toàn bộ lượng nước (dạng không liên kết) có trong sữa. Đại lượng này thường được biểu diễn dưới dạng phần trăm (%) khối lượng. Chất khô không béo *(Solids non fat – SNF):* là hiệu số giữa tổng các chất khô *(TS)* và hàm lượng chất béo trong sữa.

Thành phần chính của 1 lít sữa bò được trình bày trong bảng 5.5

Bảng 5.5. Các thành phần chính của 1 lít sữa bò

Thành phần		*Khối lượng,g*	*Phần trăm,%*
Nước	Pha lỏng	902	87,4
Glucid (40÷60g/l)	- *Dạng tự do*: lactose ở trạng thái phân tử - *Dạng kết hợp*: galactose, galactosamin, acid silic	49	4,75

Thành phần		*Khối lượng,g*	*Phần trăm,%*
	ở trạng thái keo, được liên kết với protein < 1g/l		
Chất béo (25÷45g/l)	- *Ở dạng cầu béo*: là những giọt chất béo có đường kính từ 1÷10µm, được bao bằng một màng lipoprotein, ở dạng nhũ tương - *Ở dạng các hợp chất hòa tan trong chất béo*: các sắc tố (β caroten), sterol (cholesterol), các vitamin	39	3,78
Hợp chất nitơ (25÷40g/l)	- *Ở dạng micelle 28g*: ở dạng huyền phù, là phức của calcium phosphate liên kết với một liên hợp của các casein - *Ở dạng hòa tan 4,7g*: là những cao phân tử của albumin và imunoglobulin - *Nitơ phi protein 0,3g*: ure, acid uric, creatin,...	33	3,2
Chất khoáng (25÷45g/l)	*Ở trạng thái keo và hòa tan*: - Ở dạng phân tử và ion: acid citric, K, Ca, P, Na, Cl, Mg - Ở dạng các nguyên tố trung lượng: Zn, Al, Fe, Cu, I,...	9	0,87
Chất khô tổng số	Sữa đã được làm bốc hơi nước	130	12,6
Các chất khác	- *Các chất xúc tác sinh học*: các vitamin (A, D, E, K, B, B2, PP, B6, B12, C,...) và các enzyme - *Các khí hòa tan*: CO_2, O_2, N_2, 4÷5% thể tích của sữa	Vết	

1.2.1. Nước

Tỷ lệ nước trong sữa dao động từ 85,5÷ 9,5%, bao gồm nước tự do và nước liên kết:

- Nước tự do chiếm 96÷97% tổng lượng nước. Nó có thể tách ra được trong quá trình cô đặc và sấy vì không có liên kết hóa học với chất khô. Trong một số sản phẩm như bơ, phomat tươi, nước tự do ở dạng các hạt có kích thước khác nhau, phân bổ một cách tương đối đồng đều trong sản phẩm. Nước tự do có thể bốc hơi trong quá trình bảo quản phomat hoặc cũng có thể ngưng tụ ngay trên bề mặt.

- Nước liên kết chiếm khoảng 3÷4% tổng lượng nước. Hàm lượng nước liên kết phụ thuộc vào các thành phần nằm trong hệ keo: protein, các phosphatide, polysaccharide. Hàm lượng nước liên kết trong các sản phẩm sữa rất khác nhau, chẳng hạn như: trong sữa gầy có 2,13÷ 2,59% nước liên kết, trong sữa đầu có 4,15% nước liên kết, nước tách ra trong quá trình sản xuất bơ chỉ có 1,75% nước liên kết. Nước liên kết đóng băng ở nhiệt độ nhỏ hơn 0^0C, không hòa tan muối, đường. Dạng đặc biệt của nước liên kết là nước kết tinh với lactose dưới dạng $C_{12}H_{22}O_{11}.H_2O$.

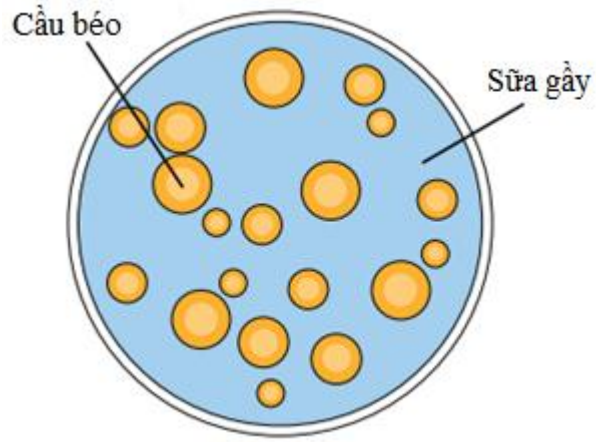
1.2.2. Chất khô

1.2.2.1. Lipid

Lipid của sữa bao gồm chất béo sữa, các phosphatid, glicolipid, steroid

a) Chất béo sữa: là thành phần quan trọng. Về dinh dưỡng chất béo có độ sinh năng lượng cao, có chứa các vitamin hòa tan trong chất béo (A, D, E). Đối với sản phẩm sữa lên men, chất béo ảnh hưởng tới mùi vị, trạng thái của sản phẩm. Có tới 98÷99% chất béo của sữa là các triglyceride, 1÷2% còn lại là các phospholipid, cholesterol, caroten, vitamin A, D, E và K.

Khi để yên sữa, một lớp váng sữa (cream) sẽ được tạo thành trên bề mặt. Dưới kính hiển vi người ta nhận thấy trong váng sữa có rất nhiều thể hình cầu với kích thước khác nhau, nổi tự do trong sữa. Mỗi thể cầu mỡ được bao bọc bằng một màng mỏng (hình 5.1).



Hình 5.1. Sự phân bố các cầu béo trong sữa

Các thể hình cầu đó là các cầu mỡ và màng bao của chúng được tạo thành chủ yếu từ protein và các phosphatid. Màng của các cầu mỡ rất bền, có tác dụng bảo vệ, giữ cho chúng không bị phá hủy bởi các enzyme có trong sữa.

Các cầu mỡ có đường kính từ 0,1÷20µm (trung bình từ 3÷4µm). Trong 1 ml sữa có khoảng 3000÷4000 triệu cầu mỡ. Các cầu mỡ là thành phần nhẹ nhất trong sữa (tỷ trọng 0,925g/cm^3) và chúng có xu hướng nổi lên trên bề mặt sữa. Kích thước các cầu mỡ có ảnh hưởng đến hiệu suất tách chất béo bằng li tâm. Các cầu mỡ có kích thước lớn dễ dàng bị tách khỏi sữa bằng li tâm. Thành phần màng bao cầu mỡ gồm phospholipid, lipoprotein, protein, acid nucleic, các nguyên tố vi lượng và nước.

Chất béo của sữa khác với mỡ của các động vật khác là chứa nhiều acid béo no có khối lượng phân tử thấp. Các acid béo chủ yếu của sữa được trình bày ở bảng 5.6.

Bảng 5.6. Các acid béo chủ yếu trong sữa

Các acid béo	*Tỷ lệ so với tổng số acid béo, %*	*Điểm nóng chảy, ^0C*	*Số nguyên tử*			*Ghi chú*
			H	C	O	
Các acid béo no						Dạng lỏng ở nhiệt độ phòng
- Butyric	3,0÷4,5	-7,9	8	4	2	
- Caproic	1,3÷2,2	-1,5	12	6	2	
- Caprilic	0,8÷3,8	16,5	16	8	2	
- Capric	1,8÷3,8	31,4	20	10	2	Dạng rắn ở nhiệt độ phòng
- Lauric	2,0÷5,0	43,6	24	12	2	
- Miristic	7,0÷11,0	53,8	28	14	2	
- Palmitic	25,0÷29,0	62,6	32	16	2	
- Stearic	7,0÷13,0	69,3	36	18	2	

Các acid béo	*Tỷ lệ so với tổng số acid béo, %*	*Điểm nóng chảy, ^0C*	*Số nguyên tử*			*Ghi chú*
			H	C	O	
Các acid béo không no						Dạng lỏng ở nhiệt độ phòng
- Oleic	30,0÷40,0	14,0	34	18	2	
- Linoleic	2,0÷3,0	-5,0	32	18	2	
- Linolenic	đến 1,0	-5,0	30	18	2	

b) Phosphatid và glicolipid

Các phosphatid và glicolipid đóng vai trò quan trọng trong việc tạo thành màng các cầu mỡ. Trong thành phần của chúng có cả acid béo hòa tan trong chất béo và acid béo hòa tan trong nước. Hàm lượng các phosphatid và glicolipid khoảng 0,031÷0,05%. Màng của các cầu mỡ chứa xấp xỉ 60% các phosphatid, lượng phosphatid trong sữa đầu gấp 2÷3 lần trong sữa bình thường.

1.2.2.1. Protein

Trong dung dịch sữa có nhiều loại protein, một số có hàm lượng rất nhỏ. Có thể phân loại protein theo chức năng vật lý, hóa học hoặc sinh học. Tuy nhiên thường chia làm hai nhóm protein chính là:

- Protein ở trạng thái keo không bền (casein)
- Protein hòa tan, hay còn gọi là nước sữa (whey protein)

Thành phần của protein trong sữa được thể hiện trong bảng 5.7.

Bảng 5.7. Thành phần của protein trong sữa

Thành phần protein	*Hàm lượng trong sữa, g/kg*	*% so với tổng protein, w/w*
Casein		
- *Casein α_{s1}*	10,0	30,6
- *Caseinα_{s2}*	2,6	8,0
- *Caseinβ*	10,1	30,8
- *Caseinκ*	3,3	10,1
Tổng casein	16,0	79,5
Whey proteins		
- *α-lactalbumin*	1,2	3,7
- *β-lactoglobulin*	3,2	9,8
- *Albumin*	0,4	1,2
- *Immunoglobulins*	0,7	2,1
- *Thành phần khác*	0,8	2,4
Tổng whey proteins	6,3	19,3
Màng mỡ protein	0,4	1,2
Tổng protein	32,7	100

a) Casein và tổ chức của micelle

** Thành phần của micelle*

Casein là một nhóm protein của sữa, tồn tại ở trạng thái keo không bền. Trong

sữa các casein có mặt dưới dạng các hạt hình cầu, đó là các micelle có đường kính từ 20÷300nm. Các micelle là tập hợp các dưới đơn vị (các siêu micelle) có đường kính từ 15÷20nm. Thành phần của micelle sữa được trình bày ở bảng 5.8.

Bảng 5.8. Thành phần của các micelle của sữa (g/100g chất khô)

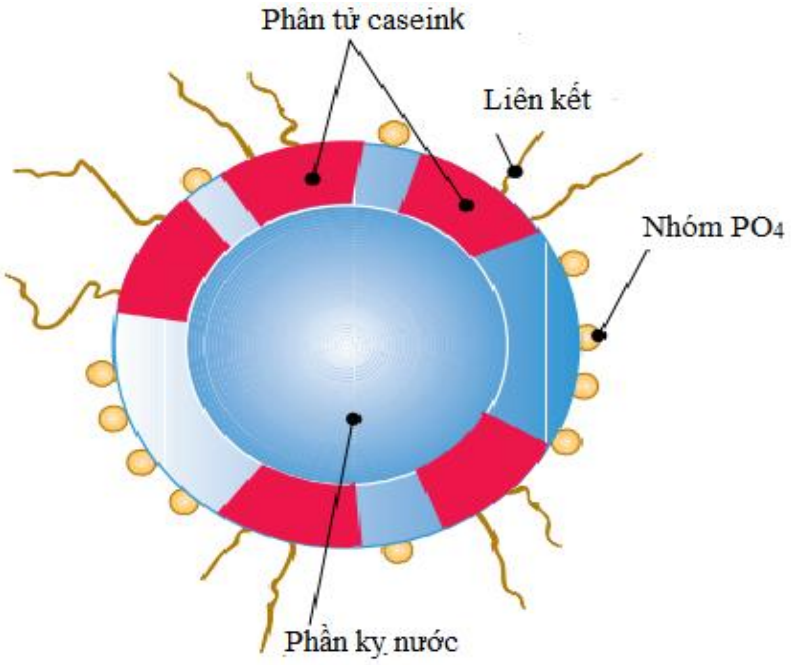
Phần hữu cơ, g%	Caseinα_{s1}	Caseinβ	Caseinα_{s2}	Caseinκ	Các loại khác		Casein tổng số
	33	33	11	11	4		92
Phần vô cơ, g%	Phosphate	Ca	Citrat	Mg	Na	K	Tổng số
	4,3	2,9	0,5	0,1	0,1	0,3	8

- Thành phần hữu cơ của các micelle chủ yếu bao gồm các caseinα_s, caseinβ, caseinκ chiếm tổng số khoảng 92%. Các casein liên kết với nhau để tạo thành phức khi có mặt calcium và sẽ kết tủa xuống nếu không có caseinκ.

- Thành phần muối của micelle bao gồm: calcium phosphate dưới dạng apatit ở trạng thái keo, calcium cũng có mặt dưới dạng citrat và có thể liên kết một phần với casein thông qua nhóm phosphate. Magiê cũng có thể tạo ra những muối tương tự muối của calcium. Tricalcium phosphatide $Ca_3(PO_4)_2$ dưới dạng vô định hình, sự chuyển hóa của dạng này thành hydroxyapatide $[Ca_5(OH)(PO_4)_3]$ tinh thể thường bị ức chế bởi các protein và nhất là bởi các ion Mg.

** Tổ chức của micelle casein*

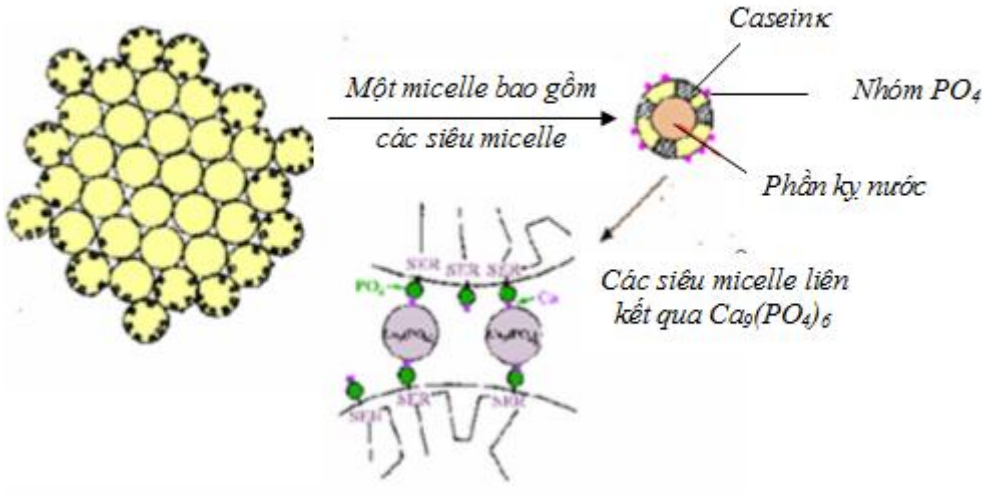
- Các siêu micelle được hợp thành từ các caseinα_{s1}, α_{s2}, β và κ có đường kính khoảng 20nm và được sắp xếp như thế nào để đầu kỵ nước được gấp vào phía trong, còn các nhóm háo nước của các casein và caseinκ thì phủ ở bề mặt. Cấu trúc của một siêu micelle casein được mô tả trong hình 5.2.



Hình 5.2. Cấu trúc của một siêu micelle casein

- Nhiều siêu micelle sẽ tập hợp lại thành một micelle (hình 5.3) nhờ calcium phosphate dạng keo rất mịn liên kết các caseinα_{s1}, α_{s2}, β với nhau thông qua các nhóm

phosphate của chúng.



Hình 5.3. Tổ chức của micelle

Các siêu micelle nghèo caseinκ sẽ nằm ở phía trong micelle và micelle sẽ ngừng lớn khi toàn bộ mặt ngoài được bao phủ bằng caseinκ. Như vậy caseinκ có vai trò bảo vệ micelle, nhờ hàm lượng phopho bé, giàu glucid nên caseinκ rất háo nước và đảm bảo độ bền cho micelle. Micelle càng chứa nhiều caseinκ thì kích thước càng bé, càng bền.

** Tính chất của casein*

Casein là một phostphoprotein, trong thành phần của nó có chứa gốc acid phosphoric. Casein có chứa nhiều nhóm chức tự do khác nhau như : -COOH, $-NH_2$, -OH, -NH-CO-, -HS... vì vậy mà casein có khả năng tham gia các phản ứng hóa học. Trong các nhóm trên thì nhóm -COOH và nhóm $-NH_2$ có ý nghĩa nhất vì một phần các nhóm này ở trạng thái tự do và quyết định tính chất của casein.

Trong dung dịch, casein tạo thành các ion lưỡng tính, tham gia phản ứng vừa như một acid, đồng thời vừa như một base :

Casein được coi như một chất điện li lưỡng tính đa hóa trị, do đó có khả năng tạo ra hàng loạt các hợp chất với các acid, base, kim loại, aldehyt v.v...

Casein dễ dàng tham gia phản ứng với các kim loại kiềm, kiềm thổ như K, Na, Mg để tạo thành các caseinat. Caseinat hòa tan trong nước. Càng có nhiều nguyên tử kim loại liên kết với casein thì độ hòa tan của casein càng lớn.

Trong sữa, casein ở dạng calcium caseinat và nó lại kết hợp với calcium phosphate tạo thành phức hợp calcium phosphate caseinat (các micelle)

Tất cả các casein đều được phosphoryl hóa nhưng với mức độ khác nhau, trong đó caseinκ có tỷ lệ P thấp nhất. Casein càng chứa nhiều nhóm phosphate thì càng không bền khi có mặt Ca.

Caseinκ là protein duy nhất có chứa các glucid, và có tính chất khác với các casein khác ở một số điểm sau :

- Dung dịch casein ở pH = 7 và nhiệt độ 20^0C ở trạng thái micelle bền, khi thêm $CaCl_2$ 0,4M thì chỉ có caseinα_s và caseinβ kết tủa còn caseinκ vẫn ở trạng thái hòa tan.

- Trong các casein chỉ có caseinκ là có chứa glucid (khoảng 5%), điều đó chứng tỏ caseinκ khá háo nước.

- Caseinκ có khả năng ổn định các casein khác bằng cách ngăn cản sự kết tủa của các casein này bởi ion calcium, nhờ tạo ra trong sữa một phức hệ micelle dưới dạng keo bền vững.

- Khi caseinκ bị thủy phân bởi chymosin ở liên kết peptit Phe105 và Met106 thì sẽ khử bền các micelle của sữa và do đó sữa bị đông tụ.

- Trong caseinκ, sự có mặt giới hạn các nhóm phosphate (chỉ một gốc ở Ser_{149} so với caseinα_s và caseinβ rất giàu P) không cho phép nó tạo muối calcium hòa tan.

Một số tính chất đặc trưng của caseinκ được tóm tắt ở bảng 3.9. Trong đó thể hiện sự khác nhau của biến thể A và B, chính là do trật tự sắp xếp các acid amin trong phân tử. Dưới tác dụng của chymosin, phân cắt caseinκ thành paracaseinκ và caseinoglucopeptid có tính chất khác nhau, đó chính là cơ sở của quá trình đông tụ casein.

Bảng 3.9. Tóm tắt tính chất của caseinκ

		Tích điện ở pH = 6,6
Caseinκ	169 acid amin, 2 biến thể A và B	
Biến thể A	Thay thế Thr cho Ile ở 136 và thay thế Ala ở 148 bằng Asp	-4,3
Biến thể B	Asp_4, Asn_7, Thr_{14}, Ser_{12}, $SerP_1$, $PyroGlu_1$, Glu_{12}, Glu_{14}, Pro_{20}, Gly_2, Ala_{15}, $1/2Cys_2$, Val_{11}, Met_2, Ile_{13}, Leu_8, Tyr_9, Phe_4, Lys_9, His_3, Trp_1, Arg_5	-3,3
Tác dụng của chymosin	Cắt liên kết peptit giữa Phe-Met (105-106) tạo thành: - Paracaseinκ (1-105) không hòa tan (là một cation kỵ nước kết tủa dưới dạng sợi) - Caseinoglucopeptit (106-169) hòa tan (không có acid amin vòng, giàu acid amin alcol, chứa tất cả glucid, là một anion, hòa tan tốt trong nước)	
Paracaseinκ(1-105)	- Chứa tất cả acid amin vòng giữa 17 và 105: Trp_1, Phe_4, Tyr_9 - Chỉ có duy nhất một phân tử mặc dù có các biến thể A và B của caseinκ	+4,5 (Cation)
Caseinoglucopeptid (106-169)	- Có 17 acid amin alcol (Ser, Thr)/26 trong caseinκ - Chứa tất cả glucid giữa 124 (Thr) và 155 (Ser)	A: -8,8 B: -7,8 (Anion)

b) Protein hoà tan (whey protein)

Whey protein chủ yếu bao gồm α - Lactalbumin và β - Lactoglobulin:

* *α - Lactalbumin*: có thành phần acid amin tương tự casein. Điểm đẳng điện ở pH = 5,1. Không bị đông tụ bởi men sữa.

* *β - Lactoglobulin*: có điểm đẳng điện ở pH = 5,3. Khi đun sữa trên 60^0C, hàng loạt các phản ứng xảy ra. Cầu disunfua bắt đầu tạo thành giữa các phân tử β - lactoglobulin, giữa phân tử β - lactoglobulin và phân tử caseinκ, giữa β - lactoglobulin và α - lactalbumin. Ở nhiệt độ cao, các hợp chất chứa lưu huỳnh như H_2S lần lượt được giải phóng, tạo thành mùi nấu cho sữa.

β - Lactoglobulin có 162 acid amin, hai cầu disunfua và các nhóm SH tự do, chúng có thể liên hợp tạo thành dime (ở pH = 6,6), octame (ở pH = 5,2÷3,5), ở pH cực trị nó ở dạng đơn phân. Khi bị đun nóng đến 80^0C β - lactoglobulin đông tụ một cách dễ dàng. Sự đông tự này xảy ra theo hai giai đoạn. Giai đoạn 1 ở 65÷70^0C kèm theo sự thay đổi cấu hình phân tử protein liên quan đến sự giãn ra của các polypeptid của globulin. Giai đoạn 2 là giai đoạn đông tụ, tạo thành gel. Khi đó xảy ra sự liên hợp tạo thành các liên kết S – S do các nhóm tiol tự do trong cùng một phân tử hoặc giữa các phân tử.

Chymosin không làm đông tụ β - lactoglobulin ở điều kiện thường nhưng β - lactoglobulin bị biến tính do xử lý nhiệt độ cao nên sau đó, khi lên men β - lactoglobulin sẽ chuyển vào quện sữa.

1.2.2.3. Lactose

Lactose chiếm vị trí hàng đầu trong glucid sữa. Lactose tồn tại ở hai dạng tự do và liên kết với các protein và các glucid khác, tỷ lệ lactose tự do/lactose liên kết là 8/1. Lactose hòa tan kém trong nước.

Gia nhiệt đến 100^0C không làm thay đổi lactose. Ở nhiệt độ cao hơn, xảy ra sự biến màu do phản ứng melanoidin giữa các acid amin với lactose. Ngoài ra, khi ở nhiệt độ cao hơn 100^0C, lactose bị phân giải một phần, tạo thành các acid lactic, acid formic, ... kết quả làm tăng độ chua của sữa lên 1÷2^0T.

1.2.2.4. Các muối

Trong sữa có các cation K^+, Na^+, Mg^+, Ca^{2+} và các anion của các acid phosphoric, limolic, clohydric vì vậy trong sữa có nhiều loại muối khác nhau. Các muối clorua (KCl, NaCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$...), các muối phosphate (KH_2PO_4, NaH_2PO_4, K_2HPO_4, Na_2HPO_4...), các muối citrat ($K_2(C_6H_6O_7)$, $Na_2(C_6H_6O_7)$, $Ca(C_6H_5O_7)_2$ ...).

Trong các muối trên, muối calcium có ý nghĩa lớn đối với người, đặc biệt là trẻ em. Hai nguyên tố Ca và P trong sữa có tỷ lệ rất hài hòa Ca/P = 1/1,31 và ở dạng cơ thể dễ hấp thụ. Muối calcium có ý nghĩa quan trọng trong chế biến các sản phẩm sữa. Khi sữa có hàm lượng calcium thấp sẽ khó đông tụ hoặc bị đông tụ rất chậm. Ngược lại, nếu sữa có hàm lượng calcium cao thì sẽ bị đông tụ bởi chymosin nhanh hơn nhưng quện sữa (gel đông tụ) lại không mịn. Trong sữa, calcium nằm trong các hợp chất calcium caseinat, calcium phosphate, calcium limonat,...

Trong sữa còn có Mg (12 mg%), K (113÷171mg%), Na (30÷77mg%). Tỷ lệ K/Na =3,3 tương đương với tỷ lệ này trong sữa mẹ. Muối K và Na có tác dụng giữ trạng thái cân bằng muối trong sữa, giữ áp suất thẩm thấu ở trạng thái bình thường.

Các muối của acid phosphoric là hợp chất điển hình có tác dụng giữ cân bằng hệ

muối và hệ keo trong sữa.

Các muối của acid citric đặc biệt có ý nghĩa đối vơi sự hình thành các chất thơm trong các sản phẩm sữa lên men, các loại bơ. Trong thành phần chủng VSV dùng để sản xuất các sản phẩm trên có các vi khuẩn tạo mùi thơm. Các vi khuẩn này, trong quá trình hoạt động đòi hỏi sự có mặt của acid limonic để tạo thành các diacetyl, acetoin, các acid bay hơi,...

Nhiệt độ cao làm thay đổi các thành phần muối của sữa. Các muối hòa tan của acid phosphoric làm tách một phần casein khỏi phức calcium phosphate caseinat. Sự giảm nồng độ ion Ca làm giảm khả năng đông tụ của sữa bằng chymosin. Nhiệt độ cao còn làm giảm độ bền của casein đối với nhiệt. Casein bền vững ngay cả ở 100^0C, nếu nó được liên kết với một lượng nhất định calcium. Nếu giảm lượng calcium thì trạng thái keo của casein cũng giảm sự bền vững.

Các cặn muối không tan của sữa cùng với các protein (chủ yếu là là albumin và globulin) bị kết tủa trên bề mặt đun nóng của thiết bị, tạo thành "đá sữa", làm giảm khả năng truyền nhiệt, gây khó khăn cho việc rửa thiết bị.

1.2.2.5. Các vitamin

Trong sữa có nhiều loại vitamin hòa tan trong nước (vitamin nhóm B, C) và vitamin hòa tan trong chất béo (vitamin A, D, E). Thành phần các vitamin có trong sữa được trình bày ở bảng 5.10.

Bảng 5.10. Thành phần các vitamin có trong sữa

Vitamin	*mg/l*	*Vitamin*	*mg/l*
A (retinol)	0,3	B12 (cyanocobalamin)	0,005
D (calciferol)	0,001	B3 (nicotinamit)	1
E (tocoferol)	1,4	B1 (acid pantothenic)	3
B1 (thiamin)	0,4	C (acid ascorbic)	20
B2 (lactoflavin)	1,7	H (biotin)	0,04
B6 (pyrodoxin)	0,5	M (acid folic)	0,05

Trong quá trình chế biến sữa, khi gia nhiệt các vitamin hòa tan trong chất béo (A, D) và các vitamin hòa tan trong nước (B2, B3, B5, H) tương đối bền. Còn các vitamin C, B1, B6, B12, M đều bị ảnh hưởng bởi chế độ gia nhiệt ở mức độ khác nhau.

Khi thanh trùng, vitamin C giảm khoảng 10÷17%, trong khi đó nếu qua UHT và tiệt trùng thì hao hụt tương ứng là 30% và 60%. Khi tiệt trùng các vitamin B1, B6, B12 giảm 20%, còn vitamin M giảm 30%.

Để thành phần các vitamin cân đối và hoàn hảo hơn, người ta bổ sung thêm một số loại vitamin cần thiết trong quá trình chế biến các sản phẩm sữa.

1.2.2.6. Các enzyme của sữa

Các enzyme trong sữa thường từ các tuyến sữa, từ VSV có trong không khí và từ nhiều nguồn khác. Một số enzyme đáng quan tâm trong chế biến sữa bao gồm:

- *Peroxidase:* peroxidase sử dụng oxy nguyên tử từ sự phân giải hydro peroxide (H_2O_2). Enzyme này bị tiêu diệt khi sữa đươc gia nhiệt đến 80^0C trong vài giây. Trong thực tế ứng dụng để kiểm tra xem có thanh trùng đã đạt đến nhiệt độ trên 80^0C hay không.

- *Catalase*: sữa vắt từ bò bị bệnh viêm vú thì hàm lượng catalase thường cao. Enzyme này bị phá hủy ở 75^0C sau 60 giây.

- *Phosphatase*: phosphatase xâm nhập vào sữa theo con đường từ tuyến sữa. Trong sữa có phosphatase kiềm (pH 9÷10) và phosphatase acid (pH 4÷4,3). Phosphatase kiềm bị phá hủy hoàn toàn ở chế độ thanh trùng 65^0C trong 30 phút hoặc 80^0C tức thời. Người ta sử dụng tính chất này để kiểm tra hiệu quả thanh trùng sữa.

- *Lipase*: nguồn gốc lipase có thể từ tuyến sữa, khi tuyến sữa làm việc bình thường thì lượng lipase không đáng kể. Khi gặp điều kiện thuận lợi, lipase phân hủy một phần chất béo của sữa và làm cho sữa và sản phẩm từ sữa có vị đắng, mùi ôi. Lipase hòa tan tốt trong chất béo, dễ dàng xâm nhập vào các cầu mỡ nên chế độ thanh trùng tức thời ở 72÷75^0C không đủ để tiêu diệt lipase, đây là một trong những nguyên nhân làm hư hỏng sản phẩm sữa. Bình thường lipase bị phá hủy ở 75^0C sau 60 giây.

1.2.2.6. Các chất khí và sắc tố của sữa

Lượng chất khí hòa tan trong sữa khoảng 70ml/lit, trong đó 50÷70% là CO_2, 5÷10% oxy và 20÷30% là nitơ. Sữa mới vắt ra chứa một lượng lớn khí, sau đó sẽ giảm dần và đạt mức bình thường. Trong số các khí có mặt trong sữa chỉ có oxy là ảnh hưởng xấu vì nó có thể là nguyên nhân phát triển các quá trình oxy hóa.

Khi sữa được gia nhiệt, khí cacbonic, nitơ và oxy bị bay hơi và hàm lượng của chúng trong sữa giảm không ít hơn 20%. Kết quả của việc bài khí này khiến cho độ acid của sữa giảm 0,5÷2^0T.

Sữa và mỡ sữa có màu là do sự có mặt của nhóm carotenoid mà đại diện là nhóm carotin. Hàm lượng carotin trong sữa mùa hè 0,3÷0,6 mg/kg, mùa đông 0,05÷0,2 mg/kg. Sữa có sắc tố màu xanh là chlorophyll, màu xanh vàng của whey là do lactoflavin (vitamin B2). Màu trắng của sữa là do sự khuếch tán ánh sáng bởi các micelle protein.

1.3. Quá trình đông tụ casein

1.3.1. Giới thiệu chung

Đông tụ casein trong sữa là quá trình chuyển casein từ trạng thái keo sang khối đông với cấu trúc gel. Đây là một trong những quá trình quan trọng nhất trong quy trình công nghệ sản xuất phomat. Để tiến hành đông tụ casein trong sữa, người ta thường sử dụng một trong hai phương pháp sau:

- Điều chỉnh giá trị pH sữa về điểm đẳng điện của casein: phương pháp này được sử dụng trong công nghệ sản xuất một số loại phomat tươi như Cottage, Quarg…

- Sử dụng enzyme đông tụ sữa: các enzyme được thu nhận và tinh sạch từ nhiều nguồn gốc, được thương mại hóa với những tên gọi khác nhau. Bảng 5.11 giới thiệu một số enzyme đông tụ sữa phổ biến hiện nay.

Bảng 5.11. Một số enzyme đông tụ sữa sử dụng trong sản xuất phomat (Law B. A, 1999)

Nhóm	*Nguồn gốc*	*Tên enzyme*
Động vật	Dạ dày bê Dạ dày cừu Dạ dày dê Dạ dày heo	Chymosin A và B, pepsin A và gastriscin Chymosin và pepsin Chymosin và pepsin Pepsin A, B và gastriscin

Nhóm	*Nguồn gốc*	*Tên enzyme*
Thực vật	*Cynara cardunculus*	Cyprosin 1, 2,3 và/hoặc cardosin A, B
Vi sinh vật	*Rhizomucor miehei* *Rhizomucor pusillus* *Cryphonectria parasitica*	Aspartic protease Aspartic protease Aspartic protease
Vi sinh vật chuyển gen chymosin từ bê	*Aspergillus niger* *Kluyveromyces lactis*	Chymosin B Chymosin B

Các chế phẩm enzyme từ động vật là nhóm enzyme đông tụ sữa đầu tiên được sử dụng trong sản xuất phomat. Nguồn enzyme phổ biến nhất được chiết từ ngăn thứ tư dạ dày bê. Thông thường, hàm lượng chymosin chiếm đến 80÷90% và pepsin chỉ khoảng 10÷20%. Khi bê trưởng thành, tỷ lệ thành phần enzyme trong ngăn thứ tư dạ dày sẽ thay đổi. Hàm lượng pepsin sẽ tăng đến 80÷90%.

Chymosin (EC.3.4.23.4): là enzyme có hoạt tính đông tụ sữa rất cao. Tuy nhiên khả năng xúc tác thủy phân protein của chymosin kém hơn so với protease khác. Chymosin có thể tồn tại dưới dạng không hoạt động zymogen được gọi là prochymosin.

Prochymosin có trọng lượng phân tử khoảng 36.000÷37.000Da và điểm đẳng điện pI=5,0. Trong môi trường kiềm, prochymosin bền hơn chymosin nhưng nếu pH≥11 prochymosin bị mất khả năng chuyển hóa thành chymosin. Trong điều kiện pH=6,5 và ở nhiệt độ phòng, sau 24 giờ có khoảng 5% prochymosin tự chuyển hóa thành chymosin. Ở pH=5,0÷6,0, prochymosin có thể được chuyển hóa thành chymosin dưới tác dụng của pepsin bằng cách tách khỏi phân tử prochymosin một đoạn polypeptide có phân tử lượng khoảng 5.300÷6.300Da.

Chymosin trong ngăn thứ tư dạ dày bê tồn tại dưới hai dạng là A và B, sự khác nhau giữa chúng được trình bày trong bảng 5.12.

Pepsin A (EC.3.4.23.1): thường được tìm thấy trong hệ tiêu hóa các động vật có vú.

Pepsin B (EC.3.4.23.2): được tìm thấy trong dạ dày heo với hàm lượng khá thấp. Nhìn chung, khả năng đông tụ sữa của pepsin B kém.

Gastriscin (EC.3.4.23.3): enzyme này thuộc nhóm aspartic protease và còn được gọi là pepsin B, C, I, II, III, 6 hoặc 7.

Bảng 5.12. Những điểm khác nhau cơ bản giữa chymosin A và B được chiết từ ngăn thứ tư dạ dạy bê (Law B.A, 1999)

Chymosin A	*Chymosin B*
- Vị trí acid amin số 244 trong mạch protein là acid aspertic - Kém bền, dễ bị phân hủy thành chymosin C ở pH thấp - Hoạt tính riêng cao hơn 290 đơn vị IMCU/mg	- Vị trí acid amin số 244 trong mạch protein là acid glycine - Bền hơn, không bị phân hủy thành chymosin C - Hoạt tính riêng thấp hơn 223 đơn vị IMCU/mg

(IMCU – International Milk Clotting Unit)

Một số chế phẩm enzyme từ thực vật cũng có khả năng làm đông tụ sữa, quan trọng nhất là enzyme được chiết từ *Cynara cardunculus (L).* Theo Heimgartner (1990), Verissimo và cộng sự (1996) thì enzyme này thuộc nhóm aspartic protease và có khả năng gây đông tụ sữa của nó không thua kém chymosin. Từ xưa ở Bồ Đào Nha, người ta còn sử dụng dịch chết hoa *Cynara cardunculus (L)* làm tác nhân đông tụ sữa, để chế biến một số loại phomat nổi tiếng như Serra, Serpa ... Tuy nhiên, hiện nay người ta không sản xuất ở quy mô lớn và thương mại hóa chế phẩm enzyme từ *Cynara cardunculus (L).* Chúng chỉ được sản xuất thủ công và sử dụng tại một số địa phương.

Một số loài VSV có khả năng sinh tổng hợp enzyme có hoạt tính đông tụ sữa. Tuy nhiên, tính đặc hiệu của chúng lại khác nhau. Đáng chú ý nhất là enzyme đông tụ sữa từ *Rhizomucor michei* và *Rhizomucor pusillus* (EC.3.4.23.23). Enzyme này bền nhiệt và có hoạt lực thủy phân protein khá cao. Enzyme đông tụ sữa từ *Cryphonectria parasitica* là một protease acid (EC.3.4.23.22) với hoạt tính thủy phân protein rất cao.

Gần đây, những thành tựu của kỹ thuật di truyền đã giúp cho các nhà nghiên cứu thành công trong việc chuyển gen chymosin từ bê vào tế bào VSV như vi khuẩn E.coli, nấm men *Kluyveromyces lactic* hoặc nấm mốc *Aspergillus niger*. Khi nuôi cấy những VSV này, chúng sẽ sinh tổng hợp enzyme gây đông tụ sữa với phân tử protein có trật tự các acid amin hoàn toàn giống với chymosin tách từ bê. Các chế phẩm enzyme này được gọi là chymosin sản xuất theo phương pháp lên men (*Fermentation Produced Chymosin* – FPC)

Tóm lại, các chế phẩm enzyme gây đông tụ casein trong sữa rất đa dạng. Trong công nghệ sản xuất phomat hiện nay, nhóm enzyme được tách chiết từ động vật chiếm tỷ lệ sử dụng cao nhất. Tuy nhiên, người ta dự đoán rằng chế phẩm chymosin sản xuất bằng phương pháp lên men (FPC) sẽ được sử dụng phổ biến trong tương lai không xa.

1.3.2. Cơ sở khoa học của quá trình đông tụ casein

a) Đông tụ casein bằng phương pháp sử dụng điểm đẳng điện

Casein trong sữa tồn tại dưới dạng micelle. Chúng có điểm đẳng điện pI = 4,6. Theo Cheftel J. C và cộng sự (1985), khi bảo quản sữa tươi ở $4 \div 7^0$C, các micelle sẽ bị phân ly một phần thành các tiểu micelle, sau 24 giờ có đến 50% caseinβ tách ra khỏi cấu trúc micelle trong sữa. Khi gia nhiệt trở lại, các phân tử caseinβ sẽ liên kết một cách chậm chạp với những micelle ban đầu. Như vậy, sữa được bảo quản trong một khoảng thời gian dài ở nhiệt độ thấp sẽ có hàm lượng casein hòa tan tăng cao. Quá trình đông tụ casein hòa tan sẽ khó khăn và kém triệt để hơn so với các casein tồn tại dưới dạng micelle. Nếu ta đưa pH sữa về giá trị 4,6 (điểm đẳng điện của casein) sẽ làm tăng lực hút tĩnh điện giữa các phân tử với nhau. Khi đó, casein sẽ chuyển sang trạng thái không tan và sẽ xuất hiện các khối đông tụ trong sữa.

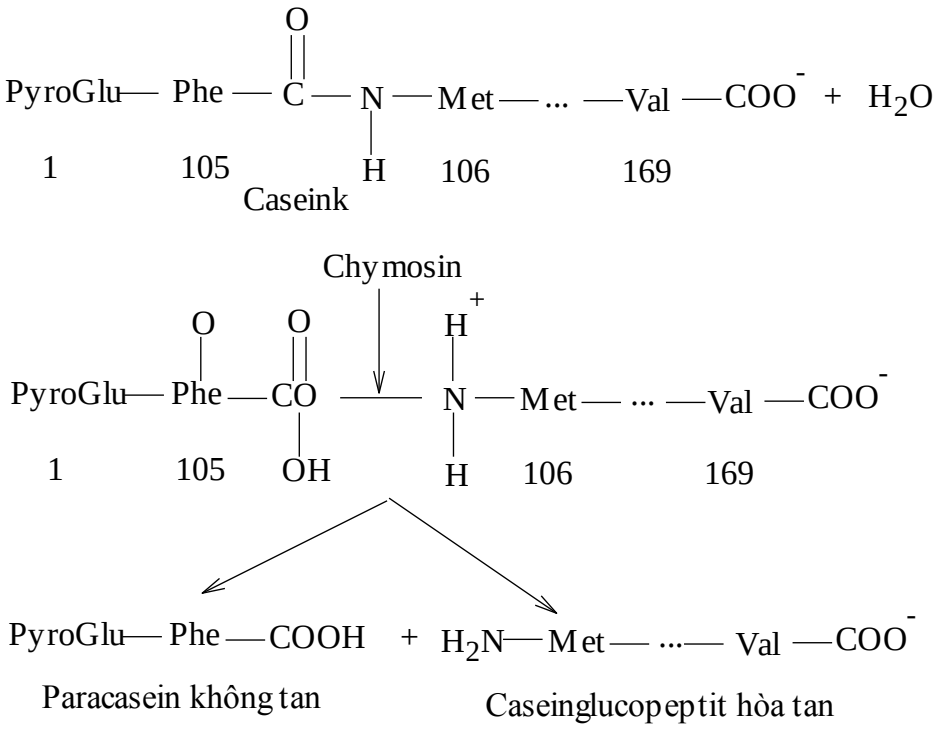
b) Đông tụ casein bằng phương pháp sử dụng enzyme

Quá trình đông tụ casein sữa bằng tác nhân enzyme có thể được chia thành ba giai đoạn.

**** Giai đoạn 1***: enzyme chymosin xúc tác thủy phân liên kết peptide tại một vị trí đặc hiệu trong phân tử caseinκ.

Như chúng ta đã biết caseinκ giữ vai trò quan trọng trong việc ổn định cấu trúc micelle của sữa. Đầu amino của phân tử caseinκ (đầu ưa béo) được liên kết với các phân tử caseinα_s và β trong micelle luôn hướng về tâm micelle, còn đầu carboxyl (đầu ưa nước) luôn hướng ra ngoài vùng biên micelle. Chymosin sẽ xúc tác thủy phân liên két peptide tại vị trí giữa acid amin số 105 *(phe*) và acid amin số 106 (*met*) trong phân

tử caseinκ



Kết quả là đoạn caseinglucopeptide được tách ra khỏi phân tử caseinκ và hòa tan vào dung dịch. Riêng phân đoạn paracasein vẫn còn gắn lại trên các gốc micelle và làm cho micelle dễ "tập hợp" lại với nhau chuẩn bị tạo khối đông.

Theo Gratreva (1987), trong giai đoạn thứ nhất, hình như chỉ có các phân tử caseinκ bị thủy phân bởi chymosin tại vị trí liên kết đặc hiệu nói trên. Các phân tử caseinα_s và β gần như không thay đổi. Độ nhớt sữa vào thời điểm đầu của phản ứng thủy phân caseinκ bị giảm nhẹ nhưng sau đó lại tăng dần cho đến khi các khối đông tụ bắt đầu xuất hiện.

**** Giai đoạn 2***: đông tụ casein

Ở giai đoạn này, các micelle sau khi mất đoạn caseinglucopeptide trong phân tử caseinκ bắt đầu liên kết lại với nhau. Đó là hiện tượng giảm sự tích điện bề mặt của micelle, từ đó lực đẩy tĩnh điện giữa các micelle cũng bị giảm. Bề mặt micelle trở nên ưa béo hơn do chỉ chứa cac phân đoạn paracaseinκ và chúng có thể liên hợp lại với nhau một cách dễ dàng hơn. Ngoài ra, phần tích điện dương của phân đoạn paracaseinκ có thể tương tác với phần tích điện âm của phân tử caseinα_s và β. Cầu calcium phosphate sẽ xuất hiện giữa các micelle và góp phần làm tăng kích thước khối đông tụ.

Trong quá trình liên hợp lại với nhau để tạo nên khối đông, các micelle sẽ kéo theo một số phân tử lipid và các hợp chất có trong sữa như lactose, vitamin … Như vậy, trong cấu trúc gel của khối đông, ngoài casein là thành phần chính, người ta còn tìm thấy lipid, lactose, nước và mọt số chất khác.

Các nhà nghiên cứu cho rằng sự động tụ sữa chỉ xảy ra khi có hơn 85% caseinκ trong micelle bị thủy phân bởi enzyme. Khi sử dụng chymosin để đông tụ, hàm lượng casein thu được trong khối đông có thể lên đến 95% tổng lượng casein ban đầu có trong sữa. Ngược lại, khi sử dụng các protease từ nấm sợi để đông tụ, hiệu suất thu hồi casein trong khối đông chỉ đạt 40÷45%. Bên cạnh đó, quá trình thủy phân protein diễn ra mạnh mẽ và làm tăng đáng kể hàm lượng nitơ amin trong huyết thanh sữa.

**** Giai đoạn 3:*** kết thúc quá trình đông tụ và tách huyết thanh sữa (*whey)*

Khi casein đã đông tụ hoàn toàn, người ta thực hiện giai đoạn tách khối đông ra khỏi huyết thanh sữa. Ở giai đoạn này, nhìn chung sự xúc tác của enzyme chymosin không làm thay đổi đáng kể cấu trúc của khối đông. Hàm lượng nitơ amin trong sữa gần như không thay đổi. Nếu chúng ta sử dụng các protease VSV làm tác nhân đông tụ sữa, độ cứng của khối đông thu được sẽ bị giảm và hàm lượng nitơ amin trong khối đông tiếp tục gia tăng.

c) Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình đông tụ

**** Hàm lượng enzyme sử dụng***

Chế phẩm enzyme đông tụ sữa ở dạng lỏng hoặc dạng bột. Hoạt tính của chúng thường được biểu diễn dưới dạng một tỷ lệ. Ví dụ như chymosin có hoạt tính dao động từ 1:10.000÷1:15.000. Điều đó có nghĩa là một phần (khối lượng hoặc thể tích) chymosin có thể làm đông tụ được 10.000÷15.000 phần khối lượng hoặc thể tích sữa trong thời gian 40 phút ở 35^0C.

Hàm lượng chymosin sử dụng sẽ ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng thủy phân liên kết peptide đặc hiệu trong phân tử caseinκ. Còn tốc độ quá trình đông tụ sữa lại phụ thuộc vào tần số va chạm của các micelle đã giải phóng được phân đoạn caseinglucopeptide trên bề mặt chúng. Như vậy, hàm lượng chymosin sử dụng sẽ ảnh hưởng gián tiếp đến tốc độ đông tụ sữa và cấu trúc của khối đông.

Hàm lượng chymosin sử dụng càng cao thì tốc độ phản ứng thủy phân caseinκ sẽ càng lớn, số micelle giải phóng được phân đoạn caseinglucopeptide trên bề mặt chúng càng nhiều, tốc độ quá trình đông tụ sẽ nhanh hơn.

Trong thực tế sản xuất, với chymosin có hoạt lực 1:10.000÷1:15.000, người ta thường sử dụng 30ml enzyme cho 100kg sữa tươi. Ta cần hòa lượng enzyme trên trong một thể tích tối thiểu gấp hai lần thể tích enzyme rồi cho vào bồn đông tụ đã chứa sẵn nguyên liệu sữa tươi, sau đó khuấy đều trong khoảng thời gian từ 2÷3 phút. Chúng ta cũng có thể sử dụng đầu phun để phân bố đều dung dịch chymosin lên bề mặt khối sữa trong bồn đông tụ.

**** pH***

Hoạt tính enzyme phụ thuộc pH, giá trị pH tối ưu của chymosin là 6,0. Các kết quả nghiên cứu trước đây khẳng định rằng khi ta giảm pH sữa từ giá trị tự nhiên 6,6÷6,7 về giá trị 6,0; tốc độ đông tụ được cải thiện đáng kể.

Ngoài ra, pH cũng ảnh hưởng đến cấu trúc micelle trong sữa. Khi ta giảm pH, phosphate calcium bị tách ra khỏi cấu trúc micelle, làm giảm diện tích micelle, nhờ thời gian đông tụ sữa sẽ được rút ngắn.

**** Nhiệt độ***

Các kết quả nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng khi nhiệt độ nhỏ hơn 15^0C, quá trình đông tụ sữa bởi chymosin gần như không diễn ra được. Thực tế, ở nhiệt độ thấp (<15^0C), enzyme chymosin vẫn xúc tác thủy phân liên kết peptide đặc hiệu trong phân tử caseinκ để giải phóng caseinglucopeptide. Tuy nhiên, theo Walstra và Vliet (1986), các phân tử caseinβ từ vùng trung tâm sẽ nhô ra bề mặt ngoài micelle và làm cho các micelle không tập hợp lại với nhau được, trạng thái keo của micelle trong sữa trở nên ổn định và bền vững.

Khi tăng nhiệt độ, tốc độ phản ứng hóa sinh sẽ tăng theo. Mặt khác, việc gia tăng nhiệt độ cũng làm tăng tần số va chạm giữa các micelle đã giải phóng được các đoạn

caseinglucopeptide trên bề mặt của chúng. Kết quả là tốc độ đông tụ sữa cũng sẽ gia tăng. Thực nghiệm cho thấy nhiệt độ tối ưu cho quá trình đông tụ casein trong sữa khoảng 42,5÷45,0^{0}C.

**** Calcium***

Theo Law B. A (1999), ion Ca sẽ làm giảm điện tích các casein do chúng tạo liên kết với các nhóm tích điện trong phân tử casein, do đó sẽ làm giảm lực đẩy tĩnh điện giữa các micelle với nhau và giúp cho quá trình đông tụ sữa diễn ra nhanh và dễ dàng hơn.

Trong sản xuất, người ta thường sử dụng muối $CaCl_2$ để bổ sung vào sữa trước khi thực hiện quá trình đông tụ. Hàm lượng dùng từ 5÷20g cho 100kg sữa tươi. Việc bổ sung $CaCl_2$ có thể làm giảm nhẹ pH sữa. Hiện tượng này cũng có lợi cho quá trình đông tụ.

Nếu bổ sung calcium với hàm lượng quá cao, khối đông tụ trở nên cứng hơn và có thể gây khó khăn cho việc cắt khối đông và các giai đoạn chế biến tiếp theo trong sản xuất phomat. Đối với những sản phẩm phomat có hàm lượng chất béo thấp, ở một số nước, người ta bổ sung natri phosphate Na_2HPO_4 vào sữa (hàm lượng 10÷20g/kg) trước khi cho $CaCl_2$ vào. Khi đó, độ dẻo của khối đông được cải thiện đáng kể do sự tạo thành dạng keo $Ca_3(PO_4)_2$, chúng có chức năng tạo độ dẻo cho khối đông tương tự như các hạt cầu béo.

**** CO_2***

CO_2 có thể tìm thấy trong sữa tươi. Việc bổ sung CO_2 vào sữa sẽ làm giảm pH tự nhiên của sữa xuống 0,1÷0,3 đơn vị. Khi đó, thời gian đông tụ sữa được rút ngắn. Theo Bylund Gosta (1995), việc bổ sung CO_2 vào sữa cho phép chúng ta tiết kiệm được một lượng nhỏ enzyme đông tụ sữa cần dùng mà thời gian đông tụ vẫn không thay đổi.

2. VI SINH VẬT

2.1. Vi sinh vật trong sữa bò

Trong cơ thể động vật, sữa tươi được tuyến vú tổng hợp không chứa vi sinh vật. Tuy nhiên, khi kiểm tra sữa mới vắt ta thường phát hiện có rất nhiều nhóm vi sinh vật khác nhau, nguồn gốc của các vi sinh vật này xuất phát từ: bầu vú của động vật cho sữa, người vắt sữa, thiết bị vắt sữa, môi trường chuồng trại nơi diễn ra quá trình vắt sữa.

Hệ vi sinh vật và số lượng của chúng luôn luôn thay đổi và phụ thuộc vào mức độ nhiễm vi sinh vật trong quá trình vắt sữa. Các vi sinh vật có trong sữa bao gồm cả vi khuẩn, nấm men và nấm mốc.

2.1.1. Vi khuẩn

a) Vi khuẩn lactic: là loại vi khuẩn phổ biến trong tự nhiên, nhiệt độ sinh trưởng tối ưu trong khoảng 25÷47^{0}C. Để tồn tại trong môi trường sữa, vi khuẩn lactic tổng hợp năng lượng ATP từ cơ chất lactose. Acid lactic là một trong những sản phẩm được sinh ra từ quá trình tổng hợp năng lượng. Dựa vào nhóm sản phẩm được tổng hợp từ quá trình trao đổi năng lượng, người ta chia vi khuẩn lactic thành hai nhóm:

- Vi khuẩn lactic đồng hình: acid lactic là sản phẩm chính và hàm lượng của nó chiếm tỷ lệ vượt trội hơn nhiều so với các sản phẩm phụ khác.

- Vi khuẩn lactic dị hình; các sản phẩm được tạo thành từ quá trình chuyển hóa đường gồm có acid lactic, acid acetic, ethanol, khí CO_2,... Hàm lượng acid lactic thu

được không cao hơn nhiều so với hàm lượng các sản phẩm còn lại.

Trong công nghệ lên men các sản phẩm từ sữa như yoghurt, kefir, phomat và một số loại bơ, người ta sử dụng các loại vi khuẩn lactic để thực hiện một số chuyển hóa cần thiết. Giống vi khuẩn lactic trong sản xuất công nghiệp là những canh trường vi sinh vật thuần khiết được nhân lên qua nhiều cấp từ một tế bào vi khuẩn ban đầu đã qua tuyển chọn. Còn các vi khuẩn lactic có mặt trong sữa tươi sau khi vắt được xem là những vi sinh vật tạp nhiễm. Chúng sẽ tạo ra những chuyển hóa ngoài ý muốn của nhà sản xuất trong quá trình bảo quản sữa trước khi chế biến (giảm pH, đông tụ casein, tạo các hợp chất mới trong sữa như ethanol, acid acetic,... làm thay đổi thành phần và giá trị cảm quan của sữa). Các vi khuẩn lactic nhiễm vào sữa thuộc nhiều giống khác nhau như: *Streptococcus, Lactococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Bifidobacterium,...* Chúng gồm các nhóm vi khuẩn lên men đồng hình lẫn dị hình. Khi thanh trùng ở 80^0C, hầu hết các vi khuẩn lactic nhiễm trong sữa sẽ bị tiêu diệt.

b) Vi khuẩn Coliform: trong sữa, vi khuẩn *Coliform* sẽ chuyển hóa đường lactose tạo acid lactic và các acid hữu cơ khác, khí CO_2, H_2,... Chúng cũng phân giải protein trong sữa tươi tạo ra các sản phẩm khí làm cho sữa có mùi khó chịu. Ở nhiệt độ 75^0C trong khoảng thời gian 20 giây, vi khuẩn *Coliform* sẽ bị tiêu diệt.

*c) Vi khuẩn sinh acid butyric (*giống *Clostridium):* chuyển hóa đường trong sữa thành nhiều sản phẩm khác nhau như: acid butyric, butanol, ethanol, khí CO_2, H_2,... làm thay đổi thành phần hóa học và giá trị cảm quan của sữa trong quá trình bảo quản. Các bào tử *Clostridium* khá bền với nhiệt, quá trình thanh trùng sữa không thể tiêu diệt được hoàn toàn các bào tử *Clostridium* chịu nhiệt. Khi đó, ta phải dùng giải pháp kỹ thuật khác như vi lọc, ly tâm hoặc sử dụng chất kháng khuẩn để loại bỏ hoặc ức chế *Clostridium.*

*d) Vi khuẩn propionic (*giống *Propionibacterium)*: chuyển hóa đường thành acid propionic, acid acetic, khí CO_2, ... làm hư hỏng sữa. Tuy nhiên, trong công nghệ sản xuất một số loại phomat như Emmenthal, Gruyere... người ta sử dụng canh trường *Propionibacterium* thuần khiết để tạo ra cấu trúc lỗ hổng và hương vị đặc trưng cho sản phẩm. Hầu hết các loại vi khuẩn propionic bị tiêu diệt khi thanh trùng sữa ở 75^0C trong thời gian 20 giây.

e) Vi khuẩn gây thối: là các vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp protease ngoại bào trong môi trường sữa. Protease sẽ xúc tác quá trình thủy phân protein tạo ra các sản phẩm polypeptide, peptide và acid amin. Một số acid amin tiếp tục bị phân giải tạo NH_3, H_2S,... làm cho sữa có mùi khó chịu.

Vài giống vi khuẩn gây thối có khả năng sinh tổng hợp lipase ngoại bào. Enzyme này xúc tác quá trình thủy phân các chất béo trong sữa và tạo ra nhiều sản phẩm có mùi ôi. Các giống vi khuẩn gây thối thường gặp trong sữa là: *Pseudomonas, Brevibacterium, Achromobacter, Alcaligenes, Bacillus, Micrococcus,...* Đáng chú ý là loài *Pseudomonas fluorescens.* Các enzyme protease và lipase được sinh tổng hợp bởi loài vi khuẩn này rất bền nhiệt. Chúng là nguyên nhân chính gây nên quá trình phân giải protein và lipid. Ngoài ra một số vi khuẩn gây thối còn tạo khí (CO_2, H_2,...) sinh tổng hợp các acid hữu cơ làm giảm pH sữa và gây đông tụ protein. Một số vi khuẩn khác có thể sinh tổng hợp được protease có chức năng xúc tác tương tự như chymosin làm xuất hiện sự đông tụ trong sữa.

2.1.2. Nấm men (yeasts)

Một số loại nấm men thường gặp trong sữa như: *Saccharomyces cerevisiae,*

Kluyveromyces marxianus, Debaromyces hansenii, Torulopsis lactis condensi,... Nhiều loại nấm men thuộc nhóm kỵ khí tùy tiện.

Một số nấm men có thể sử dụng đường lactose trong quá trình trao đổi chất. Chúng phát triển trong sữa và gây ra những biến đổi về thành phần hóa học trong quá trình bảo quản sữa.

2.1.3. Nấm sợi *(moulds)*

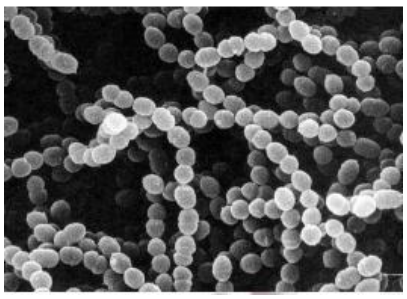
Một số loại nấm sợi thường nhiễm vào sữa, bao gồm: *Penicillium camembertii, P.roquefortii, P.casei, Geotrichum cadidum, Rhizopus stolonifer,...* Trong số các nấm sợi nói trên, vài loài thuộc giống *Penicillium* được sử dụng trong sản xuất một số loại phomat. Việc nhiễm nấm sợi vào sữa gây nhiều khó khăn trong công nghệ chế biến sữa, đặc biệt là trong sản xuất phomat và ảnh hưởng xấu đến chất lượng của sản phẩm.

Tuy nhiên, khác với nhóm vi khuẩn sinh bào tử chịu nhiệt, hầu hết các loại nấm men và nấm sợi đều bị tiêu diệt trong quá trình thanh trùng sữa ở 75^0C trong thời gian 10÷15 giây. Vấn đề quan trọng là phải tuân thủ nghiêm ngặt các quy định về vệ sinh để tránh hiện tượng tái nhiễm vi sinh vật vào sữa sau khi đã thanh trùng.

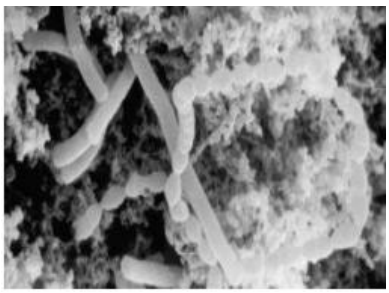
2.2. Vi sinh vật lên men sữa

Để sản xuất các sản phẩm sữa lên men, người ta cấy các chủng VSV khác nhau vào sữa, kết quả là chuyển hóa lactose thành acid lactic, CO_2, acid acetic, diacetyl, acetaldehyt và các hợp chất bay hơi khác, tạo cho sản phẩm có mùi vị đặc trưng. Một số sản phẩm như kefir, kumis còn chứa một lượng nhỏ ethanol. Quá trình lên men chuyển lactose thành acid lactic có tác dụng bảo quản sữa rất tốt, bởi lẽ pH thấp khống chế sự phát triển của vi khuẩn gây thối và các vi khuẩn có hại khác.

Hệ VSV dùng để lên men sữa đã được biết đến từ khá lâu. Chủng VSV có thể chỉ bao gồm một loài hoặc hỗn hợp của nhiều loài. Một số loài như *Streptococcus lactic, S.cremoric, S.thermophilus* chỉ có tác dụng lên men lactose và tạo ra acid lactic. Một số khác như *S.diacetyllactic, Leuconostoc citrovorum* lại có khả năng tạo chất thơm. Hình ảnh một số VSV trong lên men sữa được mô tả ở hình 5.4.

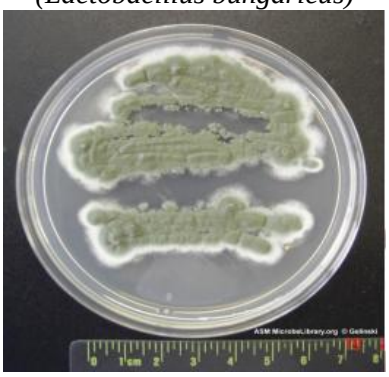


(Streptococcus thermophilus)



(Lactobacillus bungaricus)

(Lactococcus lactis)



(Pennicillium roqueforti)

Hình 5.4. Hình ảnh một số VSV sử dung trong lên men sữa

Việc sử dụng loại vi khuẩn nào, với tỷ lệ bao nhiêu để cho kết quả tốt nhất là mối quan tâm của các nhà sản xuất. Trên thị trường có rất nhiều loại chủng khác nhau về thành phần vi khuẩn, tỷ lệ giữa chúng, trạng thái. Tùy theo nhu cầu và điều kiện sản xuất mà người ta chọn phương án thích hợp nhất. Một số VSV sử dụng trong lên men sữa được trình bày ở bảng 5.13.

Bảng 5.13. Vi sinh vật sử dụng trong sản xuất các sản phẩm lên men từ sữa (Oberman H. và Libudzisz.Z, 1998)

Giống VSV	*Loại*	*Giống VSV*	*Loại*
Vi khuẩn		**Vi khuẩn**	
Lactobacillus	*L.delbrueckii*	*Streptococcus*	*S.thermophilus*
	L.delbrueckii ssp lactis	*Pediococcus*	*P.pentosaceus,*
	L.delbrueckii ssp bulgaricus		*P.acidilactis*
	L.helveticus	*Acetobacter*	*A.aceti*
	L.acidophilus	**Nấm men**	
	L.casei	*Kluyveromyces*	*K.marxianus ssp*
	L.kefir		*marxianus*
Lactococcus	*L.lactis ssp lactis*		*K. marxianus ssp*
	L.lactis ssp lactis var		*bulgaricus*
	Diacetylatis		*K.lactis*
	L.lactis ssp cremoris	*Candida*	*C.kefir*
Leuconostoc	*L.mesenteroides*	*Saccharomyces*	*S.cerevisiae*
	L.mesenteroides ssp		*S.lactis*
	Dextranicum	*Torulaspora*	*T.delbrueckii*
	L. mesenteroides ssp	**Nấm sợi**	
	Cremoris	*Geotrichum*	*G.candidum*

Vi khuẩn lactic là loại đặc trưng trong chế biến sữa, chúng bao gồm cả bacilli và cocci. Đa số vi khuẩn này bị tiêu diệt ở 70^0C, một số thì chỉ bị tiêu diệt ở 80^0C.

Khả năng lên men của các loài vi khuẩn khác nhau là không giống nhau. Phần lớn các vi khuẩn lactic có khả năng tạo thành từ 0,5÷1,5% acid lactic, một số loài có thể tạo ra nhiều hơn (tới 3,0%). Để phát triển các vi khuẩn lactic cần nguồn nitơ hữu cơ. Chúng sử dụng nguồn này từ quá trình chuyển hóa casein do tác dụng của các protease. Khả năng thủy phân casein phụ thuộc vào từng loại. Trong số các vi khuẩn lactic có *Streptococcus diacetylactic* và *Lactococcus citrovorum* có thể lên men lactic đến cacbon dioxyt và diacetyl. Cacbon dioxyt do vi khuẩn tạo thành từ quá trình lên men acid citric và lactose được tập trung ở những khoảng trống trong phomat, tạo thành các lỗ rỗng. Cacbon dioxyt tạo mùi rất đặc trưng cho chủng đầu, chủng sử dụng và sản phẩm lên men. Diacetyl tạo thành từ lên men acid citric làm tăng mùi rất đặc trưng của chủng men cái, các sản phẩm sữa lên men và bơ. *Lactobacillus helveticus* và *Bacillus* rất quan trọng trong quá trình chín của phomat Emmenthal.

3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT SỮA CHUA YOGHURT

3.1. Giới thiệu chung

Sữa chua yoghurt là sản phẩm sữa chua được biết nhiều nhất và cũng là sản phẩm phổ biến trên khắp thế giới. Sữa chua yoghurt bắt nguồn từ Bugari với tên gọi là yaourt, ở nhiều nước khác có tên gọi riêng cho yoghurt. Trạng thái, mùi vị của sữa chua yoghurt có khác nhau ở vùng này so với vùng khác. Đặc biệt là độ đặc hoặc loãng phụ thuộc vào thị hiếu của mỗi nước.

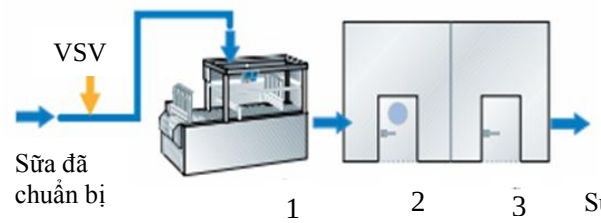
Ở Việt Nam, sản phẩm sữa chua lên men yoghurt rất đa dạng, phổ biến có các loại như sữa chua đặc, sữa chua uống, sữa chua có bổ sung thêm calcium, chất xơ, …

3.2. Phân loại sữa chua yoghurt

Trên thị trường hiện nay, sản phẩm yoghurt rất đa dạng về chủng loại, dựa vào quy trình công nghệ và đặc tính của sản phẩm có thể phân loại như sau:

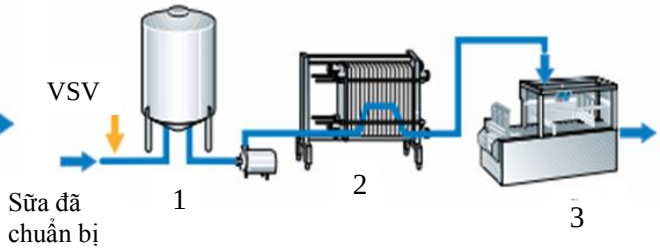
- *Yoghurt truyền thống (set type)*: là sản phẩm có cấu trúc gel mịn, dạng khối đông đồng nhất. Trong quy trình sản xuất, sữa nguyên liệu sau khi được xử lý, cấy giống rồi được rót vào bao bì. Quá trình lên men diễn ra trong bao bì làm xuất hiện khối đông và tạo cấu trúc đặc trưng cho sản phẩm (hình 5.5).

- *Yoghurt dạng khuấy (stirred type)*: không có cấu trúc gel mịn và đồng nhất, khối đông xuất hiện trong sản phẩm sau quá trình lên men bị phá hủy do sự khuấy trộn cơ học. Trong quy trình sản xuất, sữa nguyên liệu sau khi được xử lý, cấy giống rồi lên men trong thiết bị chuyên dùng, tiếp theo là quá trình làm lạnh và rót sản phẩm vào bao bì (hình 5.6).



Hình 5.5. Yoghurt truyền thống

1. Rót hộp; 2. Lên men; 3. Làm lạnh nhanh

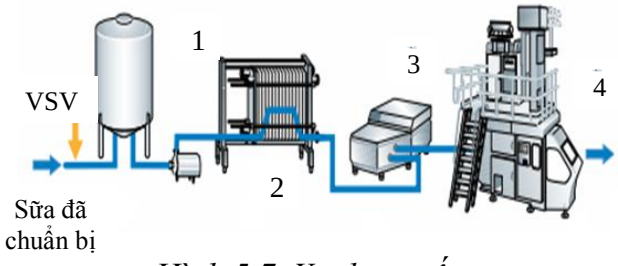


Hình 5.6. Yoghurt dạng khuấy

1. Lên men; 2. Làm lạnh; 3. Rót hộp

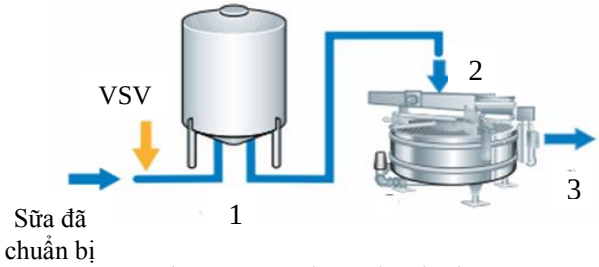
- *Yoghurt uống (drink type)*: khối đông xuất hiện trong sản phẩm sau quá trình lên men bị phá hủy hoàn toàn. Sản phẩm có dạng lỏng. Sau quá trình lên men, người ta sử dụng phương pháp khuấy trộn hoặc phương pháp đồng hóa để phá hủy cấu trúc gel của khối đông và làm giảm độ nhớt cho sản phẩm (hình 5.7).

- *Yoghurt lạnh đông (frozen yoghurt)*: có dạng tương tự như kem. Quá trình lên men sữa được thực hiện trong thiết bị chuyên dùng, hỗn hợp sau lên men được đem đi xử lý và lạnh đông để làm tăng độ cứng cho sản phẩm rồi bao gói (hình 5.8).



Hình 5.7. Yoghurt uống

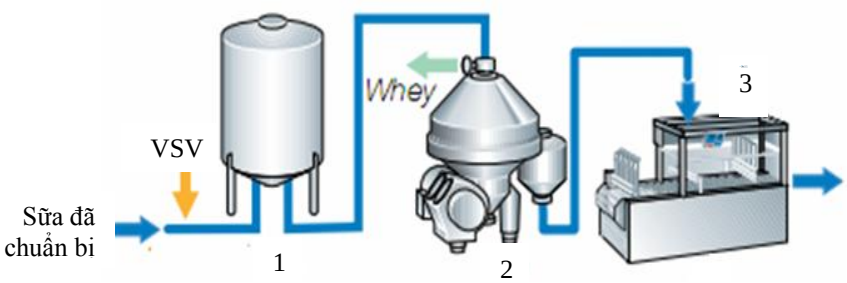
1. Lên men; 2. làm lạnh; 3. Đồng hóa; 4. Rót hộp



Hình 5.8. Yoghurt lạnh đông

1. Lên men; 2. Làm lạnh đông; 3. Tạo hình

- *Yoghurt cô đặc (concentrated yoghurt)*: quy trình sản xuất bao gồm các giai đoạn quan trọng như lên men sữa, cô đặc, làm lạnh và bao gói sản phẩm. Trong quá trình cô đặc, tách bớt huyết thanh sữa ra khỏi sản phẩm rồi làm lạnh (hình 5.9).



Hình 5.9. Yoghurt cô đặc

1. Lên men; 2. Tách nước sữa; 3. Rót hộp

Theo tổ chức y tế thế giới WHO và tổ chức Nông lương FAO, sản phẩm yoghurt có thể chia thành ba nhóm sau:

- *Yoghurt béo:* hàm lượng chất béo trong sản phẩm không thấp hơn 3%
- *Yoghurt "bán gầy":* hàm lượng chất béo trong sản phẩm khoảng 0,5÷3%
- *Yoghurt gầy*: hàm lượng chất béo trong sản phẩm không lớn hơn 0,5%

Sau quá trình lên men, yoghurt có chứa sinh khối vi khuẩn lactic và một số enzyme ngoại bào do chúng tiết ra. Do đó, sản phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ thấp ($2\div4^0$C) để hạn chế những biến đổi bất lợi có thể làm thay đổi mùi, vị và các chỉ tiêu chất lượng khác của yoghurt. Các vi khuẩn lactic có trong yoghurt rất có lợi cho quá trình tiêu hóa thức ăn ở cơ thể người. Ngoài các giá trị dinh dưỡng thông thường, một số nhà khoa học đã cho rằng sữa lên men yoghurt còn có chức năng làm chậm quá trình lão hóa và kéo dài tuổi thọ cho người sử dụng.

Để kéo dài thời gian bảo quản và giảm chi phí trong việc vận chuyển, bảo quản sản phẩm, người ta có thể sử dụng quá trình thanh trùng hoặc tiệt trùng UHT trong quy trình công nghệ sản xuất một số dạng yoghurt. Khi đó, nhóm vi khuẩn lactic và các VSV nhiễm vào sản phẩm sẽ bị tiêu diệt hoặc ức chế. Yoghurt uống dạng lỏng qua xử lý tiệt trùng UHT có thể bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Tuy nhiên một số quốc gia hiện nay không cho phép sử dụng nhiệt độ cao để tiêu diệt hoặc ức chế nhóm vi khuẩn lactic trong sản phẩm nhằm giữ lại những giá trị cho sản phẩm yoghurt và những lợi ích do nhóm vi khuẩn lactic mang đến cho người sử dụng.

3.3. Nguyên liệu trong sản xuất yoghurt

Yoghurt có thể được sản xuất từ sữa tươi, sữa bột, sữa cô đặc, sữa hoàn nguyên hoặc sữa tái chế. Sữa tươi sử dụng trong sản xuất yoghurt phải có chất lượng tốt, các yêu cầu quan trọng cho nguyên liệu sữa tươi như sau:

- Tổng số tế bào VSV trong sữa càng thấp càng tốt
- Không chứa thể thực khuẩn
- Không chứa kháng sinh
- Không chứa các enzyme
- Không chứa dư lượng hóa chất có nguồn gốc từ quá trình tẩy rửa và vệ sinh dụng cụ hoặc thiết bị đựng sữa

Hàm lượng chất béo trong sữa sẽ được hiệu chỉnh trong quá trình chuẩn hóa để

phù hợp theo yêu cầu của sản phẩm. Hàm lượng chất khô không thấp hơn 8,2% (theo quy định của WHO/FAO). Khi tăng hàm lượng chất khô trong sữa nguyên liệu, đặc biệt là tăng hàm lượng casein và protein huyết thanh sữa sẽ làm cho cấu trúc khối đông trở nên bền và ổn định hơn, tránh được hiện tượng tách huyết thanh trong sản phẩm yoghurt truyền thống.

Để tăng vị ngọt cho yoghurt, người ta bổ sung đường (glucose, saccharose…) vào sữa trong quá trình chế biến. Đường có thể được bổ sung trực tiếp hoặc dưới dạng puree trái cây đối với những sản phẩm dành cho người ăn kiêng, các nhà sản xuất sử dụng chất tạo ngọt, thông dụng nhất là aspartame.

Trái cây các loại như thơm, dâu, sơri, táo…được bổ sung vào yoghurt thường dưới dạng puree. Có hai dạng puree: puree tự nhiên (không có bổ sung thêm đường) và puree có bổ sung thêm đường. Hàm lượng đường trong puree thường chiếm 50 ÷ 55%.

Một số sản phẩm yoghurt còn được bổ sung thêm hương liệu và chất màu trong qua trình sản xuất. Tuỳ theo tình hình của mỗi quốc gia mà danh mục các phụ gia nguyên liệu và màu được phép sử dụng trong chế biến thực phẩm với liều lượng tối đa quy định có thể sẽ khác nhau.

Đối với một số sản phẩm, người ta có sử dụng chất ổn định để yoghurt có được cấu trúc, độ nhớt… theo yêu cầu. Các chất ổn định thường sử dụng là gelatin, pectin, agar-agar… chúng là những chất ưa nước và có thể liên kết với nước. Loại chất ổn định và hàm lượng sử dụng tối ưu cho từng sản phẩm sẽ được xác định bằng phương pháp thực nghiệm.

3.4. Quy trình công nghệ sản xuất sữa chua yoghurt

3.4.1. Sơ đồ quy trình tổng quát sản xuất sữa chua yoghurt

Quy trình công nghệ sản xuất yoghurt thay đổi phụ thuộc vào dạng sản phẩm và mức giá trị các chỉ tiêu chất lượng cần đạt , khái quát về sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất một số dạng yoghurt được trình bày trong hình 5.10.

3.4.2. Thuyết minh quy trình công nghệ

a) Chuẩn hóa

Mục đích: là hiệu chỉnh hàm lượng chất béo của nguyên liệu , để đảm bảo hàm lượng chất béo cho sản phẩm yoghurt, thường hàm lượng chất béo trong sản phẩm yoghurt dao động trong khoảng 0.5÷3.5%.

Nguyên tắc chuẩn hóa:

- Đối với nguyên liệu có hàm lượng chất béo thấp ta bổ sung cream. Phương pháp tính tỷ lệ phối trộn như sau:

Gọi : - M (kg) là khối lượng sữa với hàm lượng chất béo C % cần phối trộn (A>C>B);

- M_1 (kg) là khối lượng cream với hàm lượng chất béo A%;
- M_2 (kg) là khối lượng sữa với hàm lượng chất béo B%.

Ta có:

$$M_1 = \frac{M(C-B)}{A-B}, \quad (5.3); \qquad M_2 = \frac{M(A-C)}{A-B}, \quad (5.4); \qquad M = M_1 + M_2 \quad (5.5).$$

Ví dụ: cream có hàm lượng chất béo 40%, sữa nguyên liệu có hàm lượng chất béo 3%. Cần phối trộn cream và sữa nguyên liệu theo tỷ lệ bao nhiêu để có được

100kg sữa với hàm lượng chất béo 3,5%?

Ta có: M = 100kg; A = 40%; B = 3%; C = 3,5%

Thay các giá trị trên vào công thức (5.3) và (5.4), ta được:

$$M_1 = \frac{M(C-B)}{A-B} = \frac{100(3{,}5-3)}{40-3} = 1{,}35\ kg$$

$$M_2 = \frac{M(A-C)}{A-B} = \frac{100(40-3{,}5)}{40-3} = 98{,}56\ kg$$

Vậy ta cần bổ sung 1,35 kg cream 40% chất béo vào 98,56 kg sữa 3% chất béo để thu được 100kg sữa với hàm lượng chất béo 3,5%.

- Trường hợp sữa nguyên liệu có hàm lượng chất béo cao, ta có thể bổ sung sữa gầy hoặc sử dụng quá trình ly tâm để tách bớt chất béo khỏi sữa. Trong các dây chuyền sản xuất hiện đại, quá trình tách và hiệu chỉnh lượng chất béo trong sữa được thực hiện hoàn toàn tự động. Đầu tiên, sữa giàu béo sẽ được bơm vào máy ly tâm hoạt động liên tục, khi đó hai sản phẩm là sữa gầy và cream được thoát ra. Hàm lượng chất béo trong hai sản phẩm này phụ thuộc vào chế độ hoạt động của máy ly tâm. Tiếp theo, một phần cream sẽ được phối trộn trở lại với sữa gầy để hàm lượng chất béo trong hỗn hợp đạt đúng giá trị yêu cầu. Phần cream dư sẽ đưa đi xử lý tiếp để hoàn thiện sản phẩm cream.

b) Hiệu chỉnh hàm lượng chất khô

Theo Bourgeois và Larpent (1989), tổng lượng chất khô tối ưu cho quá trình lên men trong sản xuất yoghurt là từ 14÷16%. Thực tế, mỗi nhà sản xuất sẽ chọn một giá trị thích hợp cho sản phẩm của mình. Thông thường, sữa tươi có hàm lượng chất khô khoảng 11,5÷12,7%. Để tăng hàm lượng chất khô trong sữa tươi, chuẩn bị cho quá trình lên men, ta có thể chọn một trong những giải pháp thông dụng dưới đây:

- Cô đặc sữa trong điều kiện chân không để làm bay hơi đi một lượng nước nhất định. Thể tích sữa sau quá trình cô đặc thường giảm từ 10÷20%. Khi đó, tổng lượng chất khô trong sữa sẽ tăng từ 1,5÷3,0%.

- Bổ sung thêm bột sữa gầy vào sữa tươi, hàm lượng bột sữa gầy sử dụng thường không cao hơn 3% so với khối lượng sữa tươi.

- Bổ sung thêm sữa cô đặc vào sữa tươi.

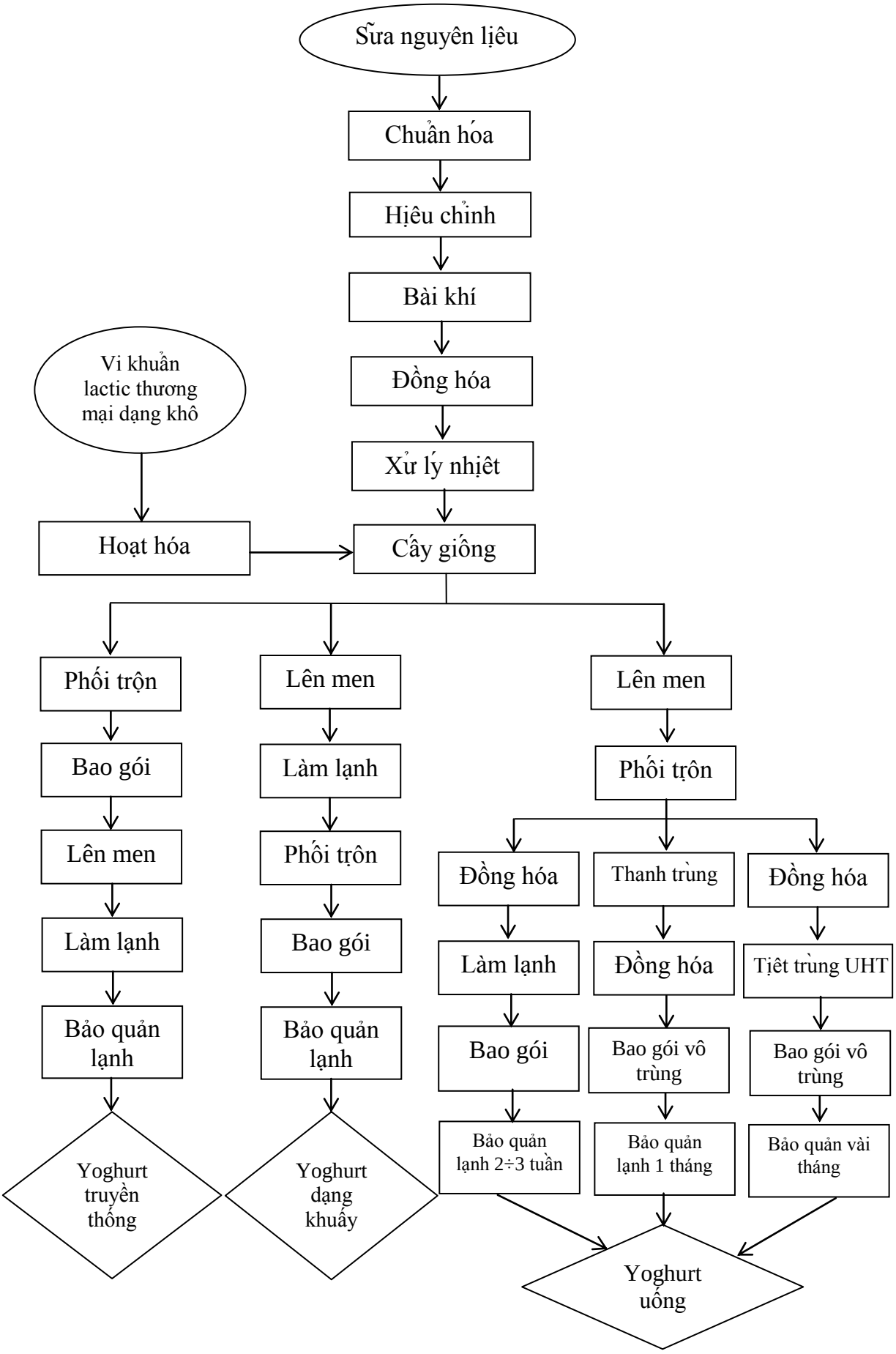
- Xử lý sữa gầy bằng phương pháp siêu lọc trên thiết bị màng lọc (membrane). Dòng sản phẩm không qua màng thoát ra từ thiết bị siêu lọc có hàm lượng chất khô cao sẽ được sử dụng để bổ sung vào sữa tươi.

Tùy thuộc vào nguồn nguyên liệu và thiết bị sẵn có mà mỗi nhà máy sẽ chọn một giải pháp thích hợp cho việc hiệu chỉnh tổng hàm lượng chất khô trong nguyên liệu sữa tươi.

c) Bài khí

Hàm lượng chất khí hòa tan trong sữa nguyên liệu càng thấp càng tốt. Khi đó, hiệu quả của các quá trình đồng hóa và thanh trùng sẽ tăng, các hợp chất bay hơi có mùi khó chịu trong sữa sẽ được tách bỏ và chất lượng sản phẩm yoghurt sẽ tốt hơn.

Nếu các nhà máy bổ sung bột sữa gầy vào sữa tươi để hiệu chỉnh hàm lượng chất khô, sự khuấy trộn hỗn hợp sẽ làm gia tăng lượng khí hòa tan trong sữa. Khi đó, trong quy trình sản xuất bắt buộc phải có quá trình bài khí.



Hình 5.10. Quy trình công nghệ tổng quát sản xuất yoghurt

d) Đồng hóa

Mục đích của quá trình đồng hóa là giảm kích thước các cầu mỡ, phân bố chúng đồng đều, tránh hiện tượng nổi lên của các cầu mỡ, nhằm tránh hiện tượng tách pha của chất béo xảy ra tr ong quá trình lên men sữa, làm tăng độ đồng nhất cho sản phẩm. Đồng thời cải thiện trạng thái của yoghurt.

Thông thường, đồng hóa được thực hiện ở áp lực 200÷250bar, nhiệt độ sữa từ 60÷70^{0}C. Trong quy trình công nghệ sản xuất yoghurt có hàm lượng chất béo thấp, các nhà sản xuất không nên bỏ qua giai đoạn đồng hóa sữa nguyên liệu. Quá trình đồng hóa sẽ ảnh hưởng tốt đến cấu trúc micelle trong sữa và cải thiện cấu trúc gel của yoghurt thành phẩm.

e) Xử lý nhiệt

Mục đích của quá trình xử lý nhiệt là tiêu diệt hoặc ức chế đến mức tối đa hệ vi sinh vật và các enzyme có trong sữa, đặc biệt là các whey protein. Nhờ đó, trong quá trình lên men lactic, khối đông được hình thành với cấu trúc ổn định, hạn chế sự thoát huyết thanh ra khỏi cấu trúc gel khi bảo quản yoghurt.

Theo Bylumd Gosta (1995), đó là do β-lactoglobulin thành phần chính trong whey protein đã tương tác với casein κ trong cấu trúc micelle làm cải thiện cấu trúc khối đông của yoghurt.

Quá trình xử lý nhiệt thường được thực hiện trong thiết bị trao đổi nhiệt dạng bản mỏng hoặc ống lồng. Chế độ xử lý là 90÷95^{0}C trong 3÷5 phút.

f) Cấy giống vi sinh vật và chuẩn bị lên men

** Chuẩn bị chủng vi sinh vật*

Trong sản xuất yoghurt, người ta sử dụng nhóm vi khuẩn lactic lên men đồng hình. Hai loại phổ biến nhất là *Streptococcus thermophilus* và *Lactobaccillus bulbaricus*. Trong thực tế, chúng có thể sống cộng sinh với nhau. Thông thường tỷ lệ giữa cầu khuẩn và trực khuẩn trong canh trường giống là 1/1 hoặc 2/1. Tuy nhiên, tỷ lệ này có thể thay đổi phụ thuộc vào hoạt tính của chủng sử dụng và những yêu cầu về chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm. Khi dùng chủng bột thương mại người ta cấy chuyền tiếp một vài lần để tăng hoạt tính của chủng và rút ngắn thời gian lên men trong sản xuất. Thông thường, từ chủng bột sẽ cấy lần 1 (chủng đầu) rồi cấy tiếp lần 2 (chủng thứ hay chủng trung gian) và cấy lần 3 (chủng sử dụng). Thời gian cấy lần lượt là 8÷10 giờ, 6÷8 giờ và lần 3 khoảng 3÷4 giờ.

Chuẩn bị chủng là một khâu rất quan trọng, quyết định chất lượng của các sản phẩm sữa lên men. Yêu cầu phải tuân thủ một cách nghiêm ngặt các bước và thực hiện trong điều kiện vô trùng.

Quy trình chuẩn bị men giống được thực hiện theo các bước sau: Sữa tươi (hoặc sữa bột hoàn nguyên) → Xử lý nhiệt, làm nguội đến nhiệt độ lên men → Cấy giống → Lên men → Làm lạnh → Bảo quản.

Sữa dùng làm môi trường phải có chất lượng cao, tổng số vi khuẩn thấp, không có chất kháng sinh, không có chất tẩy rửa. Thanh trùng ở nhiệt độ 90÷95^{0}C trong thời gian 15÷30 phút, nhằm tiêu diệt hoàn toàn, loại trừ các chất kìm hãm, biến tính protein, loại bỏ oxy hòa tan. Sau khi thanh trùng, sữa được làm nguội đến nhiệt độ lên men 40÷45^{0}C

Để rút ngắn thời gian lên men và tiết kiệm lượng chế phẩm VSV cần dùng, các nhà máy sản xuất thường hoạt hóa giống trên môi trường được pha chế từ bột sữa gầy.

Hàm lượng chất khô trong môi trường hoạt hóa dao động từ 9÷12%. Trước khi hoạt hóa giống, môi trường cần phải được thanh trùng ở 90÷95^{0}C trong thời gian 30÷40 phút. Nhiệt độ hoạt hóa được duy trì ở 43^{0}C. Quá trình được xem là kết thúc khi độ chua canh trường đạt 85÷90^{0}D

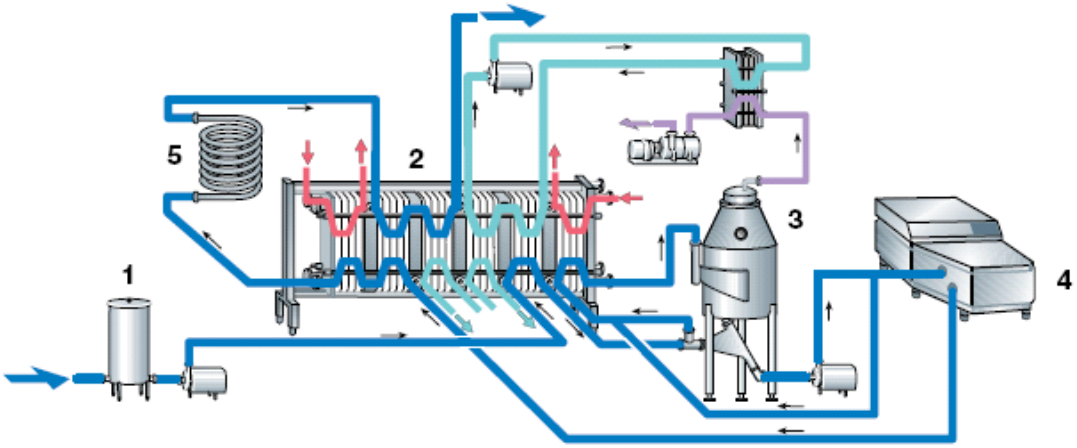
Giống vi khuẩn lac tic sau khi hoạt hóa, được cấy vào bồn chứa sữa nguyên liệu (trường hợp sản xuất yoghurt truyền thống) hoặc bồn lên men (trường hợp sản xuất yoghurt dạng khuấy hoặc yoghurt uống) với tỷ lệ tối thiểu là 0,5% và tối đa là 7% (v/v). Sau quá trình nhân giống hoặc hoạt hóa giống, nếu chưa sử dụng ngay, ta cần làm lạnh giống để hạn chế sự gia tăng độ chua của canh trường. Việc tăng nhanh độ chua của canh trường giống sẽ ức chế hoạt tính lên men của vi khuẩn lactic. Trường hợp giống được sử dụng trong 6 giờ tiếp theo, ta chỉ cần làm lạnh canh trường về nhiệt độ 10÷12^{0}C. Nếu thời gian bảo quản giống dài hơn 6 giờ, nhiệt độ canh trường nên duy trì ở 5^{0}C. Cần chú ý là khi tiến hành cấy giống, ta nên cho cánh khuấy của thiết bị hoạt động trong khoảng thời gian nhất định để phân bố đều các tế bào vi khuẩn lactic trong môi trường sữa. Nhờ đó, quá trình lên men sẽ diễn ra nhanh và đồng đều hơn.

* *Bảo quản chủng vi sinh vật*

Trong trường hợp chủng ở dạng bột (được sấy theo phương pháp thăng hoa) thì có thể bảo quản được khá lâu. Nhược điểm là phải hoạt hóa rồi mới sử dụng.

Gần đây, xu hướng dùng chủng concentrat lạnh đông (frozen concentrate) như chủng thứ (chủng trung gian) hoặc cấy trực tiếp vào sữa khá phổ biến. Ưu điểm cơ bản của chủng lạnh đông này là rất an toàn, thuận tiện và kinh tế (cứ 70ml chủng concentrat đủ làm men cho 500 lít men giống). Khi bảo quản chủng VSV cần đảm bảo đúng số lượng, nhiệt độ. Lượng chủng VSV còn phụ thuộc vào tỷ lệ giữa vi khuẩn tạo acid lactic và vi khuẩn tạo hương vị. Tỷ lệ này sẽ ảnh hưởng tới mùi vị của sản phẩm.

* *Chuẩn bị sữa trước khi lên men* (hình 5.11)



Hình 5.11. Sơ đồ mô hình thiết bị chuẩn bị sữa trước khi lên men

1. Thùng cân bằng; 2. Thiết bị trao đổi nhiệt; 3.Thiết bị bốc hơi chân không; 4.Thiết bị đồng hóa; 5. Thiết bị lưu nhiệt

Từ thùng cân bằng 1, sữa được bơm vào ngăn hoàn nhiệt thứ nhất của thiết bị trao đổi nhiệt 2, nâng nhiệt độ của sữa lên 70^{0}C và sau đó lên 90^{0}C ở ngăn hoàn nhiệt thứ 2. Sữa nóng được đưa qua thiết bị bốc hơi chân không 3 để giảm 10÷20% lượng nước, tức là tăng hàm lượng chất khô lên từ 1,5÷3,0%. Người ta có thể điều chỉnh hàm lượng nước bốc hơi bằng cách thay đổi nhiệt độ của sữa, tốc độ tuần hoàn trong thiết bị bốc hơi cũng như độ chân không của nó.

Người ta có thể tận dụng nước loại ra từ sữa để nâng nhiệt độ của sữa nguyên liệu vào. Từ thiết bị bốc hơi chân không , sữa được đưa vào thiết bị đồng hóa 4 với áp suất 200÷250bar. Sữa đã đồng hóa quay trở lại thiết bị trao đổi nhiệt 2 để thanh trùng ở 90÷95^{0}C và giữ ở thiết bị lưu nhiệt 5 với thời gian 3÷5 phút. Tiếp đó sữa được làm nguội bằng nước lạnh đến nhiệt độ lên men thích hợp.

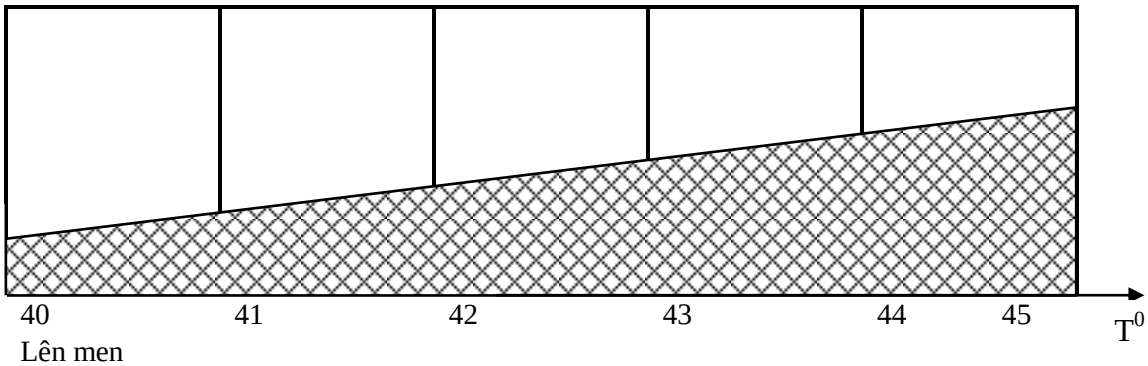
g) Lên men

Thời gian lên men phụ thu ộc vào nhiều yếu tố như loại vi khuẩn , lượng chủng VSV,... có thể kéo dài khoảng từ 3÷20 giờ. Điều quan trọng nhất là giữ nhiệt độ đúng và ổn định . Trong quá trình lên men , vi khuẩn phát triển rất nhanh và sẽ lên men lactose thành acid lactic . Các vi khuẩn tạo chất thơm sẽ cho các sản phẩm như diacetyl, acid acetic, propionic, aldehyt, ethanol, este, CO_2... Nhiệt độ lên men của một sản phẩm là nhiệt độ thích hợp nhất cho loài vi khuẩn nào đó phát triển. Khi chủng là hỗn hợp các vi khuẩn thì nhiệt độ thích hợp phụ thuộc vào tỷ lệ giữa các loại vi khuẩn đó. Hình 5.12 minh họa cho việc chọn nhiệt độ lên men tối ưu của sữa chua.

Chủng để sản xuất yoghurt gồm *Streptococcus thermophilus* và *Lactobaccillus bulbaricus*. Kinh nghiệm cho thấy sữa chua sẽ đạt tiêu chuẩn tốt nhất (pH, mùi vị, hương thơm) khi tỷ lệ cocci /bacilli là 1/1 hoặc 2/1. Khi tỷ lệ bacilli cao hơn cocci sẽ dẫn tới sữa chua có mùi chua do độ acid quá cao.

Nhìn vào hình 5.12 ta thấy ở 40^{0}C tỷ lệ cocci/bacilli = 4/1 trong khi ở ở 45^{0}C thì tỷ lệ đó là 1/2. Nhiệt độ tối ưu để lên men sữa chua là 42÷43^{0}C.

Khi kết thúc quá trình lên men , chủng sữa chua được làm lạnh ngay xuống 5^{0}C và bảo quản đến khi sử dụng.



Hình 5.12. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến tỷ lệ cocci/baccilli trong điều kiện tỷ lệ chủng và thời gian lên men không thay đổi

Lactobaccillus bulbaricus *Streptococcus thermophilus*

k) Làm lạnh, ủ chín và bảo quản

Sau khi đông tụ, yoghurt được làm lạnh và ủ chín ở 4÷6^{0}C ít nhất là 6 giờ. Đây là giai đoạn rất quan trọng để tạo cho sản phẩm có mùi, vị và trạng thái cần thiết. Chỉ sau khi kết thúc quá trình này người ta mới có được sữa chua thành phẩm . Tùy từng loại yoghurt, sản phẩm sau khi lên men có thể là sản phẩm cuối cùng (yoghurt truyền thống) nhưng cũng có thể được tiếp tục chế biến qua một số công đoạn tiếp theo (yoghurt khuấy, yoghurt uống,...). Sữa chua được bảo quản ở 4÷6^{0}C với thời gian thích hợp cho từng loại.

Theo TCVN 7030, sản phẩm yoghurt sau khi bao gói trong bao bì chuyên dùng cho thực phẩm, được bảo quản như sau:

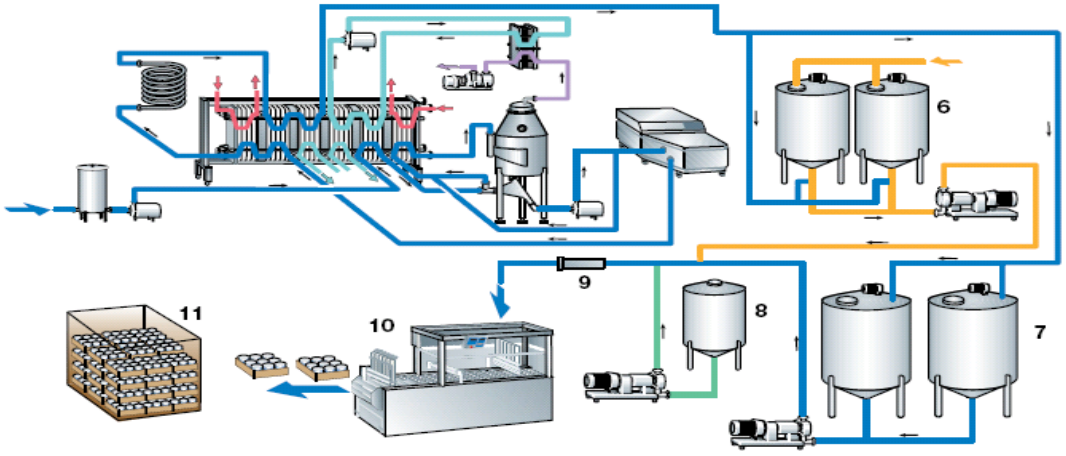
- Đối với sản phẩm yoghurt đã qua xử lý nhiệt: bảo quản nơi khô, sạch, thoáng mát, ở nhiệt độ thường, thời gian bảo quản không quá 04 tháng tính từ ngày sản xuất;

- Đối với sản phẩm yoghurt không qua xử lý nhiệt: bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ nhỏ hơn 10^0C, thời gian bảo quản không quá 30 ngày tính từ ngày sản xuất.

3.4.3. Sơ đồ dây chuyền sản xuất một số loại yoghurt

a) Sơ đồ dây chuyền sản xuất yoghurt truyền thống

Sau khi sữa được chuẩn bị để lên men như sơ đồ hình 5.11, đối với sản phẩm yoghurt dạng tĩnh được thực hiện theo sơ đồ mô hình thiết bị hình 5.13.



Hình 5.13. Sơ đồ mô hình thiết bị sản xuất yoghurt truyền thống

6. Thùng chứa; 7. Thùng trung gian; 8. Thùng chứa hương liệu; 9. Bộ phận trộn; 10. Thiết bị đóng gói; 11. Phòng lên men.

Sữa được bơm vào thùng trung gian 7, chủng VSV được chuẩn bị từ thùng 6 và hương liệu từ thùng 8 được phun trên đường ống cùng với sữa qua bộ phận phối trộn 9, môi trường sữa sẽ được đảo trộn đều và gia nhiệt lên đến 43÷45^{0}C rồi đưa qua thiết bị rót vào bao bì , đóng nắp 10. Các thiết bị đều làm việc trong điều kiện vô trùng để tránh nhiễm VSV từ môi trường bên ngoài vào sữa. Hiện nay, người ta thường sử dụng loại bao bì nhựa khối lượng sản phẩm 200g/1 bao bì cho loại yoghurt truyền thống.

Tiếp theo, các bao bì chứa hỗn hợp sữa và giống vi khuẩn lactic được đưa vào phòng lên men 11. Nhiệt độ lên men tối ưu thường là 42÷43^{0}C. Mặc dù sữa được đựng trong các bao bì kín nhưng phòng lên men phải luôn được vệ sinh sạch sẽ . Người ta sử dụng không khí vô trùng có qua hệ thống vi lọc membrane để thông khí cho phòng lên men.

Thời gian lên men phụ thuộc vào chủng vi khuẩn sử dụng , trạng thái sinh lý của giống và yêu cầu về độ chua của yoghurt thành phẩm . Trên môi trường sữa, thời gian thế hệ của *Streptococcus thermophilus* và *Lactobaccillus bulbaricus* khoảng 20÷30 phút. Thông thường, quá trình lên men kết thúc sau 2,5÷3,0 giờ. Độ chua yoghurt đạt 70÷80^{0}D.

Tiếp theo, ta cần làm lạnh môi trường lên men để ổn định cấu trúc gel của sản phẩm, đồng thời làm chậm tốc độ sinh tổng hợp acid lactic của vi khuẩn . Các bao bì chứa yoghurt sẽ được đưa vào phòng làm lạnh để đưa yoghurt về nhiệt độ 18÷20^{0}C trong vòng 30÷40 phút. Cuối cùng, ta hạ nhiệt độ yoghurt xuống 4^{0}C và bảo quản sản phẩm trong kho lạnh ở nhiệt độ 2÷4^{0}C. Nhiệt độ này có vai trò quan trọng trong việc ổn định cấu trúc gel của yoghurt , tránh hiện tượng tách huyết thanh sữa trong sản phẩm.

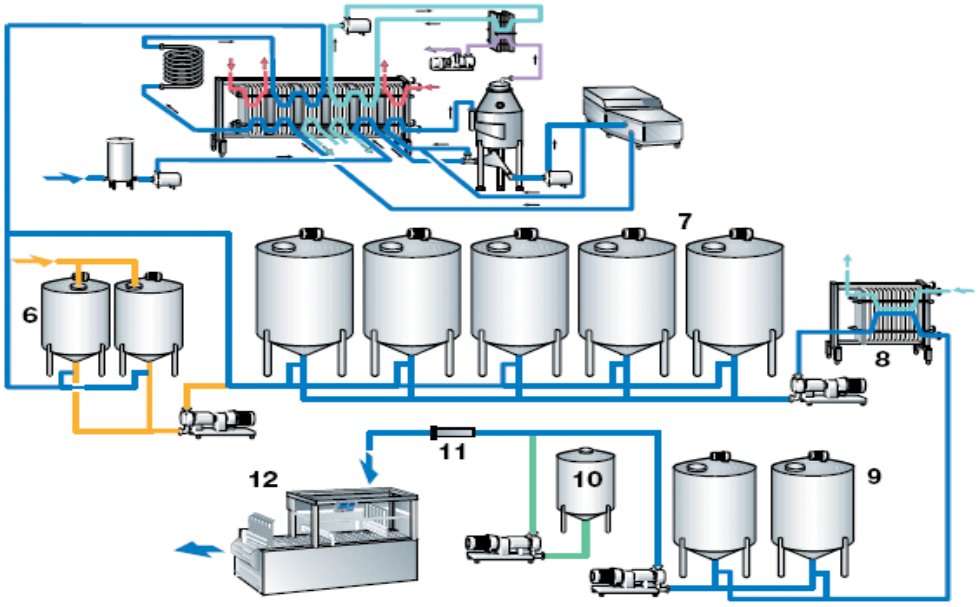
Ở các nhà máy sản xuất yoghurt truyền thống với năng suất lớn , người ta sử dụng dây chuyền thiết bị hoạt động liên tục . Sữa tươi đã cấy giống vi khuẩn được bơm vào máy rót, tiếp theo các bao bì chứa hỗn hợp sữa – giống vi khuẩn được đi qua máy đóng nắp rồi lên hệ thống băng tải đi vào phòng lên men . Thời gian lưu của chúng trong phòng lên men là 2,5÷3,5 giờ. Sau đó, các băng tải sẽ tiếp tục đưa chúng vào phòng làm lạnh để hạ nhiệt độ đạt giá trị yêu cầu rồi đi đến kho lạnh bảo quản.

Đối với sản phẩm yoghurt truyền thống có bổ sung hương liệu , trên hệ thống đường ống vận chuyển sữa từ bồn cấy đến máy rót vào bao bì và đóng nắp , người ta sẽ bổ sung phụ gia vào . Lượng phụ gia bổ sung được xác định bằng phương pháp thực nghiệm.

b) Sơ đồ dây chuyền sản xuất yoghurt dạng khuấy

Sau khi sữa được chuẩn bị để lên men như sơ đồ hình 5.11, đối với sản phẩm yoghurt dạng khuấy được thực hiện theo sơ đồ mô hình thiết bị hình 5.14.

Sữa được bơm vào thùng trung gian 7, chủng VSV được chuẩn bị từ thùng 6 được chuyển vào thùng 7. Sau khi được đảo trộn cho đồng đều , để yên cho tới khi sữa đông tụ hoàn toàn. Với lượng chủng là 3%, thời gian lên men thường kéo dài 2,5÷3,0 giờ, khi quá trình lên men kết thúc (pH canh trường giảm xuống còn 4,2÷4,6 tùy thuộc vào từng loại sản phẩm), cần thiết sữa được làm lạnh ngay xuống 20^0C nhờ thiết bị 8 để hạ nhiệt độ từ 43^0C xuống $15÷22^0$C. Tổng thời gian hạ nhiệt độ cho toàn bộ khối sản phẩm trong bồn lên men là 20÷30 phút. Tiếp theo, sản phẩm được đưa qua thùng tạm chứa chờ rót 9 rồi sau đó qua máy rót 12. Nếu là sữa hoa quả thì việc bổ sung mứt quả, hương liệu, chất màu, chất ổn định, … ở thùng 10 sẽ được bơm vào đường ống trộn với sữa ở bộ phận 11 trước khi vào máy rót 12. Để puree và các phụ gia khác phân bố đều trong toàn bộ khối sản phẩm , người ta phải tính tốc độ thích hợp cho hai bơm hoạt động: một bơm cho yoghurt và một bơm cho hỗn hợp puree và phụ gia.



Hình 5.14. Sơ đồ mô hình thiết bị sản xuất yoghurt dạng khuấy

6. Thùng chứa chủng VSV; 7. Thiết bị lên men; 8. Thiết bị làm lạnh; 9.Thùng trung gian; 10. Thùng chứa hương liệu (mứt quả); 11. Thiết bị trộn; 12. Thiết bị đóng gói

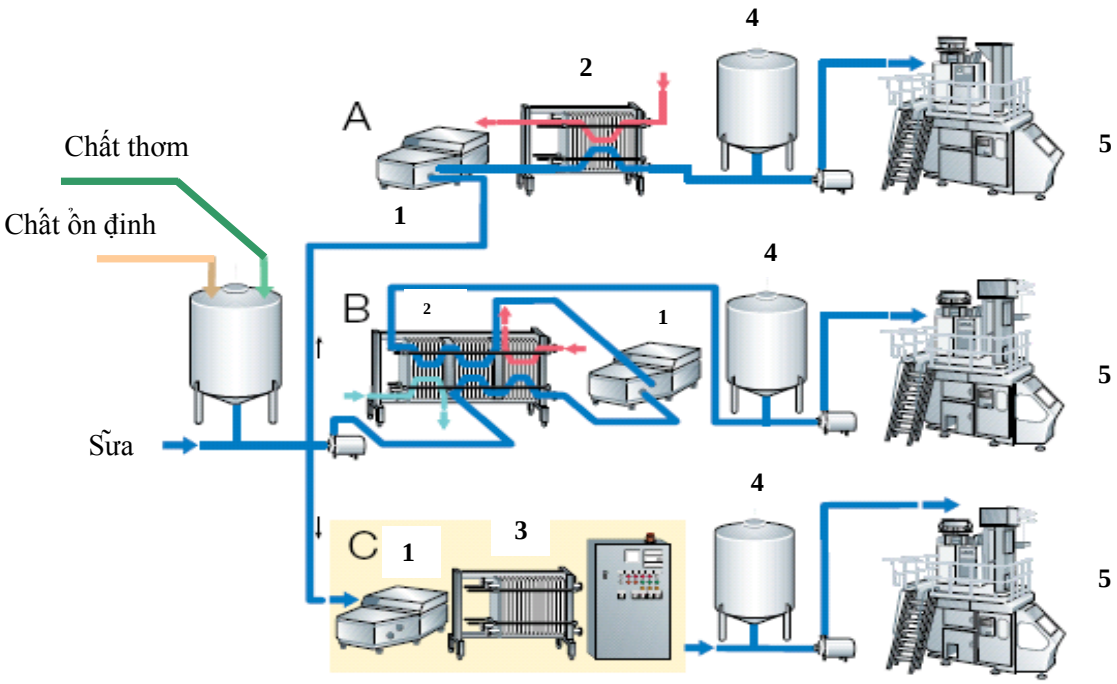
Điểm khác biệt cơ bản giữa yoghurt dạng khuấy so với yoghurt truyền thống là quá trình lên men được thực hiện trong thiết bị hình trụ dung tích lớn và có cánh

khuấy. Chính vì vậy mà yoghurt dạng khuấy không giữ được hoàn toàn cấu trúc gel của khối đông tụ được hình thành trong quá trình lên men lactic như sản phẩm yoghurt truyền thống. Cần chú ý là sản phẩm yoghurt dạng khuấy luôn được bổ sung thêm puree trái cây và một số phụ gia khác.

c) Sơ đồ dây chuyền sản xuất yoghurt uống

Quá trình lên men sản xuất yoghurt uống cũng được thực hiện trong thiết bị lên men tương tự yoghurt dạng khuấy. Khi kết thúc lên men, người ta tiến hành khuấy trộn để phá vỡ cấu trúc gel của khối đông rồi làm lạnh yoghurt về $18 \div 20^0C$, sau đó bơm vào bồn chứa tạm. Tiếp theo, ta bổ sung thêm đường, các phụ gia như hương liệu, chất màu… vào yoghurt rồi tiếp tục khuấy trộn hỗn hợp.

Yoghurt uống có thể bảo quản ở nhiệt độ thấp ($2 \div 4^0C$) hoặc ở nhiệt độ phòng, tương ứng với điều kiện bảo quản ta có các quy trình xử lý tiếp được trình bày trên sơ đồ hình 5.15.



Hình 5.15. Sơ đồ mô hình thiết bị sản xuất yoghurt dạng uống

1.Thiết bị đồng hóa; 2.Thiết bị trao đổi nhiệt; 3.Thiết bị tiệt trùng; 4.Thiết bị tạm chứa chờ rót; 5.Thiết bị rót.

- Quy trình 1(A): hỗn hợp yoghurt và các phụ gia được đưa vào thiết bị đồng hóa 1. Mục đích của quá trình đồng hóa là làm giảm kích thước hạt béo, phân bố đều chúng trong sản phẩm, phá vỡ cấu trúc gel của khối đông, giảm độ nhớt và tăng độ đồng nhất cho sản phẩm. Áp lực đồng hóa có thể thay đổi từ 50÷200 bar. Tiếp theo, sản phẩm được làm lạnh về 20^0C ở thiết bị 2, rồi đưa vào thùng chứa 4 sau đó sản phẩm được đưa đến thiết bị rót và đóng nắp 5. Thời gian bảo quản sản phẩm từ 2÷3 tuần ở nhiệt độ $2 \div 4^0C$.

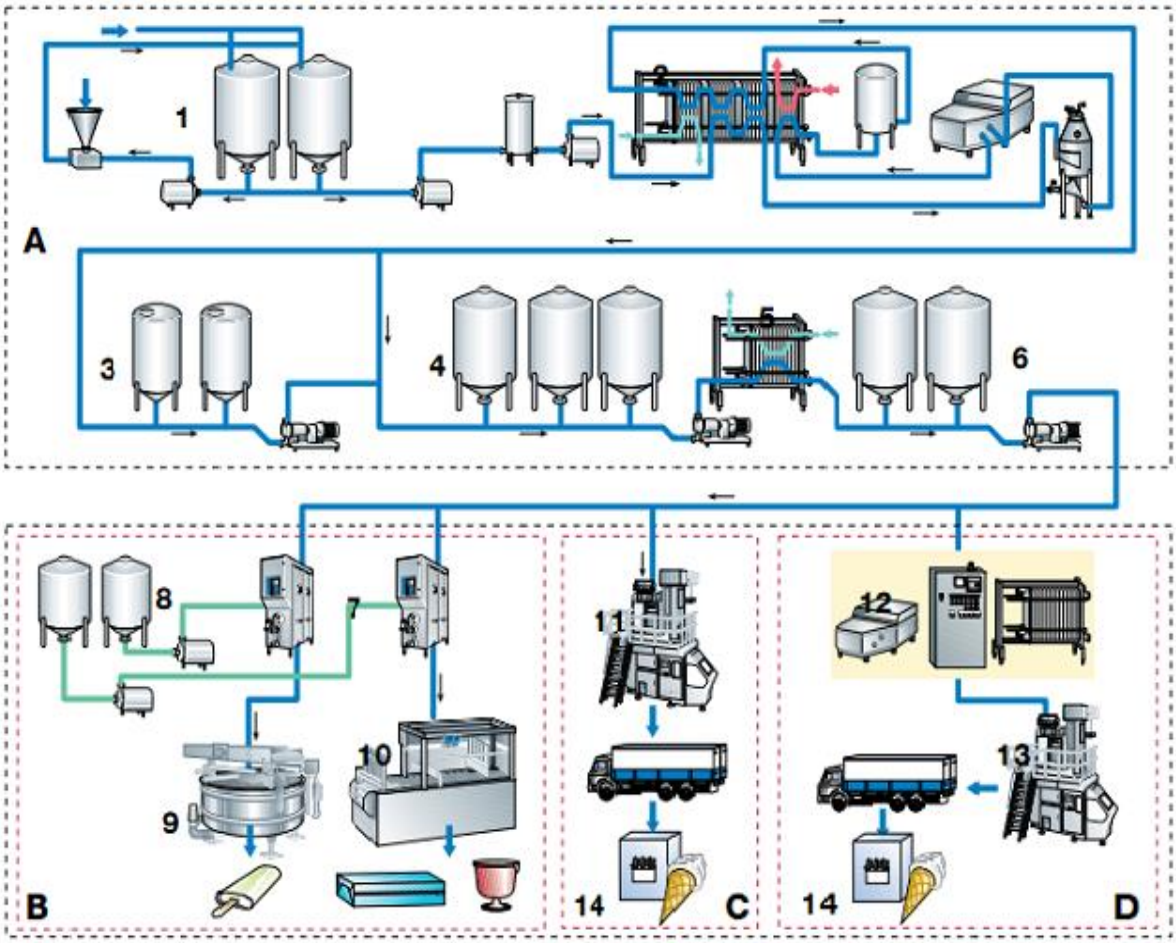
- Quy trình 2 (B): hỗn hợp yoghurt và các phụ gia được đưa vào thiết bị thanh trùng dạng bản mỏng hoặc ống lồng 2, rồi đi vào thiết bị đồng hóa vô trùng 1. Sau khi được làm nguội, sản phẩm được đưa vào chứa trong thùng chứa 4, rồi vào thiết bị rót và đóng nắp trong điều kiện vô trùng 5. Do quá trình thanh trùng không thể tiêu diệt được toàn bộ hệ vi khuẩn lactic trong yoghurt nên sản phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ thấp ($2 \div 4^0C$). Thời gian bảo quản có thể kéo dài đến 1÷2 tháng.

- Quy trình 3 (C): đối với nhóm sản phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng, người ta sử dụng phương pháp tiệt trùng UHT để tiêu diệt toàn bộ hệ VSV có trong sản phẩm. Quy trình xử lý như sau : hỗn hợp yoghurt và các phụ gia được bơm vào thiết bị đồng hóa 1, rồi vào thiết bị tiệt trùng UHT 3. Thông thường, người ta sử dụng phương pháp gia nhiệt gián tiếp trên thiết bị trao đổi nhiệt bản mỏng hoặc ống lồng. Trong điều kiện vệ sinh sản xuất tốt và sữa nguyên liệu đạt các chỉ tiêu về vi sinh. Sản phẩm chỉ chứa vi khuẩn lactic và không bị nhiễm các VSV khác. Ta có thể sử dụng chế độ tiệt trùng nhiệt độ thấp 110÷115^{0}C trong thời gian 5÷7 giây. Tiếp theo, yoghurt được làm nguội rồi đi thùng chứa 4, rồi vào thiết bị rót, đóng nắp sản phẩm 5. Khi đó người ta có thể bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ phòng, nơi thoáng mát, thời gian bảo quản từ 3÷6 tháng.

Hiện nay, các sản phẩm yoghurt uống trên thị trường thường được đựng trong các bao bì giấy.

d. Sơ đồ dây chuyền sản xuất yoghurt đông lạnh

Sữa chua đông lạnh có thể được sản xuất theo hai cách. Hoặc là sữa chua được trộn với kem hoặc chỉ trộn sữa chua đã được lên men, trước khi tiếp tục chế biến. Sữa chua đông lạnh có thể được chia thành loại mềm (*soft-served*) và loại đông lạnh cứng (*hard frozen*). Sơ đồ mô hình thiết bị sản xuất yoghurt đông lạnh được trình bày ở hình 5.16.



Hình 5.16. Sơ đồ mô hình thiết bị sản xuất yoghurt đông lạnh

A. Sản xuất yoghurt; B. Kem cứng; C. Kem mềm; D. Kem mềm UHT

1.Thiết bị trộn; 2.Thiết bị thanh trùng; 3.Thùng chứa; 4.Thiết bị lên men; 5.Thiết bị làm lạnh; 6. Thùng chứa bơ; 7.Máy làm lạnh đông; 8. Thùng chữa chất thơm; 9. Tủ đông; 10. Tạo hình; 11.Bao gói; 12. Tiệt trùng UHT; 13.Bao gói vô trùng; 14.Máy kem tại cửa hàng bán lẻ.

Nguyên liệu được trộn đều trong thùng chứa 1, sau đó đưa sang thiết bị thanh trùng 2, sau khi lên men, làm lạnh, sữa đã lên men được bổ sung thêm bơ, kem, sau đó có thể theo các quy trình:

- Quy trình sản xuất kem cứng (B): bổ sung thêm chất thơm, rồi đưa vào thiết bị làm lạnh đông 7, sau đó chứa trong tủ đông 9, có thể tạo hình đem đi tiêu thụ, giống như kem. Hoặc đưa vào máy tạo hình rót hộp 10, sau đó đưa đi tiêu thụ.

- Quy trình sản xuất kem mềm (C): đưa vào bao gói trong thiết bị 11, rồi vận chuyển tới các cửa hàng bán lẻ.

- Quy trình sản xuất kem mềm UHT: tiệt trùng UHT trong thiết bị 12, sau đó bao gói, rồi vận chuyển tới các cửa hàng bán lẻ.

Loại sữa chua đông lạnh mềm và cứng có thành phần cơ bản khác nhau, được trình bày trong bảng 5.14

Bảng 5.14. Thành phần cơ bản của sữa chua đông lạnh

Thành phần, %	*Loại mềm*	*Loại cứng*
Chất béo	4	6
Đường	11÷14	12÷15
MSNF (Milk Solids Not Fat)	10÷11	12
Chất ổn định, chất nhũ hóa	0,85	0,85
Nước	71	66

e)Sản xuất yoghurt cô đặc

Sau lên men, yoghurt được cô đặc nhằm gia tăng nồng độ, đồng thời whey được tách bớt ra khỏi khối đông, rồi làm lạnh. Nguyên tắc sản xuất tương tự như sản xuất phomat. Chỉ có sự khác ở chủng vi sinh vật sử dụng. Sữa chua cô đặc có thể coi là loại sữa chua không tự nhiên.

3.5. Đánh giá chất lượng yoghurt

Người ta đánh giá chất lượng yoghurt thông qua ba nhóm chỉ tiêu cơ bản:

Chỉ tiêu cảm quan: cấu trúc, màu sắc, mùi vị

Chỉ tiêu hóa lý: tổng hàm lượng chất khô, hàm lượng chất béo, độ chua,…

Chỉ tiêu vi sinh: tổng số tế bào vi khuẩn lactic và các VSV nhiễm khác

Đối với nhóm sản phẩm yoghurt không qua xử lý nhiệt sau quá trình lên men , hệ vi khuẩn lactic trong yoghurt có thể gây ra những biến đổi làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm trong quá trình bảo quản.

Theo TCVN 7030, chất lượng của sữa chua yoghurt được được thể hiện bằng các chỉ tiêu cảm quan, chỉ tiêu lý – hóa, chỉ tiêu vi sinh vật, hàm lượng các chất nhiễm bẩn, cụ thể như sau:

- Các chỉ tiêu cảm quan bao gồm các chỉ tiêu về màu sắc, mùi, vị và trạng thái, được quy định trong bảng 5.15.

Bảng 5.15. Chỉ tiêu cảm quan của sữa chua

Tên chỉ tiêu	*Yêu cầu*
1. Màu sắc	Màu trắng sữa hoặc màu đặc trưng của phụ liệu bổ sung
2. Mùi, vị	Đặc trưng cho từng loại sản phẩm
3. Trạng thái	Mịn, đặc sệt

- Các chỉ tiêu lý – hóa được quy định trong bảng 5.16

Bảng 5.16. Các chỉ tiêu lý – hóa của sữa chua

Tên chỉ tiêu	*Mức yêu cầu*		
	Sữa chua	*Sữa chua đã tách một phần chất béo*	*Sữa chua gầy*
1. Hàm lượng chất khô không chứa chất béo, % khối lượng, không nhỏ hơn	8,2	8,2	8,2
2. Hàm lượng chất béo, % khối lượng	> 2,0	0,5÷ 2	< 0,5
3. Độ axit, ^{0}T	75÷140		

- Hàm lượng kim loại nặng của sữa chua được quy định trong bảng 5.17

Bảng 5.17. Hàm lượng kim loại nặng của sữa chua

Tên chỉ tiêu	*Mức tối đa*
1. Asen, mg/l	0,5
2. Chì, mg/l	0,5
3. Cadimi, mg/l	1,0
4. Thuỷ ngân, mg/l	0,05

- Chỉ tiêu vi sinh vật của sữa chua, được qui định trong bảng 5.18.

Bảng 5.18. Chỉ tiêu vi sinh vật của sữa chua

Tên chỉ tiêu	*Mức cho phép*	
	Không xử lý nhiệt	*Xử lý nhiệt*
1. Tổng số vi sinh vật hiếu khí, số khuẩn lạc trong 1 g sản phẩm	10^4	10
2. Nhóm *coliform*, số vi khuẩn 1 g sản phẩm	10	0
3. *Staphylococcus aureus*, số vi khuẩn trong 1 g sản phẩm	0	0
4. *E.Coli*, số vi khuẩn trong 1 g sản phẩm	0	0
5. *Salmonella*, số vi khuẩn trong 25 g sản phẩm	0	0
6. Nấm men và nấm mốc, số khuẩn lạc trong 1 g sản phẩm	10	0

- Độc tố vi nấm của sữa chua : Aflatoxin M_1 không lớn hơn 0,5 μg/l.

4. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT SỮA CHUA LÊN MEN KEFIR

4.1. Giới thiệu về sữa chua lên men kefir

Sữa lên men kefir là một sản phẩm có từ rất lâu. Sản phẩm này bắt nguồn từ vùng núi Kapca. Nguyên liệu để sản xuất kefir có thể là sữa dê, sữa cừu hay sữa bò. Sữa chua kefir được sản xuất ở nhiều nước trên thế giới. Nga là nước có bình quân đầu người cao nhất 5lít/người/năm.

Sữa chua kefir có trạng thái đồng nhất , độ đặc vừa phải, có vị chua (pH 4,3÷4,4) và có mùi thơm tự nhiên của men kefir.

Một số sản phẩm sữa lên men kefir được mô tả ở hình 5.17.

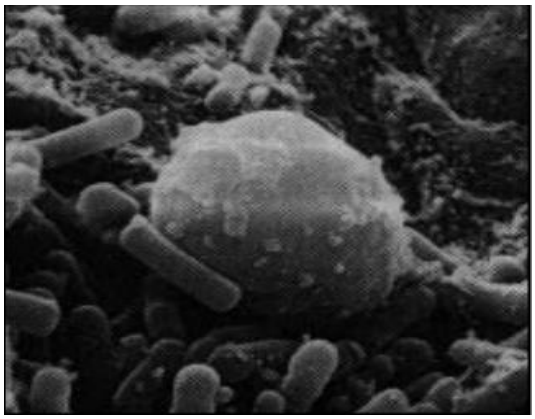
Hình 5.17 Một số sản phẩm sữa lên men kefir

4.2. Nguyên liệu sản xuất sữa chua lên men kefir

Sữa: có thể sử dụng sữa dê, sữa cừu hoặc sữa bò để sản xuất kefir . Yêu cầu chung là sữa không chứa kháng sinh và đạt các mức chỉ tiêu về VSV.

Hệ VSV: trong sản xuất kefir, người ta sử dụng tổ hợp giống VSV dưới dạng hạt kefir. Các hạt kefir có màu từ trắng đến vàng nhạt, hình dạng không ổn định và thường kết chùm với nhau tạo dáng tương tự hoa súp lơ với đường kính trung bình 15÷20mm (hình 5.18 và 5.19), nấm kefir không tan trong nước và hầu hết các dung môi . Khi thả vào sữa nấm kefir thấm nước sữa và trở nên có màu trắng đục.

Hình 5.18. Hình dạng của nấm kefir



Hình 5.19. Nấm men và acid lactic tại bề mặt của một hạt kefir

Nấm kefir chứa các protein (chiếm khoảng 30% tổng chất khô), polysacharide (25÷50%) và hỗn hợp các dạng vi khuẩn (vi khuẩn lên men lactic , vi khuẩn tạo mùi thơm) và nấm men. Nhóm vi khuẩn lactic *lactobacilli* chiếm khoảng 65÷80% tổng số VSV trong hạt kefir. Chúng gồm loại ưa ấm và ưa nhiệt , thực hiện quá trình lên men lactic theo sơ đồ lên men đồng hình lẫn dị hình . Nhóm vi khuẩn lactic *Lactobacilli* chiếm 20% tổng số tế bào.

Riêng nấm men chiếm 5÷10% tổng số VSV trong hạt gồm những loài lên men được lẫn không lên men đường lactose. Các loại nấm men lên men được đường lactose thường được tìm thấy tại các vị trí gần bề mặt hạt kefir . Ngược lại, các loại nấm men không lên men được đường lactose được tìm thấy tại các vị trí sâu bên trong tâm hạt.

Các loại vi sinh vật có trong nấm kefir được trình bày trong bảng 5.19.

Bảng 5.19. Các vi sinh vật có trong hạt kefir (Oberman H và cộng sự, 1998)

Lactobacilli	*Cocci*	*Nấm men*
L.brevis	*L.lactis ssp lactis*	*Kluyveromyces lactis*
L.cellobiosus	*L.lactis ssp lactis var diacetyllactis*	*K.marxianus ssp. bulgaricus*
L.acidophilus	*S. thermophilus*	*K.marxianus ssp. marxianus*
L.kefir	*S.filant*	*S.globosus*
L.casei ssp.alactosus	*S.durant*	*S.florentinus*
L.casei ssp.rhamnosus	*Leuc.mesenteroides ssp dextranicum*	*Candida kefir*
L.helveticus	*Leuc.mesenteroides ssp cremoris*	*C.pseudotropicalis*
L.delbrueckii ssp lactis		*Torulaspora delbrueckii*

Trong quá trình lên men, các vi khuẩn lactic tạo ra acid lactic, còn các tế bào nấm men lại tạo ra rượu và CO_2. Protein bị phân giải một phần do quá trình tr ao đổi chất của nấm men mà kết quả làm cho kefir có mùi rất đặc trưng của nấm men . Nấm kefir có cấu trúc cố định , là một cơ thể sống nên nấm kefir phát triển , trưởng thành, phân chia và di truyền cho thế hệ sau.

4.3. Quy trình công nghệ sản xuất sữa chua kefir

4.3.1. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất sữa chua kefir

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất sữa chua kefir được mô tả ở hình 5.20.

4.3.2. Thuyết minh quy trình công nghệ

a) Chuẩn hóa

Quá trình chuẩn hóa nhằm hiệu chỉnh hàm lượng chất béo trong sữa nguyên liệu . Sản phẩm kefir có hàm lượng chất béo dao động từ 0,5÷6%, thông thường 2,5÷3,5%. Quá trình này được thực hiện tương tự như trong quy trình sản xuất sữa lên men yoghurt.

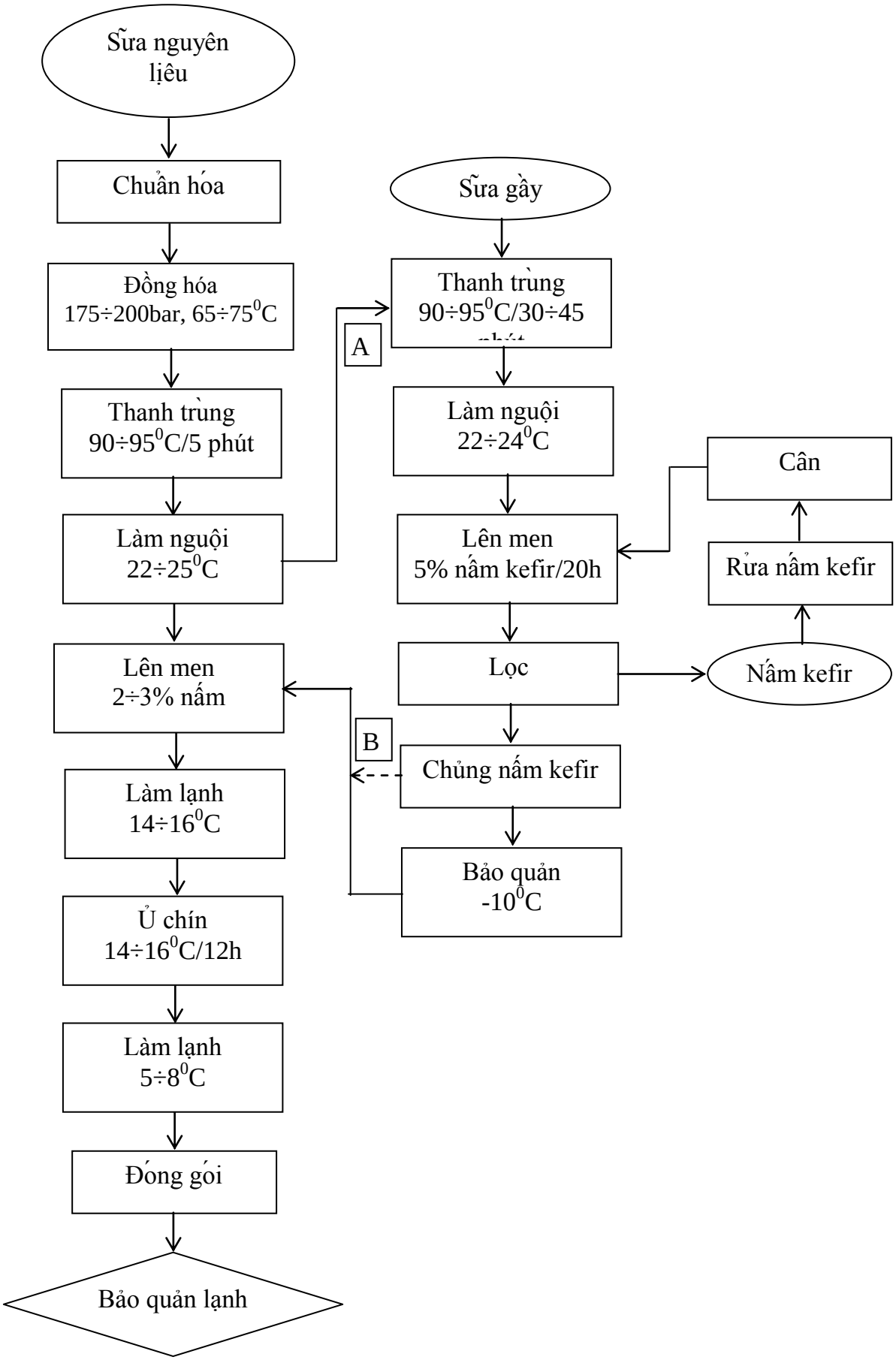
b) Đồng hóa

Đồng hóa được thực hiện ngay tiếp theo sau quá trình chuẩn hóa , nhằm mục đích làm giảm kích thước các cầu béo để chúng phân tán đều trong sữa . Chế độ đồng hóa thường sử dụng: áp lực 175÷200bar, nhiệt độ sữa khi vào thiết bị 65÷70^{0}C.

c) Thanh trùng

Mục đích: quá trình thanh trùng nhằm tiêu diệt hệ VSV và enzyme có trong sữa , làm biến tính một phần các protein trong sữa để cải thiện cấu trúc cho sản phẩm.

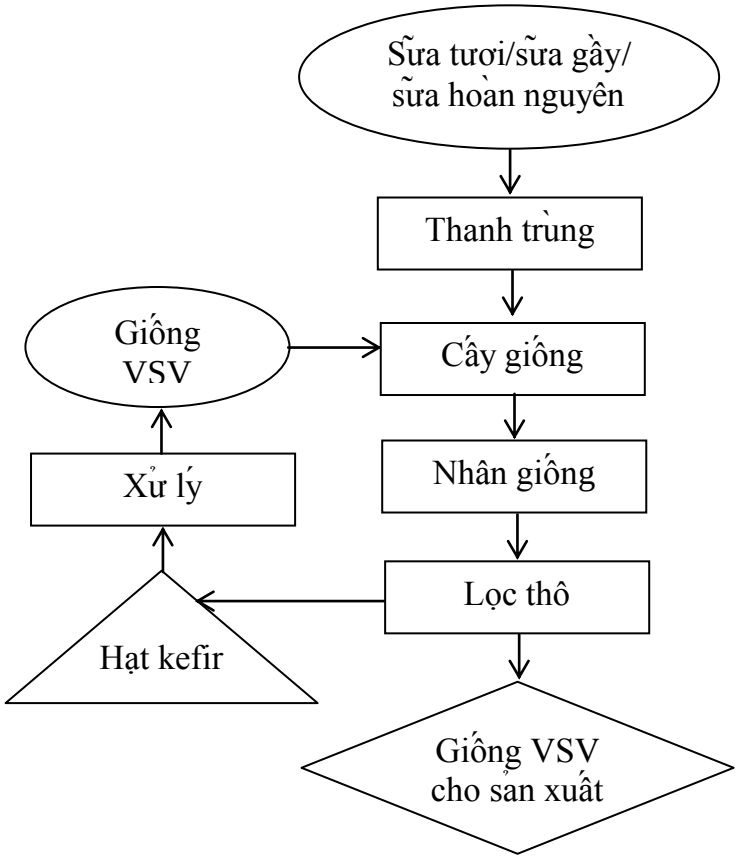
Tiến hành: thanh trùng ở nhiệt độ 90÷95^{0}C, trong thời gian là 5 phút.



Hình 5.20. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất sữa chua kefir

d) Cấy giống

Quá trình chuẩn bị giống VSV để lên men sữa chua kefir được mô tả ở hình 5.21.



Hình 5.21. Sơ đồ quá trình nhân giống VSV trong sản xuất sữa lên men kefir

Môi trường chuẩn bị giống có thể là sữa tươi hoặc sữa hoàn nguyên. Hàm lượng chất khô trong môi trường khoảng 11÷12%. Đầu tiên, thanh trùng môi trường ở 90÷95^{0}C trong thời gian 30÷45 phút. Thời gian thanh trùng kéo dài nhằm vô hoạt enzyme và ức chế đến mức tối thiểu sự có mặt của các VSV lạ trong môi trường để giúp cho giống phát triển tốt và không bị nhiễm tạp. Tiếp theo, môi trường sẽ được làm nguội về 22÷24^{0}C để chuẩn bị cấy giống.

Người ta sử dụng các hạt kefir để cấy vào môi trường. Lượng giống cấy ban đầu từ 3,5÷5,0% (theo khối lượng). Quá trình nhân giống được thực hiện ở nhiệt độ 23÷25^{0}C. Do hạt kefir có kích thước khá lớn, chúng thường bị chìm xuống dưới đáy thiết bị, nên việc khuấy trộn môi trường trong quá trình nhân giống là cần thiết. Thông thường, người ta khuấy đảo môi trường trong thời gian 15÷20 phút sau mỗi 2÷5 giờ. Quá trình nhân giống được xem là kết thúc khi pH môi trường giảm xuống còn 4,5. Tiếp theo canh trường được đem lọc.

Các hạt kefir được đưa đi xử lý bằng cách rửa chúng trong nước vô khuẩn ở nhiệt độ thấp (6÷10^{0}C) để loại bỏ tạp chất bám trên bề mặt hạt. Người ta còn dùng sữa gầy vô trùng để rửa hạt.

Hạt kefir đã qua rửa sạch được đem bảo quản trong nước vô khuẩn hoặc dung dịch NaCl 0,9%. Khi cần nhân giống cho mẻ sản xuất tiếp theo, sẽ sử dụng tiếp các hạt kefir trên để nhân giống.

Dịch thu được sau quá trình lọc thô chứa các vi khuẩn lactic và nấm men. Có thể sử dụng để cấy giống vào môi trường sữa nguyên liệu để sản xuất kefir. Lượng giống

cấy từ 3÷5% (v/v). Nếu sau quá trình nhân giống như trên vẫn chưa đủ thể tích giống cần dùng, ta tiếp tục nhân giống thêm một cấp nữa. Khi đó, ta sẽ sử dụng lượng giống thu được từ quy trình trên để cấy tiếp vào môi trường sữa tươi /sữa gầy hoặc sữa hoàn nguyên đã qua thanh trùng theo tỷ lệ 3÷5% (v/v). Quá trình nuôi cũng được thực hiện ở 23^0C, thời gian nuôi trung bình là 20 giờ, cần kiểm tra giá trị pH của canh trường (giảm xuống còn 4,5) để xác định thời điểm kết thúc quá trình nuôi.

Nhìn chung quá trình chuẩn bị giống trong sản xuất kefir khá phức tạp, hiện nay các nhà sản xuất có thể sử dụng giống dạng đông khô để cấy trực tiếp vào sữa nguyên liệu trong quá trình lên men kefir.

e) Lên men, làm lạnh, ủ chín

Trong quá trình lên men kefir, vi khuẩn lactic sẽ chuyển hóa đường lactose thành acid lactic, một số loài nấm men sử dụng được đường lactose để chuyển hóa lactose thành ethanol và khí CO_2. Trong dịch lên men chứa hàng trăm sản phẩm phụ từ hai quá trình lên men lactic và ethanol, chúng có vai trò quan trọng trong việc hình thành nên hương vị sản phẩm, đáng chú ý nhất là các acid hữu cơ như propionic, acid formic, acid succinic, các hợp chất dễ bay hơi thuộc nhóm aldehyde và rượu cao phân tử.

Nhiệt độ lên men thường được chọn ở 23÷25^0C, thời gian lên men trung bình là 12 giờ. Khi đó, độ chua của sản phẩm đạt 85÷100^0Th. Tiếp theo, ta khuấy trộn dịch lên men để phá vỡ cấu trúc gel của khối đông tụ và làm lạnh, đưa dịch lên men về nhiệt độ 14÷16^0C, đây là giai đoạn chuẩn bị cho quá trình ủ chín sản phẩm.

Ở nhiệt độ 14÷16^0C, tốc độ trao đổi chất của vi khuẩn lactic và nấm men bị chậm lại. Tuy nhiên, việc tổn thất các cấu tử tạo hương thoát ra từ dịch lên men cùng với khí CO_2 là không đáng kể. Mùi vị sản phẩm kefir được cải thiện rõ nét trong quá trình ủ chín. Thời gian ủ chín kefir là 12÷14h. Độ chua sản phẩm tiếp tục tăng lên 110÷120^0Th (pH tương ứng 4,4).

f) Làm lạnh

Khi quá trình ủ chín đã kết thúc, ta tiến hành làm lạnh sản phẩm về 5÷8^0C để hạn chế tối đa các hoạt động trao đổi chất của hệ VSV trong kefir. Thông thường, các nhà sản xuất sử dụng thiết bị trao đổi nhiệt dạng ống lồng ống để làm lạnh.

Cần chú ý là sự khuấy trộn kefir phải luôn được hạn chế vì không khí xâm nhập vào sản phẩm dễ làm cho một phần huyết thanh sữa bị tách lớp nổi lên trên bề mặt kefir.

g) Rót sản phẩm và đóng nắp

Quá trình rót sản phẩm và đóng nắp được thực hiện trong điều kiện vô trùng để hạn chế các VSV từ môi trường xung quanh có thể nhiễm vào sản phẩm.

Loại bao bì phổ biến để chứa kefir là bao bì giấy. Yêu cầu và các đặc điểm của bao bì chứa kefir tương tự như loại bao bì giấy chứa sản phẩm sữa.

4.4. Đánh giá chất lượng kefir

Để đánh giá chất lượng kefir, người ta thường sử dụng các chỉ tiêu sau đây:

- Chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, mùi, vị
- Chỉ tiêu hóa lý: độ chua, hàm lượng ethanol, hàm lượng CO_2 hòa tan, tổng hàm lượng chất khô, chất béo,…
- Chỉ tiêu vi sinh vật: tổng số vi khuẩn, nấm men…

Thông thường độ chua của kefir dao động trong khoảng 110÷120^{0}Th; hàm lượng acid lactic chiếm 0,8÷0,9%; hàm lượng CO_2 hòa tan 0,08÷0,20%; hàm lượng ethanol 0,5÷2,0%.

Sản phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ không lớn hơn 6^{0}C. Trong quá trình bảo quản, hệ VSV trong kefir vẫn tiếp tục trao đổi chất với môi trường. Dù ở nhiệt độ thấp, quá trình trao đổi chất của VSV sẽ làm biến đổi dần các chỉ tiêu hóa lý (độ chua, hàm lượng ethanol) và các chỉ tiêu cảm quan. Thời gian bảo quản kefir tối đa khoảng 1÷2 tuần ở 4÷6^{0}C.

5. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PHOMAT

5.1. Giới thiệu chung về phomat

Phomat (tiếng Anh là *cheese*, tiếng Pháp là *fromage*) là một sản phẩm rất giàu dinh dưỡng được chế biến từ sữa. Theo phương pháp sản xuất truyền thống, người ta tiến hành đông tụ casein trong sữa, sau đó tách khối đông thu được để chế biến thành pho mát.

Hiện nay trên thế giới có hàng nghìn loại phomat, các sản phẩm pho mát khác nhau về cấu trúc, mùi, vị, màu sắc, các chỉ tiêu lý hóa và vi sinh.

Quy trình công nghệ sản xuất phomat cũng rất đa dạng. Người ta có thể sử dụng các nguyên liệu sữa và giống VSV khác nhau để sản xuất phomat.

Phomat được coi là sản phẩm sữa bổ nhất, chứa một lượng protein, chất béo tương đối cao nên độ sinh năng lượng tương đương với thịt lợn (2.500÷4.500 kcal). Các protein, chất béo trong phomat đều ở dạng cơ thể dễ hấp thụ, chúng có đầy đủ các acid amin không thay thế, các vitamin và các chất khoáng.

Để phân loại phomat, có thể dựa trên nhiều tiêu chí khác nhau:

- Phân loại dựa vào giá trị MFFB *(Moisture on Fat Free Basis)*: Hàm lượng nước trong phomat thường được biểu diễn thông qua tỷ lệ phần trăm giữa lượng nước và tổng khối lượng phomat đã trừ béo.

$$MFFB = \frac{\text{Hàm l- ợng n- ớc trong phomat (g) x 100\%}}{\text{Tổng khối l- ợng phomat (g) - L- ợng chất béo trong sản phẩm (g)}}$$

Dựa vào giá trị MFFB, người ta chia phomat thành 5 loại (bảng 5.20)

Bảng 5.20. Phân loại phẩm phomat theo MFFB

Loại sản phẩm	*Giá trị MFFB (%)*	*Loại sản phẩm*	*Giá trị MFFB (%)*
Phomat rất cứng	< 41	Phomat bán mềm	61÷69
Phomat cứng	49÷56	Phomat mềm	> 67
Phomat bán cứng	54÷63		

- Phân loại dựa vào giá trị FDB *(Fat on Dry Basis)*: Lượng chất béo trong phomat thường được biểu diễn thông qua tỷ lệ phần trăm giữa lượng chất béo và tổng lượng phomat đã trừ béo.

$$FDB = \frac{\text{L- ợng chất béo trong phomat (g) x 100\%}}{\text{Tổng khối l- ợng phomat (g) - L- ợng chất béo trong sản phẩm (g)}}$$

Dựa vào giá trị FDB, người ta chia pho mát thành 5 loại (bảng 5.21)

Bảng 5.21. Phân loại phomat theo giá trị FDB

Loại sản phẩm	*Giá trị FDB (%)*
Phomat có hàm lượng béo rất cao	> 60
Phomat có hàm lượng béo cao	45÷60
Phomat có hàm lượng béo trung bình	25÷45
Phomat có hàm lượng béo thấp	10÷25
Phomat gầy	< 10

- Dựa vào quy trình công nghệ sản xuất phomat có quá trình ủ chín hay không và dựa vào hệ VSV gây nên các biến đổi trong giai đoạn ủ chín sản phẩm, người ta chia phomat thành hai nhóm chính (bảng 5.22)

Bảng 5.22. Phân loại phomat theo quá trình ủ chín

Loại sản phẩm	*Đặc điểm*
Phomat tươi	Không qua giai đoạn ủ chín
Phomat có qua giai đoạn ủ chín	Hệ VSV tham gia vào quá trình ủ chín: - Vi khuẩn - Vi khuẩn và nấm mốc
	Các biến đổi chủ yếu diễn ra trong giai đoạn ủ chín: - Trên bề mặt khối pho mát - Trong bề sâu khối pho mát

Ngoài ra còn có loại phomat đặc biệt được goi là phomat nấu chảy, được sản xuất từ một số loại phomat khác. Hình ảnh một số loại phomat được mô tả ở hình 5.22.

Hình 5.22. Một số loại phomat

5.2. Nguyên liệu trong sản xuất pho mát

5.2.1. Sữa

Người ta có thể sản xuất pho mát từ sữa bò, sữa dê hoặc sữa cừu dưới dạng sữa tươi, sữa đã tách một phần béo hoặc sữa gầy. Trong sản xuất pho mát, yêu cầu về các chỉ tiêu chất lượng sữa rất nghiêm ngặt. Sữa phải được thu nhận từ những động vật khỏe mạnh, không chứa kháng sinh và bacteriophage. Ngoài ra, sữa cũng không bị nhiễm bẩn các chất tẩy rửa, chất sát trùng từ dụng cụ chứa và hệ thống đường ống vận chuyển sữa.

Chỉ tiêu vi sinh của sữa có ảnh hưởng lớn đến chất lượng sản phẩm phomat, đặc biệt là nhóm vi khuẩn sinh bào tử (giống *Clostridium*) và nhóm VSV ưa lạnh (giống

Pseudomonas). Bào tử vi khuẩn *Clostridium tyrobutyricum* bền nhiệt. Khả năng sống sót của chúng sau quá trình thanh trùng sữa là rất lớn. Trong giai đoạn ủ chín phomat, vi khuẩn *Clostridium* lên men chuyển hóa acid lactic thành acid butyric và khí hydro tạo mùi khó chịu và gây hư hỏng cấu trúc sản phẩm. Riêng vi khuẩn *Pseudomonas* có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ thấp và tiết ra những enzyme ngoại bào như lipase, protease… Các enzyme này sẽ xúc tác quá trình thủy phân lipid và protein trong sữa gây mùi ôi và vị đắng.

Ngoài các yêu cầu về tiêu chuẩn hóa lý, sinh học, sữa dùng để sản xuất phomat còn có yêu cầu đặc biệt khác, đó là khả năng đông tụ bằng chymosin và khả năng tách whey của hạt phomat. Những khả năng này phụ thuộc vào từng giống bò, thời tiết. Người ta khắc phục bằng cách bổ sung $CaCl_2$, lên men phụ,…

Để kiểm tra khả năng đông tụ của sữa người ta có thể làm như sau: cho 10ml sữa và 1ml 0,02% dung dịch renin, khuấy trộn đều rồi đặt vào nồi cách thủy ở 35°C, theo dõi sự đông tụ. nếu sữa đông tụ trong thời gian:

- Không quá 15 phút: thuộc nhóm sữa đông tụ nhanh;
- Khoảng 15÷40 phút: thuộc nhóm sữa đông tụ bình thường;
- Hơn 40 phút: thuộc nhóm sữa đông tụ chậm.

Acid citric rất cần cho sự tạo thành chất thơm. Trong sữa bò trung bình có khoảng 0,2% acid citric, trong quá trình lên men các vi khuẩn tạo chất thơm (*Streptococcus diacetylatic, Lactobacillus cremois*) có thể chuyển hóa lactose và acid citric thành acid lactic, acid acetic, CO_2, diacetyl.

Hàm lượng protein-casein trong sữa cũng là một chỉ tiêu hóa lý quan trọng, sữa nguyên liệu có hàm lượng casein càng cao thì hiệu suất thu hồi phomat trong sản xuất càng cao.

5.2.2. Chất béo

Để sản xuất phomat có hàm lượng chất béo cao, người ta sử dụng thêm cream có hàm lượng chất béo 40÷42% hoặc sữa bơ, các chất béo phải đạt các yêu cầu nghiêm ngặt về VSV.

5.2.3. Tác nhân đông tụ sữa

Tác nhân đông tụ sữa phổ biến nhất là rennet (*chymosin*). Ngày nay, người ta có thể sử dụng chymosin kết hợp với các tác nhân đông tụ khác như một số chế phẩm protease có nguồn gốc từ VSV và thực vật. Khả năng gây đông tụ sữa của chymosin được đánh giá thông qua hoạt tính đông tụ sữa. Các chế phẩm chymosin thương mại thường có dạng bột mịn hoặc dạng lỏng. Hoạt tính đông tụ sữa của chúng thường dao động 1:10.000÷1:15.000. Chế phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ thấp 4÷6^{0}C

5.2.4. Giống vi sinh vật

Trong sản xuất phomat, tùy thuộc loại sản phẩm mà các nhà sản xuất có thể sử dụng một loại hoặc tổ hợp nhiều loại VSV khác nhau. Phổ biến nhất trong sản xuất phomat là vi khuẩn lactic. Người ta sử dụng nhóm vi khuẩn lactic ưa ấm (T_{opt}= *25÷35^{0}C*) và ưa nhiệt (T_{opt}= *37÷45^{0}C*) với cơ chế lên men đồng hình hoặc dị hình. Chúng có chức năng tạo acid lactic trong quá trình lên men góp phần gây đông tụ casein trong sữa và tạo độ chua trong khối đông. Ngoài ra, vi khuẩn lactic còn tạo ra các sản phẩm phụ từ quá trình lên men như CO_2, acetaldehyde, diacetyl… Một số chủng vi khuẩn lactic tham gia vào quá trình chuyển hóa acid citric, quá trình phân giải protein… để tạo giá trị cảm quan và các chỉ tiêu hóa lý đặc trưng cho phomat

thành phẩm.

Các loại nấm mốc thuộc giống *Penicillium* như *P.camemberti, P.roqueforti*… được sử dụng trong giai đoạn ủ chín một số loại phomat bán mềm. Nhóm VSV này có khả năng sinh tổng hợp enzyme protease và lipase ngoại bào, xác tác chuyển hóa protein và lipid trong khối đông tạo nên mùi vị đặc trưng cho sản phẩm.

5.2.5. Phụ gia và các nguyên liệu khác

**** $CaCl_2$***: ion Ca^{2+} có vai trò quan trọng trong quá trình đông tụ casein. Người ta bổ sung Ca^{2+} vào sữa dưới dạng muối $CaCl_2$ để hiệu chỉnh thời gian đông tụ và cấu trúc, độ cứng của khối đông.

**** CO_2:*** khí CO_2 hòa tan vào sữa sẽ làm giảm nhẹ pH sữa, vì thế có thể rút ngắn thời gian đông tụ casein hoặc tiết kiệm được lượng chymosin cần sử dụng.

**** $NaNO_3$ hoặc KNO_3***: quá trình thanh trùng sữa trong sản xuất phomat không thể tiêu diệt được toàn bộ VSV có trong sữa nguyên liệu ban đầu. Hoan nữa, trong sản xuất một số loại phomat cứng như Parmesan, Grana… người ta có thể bỏ qua giai đoạn thanh trùng nhiệt để sản phẩm đạt được cấu trúc và mùi vị như mong muốn. Khi đó, muối $NaNO_3$ hoặc KNO_3 được sử dụng như là một tác nhân ức chế hệ VSV nhiễm trong sữa. Hàm lượng tối đa cho phép dùng là 30g/100kg sữa. Nếu sử dụng muối nitrite cũng có thể ức chế giống VSV thuần khiết sử dụng trong sản xuất phomat. Hiện nay muối $NaNO_3$ và KNO_3 bị cấm sử dụng tại một số nước trên thế giới.

**** Chất màu***: màu sắc của phomat do các hợp chất carotenoid s hòa tan trong chất béo của sữa tạo nên. Cường độ màu của sản phẩm có thể bị thay đổi theo thời tiết trong năm. Để ổn định màu sắc cho sản phẩm phomat, người ta sử dụng các chất màu tự nhiên như carotenoids (E160) hoặc chl orophylle (E140). Chlorophylle được sử dụng cho phomat ủ chín với nấm sợi *Penicillium*. Màu xanh của chlorophylle sẽ làm giảm nhẹ màu vàng tự nhiên của phomat, từ đó làm nổi rõ hệ sợi xanh của nấm mốc trong khối sản phẩm, làm cho màu sắc của phomat trở nên hấp dẫn hơn.

Ngoài ra những nguyên liệu phụ khác: đường saccharose, nước ép trái cây, mứt trái cây… được sử dụng trong sản xuất một số loại phomat tươi để làm đa dạng hóa hương vị của sản phẩm.

5.3. Công nghệ sản xuất phomat mềm không qua giai đoạn ủ chín (phomat tươi)

5.3.1. Sơ đồ quy trình công nghệ

Phomat mềm có độ ẩm cao, các sản phẩm phomat không qua giai đoạn ủ chín, bảo quản ở nhiệt độ thấp, thời gian ngắn. Quy trình công nghệ rất đa dạng, chỉ cần thay đổi các thông số công nghệ của một quá trình trong dây chuyền sản xuất là thay đổi các chỉ tiêu hoá lý, cảm quan của sản phẩm. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat tươi Blanc của Pháp được mô tả ở hình 5.23.

5.3.2. Thuyết minh quy trình công nghệ

a) Chuẩn hoá

Mục đích: hiệu chỉnh hàm lượng chất béo trong sữa nguyên liệu để làm phomat. Tuỳ thuộc vào loại sản phẩm, hàm lượng chất béo có trong nguyên liệu mà người ta sử dụng sữa gầy hoặc sữa có hàm lượng béo cao (85g/l) hoặc sữa bơ vào sữa tươi.

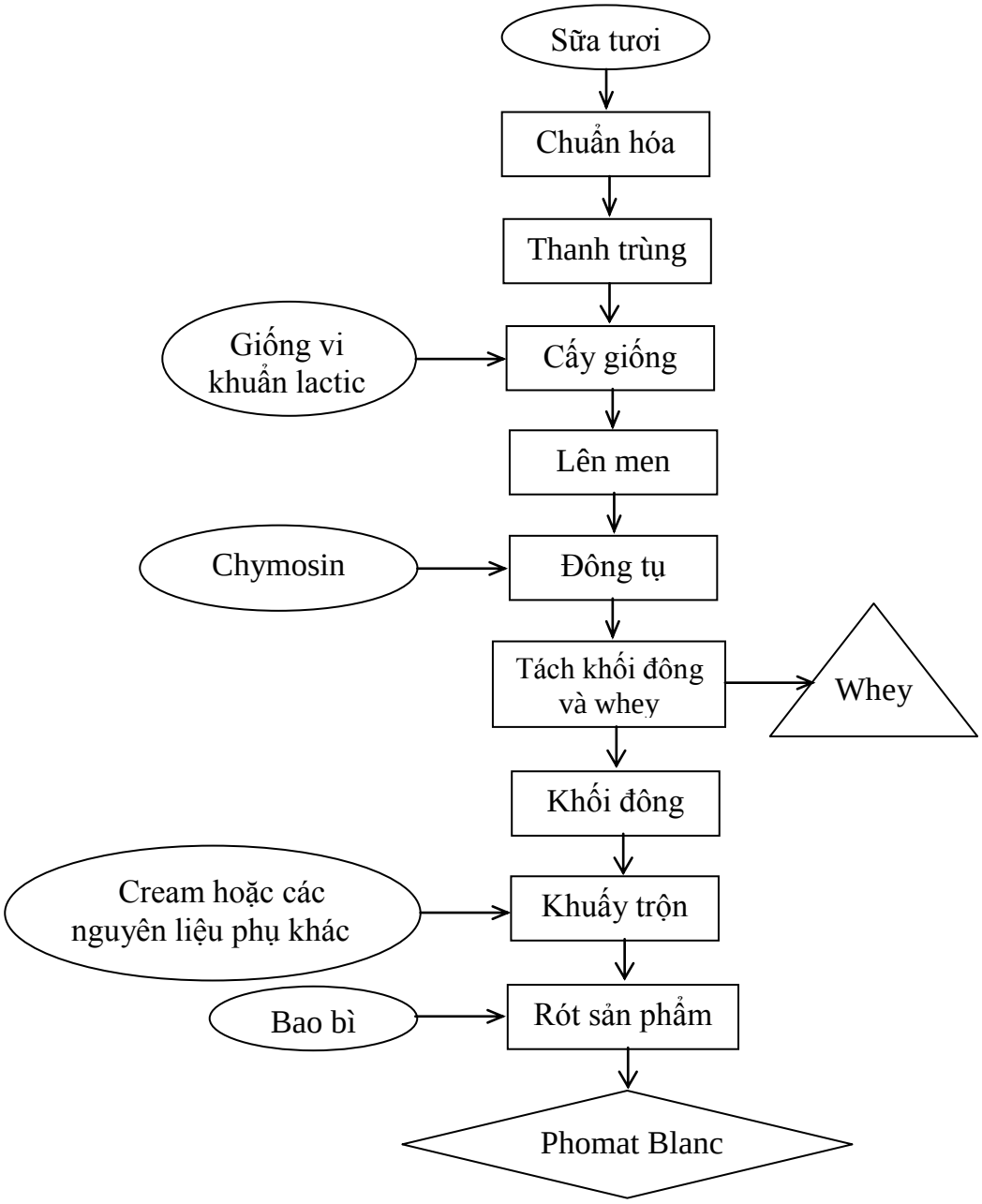
Người ta phân biệt khái niệm hàm lượng chất béo của phomat như sau:

- Hàm lượng chất béo tuyệt đối: là tỷ lệ giữa lượng chất béo của phomat với trọng lượng của nó (tính theo phần trăm)

- Hàm lượng chất béo theo chất khô là tỷ lệ giữa lượng chất béo với lượng chất

khô trong phomat (tính theo phần trăm)

Các loại phomat chế biến từ cùng một loại sữa có thành phần như nhau có thể có hàm lượng chất béo tuyệt đối khác nhau bởi lẽ hàm lượng nước trong các loại phomat không giống nhau. Vì vậy, để tiêu chuẩn hóa người ta chỉ dùng khái niệm hàm lượng chất béo theo chất khô.



Hình 5.23. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat Blanc

Hàm lượng chất béo của sữa tiêu chuẩn dùng để sản xuất phomat được tính theo công thức (5.6):

$$M_{TC} = \frac{P_s.M_{CK}.k}{100} \qquad (5.6)$$

Trong đó:

- M_{TC} là hàm lượng chất béo của sữa tiêu chuẩn, %;
- P_s là hàm lượng protein của sữa, %;

- M_{CK} là hàm lượng chất béo theo chất khô của loại phomat định sản xuất (tra bảng);

- *k* là hệ số thực nghiệm, ví dụ, đối với loại 50% chất béo thì k = 2,09÷2,15, còn loại 45% chất béo thì k = 2,02.

b) Thanh trùng

Sữa sau giai đoạn chuẩn hóa được đem đi thanh trùng. Chế độ thanh trùng được chọn ở 72^0C, thời gian 15 giây. Sau đó sữa được làm nguội về 22÷24 ^{0}C. Công nghệ trong công đoạn này thường dùng quy trình khép kín và điều khiển tự động kết hợp đồng thời các giai đoạn gia nhiệt, chuẩn hoá, thanh trùng và làm nguội.

c) Cấy giống và lên men

Vi khuẩn lactic sau khi nhân giống hoặc hoạt hoá trên môi trường sữa có hàm lượng khô là 10÷11%. Chế độ tiệt trùng là 110÷115^0C trong 10 phút người ta tiến hành cấy giống lên men sản xuất. Quá trình nhân giống được thực hiện ở 22^0C.

Để thực hiện quá trình lên men, người ta cấy giống vào sữa theo tỷ lệ từ 1÷3% (v/v). Giống VSV sử dụng là nhóm vi khuẩn lactic ưa ấm như là *Lactococcus cremoris, Leuconotoc lactics, Leuconotoc cremoris…*

Sau khi cấy giống hỗn hợp sữa và canh trường được khuấy trộn để đạt độ đồng nhất nhất định, người ta thực hiện quá trình lên men lactic ở điều kiện: Nhiệt độ lên men 20÷22^0C; Thời gian 1÷2 giờ. Khi giá trị pH giảm xuống 5,8 tiến hành bơm hỗn hợp qua bồn đông tụ và cho enzyme chymosin vào.

d) Đông tụ

Với hoạt tính đông tụ sữa là 1/10.000, thì lượng chế phẩm chymosin cần sử dụng trung bình là từ 5÷10g/100kg sữa. Người ta hoà tan chymosin với nước theo tỷ lệ 1/10 rồi cho vào bồn đông tụ. Nhiệt độ đông tụ duy trì 18÷22 ^{o}C.

Trong quá trình đông tụ, vi khuẩn lactic vẫn tiếp tục lên men tạo acid lactic, làm cho pH giảm, đồng thời tổng hợp nhiều sản phẩm phụ khác nhau góp phần tạo nên hương vị đặc trưng cho sản phẩm phomat tươi Blanc.

Thời gian đông tụ thường kéo dài từ 4÷6 giờ đối với phương pháp tự động. Đối với phương pháp sản xuất phomat thủ công thì thời gian đông tụ là 18 giờ. Thời điểm kết thúc quá trình đông tụ khi pH giảm đến 4,5÷4,55.

e) Tách huyết thanh sữa

Quá trình tách huyết thanh có thể thực hiện bằng phương pháp và thiết bị khác nhau. Phổ biến là hệ thống berge, thiết bị gồm nhiều túi lọc hình trụ đứng treo song song nhau. Kích thước mao quản túi lọc đủ nhỏ để các khối đông tụ không thể chui qua được túi lọc. Quá trình kéo dài 8÷20 giờ, để rút ngắn thời gian tách huyết thanh người ta tác dụng lên túi lọc một áp lực. Nhiệt độ tách huyết thanh duy trì từ 18÷20^0C.

f) Khuấy trộn

Phần khối đông tụ sau khi tách huyết thanh sữa có chứa casein, một phần nước, chất béo và một số hợp chất khác. Chúng được đem phối trộn thêm với cream hoặc các nguyên liệu phụ khác trong thiết bị khuấy trộn. Thiết bị cần phải khuấy mạnh để đạt độ mịn đồng nhất theo yêu cầu sau đó được đưa qua thiết bị rót.

g) Rót sản phẩm

Phomat Blanc thường được đựng trong các hộp plastic, trọng lượng tịnh 150÷200g/hộp. Quá trình rót và đóng nắp được thực hiện trong điều kiện vô trùng để

tránh nhiễm VSV từ môi trường vào sản phẩm. Sản phẩm được bảo quản ở nhiệt độ 4÷6^{0}C, thời gian bảo quản không quá 7÷10 ngày.

5.4. Công nghệ sản xuất phomat mềm và bán mềm có qua giai đoạn ủ chín

Một số sản phẩm phomat mềm và bán mềm (có qua giai đoạn ủ chín) nổi tiếng trên thế giới như: Camembert, Brie, Coulomiers, Carre de l' est, Munster, Point l' eveque … Người ta sử dụng những giống VSV khác nhau trong quá trình ủ chín phomat. Trong trường hợp có sử dụng nấm sợi, chúng có thể phát triển trên bề mặt hoặc trong bề sâu của khối đông để tạo nên cấu trúc và mùi vị đặc trưng cho sản phẩm. Đối với nhóm sản phẩm Camembert, Brie, Munster,… bào tử nấm mốc sẽ phun lên bề mặt khối đông và phát triển thành những khuẩn lạc trên bề mặt sản phẩm. Ta có thể thấy được những khuẩn lạc này bằng mắt thường. Ngược lại, đối với nhóm sản phẩm Bleu des Causses, Blue d' Auvergne, Fourme d' Ambert,… bào tử nấm mốc được cấy và phát triển thành những khuẩn ty thể bên trong khối đông. Khi cắt phomat, ta sẽ quan sát được sự phát triển bề sâu của nấm mốc trong toàn bộ khối sản phẩm. Dưới đây sẽ giới thiệu quy trình công nghệ sản xuất hai sản phẩm phomat đặc trưng cho hai nhóm trên, đó là phomat Carmembert và phomat Bleu des Causses.

5.4.1. Quy trình công nghệ sản xuất phomat Carmembert

5.4.1.1. Sơ đồ quy trình công nghệ

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat Carmembert được mô tả ở hình 5.24.

5.4.1.2. Thuyết minh quy trình công nghệ

a) Chuẩn bị sữa nguyên liệu

Sữa sau khi nhập về nhà máy phải qua xử lý nhiệt ở 64÷65^{0}C, thời gian từ 15÷20 giây nhằm tiêu diệt và ức chế hệ VSV và enzyme có trong sữa. Sau đó chuẩn hoá hàm lượng chất béo trong nguyên liệu đến 28g/l và điều chỉnh hàm lượng protein không thấp hơn 31g/kg sữa nguyên liệu. Tiếp theo bổ sung muối $CaCl_2$ với hàm lượng 0,025÷0,075 g/l. Tiến hành cấy giống vi khuẩn lactic với tỷ lệ là 0,2÷0,5%(v/v).

Quá trình lên men được thực hiện ở 8÷14^{0}C trong thời gian 15÷20 giờ. Kết thúc quá trình lên men giá trị pH của sữa giảm xuống 6,3÷6,35.

b) Thanh trùng sữa và lên men

Sữa nguyên liệu sau khi qua các giai đoạn chuẩn bị thì đem đi thanh trùng ở 72^{0}C, thời gian 15÷20 giây sau đó cho thêm $CaCl_2$ một lần nữa với hàm lượng như trên (0,025÷0,075g/l) và cấy VSV với tỷ lệ 1,5÷2% thể tích.

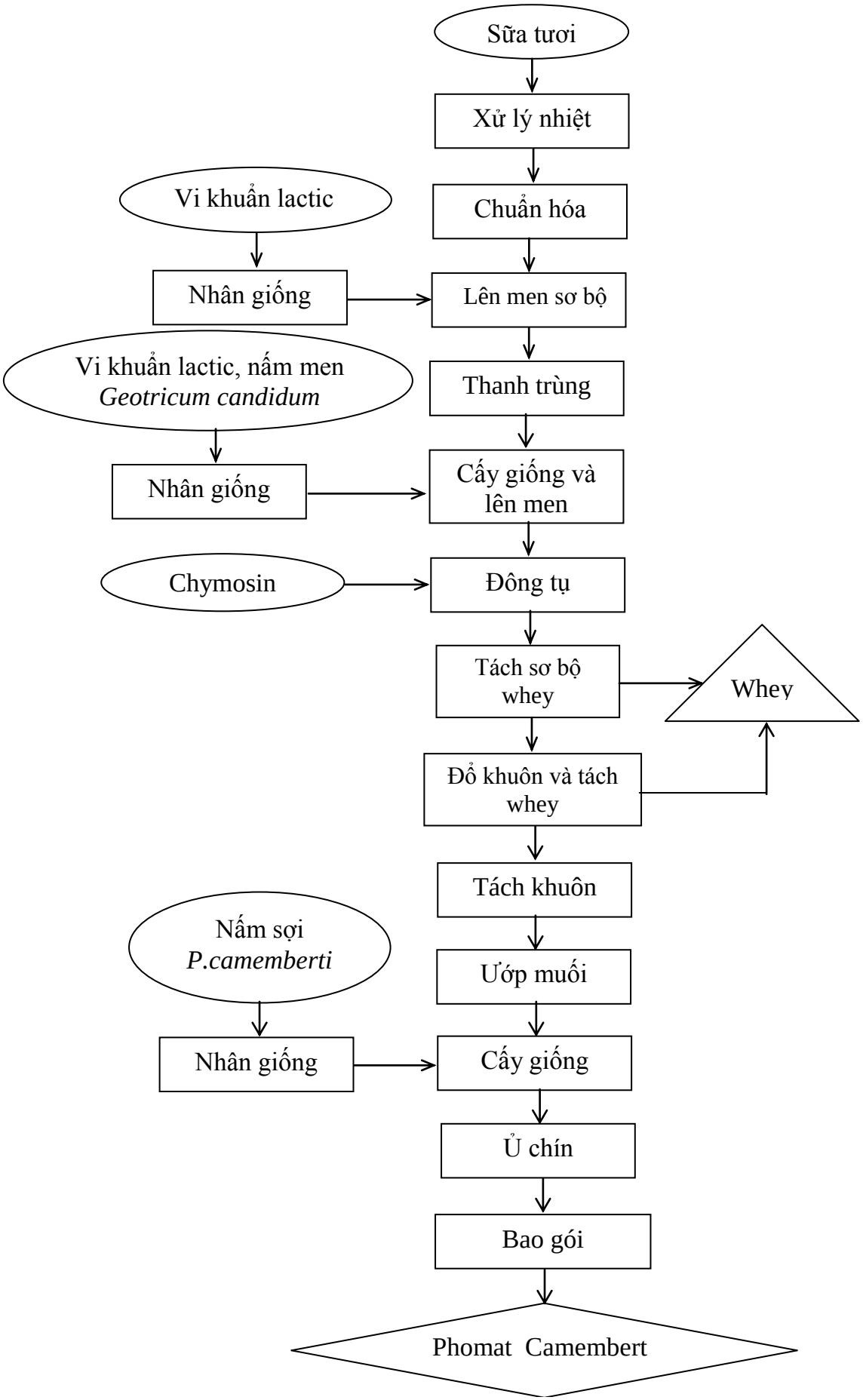
Giống VSV sử dụng thường là nhóm vi khuẩn lactic ưa ấm như là *Leuconolos lactic, Lactococcus cremorit*; nấm sợi: *Geotricum candidum* và nấm men.

Thời gian lên men kéo dài 15÷90 phút, nhiệt độ từ 33÷36^{0}C. Quá trình lên men kết thúc khi pH đạt từ 6,10÷6,35.

c) Đông tụ và tách sơ bộ huyết thanh sữa

Để thực hiện quá trình đông tụ, người ta bổ sung chế phẩm chymosin với hàm lượng 19÷23ml/100 lít sữa nguyên liệu. Thời gian đông tụ 30÷45 phút. Nhiệt độ đông tụ giữ ở 36÷39^{0}C. Quá trình đông tụ thực hiện trong thiết bị hình trụ đứng có cánh khuấy hoạt động gián đoạn. Thể tích bồn đông tụ trung bình 80÷120lít.

Sau quá trình đông tụ, ta khuấy đảo nhẹ nhàng và tách sơ bộ huyết thanh sữa ra khỏi khối đông tụ. Trong công đoạn này có khoảng 30÷40% huyết thanh được tách ra.



Hình 5.24. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat Camembert

Các khối đông có kích thước từ 2,0÷2,5cm. Độ chua của huyết thanh sữa là 14÷16°D. Tổng thời gian xử lý và tách sơ bộ huyết thanh sữa 30÷40 phút.

d) Đổ khuôn và kết thúc việc tách huyết thanh

Khuôn có dạng hình trụ đường kính là 10,5÷11,0cm được làm bằng thép không gỉ. Sau khi đổ hỗn hợp khối đông và huyết thanh sữa vào khuôn, thì quá trình tách huyết thanh sữa vẫn tiếp tục diễn ra. Người ta lật ngược khuôn ba lần để giúp cho việc tách huyết thanh sữa và định hình khối đông trong khuôn được dễ dàng.

Sau 30 phút đổ khuôn, tiến hành lật ngược khuôn lần thứ nhất. Sau 3 giờ đổ khuôn ta lật khuôn lần thứ 2. Lần thứ 3 sau khi đổ khuôn 9 giờ. Như vậy, tổng thời gian tách huyết thanh sữa từ khuôn là 9 giờ. Trong 3 giờ đầu, nhiệt độ môi trường hiệu chỉnh ở 26÷28^{0}C. Trong 6 giờ cuối, hạ nhiệt độ môi trường xuống với tốc độ là 1^{0}C/giờ.

Trong quá trình tách huyết thanh sữa, độ chua của nó cũng tăng dần. Sau 3 giờ đổ khuôn độ chua của huyết thanh tăng lên 30^{0}D. Còn sau 9 giờ độ chua tăng lên 90÷110^{0}D.

e)Tách khuôn

Sau khi khối đông đã được định hình và quá trình tách huyết thanh kết thúc. Người ta tiến hành tách khối đông ra khỏi khuôn.

Chỉ tiêu hoá lý quan trọng của khối đông trong sản xuất phomat Carmenbert như sau:

- Tổng hàm lượng chất khô 40÷42%;
- Độ pH: 4,80÷4,90;
- Hàm lượng calci: 0,35÷0,40% (so với tổng hàm lượng chất khô).

Trong thành phần hóa học của khối đông, ngoài nước, protein và calcium còn có chất béo, đường lactose, các chất khoáng khác, vitamin,…

f) Ướp muối

*** Các biến đổi diễn ra trong quá trình ướp muối**

Khối đông có cấu trúc xốp và chứa nhiều mao quản. Các mao quản có đường kính khác nhau. Đường kính của một mao quản bất kỳ cũng không ổn định và có thể thay đổi theo chiều dài của mao quản đó. Các mao quản trong khối đông không được sắp xếp theo một hướng cố định nào cả.

Khi ngâm khối đông trong nước muối, các phân tử muối khuếch tán sâu vào bên trong khối đông nhờ hệ thống mao quản nói trên. Đồng thời, nước và một số chất tan trong khối đông sẽ khuếch tán ra dung dịch muối. Như vậy sẽ xảy ra hiện tượng trao đổi ion giữa Na^{+} của nước muối và Ca^{2+} đang liên kết với casein của khối đông. Kết quả là hàm lượng ion Ca^{2+} trong khối đông giảm, nhờ đó sản phẩm phomat đạt được một độ dẻo nhất định.

*** Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình ướp muối**

- *Hàm lượng chất béo trong khối đông*: các chất béo tồn tại dạng hạt cầu. Một số hạt béo được phân bố trong những mao quản của khối đông. Nếu hàm lượng chất béo cao, sự khuếch tán của các phân tử muối vào sâu bên trong khối đông sẽ diễn ra chậm và bị cản trở, thời gian ướp muối cần phải kéo dài hơn.

- *Nồng độ muối*: nồng độ muối trong dung dịch càng cao sẽ làm tăng hàm lượng muối khuếch tán vào khối đông. Nếu nồng độ muối trong dung dịch thấp hơn 16%, thì

chỉ có một lượng nhỏ casein trong khối đông hoà tan vào nước muối, hiện tượng này ảnh hưởng xấu đến cấu trúc của sản phẩm.

- *Nhiệt độ của nước muối*: khi tăng nhiệt độ nước muối thì tốc độ khuếch tán của muối vào khối đông sẽ nhanh hơn, đồng thời quá trình thoát ẩm ra khối đông cũng sẽ nhanh hơn.

- *pH dung dịch nước muối*: kết quả thực nghiệm cho thấy pH của dung dịch muối ảnh hưởng rất lớn đến độ hấp thụ muối của khối đông và cấu trúc của phomat thành phẩm. Đó là do ion H^+ trong nước muối có thể thế chỗ các ion Ca^{2+} trong khối đông tương tự như ion Na^+. Tuy nhiên, ion H^+ không thể thay thế chỗ của ion Na^+ trong gel casein.

+ Ở pH cao (5,8÷6,0), hàm lượng ion H^+ trong dung dịch không nhiều. Quá trình trao đổi ion diễn ra chủ yếu là ion Ca^{2+} của khối đông và ion Na^+ của dung dịch muối. Kết quả là hàm lượng Na trong khối đông tăng làm cho cấu trúc gel trở nên mềm và có thể bị biến dạng trong quá trình ủ chín tiếp theo.

+ Ở pH 5,2÷5,4÷5,6, các ion Na^+ và H^+ cùng thế chỗ một phần ion Ca^{2+} trong khối đông, làm cho khối đông sau quá trình ướp muối sẽ có cấu trúc tốt và ổn định.

+ Khi nước muối có pH nhỏ hơn 5,2 có rất nhiều ion H^+ được hấp thụ vào khối đông. Kết quả là khối đông cứng và giòn.

Khi nước muối có pH 5,4 được xem là giá trị pH tối ưu cho quá trình ướp muối của nhiều loại phomat.

- *Thời gian*: khi thời gian ướp muối tăng thì lượng muối hấp thụ muối vào khối đông cũng tăng dẫn đến độ ẩm của khối đông giảm. Thời gian ngâm khối đông trong nước muối phụ thuộc vào từng loại sản phẩm (kích thước, độ mềm cứng, nồng độ muối, …).

*** Các phương pháp ướp muối**

- *Ngâm khối đông trong dung dịch nước muối*: sử dụng nước muối có nồng độ 18÷23%(v/v) đã được bổ sung $CaCl_2$ và hiệu chỉnh pH. Chất hiệu chỉnh pH là acid lactic hoặc acid HCl. Yêu cầu acid HCl không chứa kim loại nặng Pb, Cu, Hg, As,… Hàm lượng calcium trong nước muối là 0,1÷0,2%. Nhiệt độ trong quá trình ngâm $10÷14^0C$.

- *Rắc muối khô trực tiếp lên bề mặt khối đông*: trong trường hợp này, một phần muối sẽ được hòa tan trong huyết thanh sữa còn đọng lại trên bề mặt khối đông. Tiếp đó, một lượng muối sẽ khuếch tán vào bên trong khối đông. Người ta cần tiến hành lật đảo khối đông để muối được phân phố đều trong sản phẩm. Hàm lượng muối trong phomat Camembert chiếm từ 1,7÷1,8% khối lượng sản phẩm.

g) Cấy nấm sợi

Quá trình cấy giống VSV được thực hiện bằng cách phun giống bào tử nấm sợi *Penicillium camenbert* lên bề mặt khối đông đã ướp muối. Người ta cũng có thể sử dụng loài *Penicillium candidum* trong sản xuất phomat Camembert.

Nấm mốc có thể được nhân giống theo phương pháp nuôi cấy bề mặt hoặc bề sâu. Hiện nay, trên thế giới đã có các Công ty chuyên nhân giống nấm mốc để cung cấp giống cho các nhà sản xuất phomat. Sản phẩm giống nấm mốc sản xuất phomat đã được thương mại hoá thường tồn tại dưới dạng "bột bào tử".

Quá trình cấy giống được thực hiện bằng thiết bị phun bào tử tự động, với hàm lượng đúng theo chế độ cài đặt.

Các khối đông sau khi được cấy bào tử nấm sợi trên bề mặt, sẽ được đưa vào phòng tạm có nhiệt độ từ 14÷15^{0}C, trong thời gian 24 giờ, độ ẩm tương đối của không khí trong phòng chứa tạm là 85%. Sau đó chúng được chuyển vào kho ủ chín phomat.

h) Ủ chín

*** Các biến đổi diễn ra trong quá trình ủ chín phomat**

- *Biến đổi sinh học*: các VSV có trong khối đông (vi khuẩn, nấm men, nấm sợi) tiếp tục thực hiện quá trình trao đổi chất trong giai đoạn ủ chín. Tuy nhiên, tốc độ biến đổi diễn ra chậm do nhiệt độ ủ chín thấp từ 12÷13°C. Bào tử của giống *penicillium* sẽ phát triển thành những khuẩn ty thể trên bề mặt phomat nên xuất hiện những đốm xanh lấm tấm tạo nét đặc trưng cho sản phẩm Carmenbert.

- *Biến đổi hoá sinh và hoá học:*

+ Đường lactose tiếp tục chuyển thành acid lactic và nhiều sản phẩm khác. Những biến đổi này do nhóm vi khuẩn lactic thực hiện.

+ Protein bị thuỷ phân một phần do xúc tác của nhóm enzyme protease. Các protease trong khối đông chủ yếu do nấm sợi và vi khuẩn lactic sinh tổng hợp nên.

+ Sự phân huỷ một số acid amin trong khối đông và tạo ra các sản phẩm NH_3, CO_2, H_2S gây cho phomat có mùi khó chịu.

- *Biến đổi về vật lý*: sự sinh trưởng phát triển của VSV kèm theo sự toả nhiệt, do đó trong quá trình ủ chín thì cần phải thoáng khí, đuổi CO_2, cung cấp oxy cho nấm sợi phát triển trên bề mặt của sản phẩm.

*** Phương pháp thực hiện ủ chín**

Các khối đông được đặt lên kệ giá đỡ rồi đưa vào phòng ủ chín, chiều cao của giá đỡ và khoảng cách giữa hai kệ trên giá đỡ được thiết kế phù hợp với khối lượng và năng suất của sản phẩm.

Cần phải đảm bảo thoáng khí cho khối đông trong quá trình ủ chín. Sử dụng không khí vô trùng để thông khí phòng ủ chín sản phẩm. Đối với phomat Camembert, điều kiện ủ như sau:

- Nhiệt độ của phòng ủ là 12÷13°C;
- Độ ẩm không khí tương đối là 95%;
- Thời gian ủ chín trung bình là 8÷9 ngày.

Ở ngày thứ sáu, cần tiến hành lật ngược khối đông trên kệ giá đỡ để đảm bảo độ thoáng khí và sản phẩm đạt được độ đồng nhất cao về cấu trúc và mùi vị.

i) Bao gói phomat

Do hệ vi sinh vật trong phomat tiếp tục thực hiện quá trình trao đổi chất trong suốt thời gian bảo quản, nên bao bì gói phomat phải có độ thấm khí nhất định. Thông thường, người ta sử dụng bao bì có nguồn gốc cellulose. Độ thấm nước của bao bì trung bình 160g/m^2 trong 24 giờ.

Một số nhà máy còn sử dụng giấy nhôm để bao gói sản phẩm. Tuy nhiên, giấy nhôm có độ thấm khí kém làm giảm chậm trọng lượng của sản phẩm nhưng lại gây ngưng tụ nước trong sản phẩm thúc đẩy sự biến đổi sinh học và hoá sinh trong phomat. Hiện tượng này nhanh chóng làm thay đổi mùi vị và cấu trúc sản phẩm.

Trong quá trình bảo quản, có sự thoát CO_2 và hơi nước ra khỏi sản phẩm do sự trao đổi chất của VSV. Hiện tượng này làm giảm khối lượng phomat. Nếu lượng CO_2 và hơi nước thoát ra càng nhiều, độ ẩm của phomat giảm dần và làm chậm đi các biến

đổi sinh học và sinh hóa trong sản phẩm.

k) Sản phẩm phomat Carmenbert

Chất lượng sản phẩm phomat được đánh giá qua ba nhóm chỉ tiêu: cảm quan, hoá lý và vi sinh.

Phomat Carmenbert thành phẩm có hình dạng tròn, khối lượng không nhỏ hơn 110g; pH=5,5÷6,0; hàm lượng chất béo không nhỏ hơn 40% tổng số lượng chất khô trong phomat.

Phomat Carmenbert phải được bảo quản ở nhiệt độ thấp, thời gian bảo quản sản phẩm có thể kéo dài được vài tuần.

5.4.2. Quy trình công nghệ sản xuất phomat Bleu des Causses

Bleu des Causes (BDC) là sản phẩm phomat thuộc loại bán mềm. Trong quá trình ủ chín người ta tạo điều kiện cho nấm sợi phát triển sâu trong khối đông vì thế hay gọi là phomat vân xanh.

5.4.2.1. Sơ đồ quy trình công nghệ

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat Bleu des Causses được trình bày ở hình 5.25.

5.4.2.2. Thuyết minh quy trình công nghệ

Quy trình công nghệ sản xuất hai loại phomat Bleu des Causes và Camembert có nhiều công đoạn tương tự nhau, vì vậy trong phần này chỉ nêu một số điểm khác biệt quan trọng.

a) Các giai đoạn chuẩn bị sữa

Đối với sản phẩm phomat BDC, một số nhà máy bỏ qua giai đoạn lên men sơ bộ. Đồng hoá là một quá trình bắt buộc trong sản xuất.

Mục đích chính là làm giảm kích thước các hạt cầu béo, phá vỡ một phần màng bao lipoprotein quanh các hạt cầu và làm tăng diện tích bề mặt của chúng. Khi đó enzyme lipase dễ tiếp xúc trong quá trình thuỷ phân chất béo.

Quá trình thanh trùng sữa được thực hiện ở 72^0C, trong thời gian 30 giây. Cần lưu ý là nếu sữa tươi ban đầu chứa nhóm VSV ưa lạnh (như *Pseudomonas)* thì quá trình thanh trùng nên khống chế vô hoạt được hoàn toàn các enzyme chịu nhiệt của chúng (lipase, protease,..).

Tuy nhiên, các nhà sản xuất cho rằng sự tồn tại của nhóm enzyme trên trong sữa không có hại. Chúng sẽ cùng các enzyme của nấm sợi *Penicillium roqueforti* xúc tác chuyển hóa lipide và protein trong khối đông ở giai đoạn ủ chín để tạo ra mùi vị đặc trưng cho sản phẩm.

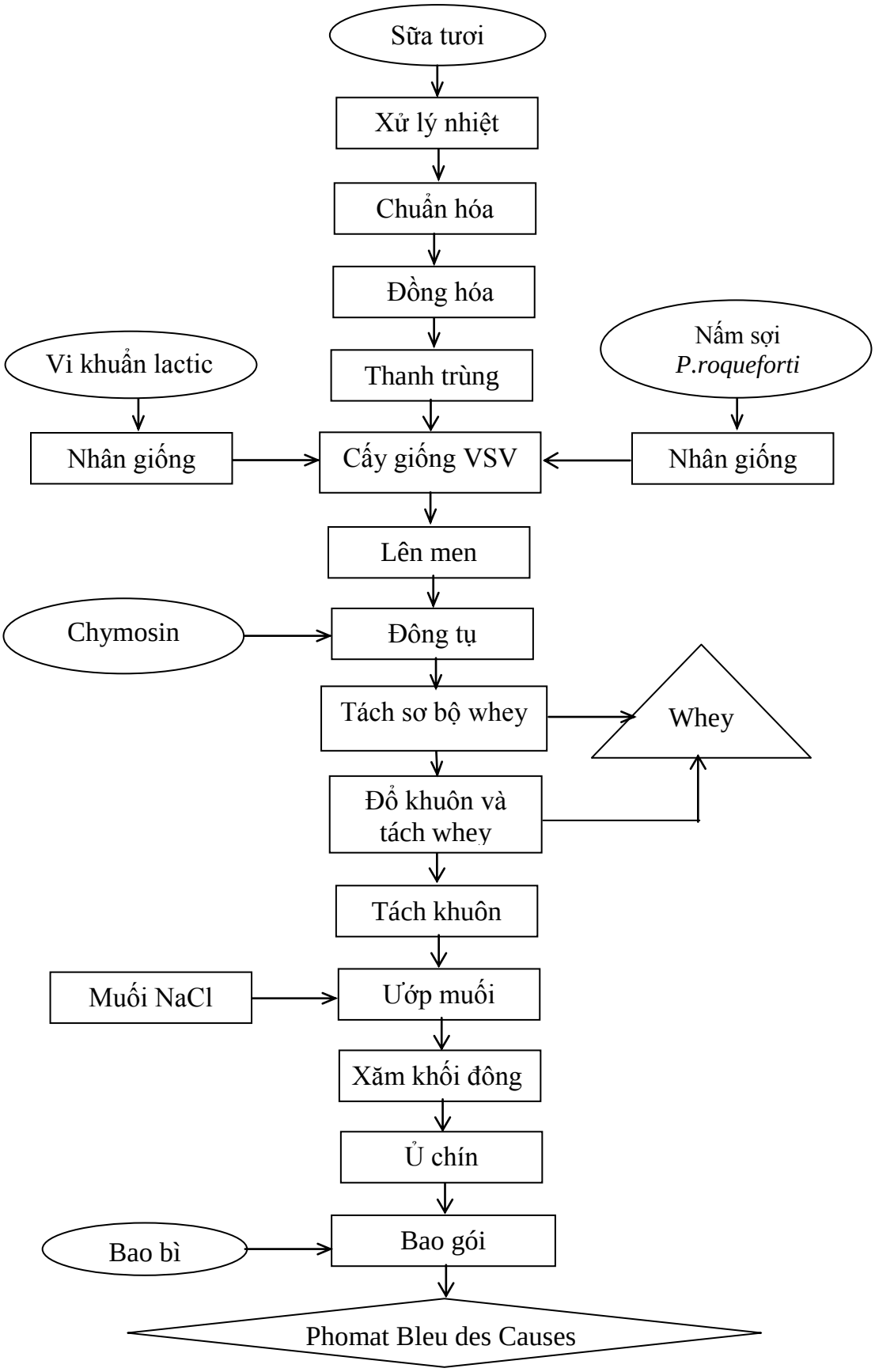
b) Cấy giống vi sinh vật và lên men

Vi sinh vật bao gồm vi khuẩn lactic ưa ấm và nấm sợi *Penicillium roqueforti*. Quá trình lên men diễn ra tương tự như phomat Carmenbert. Nấm sợi tổng hợp enzyme lipase và protease. Hoạt tính của enzyme phụ thuộc vào chủng nấm sợi sử dụng, thành phần hoá học của khối đông, cơ chất và điều kiện ủ chín.

c) Đông tụ và tách sơ bộ huyết thanh sữa

Với hoạt tính đông tụ là 1/10000 nên hàm lượng chymosin sử dụng là 25÷35ml/100lít sữa nguyên liệu. Quá trình đông tụ được thực hiện $30÷33^0$C, thời gian kéo dài từ 60÷90 phút. Sau quá trình đông tụ, tiến hành tách sơ bộ huyết thanh sữa.

Thời gian tách huyết thanh trong khoảng từ 30÷50 phút. Thỉnh thoảng khuấy nhẹ khối đông trong thiết bị đông tụ. Lượng huyết thanh tách ra trong giai đoạn này chiếm khoảng 30% tổng huyết thanh trong sữa.



Hình 5.25. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat Bleu des Causes

d) Đổ khuôn và tách kiệt huyết thanh trong sữa

Sau khi cho phần sữa đông tụ vào khuôn thì quá trình tách huyết thanh vẫn tiếp tục diễn ra trong 2÷4 ngày tiếp theo. Nhiệt độ khối đông phải được duy trì từ 17÷21^{0}C.

e) Tách khuôn và ướp muối

Các khối đông đã tách hết huyết thanh được tách ra khỏi khuôn và đem ướp muối hai lần. Lần đầu rắc muối khô trực tiếp lên bề mặt và xung quanh của khối đông. Sau hai ngày, lật đảo khối đông và rắc muối khô lên trên bề mặt trên cùng và vùng xung quanh. Chờ tiếp 3 ngày nữa, quá trình ướp muối được xem là kết thúc. Như vậy, tổng thời gian ướp muối kéo dài 5 ngày. Hàm lượng muối trong khối đông đạt 4%, nhiệt độ phòng ướp muối 10÷12^{0}C.

Sau cùng, người ta loại bỏ phần muối hạt và nước muối còn bám trên bề mặt các khối đông để chuẩn bị cho quá trình xăm khối đông và ủ chín.

f) Xăm khối đông

Mục đích của xăm là tăng bề mặt tiếp xúc để tạo điều kiện cho nấm sợi *Penicillium roqueforti* phát triển bề sâu trong khối đông. Người ta tiến hành xăm khối đông để tạo sự thoáng khí, cung cấp oxy cho sự trao đổi chất và phát triển của nấm sợi.

g) Ủ chín

Trong giai đoạn ủ chín phomat, ngoài biến đổi do nhóm vi khuẩn lactic thực hiện, người ta quan tâm đến sự phát triển của nấm sợi trong bề sâu của khối sản phẩm và quá trình thuỷ phân lipid, protein nhờ xúc tác của hệ enzyme nấm sợi, chymosin và các enzyme lipase, protease có trong nguyên liệu ban đầu. Bào từ nấm sợi sẽ phát triển thành các khuẩn ty thể mọc theo chiều dọc các mao quản được hình thành do quá trình xăm khối đông. Sau ba tuần ủ chín, nếu cắt khối phomat, ta có thể nhìn thấy bằng mắt thường sự phát triển khuẩn ty thể bên trong sản phẩm. Các enzyme protease của nấm sợi *Penicillium roqueforti* xúc tác thủy phân một số phân tử protein trong khối đông. Một số acid amin được tạo thành có thể tiếp tục bị phân giải tạo thành mùi vị đặc trưng cho phomat vân xanh. Để thực hiện quá trình ủ chín, các khối đông được đặt trên kệ bằng gỗ, trong phòng ủ, nhiệt độ duy trì là từ 9÷11^{0}C, độ ẩm tương đối của không khí là 90÷95%. Trong quá trình ủ chín cần phải thoáng khí để đuổi CO_2, đuổi nhiệt và cung cấp oxy cho nấm mốc phát triển.

h) Bao gói

Sau 20÷ 25 ngày ủ chín, tiến hành bao gói phomat trong bao bì hỗn hợp là nhôm-polyetylen. Tiếp theo sản phẩm được bảo quản trong kho lạnh từ 0÷1^{0}C. Thời gian tối thiểu là 4÷5 ngày trước khi bán cho người tiêu dùng. Theo các nhà sản xuất phomat vân xanh đạt mùi vị tốt nhất sau thời gian là 70 ngày tính từ ngày bắt đầu sản xuất.

i) Sản phẩm phomat Bleu des Causes

Phomat Bleu des Causes có dạng bánh tròn, đường kính trung bình 20cm, chiều cao 8÷10cm, khối lượng 2,3÷5 kg. Hàm lượng chất khô chiếm 53%, lượng chất béo chiếm 45% tổng chất khô. Các giá trị khác như MFFB 61%, FDB 31%.

5.5. Công nghệ sản xuất phomat bán cứng, cứng và rất cứng

Một số sản phẩm phomat cứng có cấu trúc đặc biệt với nhiều lỗ trống bên trong khối phomat. Tuỳ thuộc vào phương pháp sản xuất và các loại VSV sử dụng mà các lỗ trống này có thể khác nhau về hình dạng kích thước và sự phân bố trong sản phẩm.

- Trường hợp thứ nhất: các lỗ trống có kích thước nhỏ là do khí CO_2 tạo ra từ quá

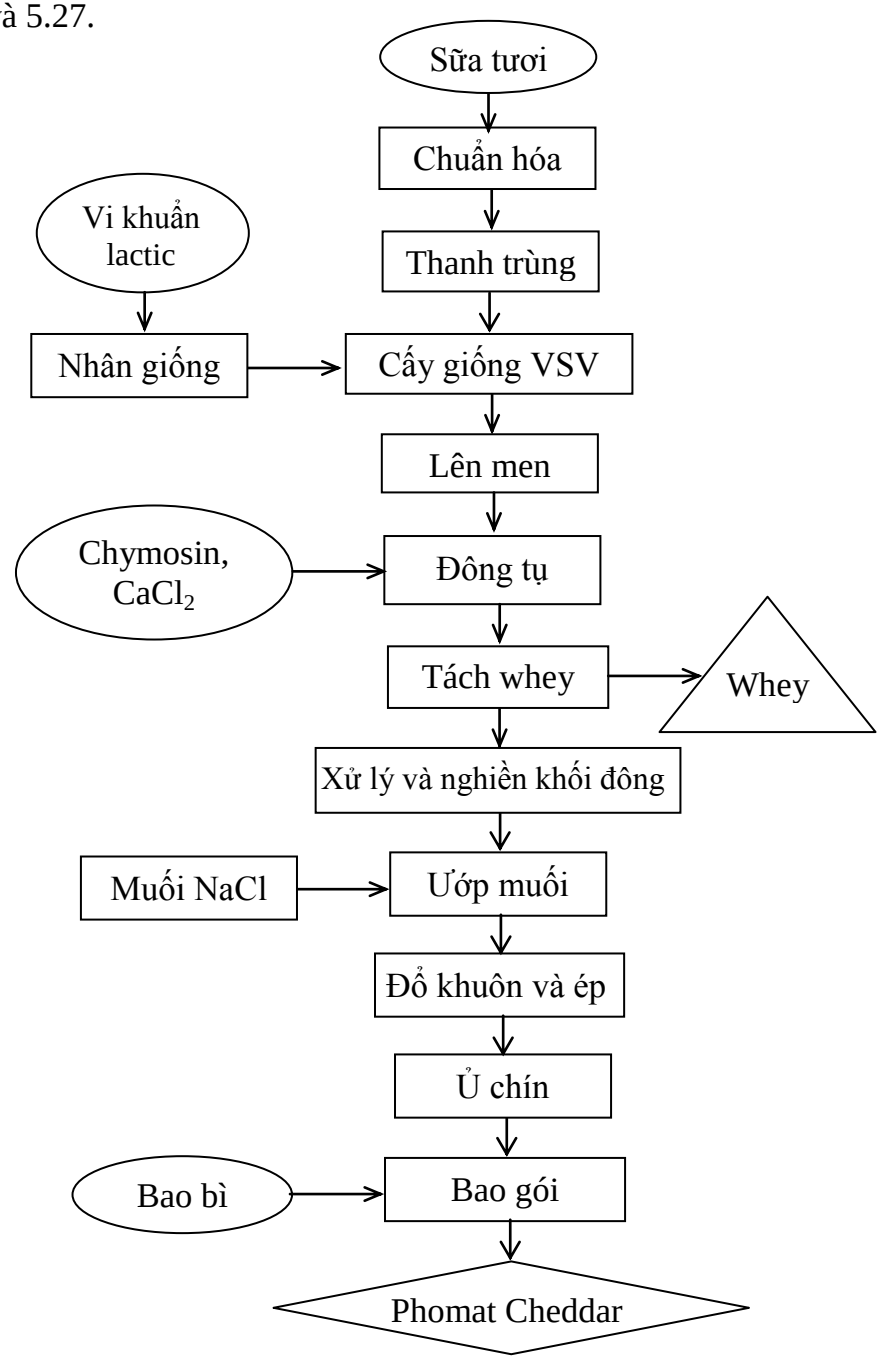
trình lên men lactic dị hình, CO_2 sẽ hòa tan và bão hòa dịch lỏng trong khối đông.

- Trường hợp thứ hai: các lỗ trống có dạng hình cầu, hình oval thường được gọi là mắt tròn của phomat. Tham gia quá trình tạo lỗ trống trong phomat ngoài nhóm vi khuẩn lactic dị hình còn có giống vi khuẩn lên men propionic.

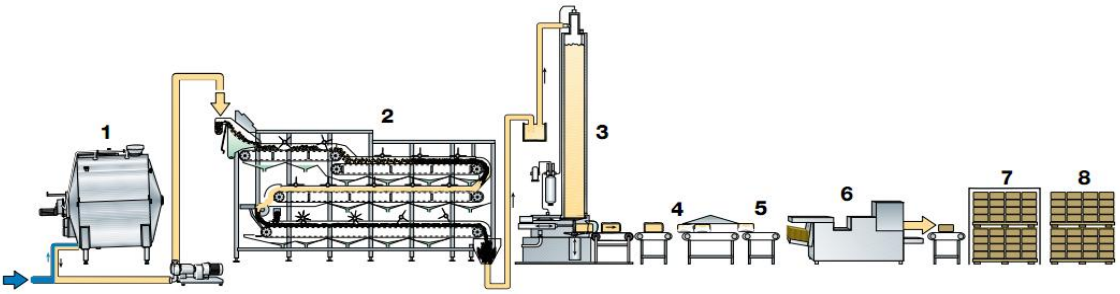
Một số sản phẩm phomat cứng khác không có các lỗ trống dạng hạt hoặc dạng mắt tròn do không sử dụng nhóm VSV không có khả năng sinh CO_2 trong quá trình lên men và ủ chín sản phẩm. Trong trường hợp này thì người ta sử dụng nhóm vi khuẩn lactic ưa ấm và lên men đồng hình. Các sản phẩm phomat bán cứng, cứng và rất cứng rất đa dạng, dưới đây giới thiệu về quy trình công nghệ sản xuất một loại phomat đặc trưng cho nhóm này (phomat Cheddar).

5.5.1. Sơ đồ quy trình công nghệ công nghệ sản xuất phomat Cheddar

Các công đoạn sản xuất phomat Cheddar, sơ đồ mô hình thiết bị được mô tả ở hình 5.26 và 5.27.



Hình 5.26. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat Cheddar



Hình 5.27. Mô hình thiết bị sản xuất phomat Cheddar

1. Thùng chứa; 2. Làm đông tụ, tách whey, nghiền khối đông và ướp muối; 3. Tạo hình phomat; 4. Đóng gói chân không; 5. Cân; 6. Đóng thùng carton; 7. Chuyển các thùng carton lên pallet; 8. Đưa vào kho ủ chín.

5.5.2. Thuyết minh quy trình công nghệ

Các giai đoạn đầu trong sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat Cheddar (chuẩn hóa, thanh trùng, cấy giống, lên men,…) tương tự như những loại sản phẩm phomat khác. Sau đây chỉ giới thiệu một số điểm khác.

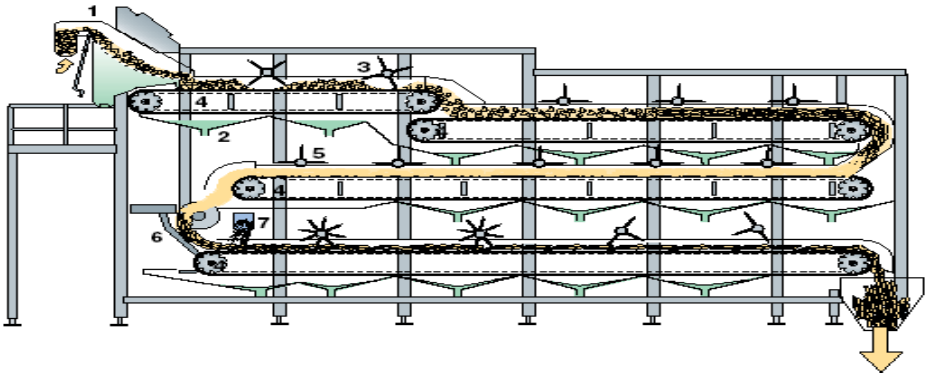
a) Đông tụ, tách huyết thanh, xử lý, nghiền khối đông và ướp muối

Sau khi bổ sung chymosin và $CaCl_2$ vào sữa, quá trình đông tụ kéo dài 2 giờ. Tiếp theo là giai đoạn tách huyết thanh sữa. Hàm lượng acid lactic trong huyết thanh sữa chiếm 0,2% (v/v). Kế đến là một quá trình xử lý đặc biệt.

Khối đông sẽ được tiếp tục acid hoá bởi nhóm vi khuẩn lactic trong thời gian là 2 đến 2,5 giờ. Trong giai đoạn này xảy ra hiện tượng kết dính các khối đông tụ với nhau. Quá trình này đặc trưng trong công nghệ sản xuất phomat Cheddar nên gọi là Cheddaring.

Các khối đông kết dính với kích thước lớn được đem nghiền để tạo ra những mảnh nhỏ với hình dạng tương đối đồng nhất. Tiếp đến là quá trình ướp muối. Người ta trộn muối dạng bột khô mịn. Hỗn hợp được đem đi đổ khuôn và ép tạo hình.

Hiện nay, trong sản xuất phomat Cheddar, các quá trình tách huyết thanh, xử lý, nghiền khối đông và ướp muối được thực hiện trên cùng một thiết bị hoạt động liên tục (hình 5.28).



Hình 5.28.Thiết bị tách huyết thanh sữa, xử lý và nghiền khối đông, ướp muối

1. Rây tách huyết thanh sữa; 2. Bể chứa huyết thanh; 3. Cánh khuấy chính (luôn hoạt động); 4. Băng tải chuyển động với tốc độ hiệu chỉnh được; 5. Cánh khuấy phụ (chỉ hoạt động khi được cài đặt); 6. Bộ phận nghiền khối đông; 7. Hệ thống bổ sung muối hạt.

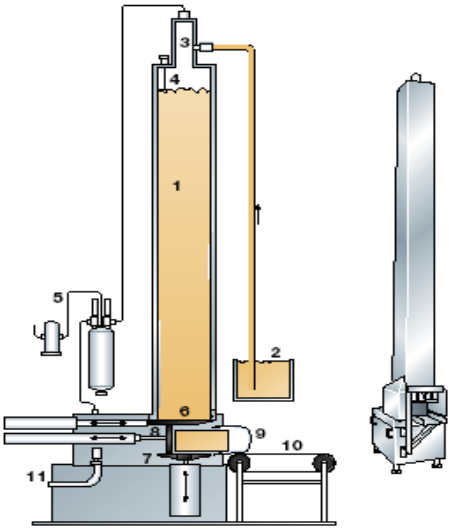
Các khối đông từ bồn đông tụ sữa được đưa vào thiết bị qua rây 1 để tách huyết thanh sữa. Bên trong thiết bị có tất cả bốn băng tải, có thể chuyển động với tốc độ hiệu

chỉnh được. Nguyên liệu sẽ lần lượt đi qua bốn băng tải này. Trên băng tải có đặt những cánh khuấy để cắt nhỏ khối đông. Tiếp đó băng tải 4 thứ ba đưa sản phẩm đến máy nghiền 6. trên đường đi được thiết bị số 7 rắc muối, sau đó được băng tải đưa đi sang thiết bị tạo hình.

b) Đổ khuôn, ép và bao gói

Công đoạn này được thực hiện trong thiết bị chuyên dùng dưới áp lực chân không (hình 5.29). Đầu tiên hỗn hợp nguyên liệu và muối được đưa vào bể chứa 2. Hỗn hợp được hút vào tháp 1 nhờ hệ thống chân không 5. Tiếp theo, các mảnh nguyên liệu được kết dính và ép chặt lại với nhau tạo nên một khối duy nhất trong tháp 1. Áp suất chân không tạo ra ngoài tác dụng kết dính các mảnh đông tụ còn giúp cho quá trình bài khí và tách huyết thanh sữa diễn ra nhanh và dễ dàng hơn.

Toàn bộ khối phomat bán thành phẩm trong tháp 1 sẽ được cắt ra thành từng khối nhỏ nhờ dao cắt 6 và hệ thống chuyển dịch 8. Tiếp đó, mỗi khối phomat bán thành phẩm sẽ được đặt trong bao bì hở bằng plastic nhờ hệ thống 9, chuyển qua băng tải 10, rồi đi đến thiết bị đóng gói chân không.



Hình 5.29. Hệ thống tạo hình phomat cheddar

1. Tháp tạo khối đông
2. Bể chứa nguyên liệu
3. Cyclon
4. Đầu dò định mức nguyên liệu trong tháp 1
5. Bộ phận tạo chân không
6. Bộ phận tạo mặt đáy cho tháp 1 và dao cắt
7. Bộ phận nâng
8. Bộ phận chuyển dịch
9. Bộ phận phủ bao bì phomat bán thành phẩm
10. Băng tải đưa phomat bán thành phẩm đến thiết bị bao gói chân không
11. Cửa thoát cho huyết thanh sữa

c) Ủ chín

Quá trình ủ chín phomat được thực hiện ở $4 \div 8^0$C, độ ẩm tương đối của không khí trong phòng ủ không lớn hơn 80%.

Trong quá trình ủ chín, vi khuẩn lactic đồng hình thực hiện các biến đổi sinh học và hoá sinh tạo nên hương vị đặc trưng cho sản phẩm. Thời gian ủ chín kéo dài từ 4÷12 tháng.

d) Sản phẩm phomat Cheddar

Một số tiêu chuẩn lý hóa của phomat Cheddar như sau:

- Nước : 35,1%
- Chất béo: 33,1%
- Protein: 25,8%
- Calcium: 826mg/100g
- Vitamin B1: 0,03µg/100g
- Vitamin B2: 0,42µg/100g
- Vitamin A: 410µg/100g
- Acid nicotic: 0,09µg/100g

5.6. Công nghệ sản xuất phomat nấu chảy

Phomat nấu chảy là loại sản phẩm mới so với các loại phomat khác. Nó xuất hiện đầu tiên trên thị trường tại Thuỵ Sỹ vào năm 1910 do công ty Gerber sản xuất.

Nguyên tắc là sử dụng nhiệt độ cao để nấu chảy một loại hay nhiều loại phomat khác nhau, có bổ sung thêm sữa và một số chất phụ gia thực phẩm khác. Sau khi làm đồng nhất hỗn hợp đem đi đổ khuôn và làm nguội, sẽ thu được sản phẩm mới là phomat nấu chảy.

Sản phẩm phomat nấu chảy hiện nay rất đa dạng. Các chỉ tiêu lý hóa và cảm quan của chúng rất khác nhau. Nhìn chung, phomat nấu chảy có thể được chia thành hai nhóm:

- Nhóm I: phomat nấu chảy có nồng độ chất khô tương đối cao (tối thiểu là 50%). Sản phẩm thường được cắt thành miếng nhỏ để sử dụng.

- Nhóm II: phomat nấu chảy có nồng độ chất khô thấp (tối thiểu là 44%). Người tiêu dùng sẽ phết phomat lên bánh để sử dụng.

Ở Việt Nam, phomat nấu chảy đã xuất hiện từ vài chục năm gần đây. Một trong những thương hiệu của Pháp được người tiêu dùng biết đến là sản phẩm phomat nấu chảy có in hình đầu bò đang cười (La vache qui rit).

Một đặc điểm đặc trưng của phomat nấu chảy là hệ VSV trong sản phẩm đã bị tiêu diệt trong công đoạn xử lý nhiệt trong quy trình sản xuất. Vì vậy phomat nấu chảy dễ vận chuyển và bảo quản lâu hơn các sản phẩm phomat truyền thống.

5.6.1. Nguyên liệu sản xuất phomat nấu chảy

a) Phomat

Người ta có thể sử dụng các loại phomat khác nhau để sản xuất phomat nấu chảy:

- Loại phomat cứng, bán cứng như Emmenthal, Cheddar,…
- Loại phomat mềm, bán mềm: điển hình là nhóm phomat vân xanh
- Loại phomat mềm (phomat tươi): phomat Blanc

Để sản xuất phomat nấu chảy được tốt thì các nguyên liệu phomat ban đầu phải đạt những chỉ tiêu về hoá lý, cảm quan theo quy định trước khi đưa vào sản xuất.

b) Sữa và các sản phẩm từ sữa

Người ta sử dụng sữa tươi, sữa bột hoặc các sản phẩm từ sữa như cream, casein, bơ, huyết thanh sữa… làm nguyên liệu phụ trong sản xuất phomat nấu chảy.

Các yêu cầu về chất lượng đối với nhóm nguyên liệu này và tỷ lệ sử dụng do nhà sản xuất quy định riêng cho mỗi loại sản phẩm phomat nấu chảy.

c) Phụ gia thực phẩm

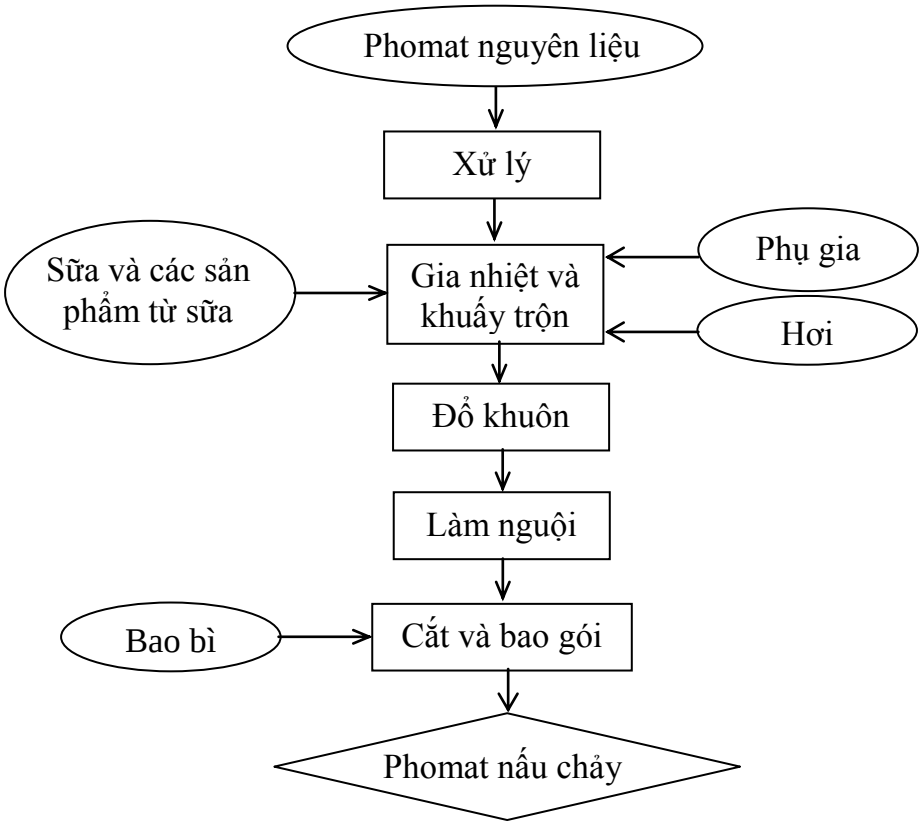
Để tạo cấu trúc gel cho phomat nấu chảy, thông thường sử dụng các nhóm phụ gia sau :

- Nhóm sodium polyphosphate (E.450)
- Sodium orthophosphate (E.339)
- Sodium citrate (E.331)
- Acid citric (E.330)

Bốn nhóm phụ gia trên đều nằm trong danh mục phụ gia thực phẩm cho phép sử dụng theo quy định hiện nay của Bộ Y tế Việt Nam.

5.6.2. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất phomat nấu chảy

Quy trình công nghệ sản xuất phomat nấu chảy rất đa dạng. Hình 5.30 giới thiệu một quy trình sản xuất phomat nấu chảy nhóm I (sản phẩm có nồng độ cao).



Hình 5.30. Sơ đồ quy trình sản xuất phomat nấu chảy có nồng độ chất khô cao

5.6.3. Thuyết minh quy trình công nghệ

a) Xử lý phomat nguyên liệu

Đây là giai đoạn chuẩn bị nguyên liệu. Tuỳ thuộc vào yêu cầu chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm mà ta có những phương pháp xử lý khác nhau.

Đối với nhóm phomat cứng như Emmenthal, đầu tiên nguyên liệu sẽ được tách bỏ lớp vỏ cứng xung quanh, sau đó rửa sạch bằng nước và cắt nhỏ trước khi cho vào máy nghiền mịn. Độ mịn sau khi nghiền càng cao thì quá trình xử lý nhiệt tiếp theo sẽ càng dễ thực hiện.

Đối với nhóm phomat không có lớp vỏ cứng thì người ta chỉ tiến hành rửa sạch và làm tương tự như trên.

b) Xử lý nhiệt

Mục đích của quá trình này là nấu chảy phomat nguyên liệu để phá vỡ hoàn toàn cấu trúc gel của phomat ban đầu, và dễ dàng phối trộn với các nguyên liệu và các phụ gia khác tạo thành một hỗn hợp đồng nhất. Một số biến đổi quan trọng diễn ra trong quá trình xử lý nhiệt:

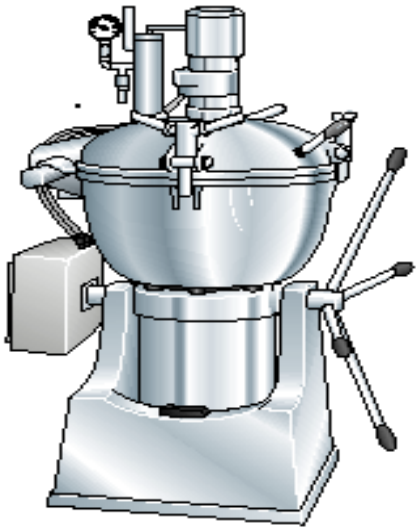
- Sự trao đổi giữa ion Na^+ và Ca^{2+}: các ion Ca^{2+} giữ vai trò quan trọng trong việc tạo nên cấu trúc gel casein trong phomat. Chúng liên kết các phân tử casein lại với nhau tạo nên một mạng lưới không gian định hình cho cấu trúc gel. Dưới tác dụng của nhiệt độ cao và sự khuấy trộn cơ học, một số ion Na^+ trong phụ gia sử dụng sẽ thế chỗ các ion Ca^{2+} đang liên kết với những phân tử casein trong phomat. Hiện tượng trên làm phá vỡ cấu trúc gel và giải phóng ra những phân tử casein tự do. Vì thế phomat nấu chảy sau này sẽ có cấu trúc gel và độ cứng hoàn toàn khác với phomat nguyên liệu ban đầu.

- Sự hydrat hóa: trong quá trình xử lý nhiệt, một số phân tử và nhóm chức háo nước trong hỗn hợp được hydrate hóa. Do đó, phomat nấu chảy sẽ có độ ẩm cao hơn và cấu trúc mềm hơn so với phomat nguyên liệu.

- Sự vô hoạt enzyme và tiêu diệt VSV: nhiệt độ cao sẽ vô hoạt bất thuận nghịch enzyme và tiêu diệt hệ VSV trong hỗn hợp nguyên liệu và phụ gia. Nhờ đó, sản phẩm phomat nấu chảy có thời gian bảo quản dài hơn so với các sản phẩm phomat khác.

Quá trình xử lý nhiệt thường được thực hiện trong thiết bị hình trụ đứng có cánh khuấy (hình 5.31). Để gia nhiệt, người ta có thể phối trộn trực tiếp hơi với nguyên liệu thông qua đường ống dẫn hơi bên trong thiết bị. Tuy nhiên, lượng hơi phối trộn bị hạn chế bởi lượng nước cần bổ sung vào thiết bị, phải có thêm lớp vỏ áo để cấp hơi bổ sung nhằm ổn định nhiệt độ hỗn hợp trong suốt quá trình khuấy trộn.

Cách thực hiện: hỗn hợp nguyên liệu và phụ gia được đảo liên tục và gia nhiệt đến $90 \div 95^0$C. Có những trường hợp người ta tăng lên từ $120 \div 125^0$C và thậm chí lên tới $135 \div 140^0$C. Quá trình đảo trộn và gia nhiệt như vậy sẽ đạt được độ đồng nhất của phomat.



Hình 5.31. Nồi nấu phomat

Yêu cầu quan trọng là sau quá trình xử lý nhiệt và khuấy trộn, hỗn hợp nguyên liệu và phụ gia phải đạt độ đồng nhất cao.

Các quá trình tiếp theo trong quy trình sản xuất phải được thực hiện trong điều kiện vô trùng để hạn chế sự nhiễm VSV từ môi trường bên ngoài vào sản phẩm.

c) Đổ khuôn, làm nguội cắt và bao gói sản phẩm

Sau quá trình gia nhiệt, hỗn hợp được đem đi đổ khuôn và làm nguội để tạo cấu trúc gel đặc trưng cho phomat nấu chảy. Do có sự trao đổi giữa ion Na^+ và Ca^{2+} nên cấu trúc gel mới được hình thành khác hẳn với phomat nguyên liệu ban đầu. Các ion Na^+ làm cho gel phomat nấu chảy trở nên mềm hơn. Ngoài ra phomat nấu chảy có độ ẩm cao hơn phomat nguyên liệu ban đầu.

Tiếp theo là quá trình cắt khối phomat nấu chảy, tạo sản phẩm có hình dạng khác nhau. Phomat nấu chảy thường được bao gói trong giấy nhôm, các thiết bị bao gói tự động, năng suất bao gói 60, 80, 100, 200, 400 sản phẩm/phút.

5.6.4. Sản phẩm phomat nấu chảy

Chất lượng sản phẩm phomat nấu chảy được đánh giá qua các nhóm chỉ tiêu : hoá lý, vi sinh và cảm quan.

Trong nhóm chỉ tiêu hóa lý: độ ẩm, hàm lượng chất khô và hàm lượng chất béo là ba chỉ tiêu quan trọng nhất. Theo quy định của Pháp, hàm lượng chất béo không thấp hơn 40% tổng chất khô trong sản phẩm.

Chỉ tiêu về vi sinh vật: mặc dù hầu hết các VSV và hệ enzyme trong phomat nấu chảy phải được vô hoạt, các nhà sản xuất vẫn khuyến cáo bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ $8 \div 12^0$C, tránh tiếp xúc với ánh sáng và oxy không khí.

Chỉ tiêu cảm quan: sản phẩm có cấu trúc gel đặc trưng, do đó khi vận chuyển

tránh va chạm và tránh sự thay đổi đột ngột về nhiệt độ.

5.7. Các phương pháp hạn chế sự phát triển của vi sinh vật có hại đối với chất lượng của phomat

Vị và mùi thơm của phomat được tạo thành chủ yếu dưới tác dụng của enzyme do vi khuẩn tạo ra. Tuy nhiên, trong quá trình sản xuất phomat rất dễ bị vi khuẩn có hại và vi trùng xâm nhập là ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi và chất lượng của sản phẩm, nguyên nhân do:

- Trong sản xuất phomat, người ta không sử dụng chế độ nhiệt độ cao làm tiêu diệt hoàn toàn vi sinh vật. Bởi vì khi đó sẽ gây ra sự thay đổi không thuận nghịch các tính chất lý hóa của sữa, biến sữa đó thành nguyên liệu không dùng được để sản xuất phomat.

- Nhiệt độ thanh trùng sữa để sản xuất phomat thấp hơn đối với các sản phẩm khác ($72 \div 75^0$C trong 15÷20s), nhiệt độ này không tiêu diệt được các nha bào, các vi khuẩn chịu nhiệt.

- Do thường xuyên tiếp xúc với môi trường bên ngoài nên có thể có một số loại vi trùng khác xâm nhập vào (trực khuẩn đường ruột, vi khuẩn butyric) kết quả làm phomat dễ hư hỏng và còn có thể là nguyên nhân gây ngộ độc thực phẩm.

- Độ acid hoạt động của hầu hết các loại phomat nằm trong khoảng 5,1÷5,7. Chính ở độ pH này rất thuận lợi cho nhiều loại vi khuẩn gây hư hỏng phomat (trực khuẩn đường ruột, vi khuẩn *Butyric, E.coli, Staphylococcus, Salmonella* v.v.).

- Áp suất thẩm thấu và nước liên kết trong phomat ở mức khá phù hợp với sự phát triển của vi khuẩn.

- Điều kiện sản xuất phomat rất thích hợp với sự phát triển của cả vi khuẩn có lợi và có hại cũng như các phản ứng chuyển hóa các thành phần của sữa.

Từ những nguyên nhân trên, để hạn chế sự phát triển của vi sinh vật có hại cần chú trọng các phương pháp sau:

- Phương pháp công nghệ là làm thay đổi các tính chất vật lý và hóa học của hạt phomat (pH, độ ẩm, nhiệt độ, thời gian lên men…) nhằm tạo ra điều kiện không thuận lợi cho vi khuẩn có hại phát triển. Giảm độ ẩm tương đối và giảm nhiệt độ ngâm chín phomat có tác dụng hạn chế rõ rệt các vi khuẩn trên bề mặt và vi khuẩn butyric. Tuy nhiên, những thay đổi về mặt công nghệ có thể làm giảm chất lượng sản phẩm. Ví dụ như khi để hạt phomat khô quá hoặc giảm nhiệt độ ngâm chín làm trạng thái của phomat không bình thường, giảm năng suất thu thành phẩm và mùi vị phomat không đặc trưng. Khi trộn quá nhiều muối vào hạt phomat thì tốc độ phát triển của các *Streptococcus* bị giảm đáng kể mặc dù ở điều kiện này các trực khuẩn đường ruột và vi khuẩn butyric không phát triển được.

- Phương pháp hóa học là bổ sung vào sữa hoặc hạt phomat những hợp chất hóa học để hạn chế sự phát triển của vi khuẩn có hại. Những hợp chất này phải không độc, không có hại đối với sức khỏe và không làm thay đổi các tính chất cảm quan của phomat.

- Ngoài ra vệ sinh thiết bị, nhà xưởng và môi trường là rất quan trọng.

5.8. Các quá trình sinh hóa cơ bản xảy ra trong sản xuất phomat

Trong sản xuất phomat có thể chia thành hai giai đoạn có liên quan chặt chẽ với nhau.

* Giai đoạn 1: bao gồm tất cả các quá trình từ sữa nguyên liệu đến khi tạo thành

phomat. Ở giai đoạn này, sự đông tụ sữa bằng chymosin là quan trọng nhất. Kết quả của sự đông tụ này là tạo thành calcium paracaseinat dưới dạng gel. Tính chất của quện sữa phụ thuộc vào số lượng và hoạt độ của renin, lượng ion Ca^{2+} trong sữa và pH của sữa. Khi cho nhiều chymosin hoat độ cao vào sữa thì sự đông tụ càng nhanh và tăng lượng calcium hòa tan trong sữa, quện sữa sẽ mịn. Khi gia nhiệt sữa $70 \div 80^0C$, calcium hòa tan sẽ chuyển thành calcium phosphate không hòa tan $Ca_3(PO_4)_2$ tức là giảm ion Ca^{2+}, quá trình đông tụ sữa sẽ chậm lại, quện sữa không mịn.

Khi pH càng thấp thì sự đông tụ càng nhanh. Tuy nhiên có giới hạn, ở pH 6,2 là điều kiện tốt nhất cho chymosin tác dụng. Nếu pH thấp hơn nữa thì khi đó casein đông tụ không phải do chymosin mà là do acid.

* Giai đoạn 2: là quá trình chín sinh học. Quá trình này phụ thuộc không chỉ vào điều kiện, quá trình ngân chín mà còn phụ thuộc vào chính điều kiện kết tủa casein bằng renin, xử lý hạt phomat, nhiệt độ đun lần 2 … Có thể nói rằng quá trình chín của phomat bắt đầu từ rất sớm, tức là ngay từ lúc đông tụ. Tuy nhiên, sự biến đổi sinh hóa sâu sắc các thành phần của sữa mà kết quả tạo ra mùi vị đặc trưng của phomat xảy ra chủ yếu ở giai đoạn này. Trong quá trình ủ chín phomat, các thành phần của sữa biến đổi sâu sắc dưới tác dụng của các enzyme khác nhau:

- Lactose được chuyển hóa hoàn toàn đến acid lactic và hàng loạt các hợp chất khác nhau
- Protein bị thủy phân một phần (phụ thuộc vào từng loại phomat) đến peptid, acid amin
- Chất béo bị chuyển hóa tạo ra một số acid béo bay hơi và không bay hơi

Quá trình ngâm chín còn làm biến đổi cấu trúc, trạng thái của phomat. Sự biến đổi các thành phần và cấu trúc trong quá trình ủ chín là kết quả của sự tác động kết hợp giữa chymosin và các vi khuẩn lactic.

5.8.1. Sự biến đổi của lactose

Dưới tác dụng của vi khuẩn lactic, lactose bị biến đổi rất nhanh. Sau 5÷10 ngày thì hầu như chấm dứt. Sản phẩm chính của sự biến đổi này là acid lactic. Vi khuẩn lên men lactic đồng nhất chuyển hóa hoàn toàn lactose thành acid lactic. *Steptococcus lactic* có khả năng tạo acid lactic cao nhất là 97%, *Steptococcus paracitrovorus* 66%, và *Steptococcus diacetilactic* ở mức trung bình.

Độ acid của phomat tăng rất nhanh ở những ngày đầu, sau đó chậm lại và ở cuối giai đoạn ủ chín tăng rất chậm. Không phải toàn bộ lactose chuyển thành acid lactic với lượng tương ứng. Một phần lactose được sử dụng cho quá trình lên men khác để tạo thành diacetyl, acetoin, acid bay hơi, rượu. Một phần acid lactic được tạo thành lại chuyển hóa tiếp dưới tác dụng của vi khuẩn để thành acid propionic, acid acetic, acid butyric, CO_2…

$$3CH_3CHOHCOOH \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + CH_3COOH + CO_2 + H_2O$$

Acid lactic còn tương tác với các thành phần của phomat như tham gia phản ứng trao đổi ion với muối, tạo thành các phức với protein… Ví dụ trong phản ứng trao đổi ion, lactose đã giải phóng acid phosphoric, acid citric từ muối của chúng:

$$Ca(H_2PO_4)_2 + 2CH_3CHOHCOOH \rightarrow 2H_3PO_4 + (CH_3CHOHCOO)_2Ca$$

$$C_6H_5O_7Na_3 + 3CH_3CHOHCOOH \rightarrow C_6H_8O_7 + 3CH_3CHOHCOONa$$

Hai phản ứng này xảy ra ngay ở giai đoạn đầu khi acid lactic được tạo thành. Khi pH đạt 6,25 acid lactic đã tham gia vào phản ứng trao đổi ion vơi phức calcium

phosphate paracasein. Calcium trong phức tồn tại ở hai dạng: liên kết với protein và calcium phosphate ở dạng keo.

Lượng acid lactic tạo thành ảnh hưởng đến chất lượng của phomat. Nếu quá cao sẽ hạn chế sự phát triển của vi khuẩn lactic, làm thay đổi phức protein – calciphosphate theo chiều hướng không có lợi cho trạng thái của phomat. Ngược lại, nếu hàm lượng acid lactic thấp (pH>6) tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn có hại hoạt động làm giảm chất lượng của phomat.

5.8.2. Sự biến đổi của các protein

Sự biến đổi sinh hóa các protein trong phomat xảy ra chủ yếu ở giai đoạn ngâm chín. 90% nitơ hòa tan trong phomat được tạo thành do kết quả của sự tác động phối hợp của chymosin và các protease vi khuẩn.

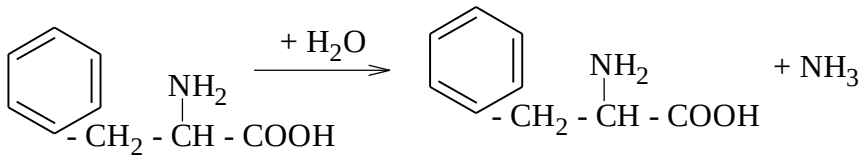
Theo nhiều nghiên cứu, chymosin có vai trò là tác nhân đông tụ sữa và thủy phân không sâu protein thành một số sản phẩm có tác dụng thúc đẩy sự hoạt động của vi khuẩn lactic. Chính protease của vi khuẩn lactic mới tiếp tục thủy phân protein. Các protease vi khuẩn phá vỡ các liên kết peptid, disulfit… tạo thành các proteose, các polypeptid, peptid và cuối cùng thành các acid amin.

Trong quá trình ủ chín, một số acid amin bị phân hủy, một số khác lại biến đổi thành acid amin mới. Số lượng cũng như thành phần acid amin tự do trong phomat phụ thuộc vào từng loại, phụ thuộc vào hàm lượng nước, nhiệt độ đun lần hai, thành phần chủng vi khuẩn,…

Trong quá trình ủ chín, tổng hàm lượng acid amin tự do không ngừng tăng (mặc dù có thể hàm lượng của acid amin này giảm trong khi acid amin khác tăng).

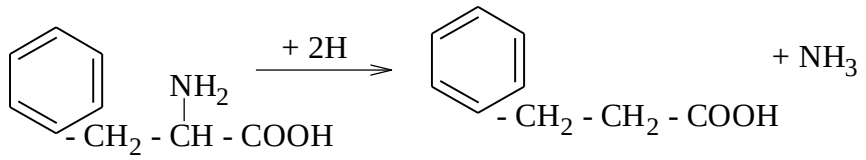
Người ta nhận thấy nếu tiếp tục quá trình ủ chín đến một mức nào đó thì acid amin dưới tác dụng của enzyme oxy hóa – khử của vi khuẩn sẽ tham gia hàng loạt phản ứng khác nhau như chuyển nhóm amin, khử CO_2… kết quả tạo thành hàng loạt chất mới có tác dụng tạo mùi vị cho phomat.

Trong nhiều loại phomat, người ta tìm thấy acid phenylpropionic, nó có thể đã được tạo thành từ sự deamin của phenylalanin.



Phenylalanin Acid phenyloxypropionic

Phenylalanin cũng có thể phản ứng theo một cách khác để tạo thành acid phenylpropionic.



Phenylalanin Acid phenyloxypropionic

Đối với alanin cũng xảy ra phản ứng tương tự tạo thành acid propionic và acid piruvic theo các phản ứng sau:

$$CH_3 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH \xrightarrow{+\,2H} CH_3 - CH_2 - COOH + NH_3$$

Alanin — Acid propionic

$$CH_3 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH \xrightarrow{-\,2H} CH_3 - \underset{\underset{NH}{||}}{CH} - COOH \xrightarrow{+2H_2O} CH_3 - CO - COOH + NH_3$$

Alanin — Acid pyruvic

Tuy nhiên, việc tìm thấy trong phomat acid propionic và acid piruvic chưa hẳn đã chứng minh được đó là kết quả của sự deamin của alanin bởi như ta đã biết acid piruvic là sản phẩm trung gian, còn acid propionic là sản phẩm cuối của sự lên men lactose.

Trong một số loại phomat, người ta tìm thấy acid suxinic và acid α-cetoglutamic là kết quả của sự deamin của acid aspartic và glutamic.

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \xrightarrow{+2H} \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3$$

Acid aspartic — Acid sucinic

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \xrightarrow{+1/2O_2} \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3$$

Acid aspartic — Acid α-cetoglutamic

Tất cả các dạng deamin (khử, thủy phân, oxy hóa) của các acid amin trong phomat xảy ra dưới tác động của vi khuẩn lactic. Sự thay đổi số lượng và tỷ lệ giữa các acid amin tự do trong phomat xảy ra mạnh mẽ nhờ sự hoạt động của vi khuẩn propionic.

Như vậy, các acid amin tự do trong phomat đã tham gia hàng loạt các phản ứng oxy hóa khử mà kết quả tạo hàng loạt các chất có tác động đến chất lượng mùi vị và trạng thái của phomat (các acid béo, xeton, acid amin, aldehyt, NH_3, CO_2…).

5.8.3. Sự biến đổi của chất béo

Các biến đổi của chất béo xảy ra theo hai hướng: thủy phân và oxy hóa. Mức độ thủy phân chất béo trong phomat cứng và phomat mềm là rất khác nhau, thủy phân sâu xảy ra ở phomat mềm, trong khi ở phomat cứng sự thủy phân xảy ra rất yếu.

Ở phomat mềm, sự thủy phân phụ thuộc vào hệ vi khuẩn trên bề mặt. Một số loại mốc, vi khuẩn *Micrococci* hoạt động rất mạnh và tích tụ một lượng đáng kể acid béo, đặc biệt là acid béo bay hơi để tạo ra mùi vị đặc trưng của phomat.

Trong phomat đã chín hàm lượng acid béo tự do ở vỏ và trong ruột không giống nhau. Ở lớp vỏ quá trình thủy phân chất béo xảy ra mạnh mẽ hơn do tác động của hệ vi khuẩn bề mặt (nấm mốc, nấm men, vi khuẩn hiếu khí).

Trong tất cả các loại phomat, người ta đều tìm thấy các acid butyric, acetic… Acid acetic không phải là kết quả của sự thủy phân chất béo mà là kết quả của sự lên men lactose. Acid formic là sản phẩm của sự chuyển hóa chất béo của vi khuẩn. Acid butyric có nhiều trong phomat mềm (mà quá trình chín có sự tham gia của nấm mốc).

Trong phomat mềm còn có acid caproic, capylic và capric. Khi bảo quản thời gian dài, trong các phomat này còn tạo thành các acid valerianic, izovalerianic. Ngoài sự tích tụ các acid béo, trong phomat mềm đặc biệt là loại có mốc, còn tạo thành các xeton, aldehyt và các hợp chất khác. Thành phần quan trọng tạo nên mùi vị của các loại phomat mềm là metylxeton. Metylxeton được tạo thành theo sơ đồ sau:

$$R - CH_2 - CH_2COOH \xrightarrow{O_2} R - \underset{\underset{O}{||}}{C} - CH_2COOH \longrightarrow R - \underset{\underset{O}{||}}{C} - CH_3 + CO_2$$

Như vậy các sản phẩm của sự thủy phân và oxy hóa chất béo trong phomat mềm đã tạo cho chúng mùi vị rất đặc trưng.

Trong phomat cứng, mức độ thủy phân và oxy hóa chất béo thấp hơn, kết quả tạo thành một lượng nhỏ acid butyric, capylic và caprylic, chính các sản phẩm này tham gia vào sự tạo mùi thơm.

Tóm lại:

Trong quá trình chín của phomat, hàng loạt các biến đổi đã xảy ra đối với các thành phần của phomat. Lactose bị chuyển hóa hoàn toàn thành acid lactic và các sản phẩm khác. Protein bị biến đổi sâu sắc thành các polypeptid, acid amin, acid béo, amin, … Sự chuyển hóa chất béo trong phomat đã tham gia vào sự tạo thành mùi vị ở những mức độ khác nhau. Trong đó protein và chất béo đóng vai trò hết sức quan trọng.

Mùi và vị của phomat là kết quả sự phối hợp của nhiều các hợp chất hóa học, tức là các sản phẩm của sự chuyển hóa protein, chất béo, lactose. Trong quá trình chín, mùi vị của phomat luôn thay đổi cùng với sự tích tụ các sản phẩm của sự chuyển hóa các chất.

Khi phomat chín, tức là lúc mà sự biến đổi protein, chất béo và lactose phù hợp nhất. Nói một cách khác, thời điểm phomat chín là lúc chúng có mùi vị hài hòa nhất, đặc trưng nhất. Nếu tiếp tục kéo dài thời gian ủ chín ngay cả khi điều kiện tốt thì tỷ lệ các chất tạo mùi và tạo vị sẽ thay đổi, khi đó sẽ làm giảm chất lượng phomat. Tính chất cảm quan của phomat sẽ là tốt nhất khi tỷ lệ hàm lượng các chất này cân đối.

5.8.4. Sự tạo thành các chất khí

Trong quá trình ủ chín phomat, hàng loạt các phản ứng hóa sinh đã xảy ra, kết quả giải phóng các loại khí amoniac, cacbon dioxyt, hydro… các chất khí tạo thành trong khối hạt phomat sẽ tạo thành các lỗ rỗng ở phomat thành phẩm.

- Amoniac được tạo thành ở phản ứng deamin. Thông thường amoniac tạo thành trên lớp bề mặt ngoài của phomat, nơi mà ở đó phản ứng deami n xảy ra mạnh mẽ. Một phần amoniac lại tích tụ ở dạng tự do, đó là lý do vì sao ở hầm bảo quản phomat có mùi amoniac

- Khí hydro được giải phóng trong quá trình lên men butyric của lactose và từ

quá trình hoạt động của vi khuẩn đường ruột. Khí hydro hòa tan kém trong nước, dễ dàng khuếch tán do đó trong phomat, lượng khí hydro rất nhỏ, Tuy nhiên, nếu quá trình lên men butyric xảy ra quá mạnh mẽ thì lượng hydro tạo ra sẽ rất nhiều, khi đó các lỗ hổng trong phomat là quá lớn (phomat bị rỗ).

- Cacbon dioxyt chiếm tới 90% tổng số chất khí trong phomat. Chất khí này được tạo thành trong quá trình chuyển hóa lactose bởi các vi khuẩn tạo mùi thơm, vi khuẩn propionic và vi khuẩn butyric, cũng như từ quá trình khử CO_2 của các acid béo và acid amin. Khí CO_2 hòa tan tốt trong nước, số lượng khí CO_2 tạo thành dung dịch quá bão hòa (bởi CO_2) trong khối phomat, vì vậy khi gặp điều kiện thuận lợi thì giải phóng ra. Khí CO_2 tích tụ trong các khoảng trống và lớn dần rồi tạo thành lỗ hổng. Khí CO_2 giải phóng nhanh thì cùng một lúc có nhiều trung tâm tích tụ khí này, kết quả có nhiều lỗ hổng với kích thước nhỏ. Ngược lại, khí CO_2 giải phóng chậm thì lỗ hổng tạo thành ít nhưng kích thước lớn hơn.

Người ta còn nhận thấy nếu dùng chủng chỉ gồm *Streptococcus lactic* thì phomat thành phẩm sẽ không có lỗ hổng. Trong khi đó *Streptococcus paracitrovorus* lại có khả năng tạo khí nhiều nhất.

Ngoài CO_2, H_2, NH_3 trong thành phần khí còn có O_2 và N_2. Có thể khí O_2 và N_2 đã lọt vào phomat trong quá trình đổ hạt phomat vào khuôn. Khí O_2 ảnh hưởng xấu tới chất lượng phomat vì nó sẽ oxy hóa chất béo, tuy nhiên O_2 được vi khuẩn sử dụng nên mất đi rất nhanh.

6. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BƠ

6.1. Giới thiệu chung

Bơ (butter) là sản phẩm chế biến từ chất béo sữa. Hàm lượng chất béo trong bơ rất cao và chiếm trung bình 80% khối lượng sản phẩm. Có nhiều cách khác nhau để phân loại bơ.

Dựa theo quy trình sản xuất, người ta chia bơ thành hai nhóm chính:

- Bơ được sản xuất bằng phương pháp đảo trộn
- Bơ được sản xuất bằng phương pháp liên tục có sử dụng máy làm bơ liên hoàn

Theo mùi vị chủ yếu của sản phẩm, có thể chia làm các loại:

- Bơ ngọt (*sweet cream butter*) là bơ không lên men, trong quy trình sản xuất bơ không có quá trình lên men lactic
- Bơ chua (*sour cream butter*) hay bơ lên men (*cultured cream butter*), trong quy trình sản xuất có quá trình lên men lactic, quá trình này được thực hiện sau khi thanh trùng nguyên liệu, nhằm tạo ra hương vị đặc trưng cho sản phẩm
- Bơ mặn hoặc bơ nhạt: Bơ nhạt (không chứa muối) có hàm lượng muối NaCl trong sản phẩm không lớn hơn 0,2%; Bơ mặn (có muối), trong đó bơ có hàm lượng muối thấp là bơ có chứa muối NaCl trong sản phẩm khoảng 0,2÷1%, bơ có hàm lượng muối cao là bơ có chứa lượng muối NaCl trong sản phẩm 2%.

Thành phần chính của bơ:

- Nước 16÷18%;
- Chất béo 80÷83%;
- Muối 0÷2%; Protein 0,7%;
- Vitamin A là 2500 đơn vị quốc tế/100g;
- Vitamin D là 55 đơn vị quốc tế/100g.

6.2. Nguyên liệu trong sản xuất bơ

6.2.1. Cream

Nguyên liệu chính trong sản xuất bơ là cream. Cream có thể được thu nhận từ nguyên liệu sữa tươi bằng phương pháp ly tâm hoặc thu mua về. Hàm lượng chất béo trong cream thường dao động trong khoảng 35÷40%.

Để đánh giá chất lượng cream, người ta dựa vào ba nhóm chỉ tiêu là cảm quan, hóa lý và vi sinh.

Trong nhóm chỉ tiêu cảm quan, mùi và vị của cream là quan trọng nhất. Cream không được có mùi vị lạ, đặc biệt là mùi ôi do chất béo bị oxy hóa.

Đối với các chỉ tiêu hóa lý, ngoài hàm lượng chất béo, người ta thường quan tâm đến chỉ số iod của cream. Nếu chỉ số iod quá cao (lớn hơn 42), bơ thành phẩm sẽ có cấu trúc rất mềm. Ngược lại, nếu chỉ số iod quá thấp (nhỏ hơn 28), bơ sẽ trở nên cứng và khó phết lên bánh khi sử dụng.

Đối với sản phẩm bơ lên men, nguyên liệu cream không được chứa các chất kháng sinh và không bị nhiễm các chất tẩy rửa công nghiệp. Những chất này sẽ ức chế sự hoạt động của các vi khuẩn lactic và kéo dài thời gian lên men. Hơn nữa, hàm lượng các sản phẩm trao đổi chất do vi khuẩn giống tạo ra sẽ không cân đối và ảnh hưởng không tốt đến hương vị sản phẩm.

Vi sinh vật trong cream càng thấp càng tốt. Người ta thường chú ý đến nhóm vi khuẩn ưa lạnh vì chúng có khả năng sinh tổng hợp enzyme lipase chịu nhiệt. Trong quá trình thanh trùng cream, hầu hết các vi sinh vật bị tiêu diệt. Enzyme này xúc tác quá trình thủy phân chất béo, làm thay đổi thành phần chất béo trong nguyên liệu. Giải pháp để khắc phục hiện tượng này là phải tiến hành thanh trùng sữa tươi ngay khi mới nhập về, rồi bảo quản sữa ở nhiệt độ thấp (2÷4^{0}C) trước khi đem vào chế biến. Chế độ thanh trùng là 63÷65^{0}C, trong 15 giây. Khi đó nhóm VSV ưa lạnh sẽ bị tiêu diệt hoàn toàn.

Nếu trong sản xuất, các nhà máy không có điều kiện thanh trùng ngay sữa tươi mới thu mua thì phải tiến hành làm lạnh và bảo quản sữa ở 2÷4^{0}C, trong thời gian tối đa 24 giờ tiếp theo phải thực hiện quá trình thanh trùng sữa. Trong trường hợp mua cream nguyên liệu có chất lượng không tốt như cream có độ chua cao (15÷20^{0}D) thì cần tiến hành xử lý cream trước khi đưa vào sản xuất bơ.

Một trong những phương pháp xử lý thông dụng là rửa cream bằng nước sạch với tỷ lệ cream/nước là 1/2 (v/v). Sau đó tiến hành ly tâm để tách nước. Ngoài ra, có thể sử dụng phương pháp trung hòa để làm giảm độ chua của nguyên liệu cream. Hóa chất thường dùng là CaO, $Ca(OH)_2$.

Cream được phân loại trên cơ sở các tiêu chuẩn về cảm quan, độ chua, hàm lượng chất béo và chỉ tiêu vi sinh vật (bảng 5.23)

Bảng 5.23. Các tiêu chuẩn cơ bản để phân loại cream

STT	*Chỉ tiêu*	*Cream*	
		Loại I	*Loại II*
1	Mùi vị	Thơm mát, hoàn toàn không có mùi vị lạ	Có thể có mùi vị lạ (thức ăn …)
2	Trạng thái	Đồng nhất, không có bơ	Đồng nhất, có thể có cục

STT	Chỉ tiêu	Cream	
		Loại I	*Loại II*
		vón cục	vón của bơ
3	Độ chua, ^{0}T	14	17
4	Độ bền với nhiệt độ	Protein không đông tụ dưới dạng hạt lớn vón	Có thể có lởn vởn của protein bị đông tụ
5	Vi sinh vật tổng số, thời gian mất màu	Trên 3 giờ	Dưới 3 giờ
6	Nhiệt độ	< 10^{0}C	< 10^{0}C

Đối với trường hợp cream có hàm lượng chất béo khác nhau, người ta còn phân loại chúng theo độ chua (bảng 5.24)

Bảng 5.24. Phân loại cream theo độ chua

Hàm lượng chất béo của cream, %	*Độ chua của cream, ^{0}T (không quá)*	
	Loại I	*Loại II*
20÷25	16	20
26÷31	15	19
32÷37	14	17
38÷43	13	16

Chú ý: Nghiêm cấm việc trộn cream loại I và loại II với nhau.

6.2.2. Vi sinh vật

Trong sản xuất bơ lên men, người ta sử dụng vi khuẩn lactic dạng LD. Thường gặp nhất là *Streptococcus diacetylactis* và *Leuconotos citrovorum*. Trong quá trình lên men, ngoài acid lactic, chúng sinh tổng hợp các hợp chất dễ bay hơi như aldehyde acetic, diacetyl, acetoin… Các hợp chất này sẽ tạo cho sản phẩm bơ hương vị đặc trưng.

6.2.3. Các phụ gia

Chất màu: Màu sắc của bơ do các hợp chất carotenoid có trong cream nguyên liệu quyết định. Thông thường, vào mùa đông hàm lượng các hợp chất trên trong sữa thấp hơn mùa hè nên bơ thành phẩm có màu nhạt hơn. Người ta cho phép sử dụng một số chất màu thực phẩm trong sản xuất bơ. Ví dụ như ở Pháp, các chất màu có nguồn gốc thiên nhiên sau đây được phép sử dụng:

- Curcumine (E100)
- Lactoflavin (E101)
- Cochenille (E120)
- Indigotine (E132)
- Chlorophylle (E140)
- Caramel (E150)
- Carbonmedicinalis vegetalis (E153)
- Carotenoides (E160)
- Anthocyanine (E163)

Muối NaCl: yêu cầu độ tinh sạch của muối không được thấp hơn 99,7%.

Chất chống oxy hóa: phổ biến nhất là gallat propyle, gallat octyle, gallat dodecyle, butyl hydroxy anisol (BHA) hoặc butyl hydroxy toluen (BHT). Sử dụng không quá 0,01%.

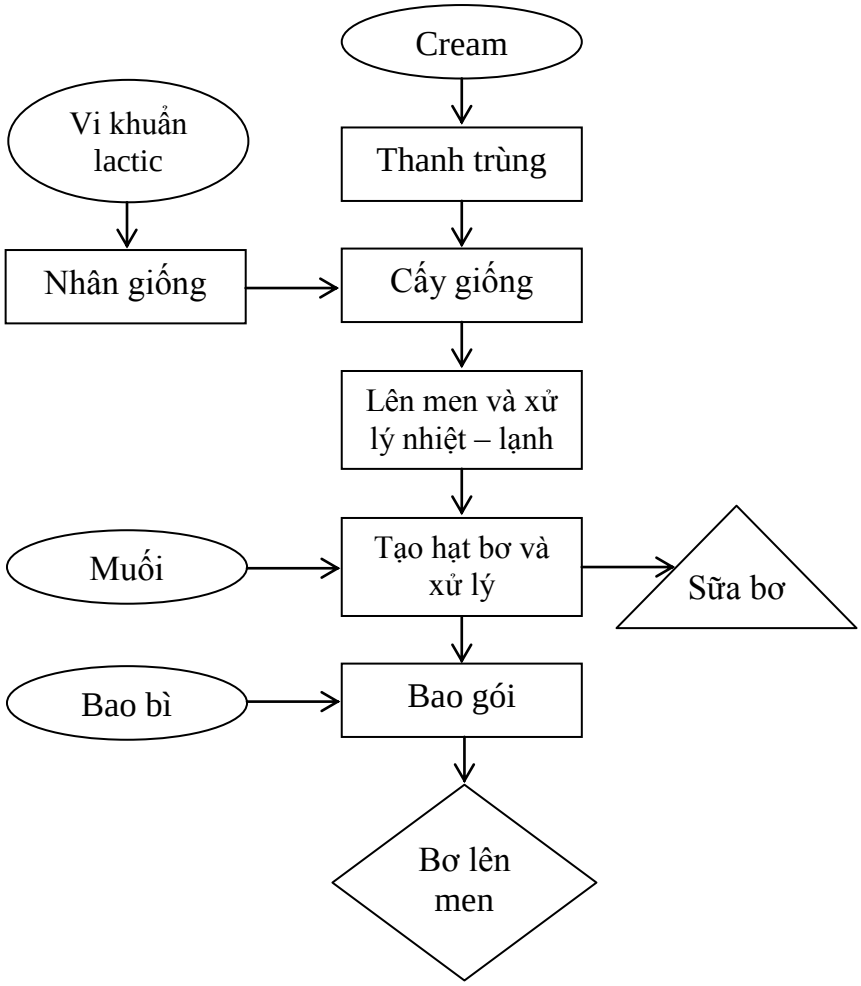
Các gia vị khác: để đa dạng hóa sản phẩm bơ trên thị trường, co thể sử dụng một số gia vị khác. Việc lựa chọn gia vị phụ thuộc vào thị hiếu người tiêu dùng và quy định của mỗi nước. Các gia vị được sử dụng có thể là tiêu, tỏi, mùi tây, củ đinh hương, …

6.3. Quy trình công nghệ sản xuất bơ

6.3.1. Quy trình công nghệ sản xuất bơ lên men

a) Sơ đồ quy trình công nghệ

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất bơ lên men từ cream được trình bày ở hình 5.32. Mô hình thiết bị dây chuyền sản xuất bơ lên men từ nguyên liệu sữa được mô tả ở hình 5.33.



Hình 5.32. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất bơ lên men

b) Thuyết minh quy trình công nghệ

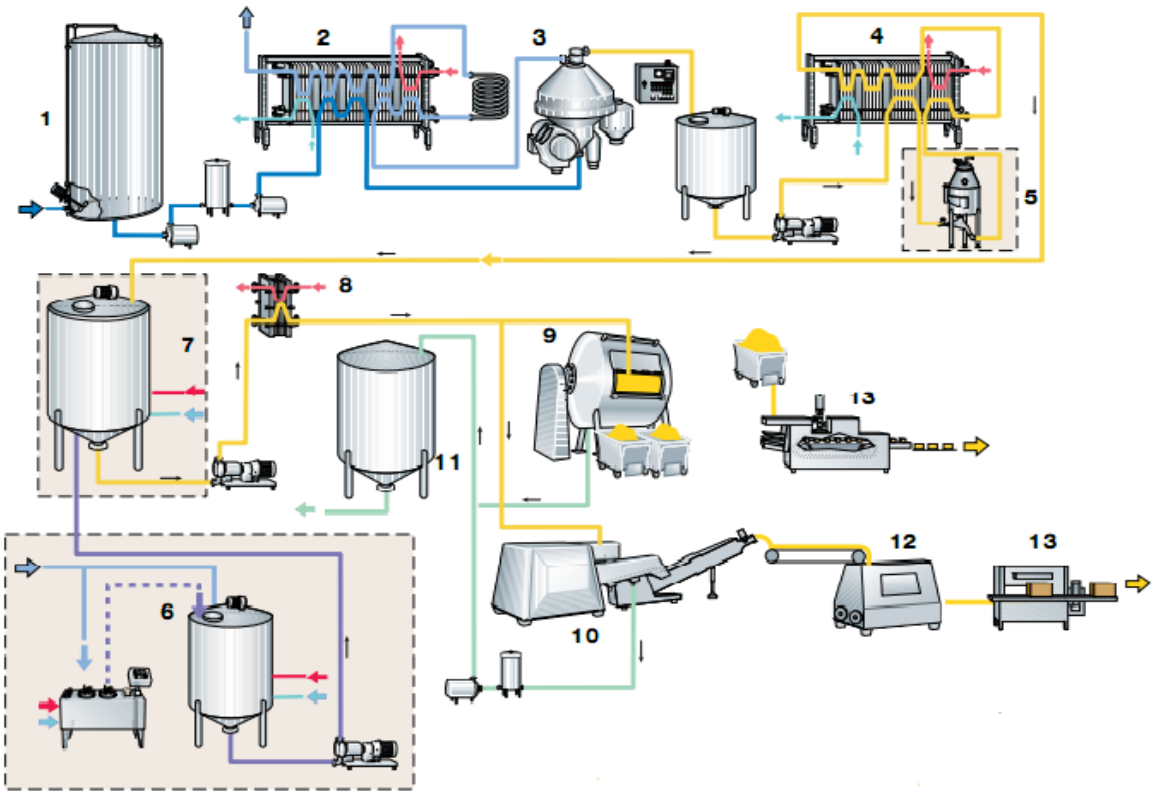
* Thanh trùng

Mục đích của quá trình thanh trùng là tiêu diệt hệ VSV và ức chế hoạt tính các enzyme trong cream.

Tiến hành thanh trùng ở nhiệt độ 90÷95^{0}C, trong thời gian 15÷20 giây. Nếu cream có chất lượng tốt, người ta thường gia nhiệt nhanh nguyên liệu đến 95^{0}C rồi làm nguội ngay. Nếu tăng nhiệt độ và thời gian thanh trùng thì hiệu quả của quá trình thanh

trùng sẽ tăng. Tuy nhiên, cream sẽ có mùi và ảnh hưởng xấu đến chất lượng bơ thành phẩm.

Trong trường hợp cream có mùi lạ, người ta sử dụng phương pháp bài khí trong điều kiện chân không để tách các cấu tử dễ bay hơi ra khỏi cream. Quá trình bài khí sẽ được kết hợp thực hiện cùng với quá trình thanh trùng cream. Đầu tiên, cream sẽ được bơm vào thiết bị trao đổi nhiệt dạng bảng mỏng để gia nhiệt lên đến 78^0C. Tiếp theo, cream được đưa vào bồn chân không để thực hiện quá trình bài khí. Áp suất chân không cần điều chỉnh sao cho nhiệt độ sôi của cream trong bồn dao động quanh giá trị 62^0C. Khi đó, các cấu tử dễ bay hơi sẽ được tách ra khỏi cream. Cuối cùng, cream được đưa trở lại hệ thống trao đổi nhiệt bản mỏng để gia nhiệt tiếp lên đến 95^0C rồi làm nguội.



Hình 5.33. Mô hình thiết bị sản xuất bơ lên men

1.Tiếp nhận sữa; 2.Thanh trùng sữa; 3.Tách chất béo; 4.Thanh trùng cream; 5.Tách khí; 6.Chuẩn bị lên men; 7.Lên men; 8.Xử lý nhiệt; 9.Tạo hạt bơ từng mẻ; 10.Tạo hạt bơ liên tục; 11.Thu sữa bơ; 12.Silo chứa bơ; 13.Bao gói

* Cấy giống vi sinh vật

Trong các nhà máy sản xuất bơ có thể sử dụng sinh khối vi khuẩn lactic dưới dạng sấy thăng hoa do các hãng chuyên sản xuất giống VSV cung cấp. Nếu không họ có thể tự nhân giống để phục vụ sản xuất.

Môi trường nhân giống phổ biến nhất là sữa gầy. Trước khi nhân giống, sữa gầy được thanh trùng ở $90 \div 95^0$C trong thời gian 15÷30 phút. Ta sử dụng nhân giống nhiều cấp để có đủ số tế bào vi khuẩn cấy vào cream.

Quá trình nhân giống được thực hiện ở 20^0C. Thời gian nhân giống cho mỗi cấp từ 7÷10 giờ. Canh trường VSV thu được có độ chua $18 \div 20^0$SH, số tế bào vi khuẩn có thể lên đến 10^9 tế bào/ml. Những sản phẩm trao đổi chất quan trọng nhất của vi khuẩn trong canh trường là acid lactic, diacetyl và acid acetic. Chúng sẽ ảnh hưởng đến

hương vị của bơ thành phẩm.

Lượng giống VSV cấy vào cream trong sản xuất bơ phụ thuộc vào chỉ số iod của nguyên liệu và nhiệt độ lên men. Tỷ lệ giống cấy vào thường khoảng 1÷7%(v/v).

* Lên men và xử lý nhiệt – lạnh

Quá trình lên men và xử lý nhiệt – lạnh sẽ diễn ra song song. Quá trình lên men được thực hiện trong thiết bị hình trụ 7, có cánh khuấy và bộ phận hiệu chỉnh nhiệt độ. Vi khuẩn lactic sẽ sinh tổng hợp acid lactic và các sản phẩm trao đổi chất tạo độ chua và hương vị đặc trưng cho cream. Tốc độ acid hóa cream và chế độ xử lý nhiệt sẽ ảnh hưởng đến cấu trúc bơ thành phẩm. Sau quá trình lên men, độ chua phần không béo trong cream cần đạt quanh giá trị 36^0SH, hàm lượng diacetyl trong cream khoảng 1,0÷1,5*ppm*

Mục đích của quá trình xử lý nhiệt – lạnh là kết tinh một lượng chất béo trong cream. Do cream chứa hỗn hợp các chất béo có điểm nóng chảy khác nhau nên nhiệt độ kết tinh của chúng cũng khác nhau. Tốc độ kết tinh và độ tinh khiết của các tinh thể sẽ phụ thuộc vào chế độ xử lý nhiệt. Thông thường, người ta dựa vào chỉ số iod của cream để chọn chế độ xử lý nhiệt – lạnh tối ưu. Khi đó, bơ thành phẩm sẽ không có cấu trúc quá cứng hoặc quá mềm (bảng 5.25).

Bảng 5.25. Chế độ xử lý nhiệt – lạnh và lượng giống cấy cho quá trình lên men tương ứng với các chỉ số iod khác nhau của nguyên liệu (Bylund Gosta, 1995)

Chỉ số iod	*Chế độ xử lý nhiệt – lạnh (^{0}C)*	*Lượng giống cấy (%v/v)*
< 28	8 – 21 – 20	1
28÷29	8 – 21 – 16	2÷3
30÷31	8 – 20 – 13	5
32÷34	6 – 19 – 12	5
35÷37	6 – 17 – 11	6
38÷39	6 – 15 – 10	7
> 40	20 – 8 – 11	5

Trong quá trình thanh trùng cream ở 90÷95^0C, tất cả các hạt cầu béo đều ở trạng thái lỏng. Khi làm nguội cream xuống 40^0C, một số phân tử chất béo bắt đầu kết tinh. Nếu ta làm nguội cream xuống nhiệt độ thấp hơn với tốc độ chậm, quá trình kết tinh sẽ kéo dài nhưng các tinh thể chất béo sẽ lần lượt xuất hiện với độ tinh khiết cao. Tuy nhiên, do thời gian dài nên hàm lượng các sản phẩm tạo vị chua và hương cho bơ được sinh tổng hợp bởi vi khuẩn lactic trong cream sẽ không đạt được tỷ lệ cân đối như mong muốn.

Trong thực tế sản xuất, cần phải rút ngắn thời gian kết tinh chất béo bằng phương pháp làm nguội nhanh. Khi làm nguội nhanh, quá trình kết tinh chất béo trong cream sẽ diễn ra nhanh. Tuy nhiên, trong trường hợp này, một số tinh thể chất béo thu được không đạt độ tinh khiết cao và được gọi là "tinh thể hỗn hợp". Đó là do các phân tử triglycerid có điểm nóng chảy thấp bị nhốt trong các tinh thể triglycerid có điểm nóng chảy cao. Khi đó tỷ lệ giữa khối lượng chất béo ở thể lỏng so với tổng khối lượng chất béo có trong cream sẽ giảm và bơ thành phẩm có cấu trúc cứng, khó phết lên bánh mỳ khi sử dụng.

Để khắc phục hiện tượng trên, sau khi giảm nhiệt độ cream để kết tinh một phần chất béo, người ta nâng dần nhiệt độ lên để các triglycerid có điểm nóng chảy thấp sẽ hóa lỏng và tách khỏi các "tinh thể hỗn hợp". Cuối cùng, tiến hành hạ nhiệt độ cream nhưng không quá thấp như ở lần hạ đầu tiên để tái kết tinh chất béo. Khi đó một số triglycerid sẽ tiếp tục kết tinh, tuy nhiên độ tinh khiết của các tinh thể trong cream sẽ tăng, số "tinh thể hỗn hợp" giảm. Ta có thể đạt được tỷ lệ phần trăm giữa lượng chất béo lỏng so với tổng khối lượng chất béo trong cream như mong muốn (bảng 5.26).

Bảng 5.26. Ảnh hưởng tỷ lệ lượng chất béo lỏng và chất béo rắn trong cream đến độ cứng của bơ thành phẩm (Luquet, 1985)

Lượng chất béo lỏng (% so với tổng lượng chất béo)	*Lượng chất béo rắn (% so với tổng lượng chất béo)*	*Cấu trúc bơ thành phẩm*
85	15	Bơ mềm
55	45	Bơ cứng
65÷78	22÷35	Bơ có độ cứng vừa phải, dễ phết lên bánh

Sau cùng, người ta hạ nhiệt độ hỗn hợp xuống 5÷6^{0}C và giữ trong khoảng 2 giờ. Theo Luquet (1985), giải pháp kỹ thuật này sẽ làm giảm độ tổn thất chất béo theo sữa bơ ở giai đoạn tạo hạt bơ tiếp theo.

* Tạo hạt bơ và xử lý

Quá trình tạo hạt bơ và xử lý có thể thực hiện theo phương pháp gián đoạn hoặc liên tục với các công đoạn sau đây:

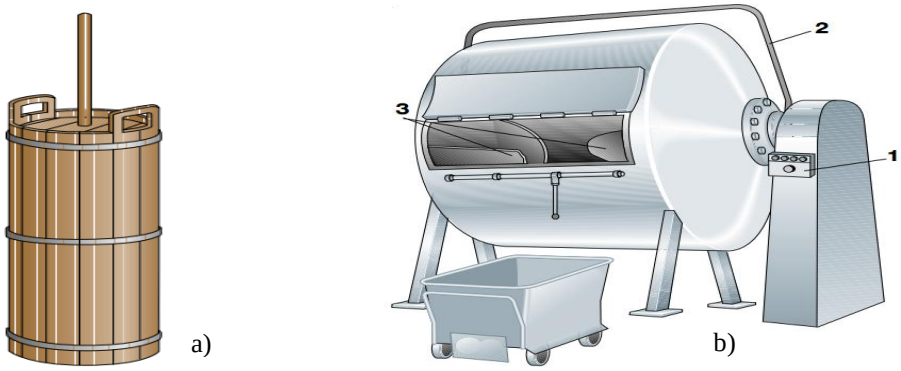
- Khuấy đảo hỗn hợp cream có chứa các tinh thể chất béo để biến chúng thành các hạt bơ và sữa
- Tách sữa bơ để thu nhận các hạt bơ
- Xử lý các hạt bơ riêng lẻ để tạo thành một khối kết dính
- Bổ sung muối và phân bổ đều các hạt nước nhỏ li ti trong toàn khối sản phẩm
- Xử lý chân không để làm giảm lượng khí có trong khối bơ
- Bổ sung muối và phân bố đều trong toàn bộ khối bơ
- Hiệu chỉnh độ ẩm và phân bố đều các hạt nước nhỏ li ti trong toàn khối sản phẩm
- Xử lý chân không để làm giảm lượng khí có trong khối bơ

Phương pháp gián đoạn

Thiết bị đảo trộn gián đoạn được mô tả ở hình 5.34. Đối với thiết bị đảo trộn công nghiệp được chế tạo bằng thép không rỉ, bên trong có các thanh đập để đánh trộn cream, Thiết bị có thể thực hiện chuyển động xoay nhờ một motor và bộ phận truyền động. Tốc độ quay của thiết bị có thể hiệu chỉnh được.

Chất béo trong hỗn hợp cream được nạp vào thiết bị sẽ tồn tại dưới hai dạng: tinh thể và dịch lỏng. Khi thiết bị thực hiện chuyển động xoay sẽ khuấy đảo mạnh hỗn hợp cream bên trong và làm xuất hiện các bọt khí. Đầu tiên, các hạt cầu béo sẽ phân bố tập trung tại bề mặt tiếp xúc pha giữa bọt khí (pha phân tán) và pha lỏng (pha liên tục) trong hỗn hợp. Nếu sự khuấy đảo vẫn tiếp tục, các bọt khí sẽ trở nên nhỏ hơn, bọt dày hơn, màng bao quanh một số hạt cầu béo bị vỡ và giải phóng ra các phân tử chất béo

lỏng bên trong. Các phân tử chất béo này sẽ tạo nên một màng mỏng bao xung quanh bề mặt các bọt khí và các hạt cầu béo còn lại. Bọt khí càng dày thì số phân tử chất béo được giải phóng ra từ các hạt cầu béo do hiện tượng màng bị vỡ sẽ càng lớn. Theo thời gian, bọt trở nên kém bền và vỡ. Các hạt cầu béo và tinh thể béo nhờ những phân tử chất béo ở dạng lỏng tự do sẽ liên kết lại với nhau thành khối và hình thành nên các hạt bơ. Lúc đầu, kích thước các hạt bơ rất nhỏ và ta không thể nhìn thấy được bằng mắt thường nhưng sau đó chúng lớn dần lên.



Hình 5.34. Thiết bị đảo trộn bơ gián đoạn

a. Thiết bị đảo trộn bơ truyền thống; b. Thiết bị đào trộn bơ công nghiệp

1.Bảng điều khiển; 2.Bộ phận dừng tức thời; 3.Thanh dập.

Trong trường hợp có sử dụng chất màu, chúng được bổ sung vào hỗn hợp cream trong thiết bị trước khi quá trình đảo trộn bắt đầu.

Khi quá trình tạo hạt bơ kết thúc, hỗn hợp thu được trong thiết bị gồm hai phần: các hạt bơ và sữa bơ. Trong sữa bơ có chứa một lượng chất béo. Giá trị này càng nhỏ chứng tỏ độ tổn thất chất béo trong quá trình tạo hạt bơ sẽ càng thấp.

Tiếp theo giai đoạn tách sữa bơ ra khỏi thiết bị, người ta thường dùng nước vo trùng để rửa hạt bơ nhằm loại bỏ các hợp chất hòa tan trong sữa bơ còn bám trên bề mặt các hạt bơ.

Sau giai đoạn tách nước thường bổ sung thêm muối (bơ mặn). Sau đó các hạt bơ sẽ được nén ép để tạo thành khối đồng nhất. Ở giai đoạn này, nước sẽ được phân bố dưới dạng những hạt rất mịn trong toàn bộ khối bơ mà ta không thể nhìn thấy được bằng mắt thường. Một hệ nhũ tương mới "nước/dầu" được hình thành.

Cuối cùng là giai đoạn làm giảm lượng khí tự do có trong khối bơ (nếu cần). Trong các sản phẩm bơ được sản xuất bằng phương pháp thủ công, thông thường lượng khí chiếm 5÷7%(v/v). Hàm lượng khí trong bơ càng thấp thì cấu trúc sẽ càng cứng. Để tách khí, người ta thực hiện khuấy đảo khối bơ trong điều kiện chân không. Khi đó, lượng khí có thể giảm xuống 1% so với thể tích bơ thành phẩm.

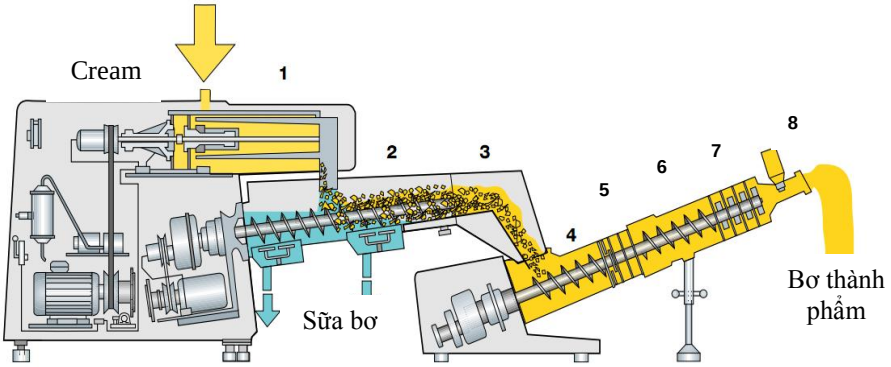
Phương pháp liên tục

Sơ đồ nguyên tắc làm việc của thiết bị làm bơ liên tục được mô tả ở hình 5.35.

Crem được đưa vào xilanh đảo trộn 1, hỗn hợp các hạt bơ và sữa bơ tạo thành qua bộ phận phân li 2. Sữa bơ được tháo ra ngoài còn các hạt bơ thì tiếp tục qua bộ phận ép 3 nhằm loại bỏ hết sữa bơ. Các hạt bơ được tiếp tục xử lý ở ngăn xử lý thứ hai 4. Mỗi ngăn được gắn với một môtơ và có bộ phận điều chỉnh tốc độ. Thường tốc độ của môtơ ở ngăn xử lý thứ nhất gấp hai lần tốc độ của môtơ ở ngăn xử lý thứ hai.

Người ta có thể bổ sung muối vào bơ qua vòi phun cao áp 5. Tiếp đó bơ được chuyển qua bộ phận bài khí 6 mà kết quả làm giảm lượng không khí trong bơ từ 6÷7%

xuống còn xấp xỉ 1%. Ở bộ phận xử lý nhào trộn bơ 7, người ta có thể hiệu chỉnh hàm lượng nước, muối của bơ. Bộ phận kiểm tra 8 cho phép xác định các chỉ tiêu về độ ẩm, hàm lượng muối, nhiệt độ, tỉ trọng của bơ trước khi bơ thành phẩm được chuyển đến đóng gói.



Hình 5.35. Sơ đồ nguyên tắc làm việc của thiết bị làm bơ liên tục

1. Xilanh đảo trộn; 2. Bộ phận phân li (ngăn xử lí thứ nhất); 3. Bộ phận ép hạt bơ; 4. Ngăn xử lý thứ hai; 5. Bộ phận phun; 6. Bộ phận bài khí chân không; 7. Bộ phận nhào trộn cuối cùng; 8. Bộ phận kiểm tra

* Bao gói, bảo quản

Việc bao gói sản phẩm được thực hiện trên hệ thống thiết bị làm việc tự động. Bơ thường được tạo hình dạng khối chữ nhật với khối lượng 250g hoặc 500g.

Loại bao bì thích hợp nhất là giấy nhôm hoặc hộp plastic do chúng ngăn cản được ánh sáng, ẩm và hạn chế tối đa sự tổn thất các cấu tử hương có trong bơ. Sản phẩm bơ bao gói trong giấy nhôm hoặc hộp plastic tiếp tục được xếp vào những thùng carton rồi đem bảo quản ngay trong kho lạnh, nhiệt độ không quá -4÷-6^{0}C.

6.3.2. Quy trình công nghệ sản xuất bơ không lên men

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất bơ không lên men tương tự như đối với sản phẩm bơ lên men nhưng đơn giản hơn, không có giai đoạn cấy giống và lên men.

Như vậy, nguyên liệu cream sau khi qua thanh trùng sẽ được đem đi xử lý nhiệt lạnh để tạo một số tinh thể chất béo và đạt được tỷ lệ thích hợp giữa lượng chất béo dạng lỏng và chất béo dạng tinh thể. Sau đó, hỗn hợp được đưa vào hệ thống thiết bị hoạt động liên tục để tạo hạt bơ và xử lý bơ thành phẩm.

6.4. Đánh giá chất lượng bơ

Người ta đánh giá chất lượng bơ dựa vào các chỉ tiêu cảm quan, hóa lý và vi sinh.

6.4.1. Chỉ tiêu cảm quan

Chỉ tiêu cảm quan phổ biến nhất là màu sắc, mùi và vị của bơ. Ngoài ra, người ta còn đánh giá cảm quan cấu trúc sản phẩm (độ cứng, độ dẻo, …) bằng cách phết bơ lên bánh rồi quan sát.

6.4.2. Chỉ tiêu hóa lý

Chỉ tiêu hóa lý thường được sử dụng để đánh giá chất lượng bơ là: hàm lượng chất béo, độ ẩm, hàm lượng các chất rắn không béo, hàm lượng muối, độ chua, …

Tùy theo quy định của mỗi nước và mỗi cơ sở sản xuất mà các chỉ tiêu hóa lý có thể dao động trong những khoảng khác nhau. Thông thường, độ ẩm tối đa trong bơ là 18%, lượng chất béo tối thiểu là 80÷82%. Ngoài ra trong bơ còn có muối NaCl, protein, các vitamin tan trong chất béo như A, D, …

6.4.3. Chỉ tiêu vi sinh

Chỉ tiêu vi sinh bao gồm các chỉ tiêu cơ bản như tổng số vi khuẩn, nấm men và nấm sợi. Trong nhóm VSV gây bệnh, người ta quan tâm đến *Salmonella* và *Listeria*. Chúng không được có mặt trong hạt bơ thành phẩm.

Bơ thường được bảo quản ở nhiệt độ 5^0C. Thời gian bảo quản có thể kéo dài vài tháng. Theo Vierling (1999), người ta có thể sử dụng nhiệt độ thâp hơn -15^0C để kéo dài hơn nữa thời gian bảo quản bơ.

Trong quá trình bảo quản bơ, một số biến đổi có thể diễn ra. Quan trọng nhất là sự oxy hóa chất béo tạo nên các hợp chất peroxyde gây mùi khó chịu và làm giảm giá trị dinh dưỡng của bơ. Một số peroxyde gây độc cho người sử dụng. Để hạn chế các biến đổi này phải bảo quản bơ trong bao bì kín, nhiệt độ thấp.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Hãy nêu vai trò của các thành phần hóa học của sữa bò, đối với cấu trúc của sữa và các sản phẩm lên men từ sữa.
2. Hãy mô tả cấu trúc của siêu micelle và micelle sữa.
3. Sự đông tụ của casein sữa dựa trên cơ sở nào? Trình bày các giai đoạn của quá trình đông tụ casein bằng tác nhân enzyme.
4. Hãy phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình đông tụ casein.
5. Hãy mô tả tổng quát về các hệ VSV trong sữa bò và nêu vai trò của các VSV trong lên men sữa.
6. Phân biệt những điểm khác nhau cơ bản giữa các dạng yoghurt truyền thống, yoghurt dạng khuấy, yoghurt uống. Hãy phân tích điều kiện công nghệ của các công đoạn cơ bản trong sản xuất yoghurt.
7. Nguyên liệu để sản xuất kefir phải đảm bảo các yêu cầu nào? Hãy mô tả quy trình và phân tích điều kiện công nghệ của các công đoạn trong quy trình sản xuất kefir.
8. Nguyên liệu để sản xuất phomat bao gồm những loại nào? Chúng có vai trò gì trong sản xuất phomat? Hãy phân biệt sự khác nhau cơ bản giữa phomat không qua giai đoạn ủ chín và phomat có qua giai đoạn ủ chín.
9. Hãy mô tả các quy trình công nghệ sản xuất phomat Carmembert, phomat Bleu des Causses, phomat Cheddar, phomat nấu chảy.
10. Hãy nêu các phương pháp hạn chế sự phát triển của vi sinh vật có hại đối với chất lượng của phomat.
11. Trong sản xuất phomat thường xảy ra các quá trình sinh hóa cơ bản nào? Hãy trình bày tóm tắt các sự biến đổi đó.
12. Hãy mô tả quy trình và phân tích điều kiện công nghệ của các công đoạn trong quy trình sản xuất bơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Kiều Hữu Ảnh (2010), *Giáo trình vi sinh vật học thực phẩm*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam.

[1]. Lê Văn Việt Mẫn (2004), *Công nghệ sản xuất các sản phẩm từ sữa và thức uống - Tập 1*, Nhà xuất bản Đại học quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

[2]. Lê Văn Việt Mẫn (chủ biên), Lại Quốc Đạt, Nguyễn Thị Hiền, Tôn Nữ Nguyệt Minh, Trần Thị Thu Trà (2010), *Công nghệ chế biến thực phẩm,* Nhà xuất bản Đại học quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

[3]. Lâm Xuân Thanh (2008), *Giáo trình công nghệ các sản phẩm sữa*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật

[4]. Gosta Bylund MS (1995), *Dairy Processing Handbook*, Tetra Pak processing systems AB, publisher, Lund.

[5]. H.D. Belitz. W. Grosch P. Schieberle, (2009), *Food chemistry*, Springer; 4th ed. Edition.

[6]. TCVN 7030: 2002, Sữa chua, Quy định kỹ thuật.

Chương 6. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THỨC UỐNG LÊN MEN

Thức uống lên men là các loại thức uống được sản xuất bằng công nghệ lên men từ vi sinh vật. Hiện nay, có nhiều sản phẩm thức uống được sản xuất bằng công nghệ lên men điển hình là bia và các loại rượu (vang, cần, whisky, cognac, rhum...). Riêng đối với ethanol không dùng trực tiếp làm thức uống nhưng được dùng để cho vào một số sản phẩm thức uống nhằm tăng hàm lượng ethanol trong sản phẩm.

Các sản phẩm thức uống lên men được sản xuất dựa trên nguyên lý quá trình lên men đường tạo ethanol và CO_2 dưới tác dụng của nấm men. Nấm men dùng trong sản xuất thức uống lên men gồm các loài thuộc giống *Saccharomyces*. Tùy theo tính chất và yêu cầu của sản phẩm và có thể sử dụng chủng nấm men lên men nổi hoặc lêm men chìm. Thông thường để sản xuất các loại bia vàng ở nước ta hiện nay và sản xuất rượu vang sử dụng chủng nấm men lên men chìm còn trong sản xuất ethanol sử dụng chủng nấm men lên men nổi.

Công nghệ chung của sản xuất các sản phẩm đồ uống lên men gồm các công đoạn như: chuẩn bị dịch lên men, chuẩn bị men giống, tiến hành lên men và hoàn thiện sản phẩm. Riêng đối với công nghệ sản ethanol còn có bước chưng cất và tinh chế để thu được ethanol có nồng độ cao.

Trong chương này, giới thiệu về công nghệ sản xuất bia, ethanol và rượu vang nho là các sản phẩm thức uống lên men điển hình.

1. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BIA

1.1. Giới thiệu chung về bia

Danh từ bia (beer) bắt nguồn từ tiếng latinh "bibere" nghĩa là thức uống. Các nhà thờ thời Trung cổ đã sản xuất bia và phổ biến tên gọi này khắp Châu Âu. Tiếng Đức cổ gọi là "baere", tương ứng với "beer" của tiếng Anh đương đại.

Bia là loại nước giải khát có từ lâu đời, có giá trị dinh dưỡng cao và độ ethanol thấp, mùi vị thơm ngon và bổ dưỡng. Uống bia với một lượng thích hợp không những có lợi cho sức khoẻ, ăn cơm ngon, dễ tiêu hoá mà còn giảm được sự mệt mỏi sau những ngày làm việc cực nhọc. Bia có tác dụng giải khát, ngoài ra nó còn chứa vitamin B_1, B_2, PP và rất nhiều acid amin cần thiết cho cơ thể. Năng lượng thu được khi sử dụng 0,5 lít bia tương đường với ăn 100g bánh mỳ, 300ml rượu vang 12^0V, 300g khoai tây. Một lít bia mang lại cho người sử dụng khoảng 400÷500kcal. Bia được chế biến từ hạt đại mạch nẩy mầm, nguyên liệu thay thế (gạo, ngô…), hoa houblon, nước và nấm men. Hương thơm và vị của bia là do các hợp chất chiết từ nguyên liệu, từ các quá trình lên men dịch đường sinh ra rượu, CO_2 và các sản phẩm lên men khác. Nhờ những ưu điểm này, bia được sử dụng hầu hết khắp các nước trên thế giới và sản lượng của nó ngày càng tăng.

Theo dấu tích của các nhà khảo cổ học đã tìm thấy và chứng minh quá trình sản xuất bia cách đây 5÷7 nghìn năm. Mãi đến năm 1857 nhà bác học người Pháp Louis – Pasteur đã tạo ra bước ngoặt lớn cho ngành công nghệ sản xuất bia, đó là khi ông phát hiện ra "Nấm men - vi sinh vật mà hoạt động của chúng đã làm nên quá trình lên men bia". Đến cuối thế kỷ 19 một số nhà khoa học Đức, Nga mới chứng minh được rằng nấm men tạo nên các enzyme và các enzyme này có khả năng chuyển hoá đường thành rượu và CO_2, đây là thành phần quan trọng nhất của bia.

Tình hình sản xuất bia trên thế giới và Việt Nam phát triển không ngừng, tuy

nhiên sản lượng bia của Việt Nam còn rất khiêm tốn so với sản lượng bia của các nước có công nghiệp sản xuất bia phát triển, như Mỹ, Tiệp Khắc, Đức,... Mức tiêu thụ bia của nước ta cũng rất thấp khoảng 17 lít/người/năm, trong khi đó Tiệp Khắc 154 lít/người/năm, Đức 147 lít/người/năm...

Ngành bia nước ta mới phát triển nhanh từ sau 1990, nhưng từ 1993 đến 1995, sản lượng đã tăng gấp đôi. Theo số liệu của Bộ Công nghiệp, cả nước hiện có trên 300 cơ sở sản xuất bia với công suất thiết kế 1,7 tỷ lít/năm. Những nhà máy bia lớn ở nước ta như bia Việt Nam, Sài gòn, bia Hà Nội, bia Huda,… Ở khắp các địa phương đều có các nhà máy bia với quy mô khác nhau. Sản lượng bia năm 2003 đạt khoảng 1 tỷ lít. Tốc độ tăng trưởng của ngành bia được dự báo khá cao khoảng 15%/năm.

Một cách tổng quát nhất, việc sản xuất ra bia bao gồm các công đoạn sau:

- Xay, nghiền nguyên liệu;
- Nấu hay thủy phân nguyên liệu;
- Đun sôi dịch đường thu được với hoa houblon hoặc các sản phẩm chế biến từ hoa houblon;
- Lắng trong và làm lạnh dung dịch đã đun sôi;
- Lên men dung dịch đã làm lạnh bằng nấm men;
- Làm trong, bổ sung thêm carbon dioxide (CO_2), chiết rót vào bao bì, thanh trùng.

1.2. Nguyên liệu sản xuất bia

Nguyên liệu sản xuất bia gồm 3 loại cơ bản: malt đại mạch, hoa houblon, nước. Ngoài ra, còn phải kể đến nguyên liệu thay thế malt đại mạch như các loại dịch đường và các loại hạt chưa nẩy mầm (gạo, ngô, lúa mì, …).

1.2.1. Malt đại mạch

Malt là hạt hòa thảo nẩy mầm trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm nhân tạo xác định. Nó là sản phẩm rất giàu chất dinh dưỡng: chứa 16÷18% các chất phân tử lượng thấp dễ hòa tan (chủ yếu là đường đơn), dextrin bậc thấp, các acid amin, các chất khoáng, các nhóm vitamin và đặc biệt có hệ enzyme phong phú (chủ yếu là protease và amylase).

Malt đại mạch được dùng để chế biến nhiều thực phẩm có chất lượng cao như bột dinh dưỡng cho trẻ em, các loại đồ uống tổng hợp cho người già và phụ nữ có thai... nhưng có lẽ công dụng lớn nhất của malt đại mạch là dùng để sản xuất các loại đồ uống có nồng độ ethanol thấp, nhất là bia.

Malt đại mạch gồm 2 loại: malt vàng và malt đen. Ngoài ra còn có một số loại malt dùng làm phụ gia trong sản xuất bia như: malt caramen, malt cà phê...

Malt đại mạch dùng trong sản xuất bia với 2 mục đích, vừa là tác nhân đường hóa vừa là nguyên liệu. Trong sản xuất bia chủ yếu là dùng malt đại mạch vì:

- Đại mạch dễ điều khiển quá trình ươm mầm;
- Đại mạch cho tỉ lệ enzyme cân đối thích hợp cho công nghệ sản xuất bia;
- Vỏ đại mạch dai nên nghiền ít nát và tạo lớp trợ lọc rất xốp;
- Malt đại mạch cho bia có hương vị đặc trưng hơn so với các loại malt khác;
- Riêng đối với một số nước thì đại mạch dễ trồng hơn so với các loại lúa mạch khác.

a) Cấu tạo và thành phần hóa học của hạt đại mạch

* Cấu tạo hạt đại mạch: Về cơ bản hạt đại mạch đặc biệt giống các loại hạt trong họ lúa mỳ, gồm bốn bộ phận chính là vỏ, lớp aleurone, nội nhũ và phôi.

- *Vỏ:* Hầu hết hạt các loại đại mạch được bao bọc bên ngoài bằng lớp vỏ trấu. Một số rất ít loại đại mạch không có vỏ trấu, các loại này không được sử dụng trong công nghiệp bia.

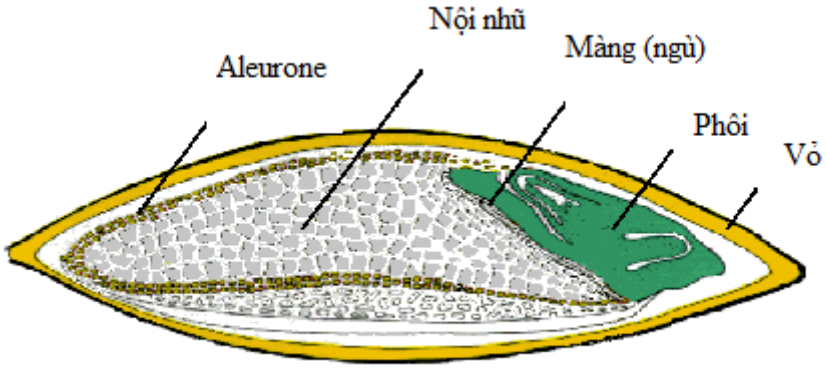
Ở đại mạch hai hàng vỏ trấu khá mỏng và mềm, chiếm khoảng 7÷8% khối lượng chất khô của hạt, còn ở đại mạch đa hàng vỏ trấu dày và thô hơn, có thể chiếm đến 11%. Kích thước hạt càng bé thì tỷ lệ vỏ/hạt càng lớn.

Hình 6.1. Bông lúa đại mạch 2 hàng

Thành phần hóa học của vỏ trấu chủ yếu là cellulose và hemicellulose, trong đó có chứa một số chất có ảnh hưởng xấu đến chất lượng bia, như polyphenol, chất đắng và acid testinic. Vỏ trấu chiếm khối lượng chủ yếu của phần vỏ.

Dưới lớp vỏ trấu là vỏ quả cấu tạo từ khoảng 3 lớp tế bào sắp xếp theo cách tạo độ dai và bền cơ học cao. Tiếp theo là vỏ hạt chỉ gồm khoảng hai lớp tế bào đóng vai trò màng bán thấm. Nước có thể thấm vào bên trong nhưng chất tan không thấm ra được bên ngoài màng này. Vỏ quả và vỏ hạt liên kết chặt với nhau và chúng dễ dàng được tách ra khỏi vỏ trấu.

- *Lớp aleurone:* Ở đại mạch hai hàng lớp aleurone gồm hai lớp tế bào hình lăng kính có thành dày, còn ở đại mạch đa hàng thì số lớp tế bào nhiều hơn. Các tế bào cấu thành nên aleurone rất giàu protein, chất béo, đường, vitamin và chất khoáng. Lớp này là điểm xuất phát quan trọng cho sự tổng hợp enzyme phân giải nội nhũ trong quá trình sản xuất malt.



Hình 6.2. Mặt cắt hạt đại mạch

- *Nội nhũ:* Nội nhũ là thành phần lớn nhất và giá trị nhất của hạt đại mạch và là nơi dự trữ chất dinh dưỡng của hạt đại mạch, chủ yếu là tinh bột, protein, một ít chất béo, chất khoáng và đường đơn giản. Nội nhũ gồm các tế bào thon dài, kích thước lớn, có thành mỏng bên trong chứa đầy các hạt tinh bột lớn và nhỏ. Các hạt tinh bột được giữ bên trong mạng lưới protein. Thành (vách) của các tế bào nội nhũ cấu tạo từ hemicellulose. Hemicellulose có thành phần chủ yếu là β-glucan. Mạng lưới protein và β-glucan của thành tế bào có thể bị phân giải trong suốt thời kỳ nẩy mầm làm malt.

Khi thành tế bào và mạng lưới protein đã bị phân giải, các enzyme thủy phân tinh bột có thể phân cắt các hạt tinh bột trong giai đoạn nấu bia. Khi nội nhũ bị phân giải, mạng lưới protein bị phân cắt, các hạt tinh bột được tự do thì lúc đó các enzyme có thể tấn công vào tinh bột.

- *Phôi:* Khối lượng của phôi chỉ chiếm khoảng 2,5÷5% khối lượng hạt. Phôi nằm ở phía dưới, gần đế của hạt, bào gồm phôi lá, phôi rễ và nằm giữa chúng là phôi thân. Phôi là phần của hạt sẽ phát triển thành cây khi hạt nẩy mầm. Khi hạt nẩy mầm, phôi sẽ phóng thích các hormone, các hormone này sẽ làm cho các tế bào aleurone sản sinh các enzyme phân giải nội nhũ. Ngăn cách giữa phôi và nội nhũ là ngù. Ngù là một màng bán thấm, chỉ cho các chất hòa tan từ nội nhũ thấm qua để chuyển về phôi và nước vào trong nội nhũ để thủy phân chất dự trữ chứa trong đó trong quá trình ươm mầm. Đối với công nghệ sản xuất bia, vai trò của phôi hạt là trạm hoạt hóa và là nhà máy sản xuất enzyme. Nhờ có hoạt động của phôi mà hạt đại mạch có thể được chuyển hóa thành malt đại mạch – một nguyên liệu trực tiếp vừa là nguồn dự trữ cơ chất vừa là kho chứa các enzyme cần thiết cho quá trình sản xuất bia.

* Thành phần hóa học của hạt đại mạch: Thành phần hóa học của hạt đại mạch phụ thuộc vào giống đại mạch, các điều kiện canh tác, thu hoạch và bảo quản. Việc chọn đại mạch cho sản xuất bia trước hết cần căn cứ vào các chỉ số về thành phần hóa học. Thành phần hóa học của hạt đại mạch bao gồm: nước, hợp chất glucid, hợp chất nitơ và các chất vô cơ.

- *Nước:* Hàm lượng nước có ý nghĩa đối với quá trình vận chuyển, bảo quản và định giá hạt. Hàm ẩm cao sẽ xúc tiến quá trình hô hấp và tự bốc nóng, tạo điều kiện cho vi sinh vật phát triển gây tổn hao chất khô, giảm chất lượng và nhanh hư hỏng khối hạt. Đại mạch đem bảo quản phải chứa hàm ẩm $\leq 13\%$.

- *Hợp chất glucid:* Glucid là nhóm khối lượng lớn nhất trong hạt đại mạch, có thể phân thành các nhóm: đường, tinh bột, cellulose và hemicellulose.

+ Đường: Các đường đơn giản trong đại mạch gồm glucose và fructose, khối lượng tổng cộng chiếm khoảng 0,3÷0,4% và đường kép chủ yếu là saccharose, khối lượng chiếm khoảng 1,8% so với khối lượng chất khô của hạt. Các đường đơn giản tuy ít nhưng có vai trò làm chất dinh dưỡng khởi đầu cho phôi khi bắt đầu nảy mầm.

+ Tinh bột: Tinh bột chiếm khoảng 50÷63% khối lượng chất khô của hạt đại mạch, đóng vai trò là nguồn dinh dưỡng dự trữ cho mầm và nguồn dự trữ cung cấp các chất hòa tan cho lên men bia. Tinh bột phân bố nhiều nhất ở nội nhũ, một phần nhỏ ở phôi. Hạt tinh bột tạo thành từ hai hợp chất là amylose (khoảng 20÷25%) và amylopectine (75÷80%).

Amylose: Chuỗi phân tử amylose gồm khoảng 200÷400 đơn vị glucose, liên kết α-1,4 glycoside theo kiểu mạch thẳng. Một đầu mạch là đầu không khử, đầu kia là đầu khử (do mang nhóm aldehyde). Khi tiếp xúc với dung dịch iodine, phân tử iodine bị hấp thụ vào trong đường xoắn tạo thành phức chất màu xanh, khi cấu trúc xoắn bị phá vỡ thì phản ứng màu không còn. Amylose tồn tại dạng tinh thể, dễ hòa tan trong nước nóng tạo thành dung dịch không bền với độ nhớt khá thấp. Khi chịu tác dụng xúc tác của amylase, amylose dễ bị phân cắt thành các đường maltose và glucose.

Amylopectin: Phân tử amylopectin tạo thành từ các đơn vị glucose xếp thành trục chính, trên đó có nhiều mạch nhánh, mỗi nhánh khoảng 15÷30 đơn vị glucose. Số lượng đơn vị glucose có thể đến 6000. Tại những điểm rẽ nhánh, các glucose liên kết nhau qua liên kết α-1,6 glycoside, còn lại tất cả các điểm khác là liên kết α-1,4

glycoside. Amylopectin là chất vô định hình, không tan trong nước nóng mà chỉ có thể tạo thành hồ. Khi tiếp xúc với dung dịch iodine, amylopectine cho phản ứng màu tím.

Trong môi trường nhiều nước, tinh bột bị thủy phân dưới xúc tác của các enzyme amylase để tạo thành các sản phẩm theo độ phức tạp giảm dần, từ dextrin, oligosaccharide, maltose và cuối cùng là glucose.

Thành phần các sản phẩm thủy phân tinh bột có ý nghĩa lớn về mặt kỹ thuật sản xuất và chất lượng bia. Sự thủy phân tinh bột là quá trình nền tảng của quá trình sản xuất malt và sản xuất dịch lên men.

+ Cellulose: Cellulose chiếm khoảng 5÷6% khối lượng hạt đại mạch, tập trung ở vỏ trấu và đóng vai trò chất cấu trúc. Phân tử cellulose tạo nên từ khoảng 2000÷10000 đơn vị glucose, tổ chức theo mạch dài nhờ liên kết β-1,4 glycoside. Cấu tạo như vậy nên cellulose không tan trong nước, hầu như không bị thủy phân bởi enzyme của malt và không ảnh hưởng đến chất lượng bia. Ý nghĩa của cellulose là nhờ vỏ trấu tạo thành lớp vật liệu lọc phụ có giá trị trong công đoạn lọc bã malt.

+ Hemicellulose: Hemicellulose là thành phần chính cấu tạo nên màng tế bào nội nhũ. Hemicellulose là một phức hệ tạo thành từ các β-glucan (80÷90%) và pentosan (10÷20%). Hemicellulose có thể được thủy phân nhờ xúc tác của nhóm enzyme cytase, tạo thành các hexose và pentose. Tất cả các đường đơn này hòa tan bền vững vào dịch đường và tạo thành chất chiết, là nguồn cung cấp dinh dưỡng quan trọng cho nấm men. Quá trình thủy phân hemicellulose, phá vỡ màng tế bào bởi enzyme cytase sẽ tạo điều kiện các enzyme thủy phân tinh bột, protein xâm nhập và thủy phân sâu vào bên trong tế bào nội nhũ. Quá trình này đóng vai trò quan trọng ở giai đoạn nẩy mầm.

- *Các hợp chất chứa nitơ:* Trong đại mạch, hàm lượng trung bình các chất chứa nitơ vào khoảng từ 7÷16% so với khối lượng chất khô của hạt. Đại mạch dùng cho sản xuất bia tốt nhất là có hàm lượng protein khoảng 9÷11%. Tuy tỷ lệ không nhiều nhưng chúng có ý nghĩa quan trọng đối với chất lượng bia. Trung bình chỉ khoảng 40% hợp chất chứa nitơ của hạt đại mạch được chuyển vào dịch lên men bia. Một phần hợp chất dạng đơn giản sẽ là dinh dưỡng nitơ cho nấm men, một phần sẽ kết lắng và bị loại bỏ qua các quá trình lắng, lọc. Lượng hợp chất chứa nitơ còn lại hoà tan trong bia có ý nghĩa quan trọng trong việc tạo vị, bọt và màu bia. Tuy nhiên, những phần tử hoà tan có kích thước lớn sẽ dễ kết lắng và sẽ là yếu tố gây đục bia, làm giảm chất lượng và thời gian lưu hành của thành phẩm. Trong hạt đại mạch, đa số hợp chất chứa nitơ tồn tại ở dạng phức tạp, được gọi chung là protein. Một phần nhỏ tồn tại ở dạng đơn giản, dễ dàng hòa tan vào trong nước, được gọi là các hợp chất nitơ phi protein.

+ Protein: Chiếm khoảng 92% hợp chất chứa nitơ hạt đại mạch, gồm albumin, globulin, prolamin và glutelin. Protein phân bố chủ yếu ở lớp aleurone và phôi. Albumin, globulin và một phần nhỏ prolamin sẽ được thủy phân trong quá trình nấu, hòa tan vào dịch đường đem đi lên men. Phần còn lại không hoà tan sẽ được loại bỏ cùng với bã malt. Đại mạch giàu protein sẽ dẫn đến bia nhiều bọt và dễ đục, vị đậm ngược lại nếu nghèo protein bia kém bọt và nhạt. Các melanoidin tạo màu và hương cho bia là sản phẩm của acid amin với các đường khử. Tính chất của bọt và độ bền hóa keo của bia phụ thuộc vào mức độ thủy phân và tỷ lệ giữa các sản phẩm của quá trình phân giải protein.

+ Các hợp chất chứa nitơ phi protein: Trong đại mạch đã tồn tại sẵn một lượng chất chứa nitơ dạng đơn giản dễ dàng hòa tan vào nước, chiếm khoảng 8% tổng khối lượng chất khô đại mạch, gồm các nhóm:

Nhóm cao phân tử: gồm các proteose, là các sản phẩm phức tạp của quá trình thủy phân protein như: albumose, globulose. Nhóm này có vai trò quan trọng trong việc tạo và giữ bọt, đồng thời tăng thêm vị đậm đà của bia. Tuy nhiên, nếu hàm lượng nhóm này quá cao, chúng sẽ làm giảm độ bền của bia vì chính chúng là tác nhân gây đục.

Nhóm thấp phân tử: Bao gồm các acid amin và peptide. Peptide gồm các oligopeptide (từ 3÷9 đơn vị acid amin) và polypeptid (từ 10÷100 đơn vị acid amin). Trong đó, các cấu tử đơn giản acid amin có thể được hấp thụ bởi nấm men và có vai trò đảm bảo dinh dưỡng nitơ cho nấm men, là tác nhân tham gia tạo melanoidin, tồn tại trong bia như một hợp phần dinh dưỡng. Peptide dễ dàng tan vào dịch đường để tạo thành dung dịch bền vững và là một trong những hợp phần dinh dưỡng của bia.

- *Chất vô cơ:* Chất vô cơ chiếm khoảng 2÷3% chất khô đại mạch. Những thành phần quan trọng gồm:

+ Phosphateở dạng P_2O_5, chiếm khoảng 35% khối lượng tro;

+ Silicate, dưới dạng SiO_2, chiếm khoảng 25% khối lượng tro;

+ Muối K, dưới dạng K_2O, chiếm khoảng 20% khối lượng tro.

Muối phosphate chiếm tỷ lệ cao trong chất vô cơ đại mạch và có vai trò quan trọng đối với hạt đại mạch. Trong quá trình sản xuất bia, phosphate được giải phóng vào dịch lên men và có ý nghĩa thiết yếu đối với sinh trưởng và hoạt động lên men của nấm men.

Silicate có nhiều trong vỏ trấu đại mạch, chúng có thể tan vào dịch dưới dạng keo và được phát hiện trong cặn bia trong hầu hết các trường hợp đục bia.

Rất nhiều chất vô cơ quan trọng đối với lên men bia do cung cấp chất vi lượng cho nấm men, ví dụ muối kẽm rất cần thiết cho lên men. Phần lớn chất vô cơ trong dịch lên men có xuất xứ từ đại mạch. Trong 1 lít dịch lên men bia thông thường (12% chất khô) chứa khoảng 1600mg chất vô cơ, trong đó khoảng 1200mg do đại mạch đóng góp, phần còn lại chủ yếu từ nước.

- *Chất béo:* Đại mạch chứa khoảng 2% chất béo, chủ yếu ở lớp aleurone và phôi. Chất béo hầu như bị loại bỏ cùng với bã malt. Một bộ phận đi vào bia và ảnh hưởng rất xấu đến tính chất bia do chất béo làm giảm độ tạo bọt của bia.

- *Polyphenol* (hoặc tanin): Polyphenol chủ yếu trong vỏ. Polyphenol kết hợp với protein tạo thành phức chất dễ kết lắng, làm tăng độ bền của bia. Khi với nồng độ cao chúng gây vị đắng khó chịu. Đại mạch có vỏ dày thường giàu polyphenol. Để loại trừ hợp chất polyphenol khỏi lớp vỏ là ngâm hạt trong môi trường kiềm nhẹ.

- *Vitamin:* Đại mạch chứa các loại vitamin B_1, B_2, B_6, C, PP, tiền vitamin A, E, acid pantothenic, biotin… Trong quá trình bảo quản và chế biến nguyên liệu, các vitamin bị tổn thất đáng kể.

- *Các enzyme đại mạch:* Trong đại mạch chứa một lượng enzyme phong phú, trong đó được quan tâm nhất là các enzyme thủy phân tinh bột, thủy phân protein, thủy phân các chất cấu thành màng tế bào và các chất keo. Tuy nhiên lượng enzyme sẵn có trong đại mạch không nhiều, các enzyme này chủ yếu được tổng hợp với lượng lớn trong quá trình ươm mầm hạt (sản xuất malt).

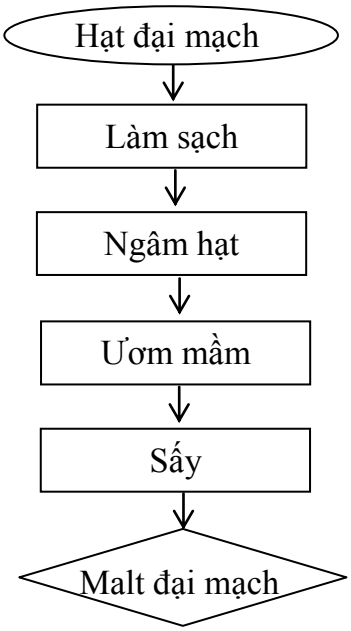
b) Sản xuất malt đại mạch

Nguyên tắc sản xuất malt là tạo điều kiện cho hạt đại mạch nẩy mầm. Trong quá trình nẩy mầm hạt sẽ tổng hợp enzyme mới và giải phóng enzyme liên kết có sẵn trong

hạt. Trong số các enzyme và phức enzyme trong malt đại mạch, quan trọng nhất là:

- Enzyme thủy phân tinh bột (các amylase);
- Enzyme thủy phân protein (proteolytic enzymes);
- Enzyme giải phóng acid phosphoric (phitase).

Quy trình công nghệ sản xuất malt đại mạch: được mô tả theo sơ đồ hình 6.3.



Hình 6.3. Sơ đồ quá trình sản xuất malt đại mạch

Thuyết minh quy trình: Hạt đại mạch được làm sạch để loại bỏ tạp chất như rác, đất, đá, hạt ngoại lai… Sau đó, hạt được làm ẩm từ 12÷15% tăng lên 44÷46% bằng cách ngâm trong nước 2 ngày. Mục đích ngâm hạt là kích hoạt nẩy mầm. Trong quá trình ngâm phải thay nước ngâm và làm rao để hạt hút không khí trong lúc làm ráo giữa các lần ngâm và có thể thổi không khí vào hạt lúc đang ngâm trong nước. Sau khi ngâm tiến hành ươm mầm bằng cách tháo hết nước ra khỏi hạt, làm cho hạt nẩy mầm đến mức độ nhất định trong điều kiện không khí ẩm, mát và thỉnh thoảng đảo trộn nhằm ngăn cản rễ con đan chặt lẫn nhau. Thời gian ươm mầm khoảng 4÷5 ngày. Trong thời gian nẩy mầm bên trong hạt diễn ra các quá trình sinh hóa, quan trọng nhất là tổng hợp enzyme nhờ đó tạo ra đường và các chất hòa tan khác, lá mầm phát triển dưới lớp vỏ trấu, rễ con phát triển từ phần cuối của hạt. Khi sự tổng hợp enzyme và sự phân giải sơ bộ cấu trúc hạt đạt đến mức tối ưu thì hạt được sấy khô ở 85÷105^{0}C giảm độ ẩm giảm xuống 4÷5% nhằm mục đích dừng quá trình nẩy mầm, để bảo quản, tạo hương và màu cho malt.

Ở các nước trồng đại mạch, sản xuất malt được thực hiện bởi các nhà máy với quy mô lớn và thực tế đã trở thành một ngành vệ tinh cho công nghiệp lên men bia. Các nhà xuất khẩu malt lớn nhất hiện nay là Châu Âu và Australia, kế đến là Canada và Thổ Nhĩ Kỳ. Khu vực nhập malt nhiều nhất là Nam Mỹ, Châu Phi và Đông Á.

c) Các loại malt dùng trong sản xuất bia

Malt dùng làm nguyên liệu trong công nghiệp sản xuất bia được chia làm 2 loại: malt vàng và malt đen. Malt vàng dùng để sản xuất các loại bia vàng, malt đen dùng để sản xuất các loại bia đen. Ngoài ra còn sử dụng một số loại malt đặc biệt để làm phụ gia.

- Malt vàng: Đặc điểm nổi bật của malt vàng là có màu vàng sáng, có vị ngọt nhẹ nhàng và hương thơm dịu đặc trưng của malt (hình 6.4). Khi sản xuất malt vàng, điều cần thiết là phải tạo ra được điều kiện để tích lũy được hoạt lực enzyme thật cao, đặc biệt là amylase, còn hàm lượng acid amin thì ở mức độ vừa phải và hàm lượng đạm hòa tan chỉ cần đạt ở mức độ đủ.

- Malt đen: Đặc điểm nổi bật của malt đen là có màu sẫm, hương và vị ngọt đậm (hình 6.5). Để sản xuất malt đen, trong thời gian ươm mầm phải tạo được điều kiện sao cho tích lũy được nhiều đạm amin và đường; Trong giai đoạn sấy tiến hành ở nhệt độ cao.

Hình 6.4. Malt vàng

Hình 6.5. Malt đen

- Malt caramen: Nó được sử dụng trong sản xuất bia vàng với hàm lượng 2÷5% nhằm tạo cho bia có hương và vị đặc trưng, còn đối với bia đen 5÷10% nhằm để tăng cường hương, vị và màu của sản phẩm. Malt caramen được sản xuất từ malt khô hay malt tươi sấy ở nhiệt độ 110÷170^{0}C.

- Malt cà phê: Malt cà phê có màu cà phê sẫm, có mùi thơm giống mùi cà phê. Nó được sử dụng trong sản xuất bia với hàm lượng 2÷5% nhằm để tăng cường màu cho bia. Malt cà phê được sản xuất từ malt khô hay malt tươi sấy ở nhiệt độ 20÷225^{0}C

- Malt diastilin: Là loại malt chứa hoạt lực cao nhóm enzyme diastase và được sử dụng bổ sung trong trường hợp malt nguyên liệu có khả năng đường hóa kém hoặc sử dụng nhiều nguyên liệu thay thế.

- Malt melanoid: Còn gọi là melan, là loại malt đen có mùi thơm rất mạnh, chứa nhiều melanoid. Nó được sử dụng trong sản xuất bia đen với hàm lượng 10÷12% nhằm làm cho sản phẩm mang vị ngọt đậm, hương vị đặc trưng và cải thiện khả năng tạo bọt cũng như giữ bọt cho bia. Malt này được chế biến từ đại mạch có hàm lượng protein cao.

- Malt proteolin: Đây là loại malt có chứa khoảng 2% acid lactic và được sử dụng trong sản xuất bia với hàm lượng 2,5% nhằm để làm tăng độ chua của khối nấu, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân.

d) Các chỉ tiêu chất lượng của malt bia

- Về cảm quan: Malt có màu vàng tươi hoặc đen sẫm (tùy theo loại), vỏ óng ánh. Có mùi đặc trưng cho từng loại malt, không có mùi vị lạ như mùi ủng, chua, mốc. Malt vàng có mùi thơm và vị ngọt nhẹ của thóc sấy. Các loại malt thẫm màu ngọt đậm, mùi thơm của các loại hạt cháy. Không lẫn tạp chất, tỷ lệ hạt gãy, hạt vỡ tối đa là 0,5%, hạt bị bệnh tối đa là 1%, hạt không nảy mầm tối đa là 5%.

- Tính chất vật lý: Dung trọng: 500÷600g/l; trọng lượng khô tuyệt đối: 28÷38g/1000 hạt (theo trọng lượng có độ ẩm); kích thước hạt: chiều rộng > 2,5mm; Chiều dài mầm từ 2/3÷3/4 chiều dài hạt.

- Chỉ tiêu hóa học: Gồm các chỉ tiêu như: thành phần hóa học, độ chiết, thời gian đường hóa…

+ Thành phần hóa học: của malt đại mạch gồm các chất tương tự như thành phần hóa học của hạt đại mạch chỉ khác là trong malt đại mạch hàm lượng đường và protein hòa tan nhiều hơn. Thành phần hóa học trung bình của malt đại mạch được trình bày ở bảng 6.1.

Bảng 6.1. Thành phần hóa học trung bình của malt đại mạch

Chỉ tiêu	*Hàm lượng*	*Chỉ tiêu*	*Hàm lượng*
Độ ẩm	W ≤ 4,5%	Chất béo	2÷3%
Tinh bột	60÷65%	Chất khoáng	2,5÷3%
Cellulose	4÷6%	Protein hoà tan	3%
Saccarose	3÷5%	Protein	7÷9%
Đường khử	2÷4%		

+ Độ chiết của malt đại mạch khoảng 75÷82%;

+ Thời gian đường hóa: malt vàng 10÷20 phút ở 70^0C, malt đen 20÷30phút/70^0C;

+ pH dịch đường malt 5,5÷6,5;

+ Trong malt phải chứa các hệ enzyme thủy phân như amylase, protease, phitase, cytase…

1.2.2. Hoa houblon

Hoa houblon là nguyên liệu cơ bản thứ hai trong công nghệ sản xuất bia. Nó được còn người biết đến và đưa vào sử dụng 3000 năm trước công nguyên.

Hình 6.6. Hoa houblon

Houblon là loại cây lâu năm, đơn tính, thân gỗ mảnh, cao khoảng 2÷5m. Để dùng cho mục đích sản xuất bia, chỉ sử dụng hoa cái chưa thụ phấn. Nếu hoa đã thụ phấn thì giá trị công nghệ của nó bị giảm đi. Chính vì vậy mà người ta phải tiến hành loại bỏ ngay những cây đực trong vườn houblon.

Houblon phát triển tốt ở Trung Âu và Bắc Mỹ. Houblon trồng ở Tiệp khắc có chất lượng hàng đầu thế giới. Năng suất hoa houblon có thể đến 7000kg hoa tươi/ha, trung bình 5000÷6000kg/ha (1000÷1200 kg hoa khô/ha).

a) Vài trò của hoa houblon đối với công nghệ sản xuất bia

Hoa houblon được sử dụng trong sản xuất bia nhằm mục đích:

- Truyền mùi thơm và vị đắng cho bia;

- Tăng khả năng tạo bọt và giữ bọt cho bia;

- Tăng khả năng sát trùng cho bia.

Do tính năng cực kì quan trong như vậy nên hoa houblon là nguyên liệu không thay thế được trong công nghệ sản xuất bia.

b) Thành phần hóa học

Thành phần hóa học của houblon phụ thuộc vào giống và điều kiện canh tác. Thành phần hóa học của houblon bao gồm: chất đắng, polyphenol, protein, cellulose, tinh dầu hoa, chất khoáng… Thành phần hóa học trung bình của houblon được trình bày ở bảng 6.2.

Bảng 6.2. Thành phần hóa học trung bình của hoa houblon

Chỉ tiêu	*Hàm lượng*	*Chỉ tiêu*	*Hàm lượng*
Nước	11÷ 13%	Cellulose	12÷14%
Chất đắng	15÷21%	Chất khoáng	5÷8%
Polyphenol	2,5÷6%	Tinh dầu hoa	0,3÷3%
Protein	15÷21,5%	Các chất khác	26÷28%

Trong đó chất có giá trị nhất đối với bia là chất đắng, tiếp đến là tinh dầu hoa và polyphenol.

- Chất đắng: Chất đắng có giá trị tạo vị không thể thay thế được cho bia. Bên cạnh đó chất đắng còn tham gia tạo và giữ bọt bia. Chất đắng hoa có khả năng ức chế vi khuẩn Gram dương tốt do đó góp phần tạo sức kháng khuẩn cho sản phẩm. Các chất đắng có thể bị biến đổi dưới tác dụng của ánh sáng thành các đồng phân, các chất này thường thể hiện vị của bia đã bảo quản quá lâu. Chất đắng trong houblon gồm nhiều hợp chất, chia thành hai nhóm chính: nhựa mềm và nhựa cứng. Nhựa mềm là phần chất đắng tan trong hexane, là phần quan trọng trong sản xuất bia. Nhựa mềm gồm α-acid đắng và β-acid đắng và các đồng phân của chúng. Nhựa cứng là phần chất đắng không tan trong hexane, ít có ý nghĩa trong sản xuất bia. Khi bảo quản trong thời gian dài ở điều kiện không đảm bảo thì phần nhựa mềm trong hoa giảm và phần nhựa cứng tăng lên.

+ *Nhóm các α-acid đắng và đồng phân:* Đây là thành phần giá trị nhất trong chất đắng của houblon, cung cấp vị đắng cho bia. Nhóm α-acid đắng theo thứ tự gồm humulone, cohumulone, adhumulone. Chúng có công thức phân tử cơ bản giống nhau, chỉ khác nhau ở nhóm –R (hình 6.7).

Hình 6.7. Cấu trúc của các acid đắng

1. α-acid đắng; 2. β-acid đắng

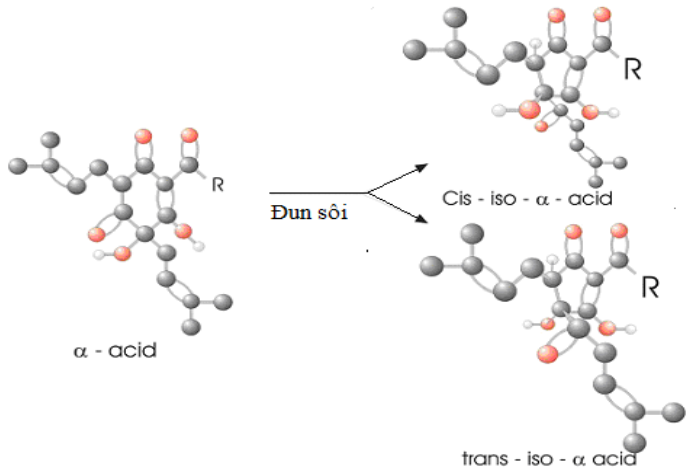
R= $CH_2CH(CH_2)_2$ (humulone và lupulone)

$CH_2CH(CH_2)_2$ (cohumulone và colupulone)

$CH(CH_3)CH_2CH_3$ (adhumulone và adlupulone)

Tuy không có nhóm carboxyl nhưng các chất này vẫn có thể tạo ra nhiều loại muối, vì vậy được gọi là các acid. Khả năng hòa tan của α-acid đắng vào nước là

khoảng 500mg/l, vào dịch đường ít hơn còn vào bia hầu như không đáng kể. Trong công đoạn đun hoa, các α-acid đắng không trực tiếp tan vào dịch mà biến đổi thành các đồng phân có khả năng tan tốt hơn và độ đắng cao hơn, quá trình này gọi là đồng phân hóa. Sản phẩm đồng phân hóa là các iso-α-acid đắng, gồm isohumulone, isocohumulone,… Đồng phân hóa quyết định hiệu suất khai thác chất đắng và sắc thái của vị đắng. Quá trình đồng phân hóa α-acid đắng được thể hiện hình 6.8.



Hình 6.8. Quá trình đồng phân hóa α-acid

+ *Nhóm β-acid đắng:* Gồm lupulone, colupulone, adlupulone. Giống như với α-acid đắng, các β-acid đắng có công thức phân tử cơ bản giống nhau, chỉ khác nhau ở nhóm -R. Các β-acid đắng không hòa tan. Các β-acid đắng không thay đổi nhiều trong quá trình đun sôi nước nha. Chúng tham gia rất ít vào độ đắng của bia thành phẩm, trừ khi chúng bị oxy hóa thành hupulone trong khi bảo quản. Trong trường hợp này chúng sẽ tham gia tạo vị đắng.

- Dầu hoa: Dầu hoa là chất lỏng trong suốt màu vàng nhạt, có cường độ hương mạnh. Dầu hoa trong bia với hàm lượng nhỏ (thích hợp) sẽ cho mùi thơm đặc trưng dễ chịu. Dầu hoa houblon gồm khoảng 200 cấu tử, trong đó chủ yếu là terpen, rượu, ketone, aldehyde, ester và acid hữu cơ. Có thể chia thành các nhóm:

+ Nhóm hydrocarbon, chiếm khoảng 75%;

+ Hợp chất chứa oxy, chiếm 25%;

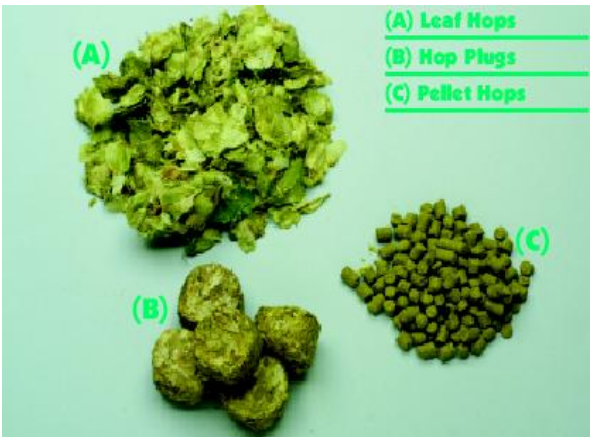
+ Một lượng nhỏ hợp chất chứa lưu huỳnh.

Trong số hydrocarbon, myrcene chiếm 60% tổng dầu hoa, dễ bay hơi và dễ bị oxy hóa, có mùi mạnh, khó chịu. β-caryophyllene (khảng15%), β-farnesene và humulene (0÷40%) là các cấu tử có mùi thơm dễ chịu.

- Polyphenol: Polyphenol chiếm khoảng 2÷5% chất khô, chủ yếu trong cuống và lõi hoa. Vai trò quan trọng nhất của polyphenol là liên kết với protein hoặc polypeptid cao phân tử tạo thành kết tủa. Các kết tủa này sẽ được loại bỏ khi qua công đoạn lắng, lọc, nhờ vậy làm tăng độ bền hóa lý của bia. Polyphenol cũng tham gia tạo vị, kháng khuẩn, tạo và giữ bọt bia. Tuy nhiên khi bị oxy hóa hoặc tác dụng với muối sắt sẽ tạo thành các phức chất đậm màu làm xấu màu bia, khi hiện diện với hàm lượng lớn, polyphenol cũng tham gia các phản ứng ngưng kết gây đục bia. Polyphenol houblon chủ yếu gồm tannin, flavonol, catechin và hợp chất anthocyanidin. Trong đó anthocyanidin chiếm đến 80%. Polyphenol houblon có khả năng ngưng tụ và hoạt tính cao hơn của malt đại mạch.

c) Các dạng sử dụng hoa houblon

Sử dụng hoa nguyên cánh trong sản xuất bia có ưu điểm là bảo toàn được chất lượng, nhưng có nhược điểm là khó bảo quản, chiếm nhiều thể tích và hiệu quả sử dụng không cao. Để khắc phục các nhược điểm trên, trong kỹ thuật sản xuất bia sử dụng các sản phẩm chế xuất từ hoa có nhiều ưu điểm như: dễ ổn định độ đắng cho bia, thời gian bảo quản gần như vô hạn, lực đắng cao hơn so với của hoa nguyên, chi phí vận chuyển và bảo quản giảm, không cần sử dụng thiết bị tách bã hoa, dễ dàng được tự động nạp vào nồi đun hoa.



Hình 6.9. Các dạng sử dụng của houblon
(A): Hoa houblon nguyên cánh
(B): Hoa houblon dạng bánh
(C): Hoa houblon dạng viên

Ở nước ta hoa houblon được nhập từ Đức, Tiệp Khắc, Úc. Hai dạng sản phẩm hoa phổ biến là hoa viên và chất chiết xuất từ hoa.

* Hoa viên: Hoa viên là dạng bảo quản rất tiện lợi, được sản xuất từ hoa khô. Yêu cầu đối với hoa viên: có khả năng tạo kết lắng nhanh khi đun sôi với dịch đường, làm trong dịch đường, hương thơm rõ rệt, có vị đắng dịu. Hiện nay có các dạng viên houblon sau: viên dạng 90, viên được làm giàu, và viên đã được đồng phân hóa.

- *Viên 90:* Từ 100kg hoa khô sản xuất ra 90 kg viên hoa, chứa tất cả các thành phần quan trọng của hoa houblon. Cách sản xuất viên hoa 90 như sau: Hoa tươi được sấy ở không khí nóng 40÷50^{0}C đến khi đạt hàm ẩm 7÷9%, xay nhỏ thành bột với cỡ hạt 1÷5mm, trộn đều và nén thành dạng viên. Trong quá trình tạo viên, khống chế nhiệt độ không vượt quá 50^{0}C. Sau đó làm nguội với không khí lạnh 10÷20°C, đóng bao với hỗn hợp khí N_2-CO_2.

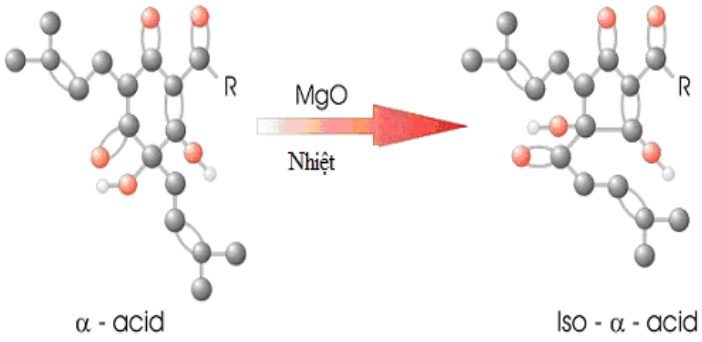
- *Viên 45* (viên giàu lupuline): Từ 100kg hoa khô sản xuất ra 45kg viên hoa loại 45. Loại sản phẩm này chứa hàm lượng α acid đắng 6÷18%, lượng tạp chất giảm còn một nửa. Cách sản xuất viên hoa 45 như sau: hoa thô khô được nghiền bằng máy chuyên dụng và máy sàng để thu được bột mịn (<0,3mm) giàu các hạt lupuline. Sau đó bột được ép thành viên và đóng bao. Hiện đang có xu hướng gia tăng việc sử dụng dạng viên 45, do giảm được lượng bã hoa sau đun hoa và hạn chế polyphenol trong viên. Viên houblon được làm giàu có lực đắng cao hơn 10% so với của hoa nguyên, chủ yếu do phân tán nhanh trong nồi đun hoa, tăng được tổng diện tích bề mặt dẫn đến tăng cường độ trích ly và đồng phân hóa.

Hoa dạng viên dễ bị giảm chất lượng bởi oxy, hơi nước, do vậy phải sử dụng các loại bao cách khí và cách ẩm. Thường sử dụng loại bao polyethylene 4 lớp, có lớp nhôm kim loại. Để đạt hàm lượng oxy thấp hơn 0,5% thể tích, bao được nạp đầy khí trơ. Bao được đóng theo khối lượng viên/bao hoặc theo lượng α-acid/bao.

- *Viên đã được đồng phân hóa:* Sản phẩm mà trong đó α-acid đắng đã được đồng phân hóa. Viên hoa houblon đồng phân hóa được sản sản xuất theo cách tương tự như viên hoa thông thường nhưng trước khi nén thành viên người ta bổ sung 2% magnesium oxide (MgO) vào bột hoa sau khi nghiền. MgO giúp xúc tác cho quá trình đồng phân các α-acid đắng. Sau khi nén thành viên, các viên được đóng gói trong loại

bao chống thấm khí, chống ẩm cùng với một lượng khí trơ hoặc đóng gói chân không, đặt trong phòng có nhiệt độ 50°C giữ trong 14 ngày để α-acid đắng đồng phân hóa (hình 6.10). Trên 99% α-acid đắng được đồng phân trong điều kiện này.

Dạng đồng phân có ưu điểm hơn dạng viên thường do không cần phải qua đun hoa lâu để tạo đồng phân hóa, tăng hàm lượng α-acid, thời gian đun được rút ngắn, chi phí giảm, ít tạo cặn nóng; Hoa viên đã đồng phân hóa không cần bảo quản lạnh.



Hình 6.10. Đồng phân hóa α-acid thành iso-α-acid dưới tác dụng MgO và nhiệt

* Chế phẩm dạng chất trích ly: Hiện nay, người ta dùng dung môi như hecxan, methanol, ethanol, tricloetylen, CO_2 siêu lỏng… để trích ly chất đắng trong houblon. Dung môi được ưa dùng nhất là CO_2 siêu lỏng hoặc ethanol. Hai dung môi có khả năng hòa tan hoàn toàn nhựa và tinh dầu hoa. Trong đó trích ly bằng CO_2 siêu lỏng (sufercritical CO_2) đang được áp dụng ngày càng rộng rãi.

1.2.3. Nước

a) Vai trò của nước trong sản xuất bia

Nước chiếm 92÷94% trong bia và có vai trò quan trọng đối với chất lượng bia. Nước có nhiều chức năng như là thành phần chính trong bia, là môi trường cho quá trình đường hóa, lên men, dùng để xử lý nấm men, cấp lò hơi, cấp cho các thiết bị trao đổi nhiệt, vệ sinh thiết bị, dụng cụ chứa bia, vệ sinh nhà xưởng, cấp cho sinh hoạt.

Để có 1 lít bia phải dùng từ 4,5÷12 lít nước, trung bình 6 lít. Chi phí về nước chiếm vị trí quan trọng trong tổng chi phí sản xuất bia. Vì vậy, nước là yếu tố hàng đầu để chọn vị trí đặt nhà máy, chi phí về nước chiếm vị trí quan trọng trong tổng chi phí sản xuất.

b)Yêu cầu chất lượng nước dùng trong sản xuất bia

- Nước sẽ đi vào thành phẩm: gồm nước cho các công đoạn: nấu, rửa bã, pha chế phụ liệu... yêu cầu phải đạt tiêu chuẩn nước uống, không chứa mầm bệnh và các chất gây độc, pH nằm trong khoảng 6,5÷8,5.

- Nước rửa nấm men, nhân men, pha loãng men… phải đạt tiêu chuẩn đối với nước uống và không chứa vi sinh vật.

- Nước cấp cho lò hơi: Nước mềm, có độ cứng toàn phần bằng không để chống đóng cặn làm giảm hệ số trao đổi nhiệt.

c) Xử lý nước

Xử lý nước gồm ba nội dung chính: làm trong, khử chất hoà tan và khử vi sinh vật. Một quy trình xử lý nước thường là sự phối hợp của các quá trình sau:

- Bão hoà không khí: Tạo điều kiện để oxy xâm nhập vào nước oxy hoá các chất gây mùi, màu, một số chất vô cơ… Đồng thời tạo điều kiện để các chất gây mùi thoát

khỏi nước. Thường thực hiện bằng cách phun nước qua các "giàn mưa".

- Lắng trong: Triệt tiêu vận tốc chuyển động của nước nhằm lắng các hạt phân tán. Quá trình được thực hiện tại các bể nhân tạo hoặc tự nhiên, được tăng cường bằng cách bổ sung chất trợ đông kết như: vôi, phèn (muối nhôm sulphate, sắt sulphate)... Lắng chỉ tách được khoảng 60÷70% chất lơ lửng trong nước.

- Lọc: Đây là phương pháp chủ yếu để loại bỏ chất lơ lửng trong nước. Vật liệu lọc thường dùng là cát hoặc bột diatomite.

- Chlorine hoá: Đưa vào nước các chất có khả năng giải phóng Cl nguyên tử nhằm oxy hoá các vật chất hữu cơ và khử trùng nước.

- Xử lý than hoạt tính: Cho nước đi qua tháp chứa than hoạt tính để hấp phụ các chất mùi, khí, chất hữu cơ, chất màu.

- Ozone hoá: Oxy hoá chất hữu cơ, vi sinh vật bằng hỗn hợp khí giàu ozone.

- Khử khoáng: Thực hiện với các mức độ khác nhau bằng các phương pháp hóa học, khi cần khử khoáng triệt để có thể dùng phương pháp trao đổi ion hoặc thẩm thấu ngược.

1.2.4. Nguyên liệu thay thế

Một số hạt cốc, đường, dịch thủy phân được sử dụng để thay thế một phần malt đại mạch chủ yếu nhằm sản xuất ra bia với giá thành thấp. Ngoài ra, khi malt đại mạch giàu hợp chất nitơ, việc sử dụng nguyên liệu thay thế giàu hydratcarbon là cần thiết để "làm loãng" hàm lượng nitơ nhằm tăng chất lượng bia.

a) Nguyên liệu thay thế dạng hạt cốc

Hạt cốc dùng làm thế liệu thông dụng nhất là gạo và ngô, sau đó là tiểu mạch, cao lương, đại mạch,....

Các nguyên liệu dạng hạt cốc chủ yếu được sử dụng ở dạng chưa ươm mầm do có giá rẻ, sẽ làm giảm đáng kể chi phí sản xuất bia. Tuy nhiên, khi sử dụng hạt cốc sẽ phải giải quyết những vấn đề sau:

- Các cấu trúc của hạt có độ bền vững cao do chưa qua quá trình phân giải sơ bộ khi ươm mầm, vì vậy sẽ khó thuỷ phân.

- Về cơ bản, việc thuỷ phân hạt cốc thay thế trong nấu bia là nhờ hệ enzyme của malt. Khi tỷ lệ hạt cốc trên tổng khối lượng nguyên liệu đem nấu tăng lên thì lượng enzyme cho mỗi đơn vị khối lượng nguyên liệu giảm, sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình thuỷ phân. Vì vậy, khi bổ sung nguyên liệu thay thế dạng hạt cốc nhiều phải bổ sung chế phẩm enzyme.

- Thành phần hoá học của hạt đại mạch được coi là ý tưởng để sản xuất bia. Việc chọn các thế liệu hạt cốc có thành phần hoá học khác với của đại mạch sẽ dẫn đến hương vị bia sẽ thay đổi.

Tỷ lệ sử dụng của hạt cốc thường dưới 30%. Nếu có sử dụng enzyme bổ sung trong quá trình nấu có thể tăng tỷ lệ thế liệu lên 50% hoặc cao hơn.

b) Nguyên liệu thay thế dạng đường

Sử dụng nguyên liệu thay thế dạng đường hoặc các sản phẩm thuỷ phân của các loại hạt cốc. Nguyên liệu thay thế dạng đường có thể giúp tăng năng suất nhà máy mà không cần mở rộng khu sản xuất dịch lên men (nhà nấu). Thế liệu dạng này thường được bổ sung trực tiếp vào dịch đường đang trong nồi đun hoa.

1.3. Nấm men và enzyme sử dụng trong sản xuất bia

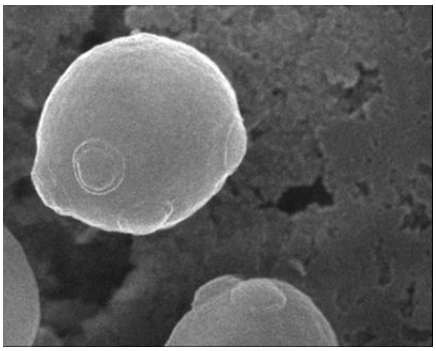
1.3.1. Nấm men trong sản xuất bia

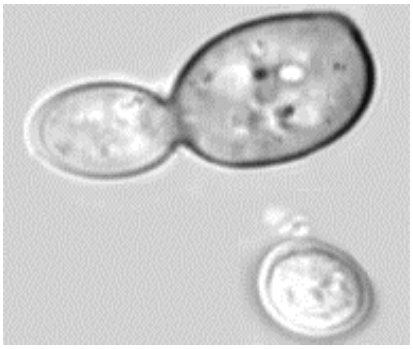
Trong ngành công nghệ sản xuất bia, ethanolvà các loại rượu (vang, whisky,

cognac, rhum...) để chuyển hoá đường ethanol và CO_2, người ta sử dụng các loài nấm men thuộc giống *Saccharomyces, họ Saccharomycetaceae, bộ Endomycetes*. Các chủng nấm men này được chọn lựa và phân lập theo một quy trình chặt chẽ và phát triển thành các canh trường giống thuần chủng dùng cho sản xuất.

a) Hình dạng, đặc điểm tế bào nấm men bia

Nấm men là nấm đơn bào, hình dạng từ hình cầu đến ô van, phương thức sinh sản chủ yếu là nảy chồi (hình 6.11). Điểm đặc biệt của nấm men là có thể thích ứng được với cả điều kiện hiếu khí và yếm khí.





Hình 6.11. Hình dạng tế bào nấm men

Khi môi trường có oxy với hàm lượng đáng kể, nấm men sẽ chuyển hoá đường để lấy năng lượng bằng hô hấp hiếu khí - đường được biến đổi hoàn toàn thành CO_2 và H_2O, giải phóng triệt để năng lượng (tương đương quá trình đốt cháy bằng oxy không khí). Trong điều kiện đủ dinh dưỡng và hô hấp hiếu khí, nấm men sẽ sinh trưởng và phát triển (tăng sinh khối) nhanh chóng. Khả năng này được được ứng dụng để nhân giống men, sản xuất sinh khối men bánh mỳ,...

Trong điều kiện thiếu oxy, với hiệu ứng Pasteur, nấm men sẽ chuyển sang hô hấp yếm khí - gọi là lên men. Có thể coi lên men là một giải pháp năng lượng không tối ưu, vì đường chỉ được phân giải ở một mức hạn chế, tạo thành ethanolvà khí CO_2,… Hiện tượng này được dùng làm cơ sở cho công nghệ lên men bia, ethanolvà các đồ uống chứa ethanol.

b) Phân loại nấm men bia

Từ lâu, nấm men bia được phân thành hai nhóm: nhóm lên men nổi (thường sử dụng là *Saccharomyces cerevisiae*) và nhóm lên men chìm (thường sử dụng là *Saccharomyces calsbergensis*). Hai nhóm này có những khác nhau về hình thái và tính chất kỹ thuật.

* Nhóm nấm men nổi có các đặc điểm như:

- Nhiệt độ lên men: $10 \div 25^0$C.

- Khả năng sinh trưởng và lên men nhanh hơn so với nấm men chìm. Quá trình lên men mạnh và xảy ra trên bề mặt môi trường.

- Khi quá trình lên men kết thúc, các tế bào kết chùm, chuỗi, tạo thành lớp dày nổi trên bề mặt cùng với bọt của bia. Vì vậy, rất khó tách nấm men để sử dụng làm men giống cho các đợt lên men tiếp theo. Bia tự trong chậm.

- Trong sản phẩm lên men nổi có nhiều sản phẩm phụ, chất lượng sản phẩm thấp hơn. Tuy nhiên, chu kỳ lên men ngắn hơn, hương vị phong phú hơn. Hiện nay, trên thế giới số nhà máy bia áp dụng phương pháp lên men nổi không nhiều, chỉ được áp dụng để sản xuất bia đen hoặc nâu phục vụ cho một số thị trường tiêu thụ quen thuộc.

- Khả năng lên men đường raffinose trisaccharide kém (chỉ 33%).

- Chủ yếu ở dạng tập hợp đám (hình 6.12).

* Nhóm nấm men chìm có các đặc điểm như:

- Nhiệt độ lên men: $6 \div 10^0$C.

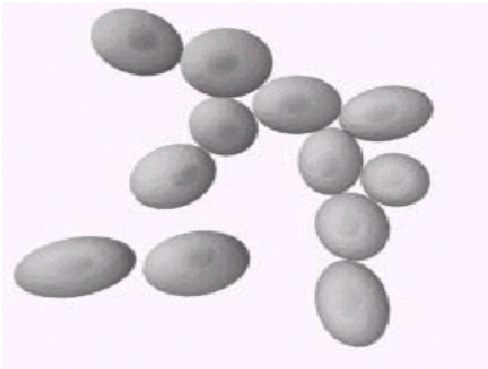
- Lên men mạnh, quá trình xảy ra trong lòng môi trường.

- Lên men xong, các tế bào cũng kết chùm hoặc chuỗi, song lại lắng xuống đáy thùng rất nhanh, thuận lợi cho việc tách chúng làm men giống cho các đợt lên men sau và bia nhanh chóng trong hơn so với lên men nổi.

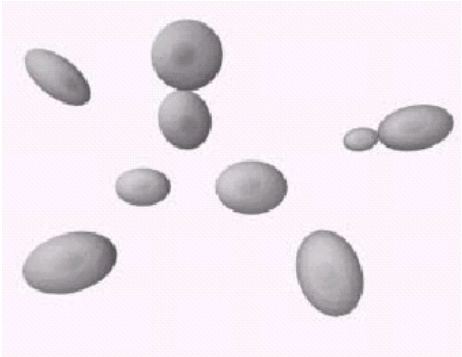
- Khả năng lên men đường raffinose trisaccharide tốt, đạt 100%.

- Qua kính hiển vi có thể nhận thấy nấm men chìm chủ yếu xuất hiện ở dạng đơn lẻ hoặc từng cặp tế bào (hình 6.13).

- Lên men chìm hạn chế được nhiều sản phẩm phụ bất lợi hình thành trong giai đoạn lên men chính, tạo ra bia có chất lượng cao. Nhiều nhà máy bia ở nước ta và cả trên thế giới sử dụng phương pháp lên men chìm để sản xuất loại bia vàng.



Hình 6.12. Tế bào nấm men nổi



Hình 6.13. Tế bào nấm men chìm

Đặc điểm hô hấp, lên men và năng lực tạo bào tử cũng có sự khác nhau. Nấm men chìm có khả năng lên men trội hơn, nấm men nổi hô hấp trội hơn. Do đó, lượng sinh khối thu được sau lên men từ nấm men nổi sẽ nhiều hơn nấm men chìm. Nấm men chìm chứa hàm lượng enzyme ít hơn nấm men nổi đồng thời khả năng sinh bào tử cũng kém hơn.

c) Chọn chủng nấm men dùng trong sản xuất bia

Ngày nay nấm men giống dùng cho sản xuất bia ở dạng các dòng thuần chủng được phân lập và tuyển chọn theo quy trình chặt chẽ. Việc chọn chủng nấm men làm giống thường căn cứ trên các mặt sau:

- Loại bia sản xuất: Thông thường nấm men lên men bề mặt dùng sản xuất các loại bia đen. Các loại bia vàng (bia sáng màu) ở nước ta lên men bằng các loài nấm men chìm.

- Khả năng kết lắng: Nấm men có khả năng kết bông tốt thì bia non sẽ trong, dễ lọc và có độ bền hoá lý cao. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến khả năng kết lắng của nấm men như tính chất của vỏ tế bào, thành phần môi trường và những tác nhân bên ngoài. Vỏ tế bào càng ít thành phần carbohydrate, mangan và hàm lượng acid amin càng lớn thì nấm men càng kết lắng nhanh. Tốc độ kết lắng còn phụ thuộc vào trị số tích điện của tế bào và pH của môi trường.

- Khả năng lên men: Cần có tốc độ lên men mạnh, lên men được nhiều loại

đường, lên men triệt để.

- Khả năng sinh sản tốt giúp quá trình nhân giống cho sản xuất thuận lợi.

- Không sinh bào tử hoặc bào tử dễ bị tiêu diệt bằng nhiệt đều này giúp quá trình thanh trùng bia được dễ dàng.

- Sản phẩm thứ cấp có hương vị phù hợp với bia, ít tạo thành các sản phẩm thứ cấp không có lợi cho hương vị của bia.

- Ít bị suy giảm các đặc tính kỹ thuật. Điều này giúp chủng nấm men có thể sử dụng được nhiều đời.

- Có khả năng chịu đựng các yếu tố bất lợi của môi trường.

d) Phân lập dòng nấm men chủng

Phân lập nhằm thu nhận tế bào nấm men có các đặc tính lên men tốt để nhân thành dòng thuần chủng.

Nguồn men phân lập là canh trường lên men bia đang ở giai đoạn sóng cao. Theo phương pháp Lindner, các giọt chứa tế bào đơn lẻ được phân tách qua kính hiển vi. Một số tế bào được phát triển ở nhiệt độ $8 \div 10^0$C (ngang với nhiệt độ lên men). Sự phát triển của các tế bào được theo dõi qua kính hiển vi và qua đó thực hiện chọn lựa để thu nhận dòng men có sức lên men mạnh nhất.

Nếu nấm men chưa cần dùng ngay thì được cấy lên môi trường thạch nghiêng và bảo quản ở $0 \div 5^0$C và bảo vệ chống thất thoát ẩm. Có thể giữ nhiều dòng men như vậy trong thời gian 6÷9 tháng, sau đó cấy chuyền để chống thoái hoá.

e) Bảo quản nấm men bia

Những chủng nấm men thuần khiết được phát triển từ một tế bào, cần phải được nuôi cấy và bảo quản sao cho giữ được những tính chất quý ban đầu. Nguyên tắc chung là đưa tế bào về gần với dạng vô hoạt (tiềm sinh), tại đó hoạt động sống được hạn chế ở tốc độ rất thấp, gần như ngưng trệ, từ đó hạn chế biến đổi do lão hoá và biến dị. Để giữ tế bào ở dạng tiềm sinh hoặc cận tiềm sinh có thể áp dụng phương pháp bảo quản ở nhiệt độ thấp ($2 \div 4^0$C, không quá 8^0C), đông khô, bảo quản ở dạng bào tử hoặc dưới điều kiện kỵ khí.

Theo giáo sư Vexelov (Nga), muốn giữ được những đặc tính quý của giống cần phải định kỳ triển khai những giống đang bảo quản ở dạng tiềm sinh ra sản xuất, rồi từ đó lại đưa vào bảo quản.

Bảo quản giống thuần khiết ở $5 \div 8^0$C trong môi trường bão hoà CO_2 có thể giữ tốt những tính chất ban đầu, nâng cao khả năng lên men và cải thiện được mùi vị bia.

f) Sự thoái hoá nấm men bia

Theo thời gian, các phẩm chất của men giống sẽ thay đổi theo chiều hướng xấu dần, gọi là sự thoái hóa. Biểu hiện của thoái hóa có thể quan sát được như:

- Nấm men tăng khả năng kết lắng và kết lắng sớm;
- Lên men chậm dần và không sâu;
- Bia không đạt đến độ chín cần thiết;
- Sản lượng sinh khối lắng trong tank lên men không nhiều;
- Hương vị bia trở nên "khô";
- Độ lên men cuối cùng giảm nhanh;
- Cặn men dạng sáp nhờn, loãng;

- Biểu hiện các hiện tượng lên men không bình thường.

Nguyên nhân thoái hóa có thể là do:

- Lên men ở nhiệt độ cao;
- Dịch lên men thiếu dinh dưỡng;
- Bảo quản nấm men không hợp lý;
- Nhiễm các vi sinh vật có khả năng tăng trưởng mạnh;
- Nhiệt độ dao động mạnh, áp suất thay đổi nhiều và có sự dao động lớn về nồng độ môi trường lên men.

Nấm men khi có biểu hiện thoái hóa phải được thay thế bằng một thế hệ men mới (triển khai nhân giống từ giống gốc hoặc nấm men khô).

1.3.2. Các loại enzyme sử dụng trong sản xuất bia

a) Termanmyl -120L

Sử dụng chế phẩm enzym Termanmyl-120L để thuỷ phân tinh bột. Đây là chế phẩm dạng lỏng có chứa α-amylase được sản xuất từ vi khuẩn *Bacilis Lichenformis* của công ty Novo Đan Mạch, là loại enzyme endo amylase có khả năng chịu được nhiệt độ lên men tới 120°C. Enzym này xúc tác thuỷ phân liên kết α-1,4 glycoside một cách ngẫu nhiên vì vậy tinh bột nhanh chóng bị thuỷ phân thành các dextrin phân tử lượng thấp, hoà tan trong nước, giảm độ nhớt tinh bột đã được hồ hoá.

Ưu điểm của phương pháp dùng Termanmyl-120L so với phương pháp không sử dụng Termanmyl-120L là: Tăng hiệu suất thu hồi chất hoà tan, tăng tỷ lệ thay thế, có thể tăng nhiệt độ nồi hồ hoá lên đến nhiệt độ sôi mà vẫn đảm bảo quá trình dịch hoá tốt và quá trình thuỷ phân triệt để hơn.

b) Cereflor 200L

Enzym cereflor 200L được sản xuất từ *Bacillus subtilis* bằng phương pháp lên men chìm. Là chế phẩm enzyme endo - β - glucanase có khả năng thuỷ phân các β–glucan để tạo thành các oligosaccharide. Nhiệt độ hoạt động tối ưu là 45÷50°C, pH = 6÷7,5. Khi các β–glucan bị phân huỷ sang dạng hoà tan làm cho khả năng tạo keo giảm, do đó nó được dùng trong công đoạn nấu malt với bột để giảm độ nhớt dịch đường, tăng khả năng lọc và tránh gây đục cho bia.

c) Fungamyl 800L

Đây là chế phẩm amylase từ nấm mốc *Aspergillus oryzae*, dạng lỏng hoạt lực 800 Kilonovo, chế phẩm này cắt liên kết α -1,4 glycoside trong phân tử amylose và amylopectin của tinh bột, dextrin, oligosaccharide của dịch. Kết quả là một lượng lớn maltose được tạo thành.

Trong sản xuất bia, fungamyl 800L được thêm vào trong quá trình nấu ở nhiệt độ $55÷60^0$C, pH = 4÷5 để tăng khả năng đường hóa của malt và bổ sung vào dịch trong giai đoạn lên men để chuyển hóa thêm một phần dextrin thành đường. Nhờ vậy hiệu suất lên men có thể tăng được 2÷5%.

Liều lượng dùng: 0,02÷0,05% so với tổng nguyên liệu khi nấu và 10ml cho vào 1 lít dịch lên men.

d) Amyloglucosidase (AMG)

AMG là enzyme glucoamylase được sản xuất từ chuẩn nấm mốc *Aspergillus niger*. Enzyme này thủy phân các liên kết α -1,4 và α -1,6 trong tinh bột. Trong quá trình thủy phân các đơn vị glucose bị tách rời theo thứ tự từ đầu không khử của cơ

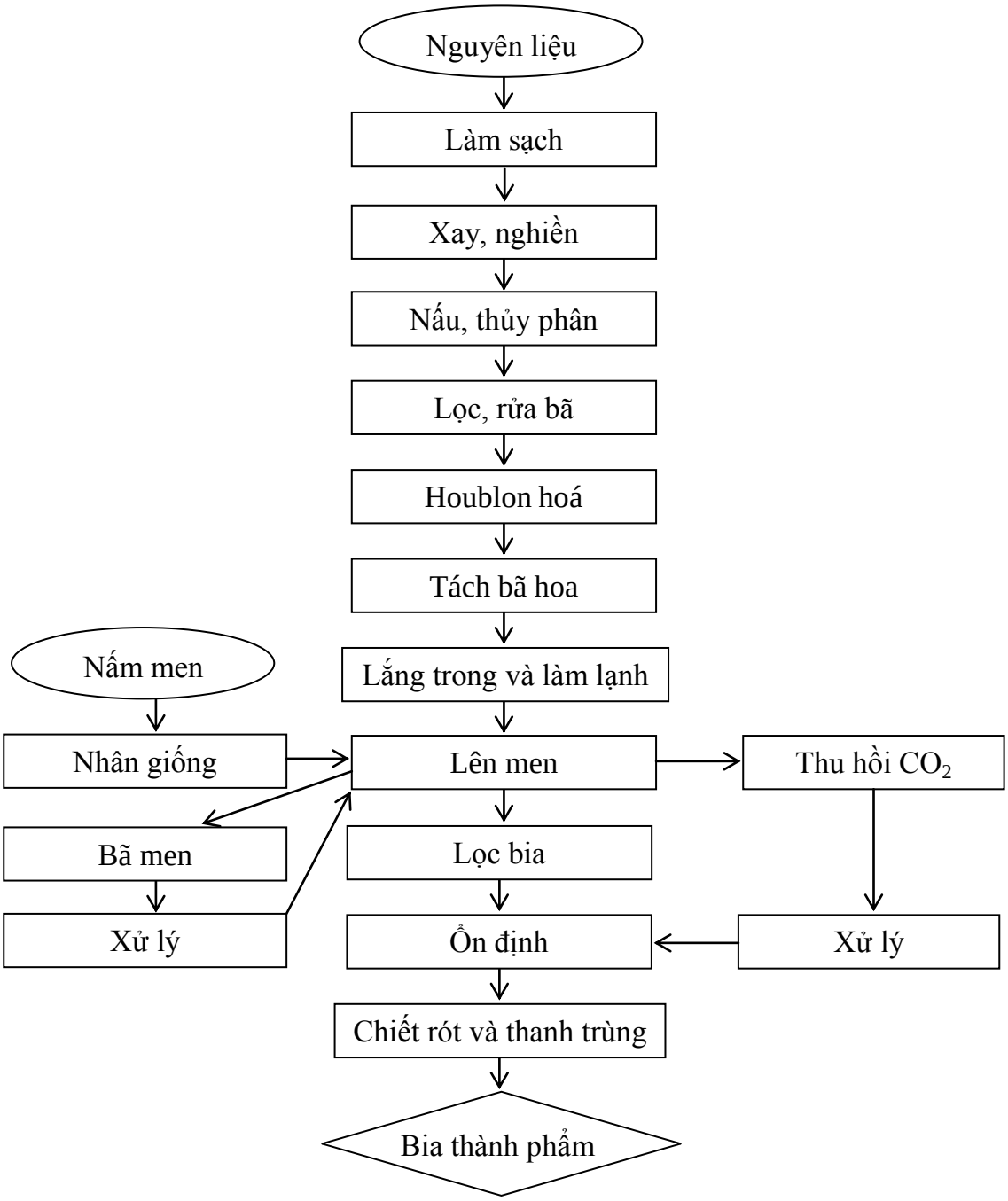
chất. Nhiệt độ hoạt động tối ưu là 65^0C, pH = 4

Chế phẩm AMG được dùng trong công nghệ sản xuất bia từ nguồn nguyên liệu chủ yếu là nguyên liệu thay thế nhằm tăng thành phần đường glucose cho địch đường.

1.4. Quy trình công nghệ sản xuất bia

1.4.1. Sơ đồ quy trình công nghệ

Quá trình sản xuất bia được mô tả tóm tắt bằng sơ đồ khối (hình 6.14) và sơ đồ thiết bị (hình 6.15).



Hình 6.14. Quy trình công nghệ sản xuất bia

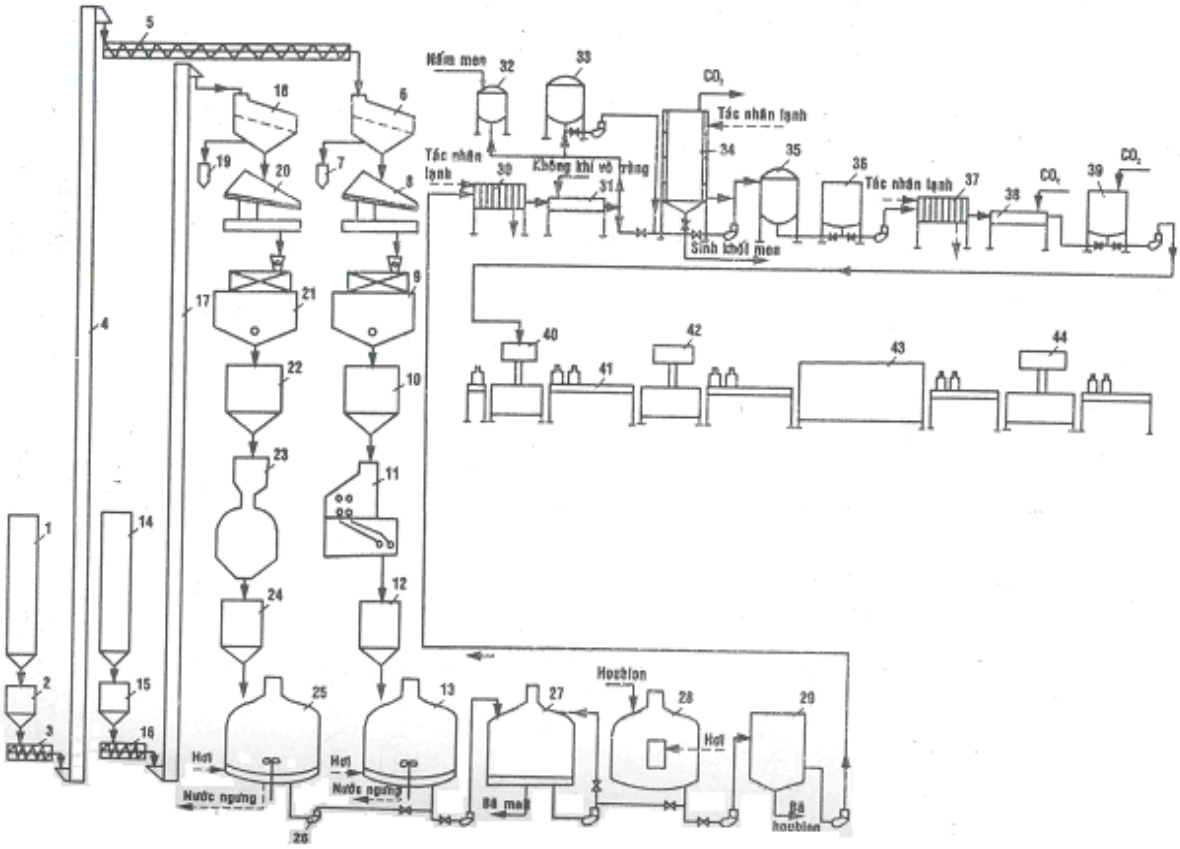
1.4.2. Thuyết minh quy trình

a) Làm sạch nguyên liệu

* Mục đích: Malt và nguyên liệu thay thế trong quá trình sản xuất, vận chuyển và

bảo quản có thể lẫn tạp chất cho nên cần làm sạch trước khi đưa vào sản xuất. Nếu trong nguyên liệu có lẫn các tạp chất như đất, vụn đá, kim loại sẽ gây hư hỏng đối với máy xay và làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Ngoài ra, kim loại còn có thể phát tia lửa khi ma sát gây ra hiện tượng nổ bụi phá hỏng thiết bị, thậm chí có thể phá hủy phân xưởng. Vì vậy, nguyên liệu cần phải làm sạch trước khi đưa vào sản xuất.

* Tiến hành: Để tách đất và các tạp chất nguyên liệu được đưa qua hệ thống sàng tạp chất. Việc tách đá thực hiện bởi máy tách đá. Sắt và các hợp kim có từ tính được loại bỏ bằng nam châm đặt trước máy xay. Nguyên liệu sau khi làm sạch tạp chất được đưa qua hệ thống cân. Nguyên liệu được cân chính xác bằng cân tự động cơ học hoặc cân điện tử; số liệu được lưu giữ để làm cơ sở tính hiệu suất nhà nấu và hiệu suất lên men.



Hình 6.15. Sơ đồ thiết bị quy trình công nghệ sản xuất bia

1. Cyclo malt;
2. Thùng chứa malt thô;
3. Vít tải malt;
4. Gàu tải malt;
5. Vít tải malt;
6. Thiết bị tách tạp chất;
7. Thùng chứa tạp chất;
8. Thiết bị tách kim loại;
9. Cân tự động;
10. Thùng chứa malt đã làm sạch;
11. Thiết bị nghiền trục;
12. Thùng chứa malt nghiền;
13. Nồi nấu malt;
14. Cyclo gạo;
15. Thùng chứa gạo;
16. Vít tải gạo;
17. Gàu tải gạo;
18. Thiết bị tách bụi;
19. Thùng chứa tạp chất;
20. Thiết bị tách kim loại;
21. Cân tự động;
22. Thùng chứa gạo đã làm sạch;
23. Thiết bị nghiền búa;
24. Thùng chứa gạo đã nghiền;
25. Nồi nấu gạo;
26. Bơm;
27. Thiết bị lọc dịch đường;
28. Thiết bị đun dịch đường với hoa houblon;
29. Thiết bị lắng xoáy tâm;
30. Thiết bị làm lạnh dịch đường;
31. Thiết bị cung cấp oxy;
32 và 33. Thiết bị nhân giống nấm men;
34. Thiết bị lên men;
35. Thiết bị lọc bia;
36. Thùng chứa bia đã lọc;
37. Thiết bị làm lạnh bia;
38. Thiết bị bão hòa CO_2;
39. Thiết bị chứa bia đã bão hòa CO_2;
40. Thiết bị rót bia vào chai;
41. Băng tải bia;
42. Thiết bị đóng nắp chai;
43. Thiết bị thanh trùng;
44. Thiết bị dán nhãn

b) Xay – nghiền nguyên liệu

* Mục đích: Nhằm tăng bề mặt tự do, tạo điều kiện hồ hoá nhanh và enzyme dễ dàng tiếp cận cơ chất thúc đẩy quá trình đường hóa và các quá trình thủy phân khác nhanh và triệt để hơn.

* Yêu cầu: Quá trình xay-nghiền nguyên liệu cần thỏa mãn các yêu cầu sau:

- Vỏ malt giữ càng nguyên càng tốt. Vỏ malt nếu bị nghiền vụn và hạt xay quá nhỏ sẽ làm cho lớp bã khi lọc nhanh bị nén chặt dẫn đến tắt lọc, rửa bã không sạch, nước lọc có thể chứa tinh bột sót. Vỏ trấu nát vụn cũng sẽ dẫn đến trích ly nhiều hợp chất từ vỏ trấu (chất đắng, muối silicate SiO_3^{2-}) làm giảm chất lượng dịch lên men.

- Tạo một tỉ lệ thích hợp giữa tấm và bột sao cho thu nhận được hiệu suất chiết cao nhất, đồng thời bảo đảm việc lọc dịch đường nhanh và dịch trong.

Với hạt malt, phần có độ nhuyễn cao (được thủy phân khi ươm mầm) sẽ được nghiền nát dễ dàng, ngược lại phần lõi chưa được biến đổi đáng kể khi ươm mầm sẽ khó nát, khi nghiền sẽ thành tấm thô. Các hạt tấm thô này khó được thuỷ phân, thường là nguyên nhân của hiện tượng tinh bột sót. Vì vậy, malt xấu cần được nghiền mịn. Khi sử dụng thế liệu dạng hạt chưa ươm mầm thì thế liệu được nghiền mịn và kết hợp malt tốt được nghiền thô.

Tỷ lệ giữa vỏ trấu, tấm lớn, tấm bé, bột mịn còn được chọn dựa vào phương thức lọc và nấu. Nếu sử dụng thùng lọc, bột nghiền càng mịn thì thể tích bã càng nhỏ, kích thước mao quản lọc nhỏ và dễ bị ép chặt, dẫn đến thời gian lọc sẽ kéo dài, thậm chí sẽ xảy đến hiện tượng ngưng chảy hoàn toàn. Lọc khung bản ít bị ảnh hưởng bởi chất lượng malt và mức độ nghiền hơn so với lọc thùng. Với máy lọc hiện đại, quá trình lọc thực hiện qua vải polypropylene có kích thước lỗ rất nhỏ, hầu như không bị trở ngại lọc. Malt và hạt cốc có thể được nghiền mịn bằng máy nghiền búa để đạt hiệu suất thu hồi cao.

Hiện nay có xu hướng làm ướt vỏ trấu để tăng độ dai, độ bền nhưng vẫn giữ nội nhũ khô để dễ xay nghiền.

* Cách tiến hành: Nguyên liệu có thể được nghiền bằng các phương pháp: nghiền khô, nghiền ẩm, nghiền ướt và nghiền bằng búa.

- Nghiền khô: Nghiền khô được sử dụng rộng rãi trong thực tiễn sản xuất. Trong máy nghiền, malt khô được cho đi giữa các trục quay bố trí thành từng cặp. Các trục quay có độ nhám do khía rãnh hoặc gai nhỏ, quay với tốc độ khác nhau. Khoảng cách giữa các trục rulo có thể điều chỉnh được. Mỗi máy có thể trang bị một số sàng và các sàng này cũng thay thế được. Qua điều chỉnh độ hở giữa các rulo và chọn lỗ sàng ta có thể tạo ra bột nghiền với tỷ lệ các cỡ hạt thích hợp.

- Nghiền ẩm: Malt trước khi vào máy sẽ được phun bổ sung thêm 2% ẩm bằng nước sôi hoặc bằng hơi hơi nước. Vỏ malt ướt trở nên đàn hồi, dễ được tách ra gần như nguyên vẹn trong khi phần nội nhũ có thể được nghiền nát. Nghiền ẩm cũng thực hiện trong các thiết bị tương tự như đối với nghiền khô.

- Nghiền ướt: Malt được trộn với nước theo tỷ lệ nhất định trước khi đưa vào máy. Máy nghiền ướt có cấu tạo khác với hai loại máy trên. Xay ướt cho phép rút ngắn được thời gian lọc bã khoảng 10÷20% so với xay khô do độ xốp của khối bã lọc cao hơn nhờ mức độ gãy vỡ của vỏ malt thấp hơn.

- Nghiền búa: Nghiền búa có thể đập nát nguyên liệu thành bột rất mịn. Nghiền búa áp dụng thích hợp nhất đối với các nguyên liệu thay thế chưa ươm mầm có độ

cứng cao cần lực lớn để phá vỡ hạt. Việc chọn kích thước lỗ sàng có ý nghĩa đặc biệt quan trọng.

c) Nấu – đường hóa nguyên liệu

* Mục đích: Chuyển các chất từ trạng thái không hòa tan sang trạng thái hòa tan nhờ tác động của enzyme có sẵn trong malt.

Chất khô của malt chủ yếu ở dạng không hòa tan và được phân giải với mức độ triệt để khác nhau. Chất trích ly là một hỗn hợp phức tạp, chiếm lượng nhiều nhất là các loại đường lên men được (maltose, glucose, saccharose, maltotriose), dextrin (đường không lên men được), hợp chất chứa nitơ và chất vô cơ. Các chất không tan gồm tinh bột chưa được thủy phân, dextrin phân tử lượng lớn, cellulose, các protein... tạo thành thành phần bã malt và được tách ra khỏi nước lọc qua quá trình lọc bã.

Trên quan điểm kinh tế, thuỷ phân cần khai thác được càng nhiều chất trích ly càng tốt. Tuy vậy, với sản xuất bia, không chỉ cần hiệu suất thủy phân cao mà chất lượng dịch đường phải cao. Trích ly nhiều tannin, khoáng chất trong vỏ malt,... sẽ dẫn đến vị và độ bền hoá lý của bia bị giảm.

* Các quá trình xảy ra khi nấu bia: Quá trình diễn ra trong khối nấu có thể được phân thành hai nhóm là quá trình enzyme (nhóm quá trình hóa sinh) và các quá trình phi enzyme (nhóm các quá trình hóa lý-hóa học).

Quá trình enzyme: Các quá trình enzyme chiếm ưu thế trong diễn biến quá trình thuỷ phân, đây là sự tiếp tục và hoàn thiện các quá trình enzyme xảy ra trong ươm mầm vốn đã bị dừng bởi công đoạn sấy malt. Dưới tác động của các enzyme, các chất có trong nguyên liệu bị thủy phân và chuyển sang trạng thái hòa tan. Trong quá trình thuỷ phân có sự tham gia của nhiều enzyme, trong đó các loại sau có vai trò nổi trội, là hệ amylase, protease, cytase, phosphatase.

- Thuỷ phân tinh bột: Dưới tác dụng của hệ enzyme amylase, tinh bột sẽ chuyển thành các loại đường glucose, maltose, maltotriose và các dextrin phân tử lượng thấp. Hai enzyme quan trọng nhất của quá trình phân giải tinh bột là α-amylase và β-amylase. α-amylase phân giải amylose và amylopectin thành các dextrin chứa từ 7 đến 12 đơn vị glucose. β-amylase phân cắt từng cặp đơn vị glucose (maltose) ra khỏi đầu không khử mới được tạo ra trên các mạch polysaccharide mới. Quá trình phân cắt tạo maltose của β-amylase chậm hơn rất nhiều so với hoạt động cắt mạch của α-amylase. Tác dụng đồng thời của 2 enzyme sẽ tạo ra *maltose, glucose* và *maltotriose*. Do cả hai loại này không phân cắt được liên kết 1,6-glycoside nên thuỷ phân sẽ dừng lại cách liên kết 1,6-glycoside khoảng 2-3 đơn vị glucose, tạo thành các dextrin giới hạn. α-amylase hoạt động tốt trong khoảng nhiệt độ $72 \div 75^0$C, pH tối ưu là 5,6÷5,8. Hoạt lực giảm nhanh chóng khi nhiệt độ lên đến 80^0C. β-amylase hoạt động tốt trong khoảng nhiệt độ $60 \div 65^0$C, pH tối ưu khoảng 5,4÷5,5. β-amylase là enzyme kém bền nhiệt, ở 70^0C hầu như bị vô hoạt hoàn toàn.

Quá trình thuỷ phân tinh bột phải được theo dõi để tránh sót tinh bột hoặc các dextrin phân tử lượng lớn. Thường sử dụng iodine 0,2N trong ethanol (dung dịch gồm iodine (I_2), potassium iodine (KI) và ethanol) thử trên dung dịch thủy phân nguội. Đường và các dextrin mạch ngắn không gây biến đổi màu của dung dịch thuốc thử. Các mảnh dextrin mạch nhánh có phân tử lượng cao hơn sẽ cho phản ứng màu từ tím đến đỏ. Khi dịch thuỷ phân không còn phản ứng màu với iodine thì kết thúc đường hoá. Khoảng 75÷80% chất khô bột nghiền được chuyển thành chất trích ly, phần không hòa tan bị thải loại dưới dạng bã malt.

Sản phẩm thuỷ phân tinh bột chủ yếu gồm: maltose (khoảng 40÷50%), dextin (khoảng 20%), maltotriose (khoảng 20%), glucose (10÷15%), saccharose (khoảng 6%), fructose (khoảng 2%). Maltose, glucose, maltriose cùng với lượng đường đơn giản có sẵn trong đại mạch (saccharose, fructose) tạo thành nhóm đường lên men được, chiếm 61÷65% tổng chất hòa tan. Bằng cách thay đổi chế độ nấu (nhiệt độ, thời gian lưu giữ ở các mức nhiệt độ) ta có thể thay đổi cơ cấu tỷ lệ các sản phẩm thủy phân.

- Thủy phân protein: Sự thủy phân protein trong thời gian đường hóa do enzyme protease tạo thành sản phẩm cuối cùng là các pepton và acid amin. Mặc dù sản phẩm thủy phân protein chỉ chiếm hàm lượng nhỏ trong chất hòa tan của dịch đường (5÷6%), song chúng đóng vai trò quan trọng trong quá trình công nghệ sản xuất bia như: Tạo giá trị dinh dưỡng cho bia; Làm nguồn nitơ cho nấm men hoạt động (nấm men cần lượng acid amin khoảng 10÷14mg/100 ml dịch lên men), tạo và giữ bọt cho bia; Tham gia phản ứng melanoidin tạo thành các hợp chất có màu, hương, góp phần tạo mùi vị cho bia. Enzyme thuỷ phân protein trong malt gồm 2 nhóm: proteinase và peptidase.

+ Proteinase: Phân cắt liên kết peptide ngẫu nhiên từ bên trong mạch polypeptid thành các đoạn polypeptid kích thước khác nhau và một ít acid amin. pH tối ưu từ 4,6÷4,9, nhiệt độ tối ưu 50÷60^{0}C. Đây là nhóm enzyme bền nhiệt. Khi hoạt động ở nhiệt độ khoảng 50^{0}C sẽ tạo ra nhiều polypeptid đơn giản; khi ở 60^{0}C sản phẩm chủ yếu là các polypeptid phân tử lượng cao.

+ Peptidase: Phân cắt polypeptid thành các dạng đơn giản như dipeptid và acid amin. Điều kiện tối ưu: pH 7÷8, nhiệt độ thuận lợi 40÷42^{0}C, hoạt lực yếu dần khi nhiệt độ lên 50^{0}C và mất hẳn khi đến 60^{0}C. Vì vậy trong thủy phân, các enzyme peptidase khó hoạt động được do pH và nhiệt độ cách xa vùng tối ưu. Để tăng lượng hợp chất chứa nitơ đơn giản, khởi đầu quá trình nấu ta trộn bột nghiền với nước ở 40÷42^{0}C và giữ một khoảng thời gian trước khi nâng nhiệt.

Khác với trường hợp tinh bột, sự phân giải protein trong quá trình thuỷ phân không đạt đến điểm kết thúc. Khoảng 15÷16% hợp chất chứa nitơ trong hạt đại mạch ở dạng đơn giản hoà tan được. Trong quá trình làm malt, có thêm khoảng 15% protein được chuyển thành dạng đơn giản, chủ yếu là các acid amin, polypeptid phân tử lượng thấp. Sự phân giải protein trong quá trình thuỷ phân giúp khai thác thêm 10% protein sang dạng hoà tan, chủ yếu là albumin, polypeptid phân tử lượng trung bình. Như vậy, chỉ khoảng 40% protein hạt đại mạch được hoà tan, chia thành đạm bền vững và đạm khả kết.

Đạm bền vững tạo bởi các acid amin và peptide đơn giản, tồn tại bền vững trong dịch lên men và bia. Đây là thành phần đạm rất giá trị, cung cấp dinh dưỡng nitơ cho nấm men, tham gia tạo vị, hương, màu.

Đạm khả kết chủ yếu là các polypeptid phân tử lượng lớn, hầu hết bị kết tụ trong nồi thuỷ phân và đun hoa. Phần còn lại tuy hoà tan nhưng sẽ kết mảng theo thời gian, đặc biệt khi điều kiện môi trường bia (nhiệt độ, pH) thay đổi.

Quá trình thủy phân protein xảy ra chủ yếu ở 45÷55^{0}C, và tiếp tục diễn ra ở nhiệt độ cao hơn. Dừng nhiệt độ tại 45^{0}C sẽ cho ra nhiều hợp chất chứa nitơ đơn giản, dừng nhiệt độ tại 55^{0}C sẽ tạo ra nhiều hợp chất nitơ phân tử lượng cao. Nếu dừng nhiệt độ lâu trong khoảng 45÷50^{0}C sẽ dẫn đến bia kém bọt.

- Phân huỷ màng tế bào: Thành tế bào nội nhũ đại mạch chủ yếu gồm protein,

cellulose và hemicellulose, được liên kết với nhau bởi β-glucan. Quá trình làm tan màng tế bào sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thuỷ phân. Nhóm enzyme hoà tan màng gọi chung là cytase, vùng hoạt động tối ưu với khoảng 45^0C và pH khoảng 5,0.

β-glucan có vai trò như các sợi chỉ liên kết các chất cấu thành màng tế bào. Phân tử β-lucan trong một số trường hợp sẽ tạo gel làm tăng độ nhớt, gây ra các vấn đề lọc. Trong quá trình ươm mầm, β-glucan đã được phân huỷ sâu sắc. Quá trình này càng triệt để nếu sử dụng đại mạch ít β-glucan, giàu endo-β-glucanase (ít nhất 120 đơn vị endo-β-glucanase/kg malt). Điều kiện tối ưu cho endo-β-glucanase là $45 \div 50^0$C. Bằng cách lưu khối thuỷ phân lâu ở nhiệt độ này và dùng malt có độ nhuyễn cao, giàu endo-β-glucanase, phần lớn β-glucan được thuỷ phân thành β-glucan tan dạng đơn giản vẫn tránh được khả năng tạo gel.

- Giải phóng phosphate: Trong giai đoạn peptone hoá, các phosphatase giải phóng phosphate từ malt vào dịch thuỷ phân, dẫn đến hình thành hỗn hợp các muối phosphate, muối phosphate chủ yếu là dibasic potassium phosphate, K_2HPO_4 (pH 8) và monobasic, KH_2PO_4 (pH 4,7). pH của huyền phù khi hòa bột vào nước khoảng 5,8÷6,0, trong khi đó pH cần điều chỉnh để thích hợp chung cho các enzyme cần thiết khoảng 5,2÷5,7. Do vậy cần acid hóa dịch thủy phân nguyên liệu. Với sự hiện diện thỏa đáng của ion Ca^{2+}, ví dụ dưới dạng muối $CaSO_4$, trong dịch thủy phân sẽ xảy ra phản ứng:

$$K_2HPO_4 + CaSO_4 = Ca_3(PO_4)_2 + KH_2PO_4 + K_2SO_4.$$

$Ca_3(PO_4)_2$ sẽ kết tủa dẫn đến cân bằng chuyển dịch theo chiều triệt tiêu muối K_2HPO_4 vốn có tính base, nhờ vậy pH sẽ giảm về miền acid.

Như vậy thành phần tự nhiên của malt, phosphatase và các chất hữu cơ chứa phosphate cùng với nước nấu được xử lý thích hợp sẽ dẫn đến hình thành hệ đệm ở mức pH thích hợp cần thiết để thủy phân. Các sản phẩm thủy phân các phosphatase còn là dinh dưỡng phospho cho nấm men.

Quá trình phi enzyme: Trong quá trình nấu – đường hóa còn xảy ra các quá trình phi enzyme như:

- Sự kết lắng và biến tính protein: Các phân tử protein (polypeptid) phân tán trong dịch thủy phân dưới dạng các hạt keo protein không bền. Dưới tác động của nhiệt độ cao hoặc pH môi trường gần điểm đẳng điện, một phần protein bị biến tính và đông tụ.

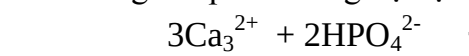
- Xảy ra phản ứng tạo thành melanoid: melanoid là phản ứng giữa các acid amin với các đường khử tạo thành các melanoid có màu sậm và mùi. Phản ứng phụ thuộc vào bản chất, nồng độ các acid amin và các đường, tỷ lệ nước, nhiệt độ và một số chất tăng cường, kìm hãm. Tỷ lệ nước càng thấp thì phản ứng càng mạnh. Nhiệt độ thúc đẩy tốc độ phản ứng và chất lượng sản phẩm melanoidin, ở khoảng $95 \div 100^0$C tạo ra các melanoidin có mùi vị hài hoà nhất. Các chất phản ứng được với nhóm -C=O đều là tác nhân kìm hãm, ngược lại các acid như lactic acid, phosphoric acid và các muối của chúng có tác dụng tăng cường phản ứng.

- Phản ứng giữa các muối của nước và phosphate có trong khối cháo: Các muối carbonat và bicarbonat trong nước sẽ phản ứng với các muối phosphat của malt làm giảm tính đệm và làm tăng pH của dịch thuỷ phân. Ví dụ:

$$H_2PO_4^- + HCO_3^{--} \rightarrow HPO_4^{--} + CO_2 + H_2O$$

$$HPO_4^{--} + H_2O \rightarrow H_2PO_4^- + OH^-$$

Các muối gây ra độ cứng phi carbonat khi phản ứng với các muối phosphat sẽ làm giảm pH và tăng độ đệm của môi trường.



$$3Ca_3^{2+} + 2HPO_4^{2-} \rightarrow Ca_3(PO_4)_2 + 2H^+$$

- Hòa tan các thành phần dễ hòa tan của malt vào dung dịch: Hòa tan các polyphenol, chất chát, chất đắng từ vỏ malt sẽ làm giảm chất lượng dịch lên men. Sự hòa tan muối phosphate từ malt là cần thiết. Các phosphate sẽ phản ứng với các ion tạo độ cứng của nước làm thay đổi pH theo hướng có lợi và tăng độ đệm của môi trường.

* Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nấu: Quá trình nấu bia chịu ảnh hưởng của các yếu tố sau:

- Thời gian: Thời gian là yếu tố quan trọng cùng với nhiệt độ lập thành chế độ thuỷ phân. Nếu giữ nhiệt độ tại một mức thuận lợi cho một enzyme thì sản phẩm thuỷ phân do enzyme đó xúc tiến càng nhiều. Tuy nhiên đây không phải là tỷ lệ thuận, thời gian càng lâu thì hoạt lực của enzyme càng yếu dần.

- Nhiệt độ: Hoạt động của enzyme phụ thuộc vào nhiệt độ. Hoạt lực của nó tăng khi nhiệt độ môi trường phản ứng tăng và mỗi enzyme đạt hoạt lực mạnh nhất tại một giá trị nhiệt độ nhất định đặc trưng cho nó, gọi là nhiệt độ tối ưu. Ở nhiệt độ cao hơn sẽ diến ra sự biến tính nhanh chóng enzyme do phá vỡ các cấu trúc xoắn, cuộn không gian của phân tử protein. Nhiệt đô càng cao hơn nhiều so với nhiệt độ tối ưu thì sự vô hoạt và hủy diệt hoạt tính của enzyme diễn ra càng nhanh. Hoạt lực của enzyme tại một mức nhiệt độ xác định cũng sẽ bị thay đổi. Trong khi ở nhiệt độ thấp hoạt lực enzyme có thể được duy trì gần như không hạn định thì ở nhiệt độ cao nó sẽ giảm nhanh.

- pH: Mỗi enzyme cũng có một giá trị pH tối ưu. Tuy nhiên các enzyme của malt có giá trị pH tối ưu hoặc cận tối ưu nằm trong một khoảng khá hẹp. Từ đó cho phép chọn một mức pH cho thuỷ phân trên cơ sở thuận lợi chung cho các enzyme cần ưu tiên. pH dịch thuỷ phân thường được điều chỉnh thường nằm trong khoảng 5,3÷5,6.

- Trạng thái vật lý của nguyên liệu: Hoạt động của enzyme được tạo thuận lợi nếu enzyme dễ tiếp cận cơ chất, do vậy việc nghiền mịn, hồ hoá và dịch hoá hoàn toàn là rất cần thiết.

- Mức độ đặc loãng của khối thuỷ phân: Nếu bột được hoà loãng sẽ thuận lội cho thuỷ phân tạo đường, nếu hoà đặc sẽ thuận lợi cho thuỷ phân protein. Tuy nhiên các ảnh hưởng này thật sự không lớn.

- Hoạt lực enzyme: Malt có hoạt lực enzyme mạnh sẽ thuỷ phân nhanh và triệt để đồng thời tránh được những vấn đề kỹ thuật do thuỷ phân không hoàn toàn gây ra.

- Các yếu tố khác: Sự có hoặc không hiện diện các chất hoạt hoá (co-enzyme), chất ức chế (inhibitor: kim loại, acid mạnh, hoặc kiềm) hoặc độc tố enzyme có thể làm thuận lợi hoặc kìm hãm các quá trình enzyme.

* Phương pháp nấu: Nấu bia là làm tăng nhiệt độ khối cháo đến nhiệt độ thích hợp của enzyme mà ta muốn chúng hoạt động và duy trì ở nhiệt độ đó một thời gian ("giai đoạn nghỉ"). Các giai đoạn nghỉ ở các nhiệt độ thích hợp của các enzyme như sau:

45÷50°C	nghỉ protein và β-glucan
62÷65°C	nghỉ maltose
70÷75°C	nghỉ đường hóa
78°C	nhiệt độ khối cháo ở giai đoạn kết thúc.

Hiện nay có nhiều phương pháp nấu - đường hóa nguyên liệu. Có thể phân thành hai nhóm chính là phương pháp ngâm (đường hóa theo kiểu toàn khối) và phương pháp đun sôi (đường hóa theo kiểu phân đoạn). Ngoài ra còn có các phương pháp theo kiểu kết hợp giữa hai kiểu trên.

- Phương pháp ngâm: Đặc trưng của phương pháp này là toàn bộ khối nấu được nâng và giữ nhiệt tại các mức nhiệt độ khác nhau thuận lợi cho các enzyme hoạt động cho đến khi thuỷ phân kết thúc. Phương pháp này sử dụng trường hợp dùng 100% malt đại mạch. Quá trình thủy phân nhanh nhưng không sâu. Phương pháp đường hóa toàn khối tuy cổ điển nhưng được sử dụng rộng rãi ở nhiều nước. Ưu điểm là thực hiện chế độ công nghệ đơn giản, dễ cơ giới hóa, tự động hóa các quá trình sản xuất. Có 2 phương pháp nấu ngâm:

+ Phương pháp ngâm tăng dần nhiệt độ: Bột malt được trộn đều với nước nóng duy trì nhiệt độ ở 50÷52°C và để yên khối dịch bột trong 60 phút (giai đoạn đạm hóa-nghỉ protein). Sau đó nâng nhiệt lên 62÷65°C, duy trì trong 30÷45 phút (nghỉ maltose). Nâng nhiệt lên 70÷75°C và dừng khoảng 30 phút. Nâng lên 77°C và chuyển sang công đoạn tách bã.

+ Phương pháp ngâm giảm dần nhiệt độ: Trộn đều bột malt với nước ở 75°C. Sau khi đánh nhuyễn, nhiệt độ chung của khối dịch cháo hạ xuống còn khoảng 70°C. Khuấy thêm 15 phút rồi để cả khối dịch yên tĩnh đến khi đường hoá kết thúc. Quá trình này này kéo dài khoảng 60 phút. Phương pháp này chỉ áp dụng cho malt có hoạt lực amylase cao và độ nhuyễn protein rất tốt (protein hầu như đã được thủy phân triệt để ở giai đoạn ươm mầm).

- Phương pháp đun sôi: Đặc trưng của phương pháp này là trích 1 phần (phần đặc) của khối nấu đem đun sôi, sau đó trộn lẫn với phần chưa đun sôi để nâng nhiệt độ lên mức thích hợp và giữ nhiệt độ đó trong 1 thời gian cần thiết. Có thể tiến hành đun sôi 1 lần, 2 lần, 3 lần. Phương pháp này làm tăng năng suất sử dụng nguyên liệu, thủy phân triệt để nguyên liệu nhưng thời gian dài, phù hợp cho việc sử dụng nguyên liệu thay thế là hạt chưa nẩy mầm. Khi đun sôi thì toàn bộ tinh bột đều bị hồ hóa.

+ Đun sôi ba lần: Phương pháp này thường được sử dụng nhiều trong sản xuất bia đen hoặc sản xuất bia vàng chất lượng cao nhưng độ nhuyễn của malt không tốt lắm. Thao tác công nghệ của phương pháp này như sau: Bơm 1/3 tổng lượng nước cần thiết có nhiệt độ 38÷40°C vào nồi ngâm malt, cho cánh khuấy làm việc rồi từ từ cho bột malt vào. Trong thời gian đổ bột malt, cho tất cả lượng nước còn lại vào nồi. Sau khi trộn đều, nhiệt độ chung của dịch bột là khoảng 35÷37°C. Cho cánh khuấy làm việc tiếp trong 5 phút, sau đó dừng 10 phút để pha rắn lắng xuống đáy thiết bị.

Đun sôi lần 1: Bơm 1/3 phần dịch đặc từ nồi malt sang nồi nấu sôi. Cho cánh khuấy của nồi hoạt động liên tục và từ từ nâng nhiệt độ lên 50÷52°C, duy trì ở nhiệt độ này trong khoảng 5÷10 phút (giai đoạn đạm hóa). Sau thời gian đạm hóa, nâng nhiệt lên 70÷73°C, nghỉ ở nhiệt độ này trong 10÷15 phút (giai đoạn dịch hóa). Sau thời gian dừng này tăng nhanh nhiệt khối cháo đến sôi, cho sôi mạnh trong 20 phút. Trong điều kiện này, toàn bộ tinh bột sẽ được hồ hóa. Thời gian thực hiện đoạn nhất khoảng 120 phút.

Đun sôi lần 2: Bơm khối cháo của đoạn nhất từ nồi nấu về nồi ngâm malt để phối trộn với dịch ở nồi này. Trong khi bơm khối cháo phối trộn, cánh khuấy ở nồi ngâm malt phải làm việc liên tục và khống chế lưu lượng bơm để tránh nhiệt độ ở nồi malt tăng đột ngột. Nhiệt độ toàn khối ở nồi malt sau khi hòa trộn là 50÷52°C. Dừng

khuấy. Để yên 10÷15 phút để chất rắn lắng xuống. Bơm 1/3 lượng bã lắng sang nồi nấu, khuấy trộn kết hợp nâng nhiệt lên 70÷72°C và duy trì ở nhiệt 70÷72°C trong 10÷15 phút. Nâng lên nhiệt độ sôi và cho sôi mạnh 20 phút sau đó bơm trở về phối trộn với khối cháo trong nồi ngâm malt. Nhiệt độ khối cháo ở nồi malt đang là 48÷50°C sẽ tăng lên 62÷63°C, giữ trong 30 phút (giai đoạn đường hóa). Thời gian đoạn hai khoảng 90 phút.

Đun sôi lần 3: Bơm 1/3 phần lắng ở đáy sang nồi nấu, cho cánh khuấy hoạt động liên tục và từ từ gia nhiệt để tăng nhiệt độ dịch cháo lên 75÷77°C rồi đun sôi trong 10÷15 phút. Bơm về lại nồi malt và cho cánh khuấy ở nồi malt làm việc liên tục. Nhiệt độ ở nồi malt từ 60÷62°C sau khi phối trộn sẽ tăng đến 73÷75°C và duy trì nhiệt độ này đến khi thuỷ phân hoàn toàn (thử bằng dung iodine). Thời gian đoạn ba khoảng 60 phút còn thời gian toàn quá trình khoảng 5,5÷6h.

+ Đun sôi 2 lần: Được sử dụng phổ biến trong sản xuất các loại bia vàng. Thao tác công nghệ như sau:

Đun sôi lần 1: Tại nồi malt, hòa trộn nước với bột malt ở nhiệt độ 50÷52°C. Để yên 20 phút. Bơm 1/3 phần đặc từ nồi malt sang nồi nấu sôi. Nâng nhiệt khối dịch đặc lên 70÷72°C. Sau 15÷25 phút nâng tiếp lên nhiệt độ sôi. Cho sôi mạnh trong 15÷30 phút sau đó bơm trở về nồi ngâm malt. Nhiệt độ nồi malt từ 48÷50°C tăng nhanh đến 60÷65°C. Dừng khuấy 20 phút (nghỉ amylase).

Đun sôi lần 2: Bơm khoảng 2/5 phần đặc sang nồi nấu. Nâng nhiệt lên 70÷72°C và giữ 15÷20 phút. Nâng nhiệt lên đến sôi và giữ sôi 20 phút sau đó bơm trở về nồi malt. Nhiệt độ nồi malt từ 60°C tăng lên 73÷75°C. Duy trì nhiệt độ này cho đến khi đường hóa hoàn toàn.

Thời gian toàn mẻ nấu khoảng 4÷4,4h.

+ Đun sôi 1 lần: Tại nồi ngâm malt, hòa malt với nước ở nhiệt độ khoảng 52°C, duy trì 30 phút. Sau thời gian đó nâng nhiệt độ lên 63÷65°C, giữ trong thời gian 40 phút để đường hóa. Sau khi đường hóa, dừng cánh khuấy, để yên khối cháo trong 20 phút cho phần rắn lắng xuống đáy nồi. Bơm khối cháo lắng ở đáy nồi malt sang nồi nấu và nâng nhiệt khối cháo lên 70÷72°C, giữ trong 20 phút, sau đó đun sôi trong 40 phút. Sau khi nấu sôi, bơm cháo trở về nồi malt. Nhiệt độ cả khối cháo ở nồi malt tăng đến khoảng 77°C. Giữ nhiệt độ này cho đến khi dịch cháo không làm biến màu dung dịch iodine. Thời gian một mẻ nấu khoảng 3,5 giờ.

- Nấu có sử dụng thế liệu

Với mục đích hạ giá thành sản phẩm, người ta sử dụng nguyên liệu thay thế để thay thế một phần malt đại mạch. Nguyên liệu thay thế thường sử dụng là các loại hạt ngũ cốc như: gạo, ngô, đại mạch... Ở nước ta chủ yếu dùng gạo. Trước đây thì lượng nguyên liệu thay thế thường là 10÷15% nhưng gần đây nhờ có sử dụng các loại chế phẩm enzym thì tỷ lệ đó đã tăng lên đến 50% hoặc có thể cao hơn nữa. Việc có sử dụng nguyên liệu hạt chưa ươm mầm vào trong sản xuất bia đòi hỏi phải có giải pháp công nghệ thích hợp để bảo đảm hiệu suất đường hóa và ổn định chất lượng bia thành phẩm.

Các loại hạt ngũ cốc cần phải nghiền trước khi sử dụng để tạo điều hiện cho enzyme phân giải chúng. Tinh bột đã hồ hóa thì dễ bị thủy phân bởi enzyme vì vậy các loại ngũ cốc cần được hồ hóa trước khi đường hóa. Các loại ngũ cốc có nhiệt độ hồ hóa tinh bột cao hơn nhiệt độ thủy phân khối cháo malt như gạo, ngô thì cần phải nấu sôi trong nồi riêng (gọi là nồi nấu ngũ cốc) để hồ hóa. Các nồi nấu này có bộ phận cấp

nhiệt, có cánh khuấy để khuấy trộn khối cháo. Nếu không khuấy trộn thì khối cháo thứ liệu có thể bị cháy trên bề mặt truyền nhiệt. Trong nồi nấu nguyên liệu ngũ cốc người ta bổ sung vào khoảng 10÷15% malt so với tổng khối lượng nguyên liệu để các enzyme từ malt bổ sung hoạt động cắt ngắn mạch tinh bột (dịch hóa) làm giảm độ nhớt khối cháo ngũ cốc khi đang hồ hóa. Có thể bổ sung α-amylase thương mại. Nồi cháo ngũ cốc được nấu sôi ở 100°C trong khoảng 15÷20 phút để hồ hóa hoàn toàn. Sau khi nấu sôi khối nguyên liệu thay thế được bơm vào nồi cháo malt đại mạch, trộn chung với khối cháo malt, nâng nhiệt độ hỗn hợp cháo lên đến 62÷65°C để các loại enzyme của malt trong nồi cháo malt sẽ thủy phân các cấu tử trong nguyên liệu thay thế. Đây được gọi là "đun sôi đơn".

Khi sử dụng nhiều thế liệu nhưng nếu áp dụng các chế độ công nghệ hợp lý, thì chất lượng của dịch đường thu được so với dịch đường nấu từ 100% malt không khác nhiều về hàm lượng maltose và nitơ hòa tan, thậm chí khả năng tạo bọt của dịch đường nấu từ thế liệu còn có phần tốt hơn.

+ Trường hợp sử dụng nguyên liệu thay thế ít (tỷ lệ <30%). Cách tiến hành nấu như sau:

Tại nồi ngũ cốc: Toàn bộ bột gạo cùng với 10÷15% bột malt (so với tổng lượng nguyên liệu) trộn đều với nước ấm tạo thành hỗn hợp ở 50°C, khuấy trộn đều. Điều chỉnh pH đạt 5,3÷5,5 bằng acid lactic hoặc acid phosphoric. Duy trì khối dịch bột ở nhiệt độ 50°C trong 30÷40 phút. Sau đó tăng dần nhiệt độ lên đến 75°C và duy trì trong 10÷20 phút. Sau đó nâng nhiệt nhanh đến khi sôi và duy trì cường độ sôi trong 25 phút rồi bơm khối cháo gạo sang nồi malt.

Tại nồi malt: Toàn bộ bột malt còn lại được hòa trộn với nước ấm và duy trì nhiệt độ khối dịch ở 50°C trong 20 phút. Sau đó bơm dịch cháo từ nồi gạo sang để hòa trộn với dịch malt. Khi bơm dịch cháo vào nhiệt độ khối cháo ở nồi malt sẽ tăng lên, khống chế nhiệt độ khối cháo hỗn hợp đạt 65°C, duy trì ở 65°C trong 40 phút để thủy phân tinh bột thành maltose, sau đó nâng nhiệt độ lên 75°C duy trì 15 phút, xong nâng lên 78°C rồi bơm đi lọc.

+ Trường hợp sử dụng nguyên liệu thay thế cao (>30%). Quá trình thuỷ phân nguyên liệu gặp trở ngại vì:

- Lượng tinh bột chưa qua nẩy mầm quá nhiều, mà loại tinh bột này khó đường hóa do thành tế bào của chúng chưa bị phá vỡ;

- Lượng enzyme trong nguyên liệu thay thế chưa được hoạt hóa và ít; Lượng enzyme từ malt đại mạch không đủ để thủy phân hết tinh bột.

Vì vậy, nguyên liệu thay thế cần phải nghiền mịn và khi nấu cần bổ sung chế phẩm enzyme thủy phân từ nguồn bên ngoài, cung cấp thêm các enzyme: α-amylase, β-amylase, β-glucanase. Malt đại mạch được nghiền thô, bột nghiền có kích thước to hơn bình thường để dễ lọc tách bã sau thủy phân. Mặt khác, độ màu và hương thơm và các tính chất cảm quan của bia sản xuất từ hỗn hợp nguyên liệu này cũng không bằng malt. Tăng độ màu, hương thơm cho dịch đường bằng cách bổ sung chất màu, tăng lượng melanoidine trong quá trình đường hóa houblon hóa.

Khi sử dụng nguyên liệu thay thế cao (>30%) pH của khối cháo có xu hướng tăng, vượt ra vùng pH tối thích của các enzyme thủy phân, làm cho quá trình thủy phân không triệt để, giảm hiệu suất thủy phân, gây trở ngại cho quá trình lọc, dịch đường bị đục. Vì vậy cần phải dùng nước mềm và acid hoá khối cháo xuống pH=5,3÷5,4. Các acid thường dùng là acid phosphoric, acid lactic.

Cách thực hiện nấu bia khi nguyên liệu thay thế trên 30%:

Tại nồi ngũ cốc: Hòa toàn bộ bột gạo với một lượng bột malt khoảng 10÷15% (so với tổng khối lượng nguyên liêu), trộn đều trong nước nóng giữ nhiệt độ hỗn hợp ở 45÷50^{0}C, điều chỉnh pH = 5,3 và bổ sung chế phẩm enzyme dịch hóa (thường dùng chế phẩm Termamyl của hãng NOVO – Đan Mạch), bổ sung $CaSO_4$, $CaCl_2$, khuấy đều. Để yên hỗn hợp trong khoảng 15 phút. Nâng dần nhiệt độ lên đến 70^{0}C, giữ 15 phút rồi nâng nhiệt độ hỗn hợp lên đến 90^{0}C, duy trì trong 25 phút. Sau đó nâng nhanh nhiệt độ hỗn hợp đến nhiệt độ sôi, giữ trạng thái sôi trong 20 phút cho bột gạo hồ hóa hoàn toàn. Bơm khối cháo gạo sang nồi malt.

Tại nồi malt: Bột malt, chế phẩm enzyme (thường dùng β-amylase và endo-β-glucanase), muối $CaSO_4$, $CaCl_2$ được trộn đều với nước, điều chỉnh pH = 5,5. Nâng nhiệt độ đến 50^{0}C và giữ ở nhiệt độ 50^{0}C trong 20 phút (giai đoạn đạm hóa). Tính toán thời gian sao cho kết thúc đạm hóa thì ở nồi gạo cũng kết thúc giai đoạn nấu sôi khối cháo.

Bơm cháo từ nồi gạo sang nồi malt (hội cháo), bơm từ từ để nhiệt độ không tăng lên đột ngột, khống chế nhiệt độ của khối dịch hỗn hợp tăng lên đến khoảng 63÷65^{0}C. Cánh khuấy ở nồi malt hoạt động liên tục khi bơm cháo gạo sang nồi malt. Khống chế nhiệt độ lúc hội cháo ở nồi malt là 63÷65^{0}C, giữ ở nhiệt độ 63÷65^{0}C trong 40 phút để đường hóa (một số nhà máy có bổ sung chế phẩm enzyme đường hóa để rút ngắn thời gian đường hóa xuống chỉ còn khoảng 5 phút), sau đó nâng nhiệt độ lên 75^{0}C, giữ trong 10÷15 phút, nâng nhiệt lên đến 78^{0}C rồi đem tách bã malt, lấy dịch đường.

Tùy thuộc vào đặc tính của chế phẩm enzyme bổ sung ở nồi gạo mà chế độ nhiệt và thời gian nghỉ ở mỗi giai đoạn có thay đổi nhất định. Tính toán tỷ lệ phối liệu nước/bột nguyên liệu để bảo đảm yêu cầu nồng độ dịch đường sau thủy phân cho đúng quy định.

d) Lọc bã malt

* Mục đích: Nhằm để tách hết các chất hòa tan ra khỏi chất không hòa tan sau quá trình thủy phân.

* Cách tiến hành: Quá trình lọc dịch đường bao gồm 2 công đoạn: lọc dịch đường và rửa bã. Đầu tiên ta tiến hành lọc để thu hết dịch đường có trong khối nguyên liệu. Sau đó rửa bã nhằm mục đích để thu hồi hết các chất còn sót lại trong bã. Để tăng cường quá trình khuếch tán của các chất nên dùng nước nóng từ 75÷78^{0}C để rửa, không nên dùng nước nóng hơn 78^{0}C để rửa bã vì sẽ làm vô hoạt enzym amylase. Để tiến hành lọc có thể dùng thiết bị lọc khung bản hoặc thùng lọc.

* Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lọc: Quá trình lọc chịu ảnh hưởng của các yếu tố như: độ mịn nguyên liệu, độ nhuyễn malt, nhiệt độ lọc, độ nhớt và pH

- Độ mịn nguyên liệu: Nguyên liệu nghiền thô thì lớp lọc xốp, lọc dễ và rửa bã sạch. Nguyên liệu được nghiền mịn thì bã dễ bị nén chặt, tốc độ lọc giảm nhanh, rửa bã khó triệt để, dịch rửa đục.

- Độ nhuyễn malt: Malt được ươm mầm càng kỹ thì thủy phân được triệt để, bã tơi xốp, độ nhớt dịch thủy phân thấp nên dễ lọc.

- Nhiệt độ lọc: Nhiệt độ cao làm giảm độ nhớt và do đó lọc nhanh. Nhiệt độ tối ưu cho quá trình lọc là 75÷78^{0}C. Nếu cao hơn sẽ hồ hóa và giải phóng các phân tử tinh bột sót gây trở ngại lọc giảm chất lượng nước lọc.

- Độ nhớt: Nếu dịch đường chứa nhiều glucid dạng polyme như β-glucan hoặc

pectin thì khó lọc.

- pH: pH tối ưu cho quá trình lọc là khoảng 5,5. Trong quá trình rửa bã, nồng độ chất hòa tan giảm dần, dẫn đến pH tăng. Nếu nước rửa bã có độ cứng carbonate cao thì pH tăng và sẽ hoà tan nhiều chất bất lợi như polyphenol, chất đắng,... từ vỏ malt.

e. Houblon hóa

Quá trình đun sôi dịch đường với hoa houblon gọi là houblon hóa.

* Mục đích: Quá trình houblon hóa nhằm thực hiện các mục đích sau:

- Trích ly chất đắng, tinh dầu thơm, polyphenol, các chất chứa nitơ,... từ houblon vào dịch đường để dịch đường có mùi thơm và vị đắng đặc trưng của hoa. Đồng thời, các chất đắng của hoa houblon là những chất có hoạt tính bề mặt nên chúng sẽ tham gia vào sự tạo bọt và giữ bọt bền cho bia sau này.

- Các polyphenol của hoa houblon khi hòa tan vào dịch đường, ở nhiệt độ cao sẽ tác dụng với các protein cao phân tử tạo thành các phức chất dễ kết lắng và kéo các phần cặn lơ lửng trong dịch đường lắng theo.

- Tạo phản ứng melanoidin hình thành nên các chất có màu và hương, sát trùng và cô đặc dịch đường, đồng phân hóa các acid đắng, đuổi các chất bay hơi có mùi không tốt, ví dụ dimetyl sulfua (DMS).

* Các quá trình xảy ra: Trong quá trình houblon hóa xảy ra các qua trình sau:

- Sự trích ly chất đắng: Các chất đắng của hoa houblon hòa tan rất yếu trong nước, trong dịch đường sự hòa tan của chúng còn yếu hơn. α-acid đắng hòa tan tương đối tốt, β-acid đắng hòa tan không đáng kể. Khi nhiệt độ tăng thì khả năng hòa tan của các acid đắng cũng tăng. α-acid đắng khi đun sôi với dịch đường sẽ trở thành dạng đồng phân hóa có khả năng hòa tan tốt hơn và gây vị đắng mạnh hơn, khó bị oxy hóa và khó trở về dạng cứng hơn. Chất đắng trong bia chủ yếu là do α-acid đắng và các đồng phân của chúng gây nên (chiếm 85÷95% tổng chất đắng trong bia). Sự hòa tan chất đắng phụ thuộc vào:

+ Thời gian đun sôi: thời gian đun sôi càng dài thì lượng chất đắng trong dịch đường tăng lên.

+ Hàm lượng protein khả kết trong dịch đường: Hàm lượng các hợp chất này càng cao thì lượng chất đắng tham gia phản ứng kết tủa càng nhiều. Hàm lượng protein khả kết càng giảm thì lượng chất đắng trong dịch đường và trong bia càng nhiều.

+ pH của dịch đường: trong môi trường kiềm, các chất đắng hòa tan tốt hơn và lực đắng của dung dịch mạnh hơn trong môi trường acid .

+ Các yếu tố khác ảnh hưởng đến quá trình trích ly đắng: thành phần hoá học nước, nồng độ đường, đặc điểm giống hoa,....

- Trích ly các chất khác: Ngoài quá trình trích ly chất đắng, trong quá trình houblon hóa còn xảy ra quá trình trích ly tinh dầu thơm, polyphenol, các chất chứa nitơ của houblon.

+ Tinh dầu thơm: tinh dầu hoa tạo cho bia có hương đặc trưng mà không có sản phẩm nào thay thế được. Tuy nhiên, các cấu tử tinh dầu khó tan trong nước, dễ bay hơi. Trong quá trình đun hoa tổn thất khoảng 77÷88%, phần còn lại có nhiệt độ bay hơi cao hơn sẽ tồn tại trong dịch đường và sau đó tiếp tục mất đi trong quá trình lên men, khoảng 8÷10%. Như vậy tồn tại trong bia chỉ khoảng 2÷3% lượng tinh dầu trong hoa đưa vào đun nấu. Biện pháp hạn chế tổn thất tinh dầu hoa vừa đảm bảo đồng phân

hoá tốt là cho hoa vào nồi nhiều lần theo tỷ lệ hợp lý.

+ Polyphenol: polyphenol có khả năng kết tụ rất tốt đạm khả kết. Trong dịch đường polyphenol tạo thành những chất keo mang điện tích âm. Do trong dịch đường đã có sẵn một số protein mang điện tích dương, chúng sẽ tác dụng tương hỗ và hình thành nên các phức chất polyphenol-protein không tan, tạo "tủa nóng" và lắng xuống nồi đun sôi. Tại pH khoảng 5,2÷5,5 lượng phức chất polyphenol-protein tạo thành tăng lên đáng kể. Những chất chát không bị oxy hóa cũng có thể tạo thành phức với một số protein, song chúng khó tách hoàn toàn trong quá trình làm nguội dịch đường, tồn tại trong dịch đường dưới dạng "tủa nguội". Dạng này ít nhưng thường dễ biến động trong điều kiện thay đổi nhiệt độ, và đây chính là một trong những nguyên nhân gây đục bia thành phẩm.

+ Các chất chứa nitơ của houblon: chủ yếu dạng trung phân tử hoặc thấp phân tử, vì vậy chúng dễ dàng hòa tan vào dịch đường khi đun sôi và trở thành nguồn dinh dưỡng quan trong của nấm men (có thể được nấm men hấp thụ đến 60%).

- Biến tính và keo tụ protein: Dịch đường sau khi lọc là một hệ thống keo đa cấu tử, gồm một số lượng chất keo đáng kể như: dextrin, protein, pectin, pentosan, chất chát... Khi đun sôi dịch đường với hoa houblon thì những chất trích ly từ hoa như acid đắng và một số chất khác cũng ở dạng keo hòa tan. Khi nhiệt độ dung dịch đường tăng lên thì sự bền vững của hệ thống keo bị phá vỡ, các phần tử keo dính lại với nhau và xảy ra hiện tượng keo tụ. Trong số những chất keo tụ trong dịch đường thì protein là kém bền vững nhất. Sự hình thành những chất hấp phụ giữa protein và chất chát hay chất đắng sẽ tạo điều kiện cho quá trình keo tụ. Mức độ kết tủa của protein trong điều kiện sản xuất có ý nghĩa quan trọng đối với chất lượng bia. Những phân tử protein không ổn định còn lại trong dịch đường là một trong những nguyên nhân gây đục bia sau này. Quá trình kết tủa protein xảy ra thuận lợi khi đun sôi trong thời gian 90÷120 phút, dịch đường có pH = 5,2÷5,5, nồng độ dịch đường thấp, malt có hoạt tính enzyme yếu thì sự keo tụ khó khăn.

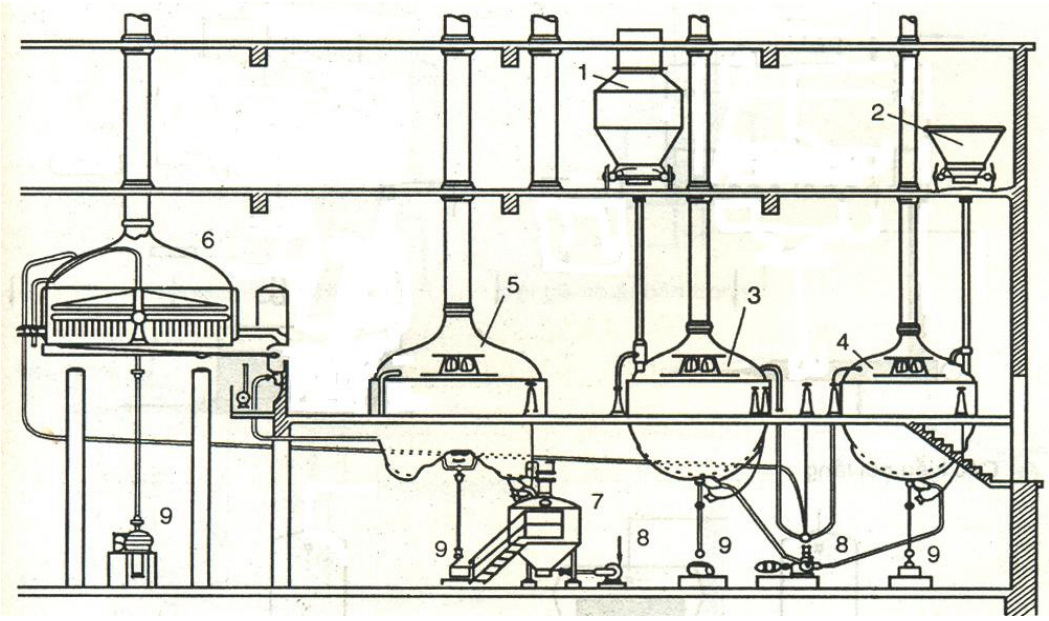
* Tiến hành houblon: Dịch đường và nước rửa bã được trộn lẫn với nhau trong thiết bị đun hoa. Chú ý không để nhiệt độ dịch đường xuống dưới 70^0C. Để đảm bảo yêu cầu này cần cấp nhiệt ngay từ khi bắt đầu bơm dịch vào nồi. Khi rửa bã vừa xong thì dịch đường trong thiết bị cũng vừa sôi. Nếu để dịch nguội trong thời gian dài sẽ tạo điều kiện cho oxy tan vào dịch đun gây các phản ứng oxy hóa làm giảm phẩm chất dịch đường. Bổ sung houblon, có thể dùng hoa khô rời hay hoa đã ép bánh, có thể ở dạng nguyên hay dạng bột nghiền, hoặc ở dạng cao hoa. Lượng hoa cần để nấu với dịch đường dao động trong một khoảng rất rộng: 100÷700g/100l. Lượng sử dụng này phụ thuộc vào yêu cầu mức độ đắng của từng loại bia, chất lượng của hoa, thành phần hoá học của nước và nhiều yếu tố khác. Bình thường độ đắng của bia yêu cầu 35÷100mg/lít.

Hệ thống nấu-thủy phân nguyên liệu, lọc bã malt, đun sôi dịch đường với hoa houblon và lọc bã hoa được mô tả ở hình 6.16.

Có thể bổ sung hoa houblon 2 lần, 3 lần hoặc thậm chí đến 4 lần, nhưng dù phương án nào cũng vẫn bảo đảm các yêu cầu sau đây:

- Đủ lực đắng cho bia mà chi phí nguyên liệu ít nhất;
- Đủ các chất và thời gian cần thiết để kết lắng protein;
- Bảo đảm lượng hương tồn tại trong bia;
- Dễ thao tác và hiệu quả kinh tế cao.

Đối với hoa nhiều polyphenol có thể ngâm trong nước 50^0C khoảng 10 phút để trích ly bớt sau đó mới đem sử dụng.



Hình 6.16. Sơ đồ phân xưởng nấu bia

1. Thùng chứa malt; 2. Thùng chứa nguyên liệu phụ; 3. Nồi nấu malt; 4. Nồi nấu thế liệu; 5. Nồi đun sôi dịch đường với hoa houblon; 6. Thùng lọc bã; 7. Thùng tách bã hoa; 8. Bơm vận chuyển; 9. Mô tơ cánh khuấy

Thời gian đun hoa phụ thuộc vào chất lượng nguyên liệu, cường độ sôi, hàm lượng chất khô dịch đường,... Thường khoảng 1,5÷2,5h. Căn cứ để dừng quá trình là lượng protein đã kết tủa và hàm lượng chất khô của dịch đường, các thông số này được xác định thông qua việc liên tục lấy mẫu, đánh giá độ trong và đo hàm lượng chất khô.

Sau khi đun sôi xong, dịch đường được chuyển sang thùng lọc bã hoa đặt dưới thiết bị đun sôi. Tiếp theo dịch đường nóng được chuyển đi xử lí tiếp còn bã được rửa sạch bằng nước nóng hoặc dịch đường. Nước rửa bã hoa được dùng vào việc đường hóa mẻ sau hoặc bổ sung vào dịch đường ở phân đoạn nấu hoa.

f) Lắng trong, làm lạnh nhanh và bổ sung oxy dịch lên men

Sau quá trình houblon hóa, toàn bộ oxy bay ra ngoài theo hơi nước, dịch đường chứa nhiều cặn, nhiệt độ cao. Vì vậy cần hạ nhiệt độ của dịch đến nhiệt độ lên men ($6÷10^0C$); Tách bỏ cặn, bã hoa ra khỏi dịch đường tránh bia không bị đục. Đồng thời bổ sung oxy cho nấm men hoạt động.

* Lắng trong

Sau đun hoa thu được dịch đường chứa nhiều cặn. Thành phần cặn gồm các mảng đông tụ kích thước lớn và vô vàn hạt lơ lửng với kích thước khác nhau. Bằng thực nghiệm cho thấy khi hạ nhiệt độ dịch đường xuống khoảng 60^0C thì hầu hết các hạt quan sát được bằng mắt sẽ kết lắng nhanh, loại này gọi là kết tủa nóng hoặc cặn thô. Cặn tiếp tục lắng sau khi hạ nhiệt độ xuống vùng nhiệt độ lên men ($8÷10^0C$) được gọi là cặn tinh.

Thành phần cặn thô chủ yếu là sản phẩm kết tụ của protein, polyphenol, các chất đắng, chất khoáng. Kích thước cặn thô khoảng 30÷80μm. Nếu không được tách, cặn thô sẽ bao phủ nấm men và làm cho bia sau này khó lọc. Có ý kiến cho rằng cặn thô có ảnh hưởng đến tốc độ lên men trong giai đoạn đầu và làm bẩn cặn men nhưng không ảnh hưởng lớn đến chất lượng bia.

Xu hướng chung hiện nay là sử dụng các hệ thống làm nguội dịch đường trong điều kiện kín, tách cặn thô ở nhiệt độ 85÷95^{0}C trong thiết bị whirlpool, tách cặn mịn ở nhiệt độ lên men bằng cách lọc dịch đường có dùng bột trợ lọc diatomite.

* Làm lạnh

Hạ nhiệt độ của dịch đường từ 85÷90°C xuống đến nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của nấm men và lên men bia, đồng thời tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình bão hòa thêm một lượng oxy cần thiết và loại trừ những phần cặn còn trong dịch đường. Dịch dịch đường phải được làm lạnh nhanh về nhiệt độ lên men nhằm hạn chế khả năng nhiễm vi sinh vật và giảm chi phí thời gian.

Hệ thống làm lạnh dịch đường theo kiểu kín thường gồm hai bộ phận chính: thùng làm nguội kín và giàn làm lạnh kín. Thùng làm nguội sẽ hạ nhiệt độ dịch xuống khoảng 60^{0}C còn giàn làm lạnh kín sẽ tiếp tục hạ nhiệt từ 60^{0}C về nhiệt độ lên men (6÷10^{0}C). Thùng làm nguội vừa có chức năng lắng cặn thô vừa làm nguội, thùng làm nguội thông dụng nhất hiện nay chính là thùng whirpool. Giàn làm lạnh kiểu kín chủ yếu phổ biến nhất hiện nay là máy trao đổi nhiệt tấm bản kiểu kín.

* Bổ sung oxy

Quá trình lên men cần lượng sinh khối nấm men lớn để đảm bảo mật độ yêu cầu, vì vậy cần tạo điều kiện để nấm men giống tăng trưởng về số lượng trong giai đoạn đầu quá trình lên men. Việc bổ sung oxy sẽ kích hoạt nấm men tăng trưởng, giúp lên men nhanh và sâu, bia bền, vị ngon. Thiếu oxy sẽ dẫn đến lên men chậm và không triệt để. Lượng oxy này sẽ được nấm men tiêu thụ chỉ trong khoảng vài mươi giờ, sau đó ổn định ở mức khoảng 2,7mg/l và sẽ không gây ảnh hưởng xấu đến chất lượng bia. Hàm lượng oxy yêu cầu trong dịch đường đem lên men là khoảng 8÷9mg/l dịch.

Hệ thống nạp không khí gồm: lọc bụi, khử trùng và phân tán không khí vào dịch lên men. Phân tán không khí thực hiện ngay trên đường bơm vào tank thông qua một số cơ cấu thuỷ động như ống Venturi, khuấy trộn,...

i) Lên men bia

* Mục đích: Lên men dịch đường nhằm chuyển các loại đường, dextrin có khả năng lên men thành rượu, CO_2 và một số sản phẩm khác như rượu bậc cao, acid hữu cơ, este, diacetyl… góp phần tạo nên hương vị đặc trưng cho sản phẩm bia.

* Các giai đoạn và phương pháp lên men: Lên men dịch đường đã houblon hóa diễn ra hai giai đoạn là lên men chính và lên men phụ-ủ chín.

- Theo công nghệ truyền thống (cổ điển) hai giai đoạn đó được thực hiện trong hai thiết bị khác nhau. Thời gian lên men phụ thuộc vào nồng độ chất hòa tan ban đầu của dịch đường và chế độ nhiệt trong thời gian lên men đó. Lên men chính kéo dài trong khoảng thời gian 7÷12 ngày, nhiệt độ lên men 6÷10^{0}C. Dịch đường ban đầu sau khi lên men chính sẽ thành bia non. Tách lấy nấm men đặc ở phía dưới đáy thiết bị rồi chuyển bia non sang thiết bị khác để lên men phụ-ủ chín. Lên men phụ-ủ chín kéo dài ít nhất là 3 tuần, nhiệt độ lên men từ 0÷2^{0}C; sau giai đoạn lên men phụ-ủ chín, hoàn thiện sản phẩm sẽ thành bia thành phẩm. Quá trình lên men chính được thực hiện ở áp suất thường, còn quá trình lên men phụ được thực hiện dưới áp suất dư 0,3÷0,7atm.

- Theo công nghệ mới (còn gọi là công nghệ lên men bia một pha, lên men gia tốc): quá trình lên men chính và lên men phụ được thực hiện trong cùng một thiết bị đó là tank lên men thân trụ đáy côn. Lên men chính kéo dài trong khoảng thời gian 6÷7 ngày, nhiệt độ lên men 10÷14°C. Lên men phụ và tàng trữ kéo dài 3÷4 ngày, nhiệt độ lên men từ 0÷2°C.

Kỹ thuật lên men trong một pha có nhiều ưu điểm như:

- Thời gian một mẻ lên men được rút ngắn;
- Chi phí vệ sinh thấp;
- Ít tổn thất CO_2;
- Thất thoát bia ít do không phải chuyển tank;
- Giảm chi phí nhân công;
- Tiết kiệm năng lượng do không cần bơm chuyển bia;
- Loại trừ khả năng xâm nhập oxy.

Do vậy, đây là công nghệ được áp dụng phổ biến nhất hiện nay.

* Các quá trình xảy ra trong lên men

- Các quá trình xảy ra khi lên men chính: Trong quá trình lên men chính, một lượng lớn chất hòa tan trong dịch đường, chủ yếu là đường và các dextrin bậc thấp (maltotriose) được nấm men chuyển hóa thành ethanol, khí CO_2 và một số sản phẩm phụ. Ngoài hợp chất glucid, một số thành phần khác trong dịch đường cũng bị tác động của nấm men và biến đổi thành những chất mới, một số khác chuyển về dạng không hòa tan, tách ra khỏi dịch lên men ở dạng kết tủa.

Những thành phần mới được hình thành chủ yếu là ethanol và khí CO_2 , một số hợp chất khác như aldehyde, ester, acid hữu cơ, glycerin, rượu bậc cao,... dù rất ít. Những thành mới đó, một bộ phận trở thành thành phần hòa tan của dịch lên men, một số bị kết tủa và lắng dần xuống cùng với sinh khối nấm men. Tất cả những thay đổi như vậy dẫn đến sự thay đổi cơ bản về lượng và chất của các chất hòa tan trong dịch đường.

Quá trình lên men chính để chuyển dịch đường thành bia non thông qua những quá trình cơ bản như sau:

Quá trình sinh lý: Quá trình sinh lý chỉ thể hiện rõ ở giai đoạn đầu của quá trình lên men. Thực chất đây là giai đoạn lên men hiếu khí, nhờ vậy mà nấm men sinh sản nhanh tạo ra một lượng lớn sinh khối nấm men, sinh tổng hợp một lượng lớn enzyme zymase trong các tế bào nấm men, nhờ đó thúc đẩy cường độ lên men ở các giai đoạn sau.

Quá trình sinh hóa: Quá trình này tăng mạnh ở giai đoạn thứ hai, vào cuối giai đoạn lên men hiếu khí dần chuyển sang giai đoạn lên men kỵ khí. Đặc trưng giai đoạn này là hoạt hóa mạnh các hệ enzyme zymase, chuyển hóa đường thành ethanol và khí CO_2. Ngoài ra, nấm men cũng chuyển hóa một số hợp chất khác như protein, lipid dẫn đến sự hình thành nhiều loại hợp chất thứ cấp (sản phẩm phụ) trong bia.

+ Sự biến đổi đường thành ethanol: Quá trình lên men đường có thể được biểu diễn đơn giản theo phương trình Gay - Lussac:

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 230kJ$$

Phương trình Gay – Lussac chỉ thể hiện chất đầu và cuối. Chuỗi các phản ứng liên hoàn nhằm chuyển hóa đường diễn ra trong tế bào nấm men được thể hiện chi tiết qua chu trình Embden-Meyerhof-Parnas (EMP).

Các loại đường khác nhau được lên men với mức độ ưu tiên khác nhau, các hexose (glucose, fructose) là đường lên men khởi động, maltose là đường lên men chính và maltotriose là đường lên men phụ và ủ chín.

+ Tạo thành và chuyển hoá các chất thứ cấp: Sản phẩm thứ cấp sinh ra trong quá

trình lên men có thể hàng trăm chất với hàm lượng từ microgam/lit đến gam/lít. Tuy không nhiều về lượng nhưng có vai trò quyết định trong việc tạo hương, và có ý nghĩa đáng kể trong việc tạo vị bia. Hỗn hợp chất thứ cấp là hỗn hợp động, sẽ trải qua quá trình biến đổi trong suốt thời gian từ khi bắt đầu lên men cho đến khi ủ chín. Chuyển hoá của các chất thứ cấp là cơ sở của quá trình "trưởng thành và chín" của bia. Sự thành tạo và chuyển hóa các chất này quyết định thời gian của một mẻ lên men bia. Chất thứ cấp trong lên men bia được chia thành 2 nhóm: nhóm hương của bia non và nhóm hương của bia chín. Nhóm hương bia non gồm diacetyl, aldehyde, hợp chất lưu huỳnh. Chúng truyền cho bia hương vị của các loại cây trái non, mùi cỏ, mùi mốc, mùi vị bơ,.... Các chất này sẽ chuyển hoá trong quá trình ủ chín. Nhóm hương bia chín gồm: rượu bậc cao, ester,.... nếu nằm trong khoảng nồng độ thích hợp sẽ cho hương vị bia hảo hạng. Nhóm chất này hầu như không bị chuyển hoá trong quá trình ủ chín.

Diacetyl và các vicinal diketone: Mùi bơ trong bia là do diacetyl ($CH_3COCOCH_3$) và pentadione ($CH_3COCOC_2H_5$) trong đó diacetyl chiếm 80÷90% và pentadione10÷20%. Tập hợp cả hai gọi chung là các vicinal diketone. Hàm lượng diacetyl tiêu biểu đo được là tổng của hai thành phần đó. Diacetyl nguyên chất là chất lỏng không màu đến có màu vàng nhạt, có mùi hôi cực mạnh, có vị khó chịu và tác động đến thần kinh con người. Diacetyl là sản phẩm phụ tất yếu của quá trình lên men bởi nấm men, ở mức thấp thì diacetyl tham gia vào thành phần hương vị của bia. Với hàm lượng trong bia cao hơn ngưỡng phát hiện (khoảng 0,1 ppm), diacetyl là thành phần có ảnh hưởng xấu đến chất lượng bia, sẽ thể hiện vị "đục" hơi ngọt, mùi bơ. Pentandione cũng có tính chất tương tự nhưng ngưỡng tác dụng cao hơn. Sự tạo thành và chuyển hoá của diacetyl diễn ra song song với các phản ứng khác và được dùng làm căn cứ xác định thời điểm chín của mẻ bia. Tế bào nấm men khi đang hoạt động có khả năng khử diacetyl rất mạnh, khả năng này được duy trì trong quá trình lên men và giảm dần trong giai đoạn ủ chín. Trong vùng nhiệt độ lên men bia, nhiệt độ càng cao sự khử diacetyl trong tế bào nấm men diễn ra càng mạnh. Tăng mật độ nấm men đang hoạt động và các biện pháp tăng cường sự tiếp xúc giữa nấm men với diacetyl cũng dẫn đến sự khử diacetyl diễn ra nhanh và triệt để. Mức tối đa cho phép của diacetyl trong bia chín là 0,1mg/l.

Các aldehyde: Chiếm lượng chủ yếu trong nhóm chất aldehye là acetaldehyde - chất trung gian trong quá trình lên men ethanol, được nấm men tiết vào môi trường lên men trong khoảng 3 ngày lên men đầu. Acetaldehyde là tác nhân chính gây hương vị "non" và mùi mốc của bia non. Trong bia non, hàm lượng aldehyde khoảng 20÷40mg/l và giảm dần đến 8÷10mg/l trong bia đã thành trưởng. Các yếu tố sau làm tăng hàm lượng acetaldehyde gồm tốc độ lên men nhanh, nhiệt độ cao, mật độ nấm men giống cao, đặt áp suất dư sớm (ngay trong giai đoạn đầu lên men), bổ sung không khí thiếu, hoặc dịch lên men bị nhiễm vi sinh vật tạp. Các yếu tố tạo thuận lợi cho sự tiêu giảm aldehyde gồm các biện pháp tăng cường độ lên men phụ và ủ chín, nhiệt độ và nồng độ nấm men trong ủ chín cao.

Rượu bậc cao: Rượu bậc cao còn gọi là dầu fusel, là thành phần của hương bia chín. Khoảng 80% rượu bậc cao hình thành trong quá trình lên men sơ cấp. Trong ủ chín chỉ có sự gia tăng nhẹ và hầu như không thể bị loại trừ. Muốn điều chỉnh chỉ có thể tác động ngay trong quá trình lên men. Nồng độ rượu bậc cao trên 100mg/l sẽ làm mất tính hài hoà của hương bia. Mức tối đa của rượu bậc cao tuỳ thuộc vào từng loại bia: Bia lên men chìm: 60÷90mg/l; Bia lên men nổi: đến 100mg/l. Rượu bậc cao tạo thành do các nguyên nhân: nhiệt độ lên men cao, sự khuấy trộn mạnh, sự khử acid

amin trong tế bào nấm men, bổ sung không khí quá nhiều, nhiệt độ tiếp giống cao (trên 8^0C) và hàm lượng chất khô trong dịch lên men cao (trên 13%).

Các ester: ester là nhóm chất mang hương quan trọng nhất trong bia. Nồng độ ester cao có thể dẫn đến bia có vị đắng, vị hoa quả. Ester được tạo ra trong quá trình lên men thông qua ester hóa các acid béo bởi ethanol và một lượng nhỏ rượu bậc cao. Hàm lượng của chúng tăng chủ yếu trong quá trình lên men mạnh. Trong lên men phụ hàm lượng có thể được tăng gấp đôi khi ủ chín và tàng trữ thời gian dài. Bia chứa khoảng 60 ester, tuy nhiên, chỉ khoảng 6 ester là có vai trò quan trọng đối với hương vị bia, đó là ethyl acetate, isoamylacetate, isobutylacetate, β-phenylacetate, ethylcaproate, ethylcaprylate. Còn lại các ester đều không có lợi cho bia. Vì vậy, cần làm giảm lượng ester. Hàm lượng ester sẽ giảm khi: hàm lượng chất khô môi trường lên men thấp, giảm độ lên men cuối cùng, tăng lượng không khí bổ sung, nhiệt độ lên men cao, tăng áp lực trong quá trình lên men.

Hợp chất lưu huỳnh: Trao đổi chất của nấm men sẽ tạo ra hợp chất lưu huỳnh bay hơi, như H_2S, mercaptan và các chất khác. Các chất này ngay ở nồng độ nhỏ đã có thể gây hương vị xấu. Khi vượt ngưỡng cảm nhận chúng sẽ thể hiện hương vị của bia non. Sự tác hại của hợp chất lưu huỳnh còn có thể do dịch lên men bị nhiễm các vi sinh vật tạp. H_2S được tạo ra trong quá trình lên men từ các acid amin chứa lưu huỳnh. Sự thiếu các tác nhân sinh trưởng của nấm men sẽ tăng cường sự tạo thành H_2S trong dịch lên men. H_2S dễ bay hơi và sẽ thoát khỏi bia trong quá trình lên men và ủ chín do tác dụng lôi cuốn của CO_2. Để tăng lượng H_2S thoát ra khỏi bia cần tăng nhiệt độ lên men và tăng chiều cao khối dịch lên men. Sự giảm hàm lượng H_2S trong bia thông qua con đường hóa học và hóa sinh là nhân tố quan trọng trong lên men và làm chín bia.

Các acid hữu cơ: Acid hữu cơ trong bia được tạo thành chủ yếu bởi nấm men từ acid amin có trong dịch lên men. Nấm men tách lấy nhóm $–NH_2$ cần thiết cho quá trình tổng hợp protein và giải phóng trở lại môi trường các acid hữu cơ. Bằng quá trình de-amin hóa này, nấm men đã tạo ra nhiều acid có ảnh hưởng đến hương vị bia.

Các quá trình hóa học và hóa lý: Trong quá trình lên men và ủ chín còn có một số thay đổi khác, gồm: thay đổi thành phần hợp chất chứa nitơ, giảm pH, thay đổi thế oxy hóa khử, màu bia sáng dần, kết tụ chất đắng và polyphenol, hòa tan CO_2 và trong bia.

+ Sự tạo bọt: Sự tạo bọt là một trong những tính chất quan trọng của bia. Bọt được tạo thành trong giai đoạn lên men chính và ở tất cả các công đoạn khác trong quá trình sản xuất bia. Bọt được hình thành khi trong dịch lên men đã bão hòa khí CO_2, quá trình lên men tiếp tục tạo ra CO_2 thì chúng sẽ thoát ra ngoài dưới dạng những bọt khí nhỏ li ti. Bao quanh những bọt khí này là lớp màng chất lỏng, trong đó có nhiều chất có tính hoạt động bề mặt như protein, chất đắng, polyphenol, v.v... Chính nhờ có các chất hoạt động bề mặt mà bong bóng khí không bị vỡ khi lên đến bề mặt lớp bia và khí CO_2 không thoát ra ngoài được. Do vậy, các bọt khí CO_2 liên kết lại với nhau tạo thành lớp bọt. Ở giai đoạn đầu của quá trình lên men, lớp bọt này rất mỏng, trắng sau đó chiều dày lớp bọt tăng dần. Màu sắc của lớp bọt cũng biến đổi từ màu trắng sang màu hơi xám và sau đó là nâu-xám. Khi quá trình lên men chính kết thúc, khối bọt đã bị xẹp hết, trên bề mặt bia non phủ một lớp bọt mỏng màu xám nâu.

+ Thay đổi thành phần hợp chất nitơ: Nấm men sử dụng hợp chất nitơ trong dịch đường để tổng hợp thành phần tế bào của nó. Trung bình đối với 100ml dịch lên men, nấm men sử dụng hết 10÷14mg hợp chất nitơ dưới dạng các acid amin và các peptide nhỏ. Các polypeptid phân tử lớn bị kết tụ, hấp phụ lên bề mặt nấm men hoặc tách cùng

CO_2 tạo thành bọt. Tiếp sau các biểu hiện nói trên, tế bào sẽ tiến dần đến cái chết và sẽ tự huỷ. Khi hiện tượng tự huỷ xảy ra sẽ dẫn đến các tác dụng bất lợi như: bia có mùi vị nấm men, pH tăng do giải phóng các acid amin có tính base, bia bị thay đổi màu, độ bền sinh học và độ bền keo của bia giảm, giảm độ ổn định bọt bia, tăng vị đắng bia, tăng hàm lượng diacetyl trong bia, bia dễ nhiễm, độ bền hương giảm và quá trình lọc dễ bị trở ngại.

+ Giảm pH: Trong quá trình lên men pH giảm từ 5,3÷5,6 ở dịch lên men ban đầu xuống đến 4,3÷4,6 trong bia. pH đặc biệt giảm mạnh trong giai đoạn ban đầu và ở pha logarit do: Sự tạo thành của acid hữu cơ; Nấm men sử dụng các ion phosphate và ion NH_4^+; Nấm men thu nhận ion K^+ và đổi H^+ trở lại môi trường. Trong pha lên men, pH giảm chậm và dần ổn định. Khi pH tăng là dấu hiệu của hiện tượng tự phân (tự huỷ). pH có ảnh hưởng đáng kể lên chất lượng bia. Sau quá trình lên men, pH bia được mong muốn nằm trong khoảng 4,2÷4,4 nhằm mục đích: tăng cường kết tụ keo và các phức không bền của polyphenol-protein, rút ngắn thời gian chín của bia, điều hòa vị của bia và là điều kiện thiết yếu để bia có độ bền sinh học cao. Với mức pH thấp, đặc biệt thấp dưới 4,1 sẽ tạo vị chua. Do đó đặc biệt lưu ý khả năng bia bị acid hóa do nhiễm vi sinh vật lạ. Để đảm bảo pH nằm trong khoảng yêu cầu cần có các biện pháp sau: làm mềm nước lên men; acid hóa sinh học khối thủy phân và dịch lên men; cần có biện pháp tăng độ lên men cuối cùng; lên men sát đến độ lên men cuối cùng; tránh hiện tượng tự phân men; sử dụng dịch lên men chất lượng tốt và các biện pháp để nấm men phát triển tốt; cần có các biện pháp đảm bảo cường độ lên men mạnh (nhiệt độ, lượng men giống sử dụng,…).

+ Thay đổi tính oxy hóa khử: Một thay đổi quan trọng trong quá trình lên men là tăng tính khử của môi trường. Quá trình liên quan đến sự sử dụng oxy bởi nấm men. Oxy trong dịch lên men đầu được nấm men sử dụng nhanh chóng làm cho hàm lượng còn lại trong bia sau khi ủ chín xuống đến 0,00÷0,01mgO_2/l. Bia có độ khử cao khi đảm bảo các điều kiện: Lên men trong tank kín, lên men mạnh và sâu và chống oxy xâm nhập vào bia.

+ Màu bia: Trong những ngày lên men ban đầu, độ màu của bia giảm do các nguyên nhân: sự mất màu của một số chất khi pH giảm, hấp phụ các chất màu lên tế bào nấm men, hấp phụ chất màu vào bọt lên men hoặc lắng xuống đáy tank.

+ Kết mảng chất đắng và polyphenol: pH môi trường lên men giảm dần sẽ lần lượt đi qua các điểm đẳng điện của các chất đắng hoà tan và polyphenol làm cho chúng kết mảng thành các chất hoạt động bề mặt và bị lôi cuốn lên bọt trên bề mặt tank hoặc hấp phụ lên bề mặt tế bào nấm men. Trong quá trình lên men bình thường, nếu coi lượng chất đắng ban đầu trong dịch đường là 100% thì 25÷30% bị mất trong giai đoạn lên men chính. Nếu lên men ở nhiệt độ cao thì lượng tổn thất có thể đến 50%.

- Các quá trình xảy ra khi lên men phụ và ủ chín bia: Sau khi lên men chính ta được bia non. Trong thành phần của bia non vẫn còn một lượng chất hòa tan có khả năng lên men (khoảng 1÷1,2%). Lượng chất hòa tan này được lên men tiếp tục trong giai đoạn lên men phụ và ủ chín bia. Trong thời gian lên men phụ, nấm men còn trong bia non tiếp tục lên men lượng đường còn lại để tạo thành CO_2 và các sản phẩm khác. Đồng thời trong khi lên men phụ và ủ chín bia còn xảy ra các quá trình có tính chất làm tăng chất lượng của sản phẩm như: khử diacetyl, tạo thành các ester, làm trong bia v.v... Đặc điểm của lên men phụ và ủ chín là tốc độ lên men rất chậm. Những quá trình biến đổi quan trọng trong giai đoạn này gồm có:

+ Quá trình lên men rượu và sự tích lũy CO_2 trong bia: Đường lên men được còn trong bia non sau khi lên men chính được tiếp tục biến đổi thành ethanol và khí CO_2. Rượu hòa tan vào trong bia với bất kỳ tỷ lệ nào còn CO_2 thì hòa tan có mức độ.

CO_2 là thành phần quan trọng của bia, giúp bia có khả năng tạo bọt tốt đồng thời cũng là chất bảo quản ức chế sự phát triển của các vi sinh vật hiếu khí trong bia. Ngoài ra khí CO_2 còn đóng vai trò quan trọng trong việc tạo vị cho bia. Chỉ khoảng 15% lượng CO_2 tạo ra trong lên men là được giữ lại trong bia, phần chủ yếu thoát ra ngoài và có thể được thu hồi bởi hệ thống thu nhận CO_2.

Khi kết thúc giai đoạn lên men chính, hàm lượng CO_2 trong bia non vào khoảng 0,2% tức là khoảng 2 gam CO_2/lít. Trong quá trình chuyển bia non sang giai đoạn lên men phụ và ủ chín, lượng CO_2 tổn thất ra ngoài khoảng 0,02%. Như vậy hàm lượng CO_2 trong bia non khi bắt đầu lên men phụ và ủ chín khoảng 0,18%. Trong khi đó, hàm lượng CO_2 trong bia thành phẩm yêu cầu là 0,45÷0,5%. Nếu lượng mất mát CO_2 trong chiết rót là 0,3 g/l, thì hàm lượng khí CO_2 trong bia đem lọc ít nhất phải chứa 4,7÷5,2g/l. Để đạt được yêu cầu đó, theo lý thuyết cần phải lên men khoảng 0,4÷0,6% đường. Trong thực tế sản xuất, lượng đường cần có trong bia để lên men ở giai đoạn này là 1%.

Độ hòa tan của CO_2 trong bia phụ thuộc chủ yếu vào nhiệt độ, áp suất, hàm lượng ethanol và hàm lượng chất hòa tan. Độ hòa tan của CO_2 tỷ lệ thuận với áp suất trên bề mặt của nó, do đó áp suất trong tank ủ bia phải cao. Tỷ lệ nghịch với nhiệt độ khi ủ bia, vì vậy quá trình lên phụ nên tiến hành ở nhiệt độ thấp. Tỷ lệ thuận với hàm lượng ethanol trong dung dịch, vì vậy hàm lượng ethanol trong bia càng nhiều thì CO_2 hòa tan càng nhiều. Tỷ lệ nghịch với hàm lượng chất hòa tan trong bia, bia có hàm lượng chất hòa tan càng nhiều thì lượng CO_2 hòa tan càng ít.

+ Sự thay đổi các chất hòa tan trong bia

Hàm lượng các chất hòa tan trong bia giảm khoảng 1%, trong đó chủ yếu là các dextrin bậc thấp (maltotriose, maltotetraose, maltopentose).

Lượng ester tạo thành trong quá trình lên men phụ-ủ chín tăng lên gấp 1,5 lần so với khi lên men chính (từ 50mg/l tăng lên 75÷80mg/l). Hàm lượng acid hữu cơ và rượu bậc cao có tăng nhưng không đáng kể.

Hàm lượng hợp chất nitơ tổng số giảm từ 65mg/100ml xuống còn 45÷47mg/100ml. Hàm lượng các acid amin đều giảm, trong bia thành phẩm chỉ còn khoảng 0,3÷5mg/100ml đối với mỗi loại acid amin.

Hàm lượng O_2 trong bia non từ 1,0÷1,5mg/l hạ xuống còn 0,3÷0,4mg/l. Sự giảm hàm lượng O_2 trong bia liên quan tới sự giảm hàm lượng diacetyl-một thành phần có ảnh hưởng quyết định đến độ chín của bia.

Hàm lượng diacetyl giảm dần. Quá trình phân hủy của diacetyl phụ thuộc nhiều vào nhiệt độ. Nhiệt độ càng lạnh thì phân hủy càng chậm. Mức độ phân hủy diacetyl là thước đo độ chín của bia. Thông thường, bia được coi là chín khi hàm lượng của diacetyl trong bia phải <0,1mg/l.

+ Quá trình lắng trong: Bia non còn chứa các tế bào nấm men lơ lửng nên đục, trong quá trình ủ chín và tàng trữ, nấm men lắng dần. Sự lắng nấm men phụ thuộc chủ yếu vào thời gian tàng trữ, đồng thời hiệu quả lắng sẽ tốt hơn nếu nhiệt độ đồng đều, không có sự phân tầng nhiệt độ. Quá trình lắng còn phụ thuộc vào kích thước tank, tỷ lệ chiều cao/đường kính càng lớn thì lắng càng chậm. Bia non đục còn do các cặn lạnh lơ lửng được tạo ra trong quá trình hạ lạnh xuống nhiệt độ tàng trữ. Nhiệt độ tàng

trữ càng thấp thì cặn lạnh tạo ra càng nhiều. Cặn lạnh có kích thước rất nhỏ nên đòi hỏi thời gian lắng phải dài. Một bộ phận cặn được hấp phụ bởi nấm men. Cần thiết phải loại bỏ hoàn toàn cặn lạnh để bia có độ bền hoá lý cao thông qua quá trình lắng trong và lọc. Do đó tàng trữ nên được tiến hành ở nhiệt độ -1 đến $+1^0C$ trong 5÷7 ngày.

- Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men: Quá trình lên men chịu ảnh hưởng của các yêu tố như: chất lượng nấm men, lượng nấm men gieo cấy ban đầu, nồng độ chất hòa tan của dịch đường houblon hóa, nhiệt độ lên men…

+ Chất lượng nấm men: Việc lựa chọn một chủng nấm men thích hợp với những điều kiện sản xuất cụ thể của từng nhà máy có ảnh hưởng lớn đến chất lượng bia của nhà máy. Khi nghiên cứu ảnh hưởng của chủng nấm men bia đến chất lượng của bia, Thorne đã chỉ ra rằng: hàm lượng dầu fusel tạo thành trong quá trình lên men chính và tồn tại trong bia phụ thuộc vào chủng nấm men sử dụng. Ngoài dầu fusel, hàm lượng diacetyl, mercaptan, ester và nhiều cấu tử khác cũng chịu ảnh hưởng tượng tự. Vì vậy, cần chọn chủng nấm men ít tạo thành các sản phẩm không có lợi đối với bia.

+ Lượng nấm men gieo cấy ban đầu: Lượng nấm men gieo cấy ban đầu có liên quan mật thiết đến quá trình lên men thể hiện:

Mật độ gieo cấy nhiều thì thời gian để nấm men đạt đến trạng thái cân bằng động giữa quần thể nấm men và lượng cơ chất trong dịch lên men ngắn, thời gian lên men ngắn. Nếu mật độ gieo cấy quá ít thì khó đạt đến mức cân bằng cần thiết và trong trường hợp này thì độ lên men sẽ thấp, thời gian lên men kéo dài.

Mật độ gieo cấy ban đầu lớn thì tỷ lệ tế bào nẩy chồi thấp, tốc độ sinh sản tương đối ít. Khi lượng tế bào nẩy chồi ít thì cường độ trao đổi chất của tế bào non cũng thấp dẫn đến lượng các sản phẩm bậc hai (diacetyl, rượu bậc cao, aldehyd) tạo thành cũng ít. Thực nghiệm cho thấy, trong cùng điều kiện như nhau, mật độ gieo cấy ban đầu là 10.10^6 tế bào/ml thì lượng diacetyl tạo thành trong bia non sau lên men chính là 0,45mg/l, nếu lượng gieo cấy ban đầu 20.10^6 tế bào/ml thì lượng diacetyl tạo thành trong bia non sau lên men chính là 0,32mg/l. Mật độ tối đa của tế bào nấm men trong dịch lên men nên là 70.10^6 tế bào/ml.

+ Nồng độ chất hòa tan của dịch đường houblon hóa: Nồng độ chất hòa tan trong dịch đường houblon hóa ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm men và tốc độ lên men. Nồng độ dịch đường 11÷12% là tốt nhất cho lên men bia. Trong khoảng nồng độ 2,5÷12%, tốc độ lên men không bị ảnh hưởng. Nồng độ dịch đường từ 15÷20% thì cường độ lên men bị giảm. Hiện nay, nhiều nhà máy bia đã tiến hành lên men với dịch đường có nồng độ khoảng 17%. Có lẽ nhờ tiến bộ của công nghệ sinh học nên đã tìm được những chủng nấm men bia thích hợp cho việc lên men dịch đường ở nồng độ cao.

+ Nhiệt độ lên men: Nhiệt độ lên men cao thì thời gian lên men rút ngắn, mật độ tế bào trong dịch lên men cao hơn, lên men được triệt để hơn nhưng hàm lượng các sản phẩm bậc hai, đặc biệt là diacetyl, tạo ra nhiều, lượng tế bào chết cũng nhiều hơn và tốc độ suy giảm các đặc tính công nghệ của nấm men nhanh hơn. Nhìn chung lên men ở nhiệt độ cao thì chất lượng sản phẩm sẽ bị giảm. Vì vậy, chỉ nên tiến hành lên men ở khoảng nhiệt độ thích hợp với từng loại nấm men. Nếu vượt quá khoảng nhiệt độ đó thì làm suy giảm chất lượng sản phẩm.

+ Áp suất trên bề mặt dịch lên men: Áp suất trên bề mặt dịch lên men thường là kết quả của việc giữ CO_2 lại trong tank. Áp suất dư cao sẽ bão hòa nhiều CO_2 do đó đình trệ phát triển men, đặc biệt là ở giai đoạn đầu và giai đoạn logarit, làm chậm tốc

độ lên men, tạo nhiều sản phẩm trao đổi chất thứ cấp. Lên men trong điều kiện áp suất cao ở giai đoạn đầu thì nấm men bị suy giảm các đặc tính công nghệ của nó càng nhiều, số thế hệ nấm men được tái sử dụng cũng ít hơn.

Ở nhiệt độ thường, quá trình lên men bị đình chỉ nếu áp suất trong thiết bị lên men tăng lên đến 3÷4 kG/cm^2. Vì vậy trong thực tế sản xuất, ít khi người ta để cho áp suất trong thiết bị lên men tăng quá 1kG/cm^2 (áp suất dư).

Khi quá trình lên men bước sang giai đoạn gần kết thúc thì việc tăng áp suất không ảnh hưởng đến hoạt động của nấm men mà lại hạn chế được quá trình oxy hóa nhờ đó làm tăng độ bền bia. Do đó, ở các thiết bị lên men theo công nghệ mới, trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, người ta khống chế áp suất dư là 0,2÷0,5kG/cm^2. Ở giai đoạn lên men cuối người ta duy trì áp suất dư là 1,2÷1,3kG/cm^2.

+ Hàm lượng oxy: Khí oxy rất cần cho sự sinh trưởng, phát triển của nấm men ở giai đoạn đầu. Lượng khí oxy hòa tan trong dịch đường được nấm men tiêu thụ một cách nhanh chóng, sau 36 giờ lên men, lượng khí oxy hòa tan trong dịch đường chỉ còn 2,7mg/l và không hạ thấp hơn được. Sau giai đoạn logarit, sự có mặt của khí oxy không còn cần thiết nữa.

Trong cùng một điều kiện, dịch đường được sục khí oxy, mật độ tối đa của nấm men đạt tới 74.10^6 tế bào/ml, trong khi ở dịch đường không sục khí oxy thì mật độ tối đa chỉ đạt 45.10^6 tế bào/ml. Sự gia tăng mật độ tế bào là dấu hiệu cho biết lượng tế bào nẩy chồi nhiều, quá trình trao đổi chất diễn ra mạnh, do đó lượng sản phẩm bậc hai tạo ra cũng nhiều hơn.

Lượng khí oxy hòa tan trong dịch đường cũng là yếu tố tác động mạnh đến tốc độ suy giảm đặc tính công nghệ của nấm men. Nếu lượng khí oxy hòa tan trong dịch đường quá ít thì tốc độ sinh sản của nấm men chậm, tốc độ lên men yếu, hương vị của bia không đạt như yêu cầu cần có.

Trong sản xuất bia, để bảo đảm đủ khí oxy cho nấm men sinh trưởng và phát triển, người ta sục khí oxy hoặc không khí vô trùng vào trong dịch đường trong khi làm lạnh trước khi lên men chính. Lượng khí oxy hòa tan vào dịch đường vào khoảng 6÷8mg/l.

+ Sự đối lưu dịch lên men: Sự đối lưu có thể là kết quả của đối lưu tự nhiên hoặc đối lưu cưỡng bức nhờ hoạt động của máy khuấy hoặc bơm tuần hoàn. Sự đối lưu làm gia tăng sự tiếp xúc giữa nấm men và môi trường và giữ cho nấm men lơ lửng trong dịch, chậm kết lắng. Sự đối lưu làm tăng tốc độ và mức độ lên men.

Lên men theo công nghệ mới tiến hành trong các thiết bị lên men hình trụ đứng, nhiệt độ lên men trong lớp trên khác với lớp dưới nên tạo ra sự chênh lệch khối lượng riêng nhờ đó tạo ra sự đối lưu tự nhiên của dịch lên men, đẩy nhanh được tốc độ lên men.

Nhược điểm của sự đối lưu mạnh mang lại là bia chứa nhiều sản phẩm bậc hai, đặc biệt là diacetyl và rượu bậc cao, hương vị của bia không giống như bia tiêu chuẩn.

+ Nồng độ sản phẩm lên men: Sản phẩm chính của quá trình lên men là ethanol và CO_2. Khi những chất này tích tụ trong dịch lên men đến một nồng độ nhất định thì các hoạt động sống của tế bào nấm men bắt đầu bị ức chế. Ở nồng độ rượu thấp, dưới 2% thì hoạt động sống của nấm men xảy ra bình thường nhưng khi vượt quá 2% thì khả năng nẩy chồi của nấm men bị suy giảm. Khi nồng độ rượu tăng lên đến 5% thì khả năng nẩy chồi của nấm men bị chấm dứt mặc dù khả năng lên men vẫn còn tiếp tục. Khi nồng độ rượu trên 12% thì quá trình lên men bị chất dứt hoàn toàn.

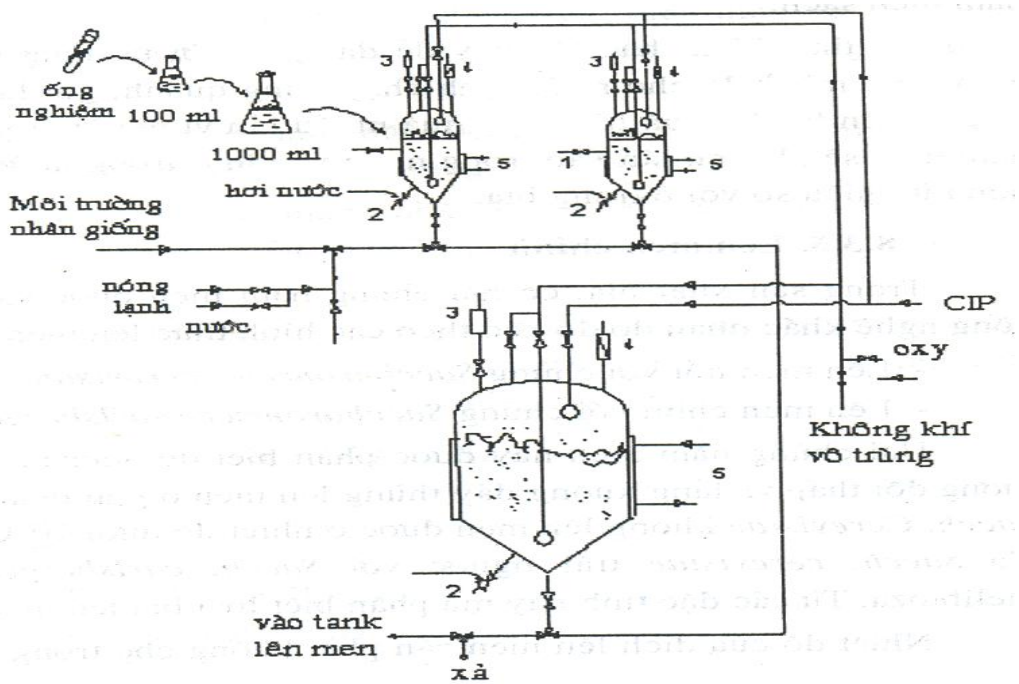
Các chủng nấm men khác nhau có khả năng chịu đựng tác động của rượu khác nhau, phụ thuộc vào khả năng thích ứng trạng thái sinh lý của nấm men.

- Tiến hành lên men: Quá trình lên men bia bao gồm chuẩn bị canh trường giống và tiến hành lên men.

Chuẩn bị canh trường giống: Mật độ nấm men gieo vào dịch lên men ban đầu tối thiểu phải đạt 8÷10 triệu tế bào/ml. Yêu cầu canh trường giống chuẩn bị tiếp vào tank lên men phải: không chứa vi sinh vật tạp nhiễm, tỷ lệ chết không vượt quá 5%, có khả năng đạt được độ lên men cuối cùng cao, có thể dùng được qua 8 đến 10 lần lên men và tạo hương vị phù hợp. Để có canh trường giống nói trên, có thể qua một số cách:

+ Nhân men từ giống thuần chủng (ống giống thạch nghiêng hoặc đông khô): Nguyên tắc chung của nhân giống là phát triển về số lượng tế bào nấm men qua việc cấy và phát triển nấm men lần lượt qua các môi trường có thể tích tăng dần, thường bắt đầu từ ống nghiệm vào các bình, các thùng (tank) cho đến khi đạt lượng yêu cầu để nạp vào tank lên men. Quá trình nhân giống thuần thường phân thành 2 giai đoạn: nhân trong phòng thí nghiệm đến canh trường 20 lít ở giai đoạn sóng cao và nhân men trong nhà máy đến khi đủ lượng cần cho sản xuất. Trong quá trình nuôi nấm men giống cần phải khống chế các điều kiện kỹ thuật như nhiệt độ, pH, nồng độ của dịch đường, thành phần của môi trường dinh dưỡng, tính vô trùng,... một cách nghiêm ngặt. Môi trường để nhân giống là dịch thủy phân của malt.

Hình 6.17 giới thiệu sơ đồ nhân giống nấm men thuần khiết từ phòng thí nghiệm đến thiết bị nhân giống lớn. Chú ý quá trình nhân giống cần tạo điều kiện tốt cho nấm men phát triển đặc biệt là nhiệt độ và oxy.

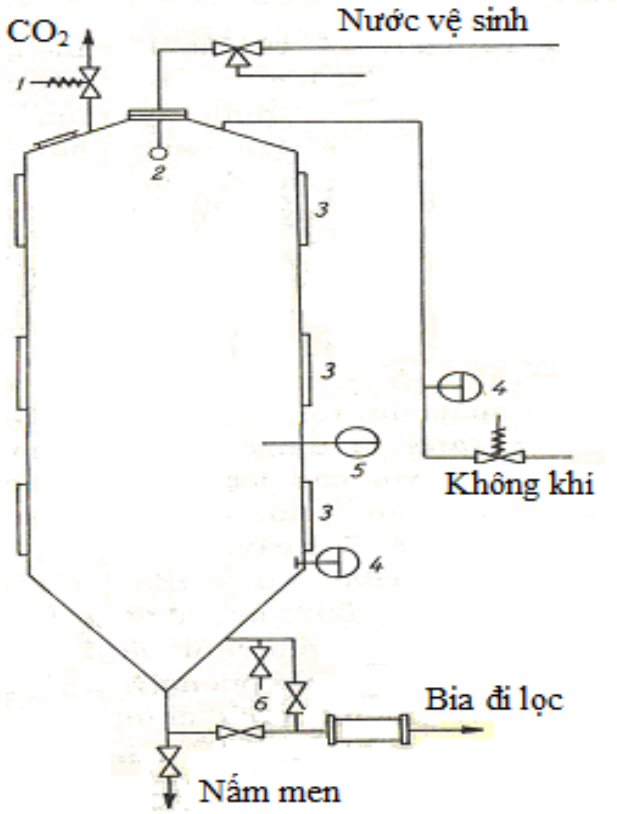


Hình 6.17. Hệ thống nhân giống nấm men

1. Tiếp men giống; 2. Van lấy mẫu; 3. Van xả CO_2; 4. Van an toàn; 5. Tác nhân làm lạnh

+ Thu hồi và tái sử dụng men lắng (cặn men): Sau khi lên men chính xong các tế bào nấm men kết tủa trên đáy thiết bị lên men thành lớp dày. Trong thực tế sản xuất người ta thường thu lại lớp nấm men ở giữa rồi đem xử lí và tái sản xuất. Sự tái sử dụng này được thực hiện cho đến khi nào nấm men giống có hoạt lực lên men yếu hoặc bị nhiễm khuẩn.

Tiến hành lên men theo công nghệ lên men một pha: Tank lên men một pha có dạng thân trụ, đáy côn nên dễ làm sạch, tháo men, tháo bia. Vật liệu làm bằng thép chrome nikel (Cr-Ni), bề mặt bên trong nhẵn bóng, không có chỗ trú ngụ cho vi sinh vật lạ. Trên thân và đáy lắp các "áo lạnh" hoặc các đường xoắn dẫn chất tải lạnh. Xung quanh tank bọc các lớp bảo ôn. Cấu trúc của tank như vậy cho phép thực hiện các chế độ nhiệt độc lập trong từng tank, thậm chí trong một tank có thể làm lạnh cục bộ từng phần. Các tank được lắp đặt ngoài trời thành từng cụm, phía trên cụm tank có giàn thao tác để đi lại vận hành, kiểm tra.... Tank có nhiều kích cỡ khác nhau, từ 5÷7m^3 đến 1500m^3, chiều cao từ 8÷40m, đường kính từ 1÷10m. Tank lên men theo công nghệ lên men một pha được thể hiện hình 6.18.



Hình 6.18. Tank lên men thân trụ đáy côn

1. Van lò xo; 2. Vòi phun đầu quay; 3. Áo lạnh; 4. Áp kế; 5. Nhiệt kế điện trở; 6. Van lấy mẫu

Dịch đường được chuyển vào tank lên men ở 8÷9^{0}C. Canh trường giống nấm men được bơm hoà vào dịch đường tại một điểm trên đoạn ống sau khi đã nạp oxy và được trộn đều vào dịch đường. Mật độ giống khoảng 25÷30 triệu tế bào/ml (300g men đặc/hl dịch đường).

Sau 2 ngày lên men đầu tiên nhiệt độ tăng lên đến 14^{0}C, duy trì nhiệt độ này cho đến khi đạt đến độ lên men tương ứng với ở bia non. Để điều chỉnh nhiệt độ ở giai đoạn này, ta vận hành áo lạnh trên cùng (tank có từ 3÷5 áo lạnh). Sau 5 ngày đêm, nồng độ chất hoà tan sẽ giảm đến 2,5%, lúc này xem như lên men chính đã kết thúc.

Vận hành áo lạnh dưới cùng của tank để hạ lạnh phần đáy tank đến khoảng 0,5^{0}C nhằm đẩy mạnh quá trình kết lắng nấm men đồng thời "bảo quản" sinh khối men lắng hạn chế sự tự phân và duy trì chất lượng của nấm men. Nhiệt độ bia non vùng thân của tank lên men vẫn ở khoảng 14^{0}C. Duy trì chế độ nhiệt này thêm 6 ngày để bia khử diacetyl.

Vận hành các áo lạnh ở phần thân và đỉnh để hạ lạnh toàn khối bia xuống 0,5^{0}C.

Giữ áp suất dư bề mặt ở 0,5÷0,7 kG/cm^2. Giữ chế độ nhiệt độ và áp suất trên trong khoảng 6 ngày để khử cặn lạnh và ổn định CO_2.

Sau 10 ngày từ lúc lên men, tiến hành kiểm tra và rút sinh khối men lắng. Trước khi đem bia đi lọc lại xả bỏ sinh khối một lần nữa.

Dấu hiệu để nhận biết sự chín của bia là sự triệt giảm diacetyl. Nếu diacetyl đã chuyển hoá hết thì tất cả các chất tạo mùi bia non cũng đã được chuyển hoá. Hàm lượng diacetyl vào cuối giai đoạn ủ chín nên dưới 0,1mg/l.

Ưu điểm của công nghệ lên men trong một tank: chi phí vệ sinh thấp, it tổn thất CO_2, thất thoát bia ít do không phải chuyển tank, giảm chi phí nhân công, tiết kiệm năng lượng do không cần bơm chuyển bia và loại trừ khả năng xâm nhập của oxy.

Một số hình thức lên men mới

- Lên men liên tục: Sử dụng hệ thống lên men gồm nhiều tank nối liên tiếp nhau bằng các ống chảy chuyền, mỗi tank được duy trì chế độ nhiệt và áp suất cố định. Lưu lượng dịch lên men đi vào và đi ra khỏi mỗi tank bằng nhau. Dịch lên men đi từ đầu đến cuối hệ thống tank sẽ lần lượt trải qua từng chế độ nhiệt, áp suất tương ứng cho từng giai đoạn lên men. Bia đi ra ở tank cuối cùng đạt tiêu chuẩn bia chín và được đem sang công đoạn lọc. Phương pháp này cũng giảm được chi phí và rút ngắn được thời gian lên men so với phương pháp cổ điển. Tuy nhiên phương pháp này dễ dẫn tới sự nhiễm khuẩn hàng loạt.

- Lên men cố định tế bào: Nấm men được cố định trong các giá thể dạng "mạng lưới" hoặc các "lồng bán thấm". Các "mạng lưới" hoặc các "lồng bán thấm" này được đặt trong môi trường dịch lên men. Chất khô khuếch tán vào các giá thể, được nấm men hấp thụ để lên men. Giá thể thường được sản xuất từ các polymer theo các phương pháp đặc biệt. Ưu điểm của phương pháp lên men cố định tế bào: Dễ điều chỉnh cường độ quá trình; Sản phẩm có độ trong cao; Nấm men được thu hồi và sử dụng lại dễ dàng.

- Lên men dịch đường nồng độ cao: Dùng các chủng nấm men có khả năng chịu áp suất thẩm thấu lớn để lên men dịch đường có hàm lượng chất khô cao (16÷20%). Sau khi ủ chín và tàng trữ, bia đựơc pha loãng trước khi lọc để đạt độ bia yêu cầu. Công nghệ lên men dịch đường nồng độ cao có những ưu điểm sau: Phương pháp này cho phép tăng được năng suất thiết bị. Do đó nâng được năng suất của nhà máy bia lên 25÷30% mà không phải đầu tư thêm thiết bị, nhân lực, giảm chi phí sản xuất. Tiêu tốn ít năng lượng. Cho phép lên men dịch đường có tỷ lệ nguyên liệu thay thế cao. Có khả năng tạo ethanol cao hơn trên một đơn vị chất hòa tan.

j) Làm trong bia

* Mục đích: Bia là một trong số những sản phẩm có yêu cầu rất cao về độ trong. Một sản phẩm bia tốt phải đạt được độ trong cao. Quá trình làm trong bia nhằm tách cặn lơ lửng, tách các tế bào nấm men sống và các tế bào trong bia để tăng giá trị cảm quan, ổn định thành phần cơ học, làm tăng độ bền sinh học và độ bền của bia. Dịch sau khi lọc trong suốt có màu vàng sáng.

* Cách tiến hành: Kỹ thuật làm trong bia gồm lắng trong, khử cặn lạnh và lọc hoặc ly tâm

- *Lắng trong, khử cặn lạnh:* Trong quá trình lên men phụ và ủ chín (tàng trữ) ở nhiệt độ từ 0÷5^{0}C, khi quá trình lên men kết thúc và dưới áp suất đối kháng, phần lớn chất lơ lửng và nấm men sẽ kết lắng xuống đáy tank. Hiện nay, các công nghệ còn bổ sung thêm giai đoạn khử cặn lạnh. Theo cách này, bia sau khi bia chín sẽ được hạ nhiệt

xuống khoảng -1÷0,5^{0}C và ổn định khoảng 5÷7 ngày. Quá trình lắng và khử cặn lạnh có thể làm giảm độ đục của bia xuống 10 lần.

- *Lọc, ly tâm:* Sau tàng trữ, khử cặn lạnh, bia đã đạt đến độ trong nhất định, tuy vậy vẫn còn rất nhiều nấm men dưới dạng các tế bào phân tán, các hạt keo, các chất vẩn cơ học,... Để đạt được độ trong yêu cầu và bền vững, bia phải được tiếp tục làm trong bằng các phương pháp có năng lực tách loại cao hơn, chủ yếu là lọc và ly tâm. Lọc là quá trình trong đó dịch đục được phân thành dịch lọc trong và bã lọc. Thiết bị lọc thông dụng là dạng tấm bản. Trong quá trình lọc có sử dụng bột trợ lọc phủ lên vải lọc để làm vật liệu lọc. Bột trợ lọc thông thường diatomide hoặc pelite. Bia có thể được làm trong bằng ly tâm cao tốc. Ưu điểm của ly tâm là ít gây biến đổi về thành phần và tính chất bia nhưng làm tăng nhiệt độ và tăng độ oxy hóa bia. Bia không được loại bớt keo nên độ bền thấp, dễ đục. Ly tâm được ứng dụng trong làm trong bia như là một bước làm trong sơ bộ chuẩn bị cho lọc màng hoặc lọc bột.

k) Bão hòa CO_2, ổn định bia

Lượng CO_2 tích lũy trong bia sau lọc thường chưa đạt đến độ yêu cầu cho thành phẩm. Vì vậy, cần phải bổ sung CO_2 vào bia, thường là sau khi lọc và trước lúc chiết chai cho đạt mức yêu cầu (4÷5g/l). Quá trình bổ sung CO_2 vào bia sau khi ủ chín hoặc sau lọc gọi là carbonate hóa, thường bằng cách "tia" CO_2 vào bia trong giai đoạn tàng trữ hoặc sau khi lọc, kết hợp với nhiệt độ thấp và nén CO_2 để tăng áp suất trên bề mặt tank bia. Ổn định bia ở nhiệt độ 0÷1^{0}C khoảng 1÷2 ngày trước khi đem chiết.

l) Chiết rót bia

Để tiện lợi cho việc tiêu thụ, bia có thể rót vào lon, chai hoặc các thùng nhỏ. Lon (hộp) kim loại để rót bia được chế tạo bằng kim loại bền áp, bền nhiệt và không độc hại. Chai dùng để rót bia phải có màu tối như xanh đậm hoặc màu nâu; Được sản xuất từ thủy tinh chất lượng cao có thể chịu áp lực 10 kG/cm^2 ở 100°C; Không nên dùng các chai có màu sáng để rót bia vì thủy tinh màu sáng cho các tia sáng mặt trời đi qua. Dưới tác dụng của các tia sáng mặt trời trong bia sẽ xảy ra các phản ứng quang hóa thì một số hợp chất chứa lưu huỳnh từ chỗ không có mùi sẽ bị khử thành mercaptan hoặc những chất tương tự gây mùi khó chịu cho bia và không có lợi cho sức khoẻ của người tiêu dùng.

Chai được sử dụng nhiều lần, do đó trước khi đưa vào chiết rót phải qua công đoạn rửa và kiểm tra cẩn thận. Chai được rửa và sát trùng kĩ bằng nước nóng và dung dịch NaOH 2%. Bia phải được rót trong điều kiện đẳng áp nếu không sẽ tạo nhiều bọt làm bia mất CO_2 và khó rót đầy theo yêu cầu.

Dây chuyền rót bia vào chai bao gồm các khâu: rửa chai, kiểm tra chai, rót bia vào chai, đóng nút chai, kiểm tra độ kín của nút sau khi đóng, thanh trùng bia và dán nhãn. Để bảo đảm chai đóng kín, yêu cầu chai đưa vào rót bia không được mẻ miệng và có kích thước đúng theo quy định.

m) Thanh trùng bia

Bia sau khi làm trong luôn chứa một lượng tế bào sống gồm nấm men và các tạp khuẩn. Trong đó nấm men, vi khuẩn lactic có thể hoạt động được trong môi trường bia và do đó làm hỏng sản phẩm.

Các phương án khử trùng sâu bằng nhiệt sẽ dẫn đến biến đổi về tính chất cảm quan của bia. Do vậy thường sử dụng phương án thanh trùng nhẹ trong vùng nhiệt độ 63÷80^{0}C.

Thời gian cần thiết để tiêu diệt vi khuẩn phụ thuộc vào nhiệt độ và loại vi sinh

vật. Đa số nấm men bị chết ở nhiệt độ 62÷63^{0}C trong khoảng 2 phút, trong khi đó, nhiều loại vi khuẩn có thể chịu đựng tới 15÷20 phút. Bào tử nấm men, nấm mốc chết ở khoảng 80^{0}C, bào tử một số loài vi khuẩn chỉ chết ở 120^{0}C sau 30 phút.

1.4.3. Các chỉ tiêu chất lượng của bia

a) Các chỉ tiêu cảm quan

* Đặc điểm của bọt và độ bền bọt: Yêu cầu chung là bọt mịn, đồng đều, có độ bền tương đối. Điều kiện cần để tạo bọt bia là sự giải phóng CO_2 trong môi trường dịch thể (bia) với sự có mặt của các chất hoạt động bề mặt, cụ thể là các chất làm giảm sức căng bề mặt, quan trọng nhất là các protein, polypeptid, ngoài ra còn có các acid đắng, polyphenol, các chất keo khác,…

Bia được gọi là có khả năng tạo và giữ bọt tốt nếu như khi rót vào cốc ở nhiệt độ 6÷8^{0}C thì tạo trên bề mặt một lớp bọt dày; lượng bọt khí tan đi được liên tục bổ sung bởi những dòng bọt li ti từ đáy và trong lòng cốc nổi lên. Ngược lại, nếu nếu bọt trên bề mặt tàn nhanh, lượng bọt bổ sung từ bên dưới ít và cũng giảm nhanh thì kết luận là bia kém tạo và giữ bọt.

* Mùi và vị bia: Mùi và vị là 2 chỉ tiêu chất lượng quan trọng nhất. Mùi vị bia phụ thuộc vào chất lượng nguyên liệu, chế độ lên men, thời gian tàng trữ, hàm lượng rượu và mức độ bão hoà CO_2. Đặc trưng của bia vàng là mùi thơm nhẹ; của bia đen là mùi thơm của caramen và vị hơi ngọt của malt.

* Màu sắc và độ trong của bia: Có hai nhóm màu chính là vàng và đen, ngoài ra còn có bia nâu hiện khá phổ biến tại châu Âu.

Màu sắc của bia phụ thuộc vào màu và chất lượng của malt, thành phần nước và thao tác kỹ thuật trong công đoạn nấu-đường hoá. Các chất màu quan trọng là các melanoidin hình thành khi sấy malt và đun hoa, các hợp chất flobafel tạo ra do sự oxy hoá các chất polyphenol trong vỏ trấu và houblon. Màu sắc của bia phải đặc trưng cho từng loại bia. Hiện nay sử dụng máy so màu để xác định cường độ màu của bia.

Độ trong suốt của bia là chỉ số quan trọng để đánh giá cảm quan. Độ trong của bia bắt đầu được hình thành trong thời gian lên men phụ và tàng trữ bia, tiếp theo là quá trình lọc qua nhiều vật liệu lọc khác nhau để đạt đến độ trong cần thiết. Trong thực tế hay gặp trường hợp bia bị đục. Nguyên nhân có thể là do:

- Sự kết tủa lạnh: Hiện tượng này xảy ra khi làm lạnh bia đến nhiệt độ khoảng 1^{0}C. Khi đó có sự chuyển dịch về dạng không hoà tan ở nhiệt độ thấp của một số cấu tử bậc cao như protein, phức protein-polyphenol hoặc nhựa houblon.

- Kết tủa protein: Nguyên nhân là do hàm lượng protein trong đại mạch quá cao hoặc sự phân huỷ quá mạnh protein khi nảy mầm, hoặc khi các quá trình khi chuẩn bị dịch đường và đun sôi không đảm bảo kỹ thuật. Để loại bỏ hiện tượng này, cần theo dõi và và giữ đúng chế độ ươm mầm, chế biến dịch đường cũng như quá trình lên men và tàng trữ bia.

- Kết tủa dextrin: Hiện tượng này xảy ra khi thực hiện quá trình nấu với chế độ nhiệt độ, tthời gian không hợp lý hoặc dùng nước quá nóng để rửa bã malt.

- Kết tủa kim loại: Do sự kết lắng protein khi tiếp xúc với một số kim loại như chì, sắt, đồng. Hiện tượng này thể hiện rất xấu về mặt cảm quan: bia bị xám, có vị kim loại.

- Bia bị đục do vi sinh vật: Xảy ra khi bia bị nhiễm vi sinh vật. Để khắc phục, cần giữ vệ sinh sản xuất tốt, tiến hành sát trùng thiết bị, phân xưởng thường xuyên đồng

thời phải đảm bảo bia có môi trường bất lợi đối với vi sinh vật (hàm lượng đường sót thấp, hàm lượng CO_2, ethanol cao,…) và chế độ khử trùng đảm bảo.

b) Các chỉ tiêu hoá lý

Các chỉ tiêu hóa lý của bia được thể hiện ở bảng 6.3.

Bảng 6.3. Chỉ tiêu hoá lý của bia (TCVN 7042-2002)

Tên chỉ tiêu	*Mức*
1. Độ acid, tính bằng ml NaOH 1N dùng để trung hòa hết 100ml bia đã đuổi hết CO_2, không lớn hơn	1,8
2. Hàm lượng diacetyl, mg/l, không lớn hơn	0,1
3. Hàm lượng ethanol	Theo tiêu chuẩn được công bố của nhà sản xuất
4. Hàm lượng chất hòa tan ban đầu	

c) Các chỉ tiêu vi sinh

Các chỉ tiêu vi sinh của bia được thể hiện ở bảng 6.4.

Bảng 6.4. Chỉ tiêu vi sinh của bia (TCVN 7042-2002)

Chỉ tiêu	*Giới hạn tối đa*
1. Tổng số vi sinh vật hiếu khí, số khuẩn lạc trong 1ml sản phẩm	10^3
2. *Coliform,* số vi khuẩn trong 1ml sản phẩm	50
3. *Escheria Coli,* số vi khuẩn trong 1ml sản phẩm	0
4. *Staphylococcus aureus*	0
5. *Clostridium perfringene*	0
6. Tổng số nấm men, nấm mốc, số khuẩn lạc trong 1ml sản phẩm	10^2

2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT ETHANOL

2.1. Tổng quan về ethanol

Ethanol hay còn gọi là rượu etylic có tên khoa học là Spiritus-vini, công thức phân tử: C_2H_6O, công thức cấu tạo: CH_3-CH_2-OH, phân tử lượng: 46,03đvC. Thuật ngữ cồn dùng để chỉ dung dịch ethanol có nồng độ từ khoảng 50%V trở lên.

Ethanol tồn tại ở thể lỏng, không màu, nhẹ hơn nước và hòa tan vô hạn trong nước. Khi tan trong nước kèm theo hiện tượng co thể tích và tỏa nhiệt. Nó là chất dễ bay hơi, nhiệt độ sôi 78,32^{0}C ở áp suất 760mmHg. Khi chưng cất và tinh chế ta chỉ thu được sản phẩm ethanol có nồng độ là 97,2%V. Dung dịch ethanol có nồng độ lớn hơn 97,2%V cần dùng phương pháp đặc biệt để sản xuất, không dùng phương pháp chưng cất và tinh chế thông thường.

Ethanol có tính sát trùng mạnh vì có khả năng hút nước sinh lý của tế bào, làm khô albumin. Có tác dụng lên hệ thần kinh, hệ hô hấp, hệ tuần hoàn.

Ethanol có vai trò quan trọng đối với các ngành công nghiệp, nó là nguyên liệu để sản xuất hơn 150 loại sản phẩm khác nhau. Ethanol được ứng dụng trong các lĩnh vực như: công nghiệp thực phẩm, nhiên liệu thay chế xăng (biofuel), công nghiệp dược và y tế, công nghiệp sản xuất hóa chất cơ bản...

Loài người đã biết sản xuất ra nước uống chứa ethanol bằng phương pháp lên men các nguồn nguyên liệu chứa glucid từ rất sớm. Đến thế kỷ 12, ethanol đã được thu nhận từ quá trình chưng cất sản phẩm lên men quả cây. Từ thế kỷ 13, ethanol trở thành hàng hóa và được ứng dụng trong công nghiệp dược. Nhà máy ethanol đầu tiên trên thế giới được xây dựng ở Hà Lan vào năm 1800. Sản xuất ethanol theo phương pháp công nghiệp bắt đầu vào khoảng cuối thế kỷ XIX, do người Pháp nghiên cứu công nghệ và xây dựng nhà máy. Vào năm 1895, các nhà sinh học Pháp như Rouxii, Calmette, Boidin đã phân lập được một loài nấm mốc trong bánh men thuốc bắc và đặt tên là Mucor Rouxii. Phương pháp sản xuất ethanol sử dụng loại nấm mốc đó gọi là phương pháp Amylo. Sau đó được thay thế bằng phương pháp Mycomalt và hiện nay phổ biến dùng các chế phẩm enzyme thương phẩm trong công đoạn đường hoá.

Trữ lượng các nguồn nhiên liệu hoá thạch ngày càng cạn đi nhanh chóng đã làm chuyển hướng ngành công nghiệp ethanol sang sản xuất ethanol nhiên liệu thay vì chủ yếu phục vụ công nghiệp đồ uống trước đây. Hiện nay, công nghiệp ethanol nhiên liệu của Brazil, Mỹ, Trung Quốc, Thái lan,… đã đạt được nhiều tiến bộ. Brazil hiện có khoảng 500 nhà máy ethanol, năng suất khoảng 16 tỷ lít/năm, không chỉ nhằm phục vụ trong nước mà còn xuất khẩu, chiếm 40% thị phần ethanol thương mại toàn cầu. Số lượng nhà máy ethanol ở Mỹ, Trung Quốc tăng nhanh. Không chỉ giới hạn ở rỉ đường, nguyên liệu giàu bột, một số nước như Nhật Bản, Mỹ,… đã khởi động các chương trình sản xuất ethanol từ sinh khối thực vật.

Có hai phương pháp sản xuất ethanol là phương pháp lên men bằng vi sinh vật và phương pháp tổng hợp hóa học. Hiện nay phương pháp lên men bằng vi sinh vật được sử dụng phổ biến. Nguyên liệu dùng để sản xuất ethanol theo phương pháp này là phải chứa nhiều glucid. Các công đoạn chính để sản xuất ethanol bằng phương pháp lên men là:

- Chế biến, xử lý nguyên liệu thành dịch đường để lên men;
- Nhân giống và lên men;
- Chưng cất, tinh chế dịch lên men.

2.2. Nguyên liệu sản xuất ethanol

Bất kỳ loại thực vật nào có chứa glucid với hàm lượng lớn đều có thể dùng để sản xuất ethanol. Tuy nhiên, khi chọn một loại nào đó cần xem xét đến các yêu cầu như:

- Chứa nhiều glucid;
- Trữ lượng lớn và tập trung;
- Bảo quản và sử dụng không quá phức tạp;
- Giá rẻ;
- Trang thiết bị để sản xuất không quá phức tạp, chất lượng rượu sản xuất ra bảo đảm tiêu chuẩn qui định.

Để đáp ứng các yêu cầu trên trong công nghệ sản xuất ethanol thường dùng một số nguyên liệu như: củ sắn, ngô, khoai, rỉ đường,… Trong đó củ sắn và rỉ đường là hai nguyên liệu hay sử dụng nhất.

2.2.1. Củ sắn (Manihot utilissima)

Củ sắn có 3 phần chính: vỏ, thịt củ và lõi. Ngoài ra còn có cuống và rễ củ. Trong đó, thịt củ chiếm tỷ lệ 90÷95% so với khối lượng củ và là phần có giá trị nhất. Thịt củ chứa nhiều tinh bột, ít protein và lipid. Thịt củ chứa ít độc tố và polyphenol hơn so với

vỏ củ và lõi.

Thành phần của củ sắn tươi dao động trong giới hạn khá lớn: tinh bột 20÷30%, protein 0,8÷1,2%, chất béo 0,3÷0,4%, cellulose 1÷3,1%, chất tro 0,54%, polyphenol 0,1÷0,3% và nước 60÷74,2%.

Ngoài các chất kể trên, trong sắn còn có một lượng vitamin và độc tố. Vitamin trong sắn thuộc nhóm B, trong đó B_1 và B_2 mỗi loại chiếm khoảng 0,03mg%, còn B_6 0,06mg%. Các vitamin này sẽ bị mất một phần khi chế biến.

Độc tố trong củ sắn có tên chung là phaseolunatine $C_{10}H_{17}NO_6$. Hàm lượng độc tố trong củ sắn phụ thuộc và giống, đất đai. Bản thân phaseolunatine không độc, chỉ khi nó bị thủy phân sẽ tạo ra HCN mới gây ngộ độc cho người. Dưới tác dụng của enzyme hay acid phaseolunatine $C_{10}H_{17}NO_6$ sẽ phân hủy thành glucose, axeton và HCN.

$$C_{10}H_{17}NO_6 + H_2O \xrightarrow{E,\ H^+} C_6H_{12}O_6 + C_3H_6O + HCN$$

Sắn dùng trong sản xuất ethanol chủ yếu là sắn lát khô. Thành phần của lát sắn khô: glucid: 67,6%; protein: 1,75%; chất béo: 0,87%; cellulose: 3,38%; chất tro: 1,79% và nước: 14%.

Sắn có hàm lượng tinh bột cao, lipid thấp và đặc biệt là phân tử lượng của amylopectin không lớn nên là nguyên liệu rất tốt để sản xuất ethanol. Tuy nhiên, sắn có ít chất dinh dưỡng cần thiết cho nấm men nên cần phải bổ sung các chất chứa nitơ, muối khoáng trong quá trình nuôi cấy nấm men.

2.2.2. Rỉ đường

Mật rỉ hay rỉ đường là thứ phẩm của công nghệ sản xuất đường, thường chiếm từ 3÷5% so với lượng mía đưa vào sản xuất. Tỷ lệ này phụ thuộc vào chất lượng mía và công nghệ sản xuất.

Thành phần rỉ đường gồm: đường lên men được, hợp chất hữu cơ, các chất vô cơ. Thành phần của rỉ đường phụ thuộc vào giống mía, đất đai, điều kiện trồng trọt, phương pháp sản xuất, điều kiện bảo quản, công nghệ sản xuất v.v... Thông thường rỉ đường có 15÷20% nước và 80÷85% chất khô. Trong các chất khô thì đường chiếm tới trên 55%, bao gồm: saccharose 30÷35%, đường glucose và fructose: 20÷25%. Phần còn lại dưới 45% bao gồm: chất vô cơ chiếm khoảng 15÷20%, chất hữu cơ khoảng 25÷30%. Chất hữu cơ trong rỉ đường bao gồm chất hữu cơ có chứa nitơ và chất hữu cơ không chứa nitơ.

Chất hữu cơ không chứa nitơ bao gồm: pectin và các sản phẩm phân hủy của pectin chiếm khoảng 3%; các sản phẩm phân hủy của đường như caramen, melanoidin chiếm khoảng 1,7%; các acid hữu cơ như acid formic, acid oxalic, acid lactic chiếm khoảng 2,5%. Acid aconitic chiếm phần lớn chất không đường hữu cơ, vào khoảng 5% so với lượng chất không đường hữu cơ.

Chất hữu cơ có chứa nitơ bao gồm: các acid amin và một số protein. Tổng lượng chất hữu cơ chứa nitơ có trong rỉ đường vào khoảng 1,68÷3,33% so với rỉ đường.

Vitamin gồm nhiều loại: thiamin (B_1), riboflavin (B_2), acid nicotinic, acid pantothenic (B_3), acid folic, pyridoxin, biotin (H).

pH của rỉ đường phụ thuộc vào nguyên liệu sản xuất và phương pháp sản xuất. Với rỉ đường sản xuất bằng phương pháp sulfit hóa thì pH = 5,5÷6,2.

Trong rỉ đường còn chứa một lượng vi sinh vật có hại, trong đó nguy hiểm nhất là vi khuẩn lactic và acetic. Mức độ nhiễm khuẩn được xác định bằng sự tăng độ chua

khi mật rỉ "tự lên men". Sự nhiễm vi sinh vật ảnh hưởng tới chất lượng rỉ đường, làm giảm hiệu suất tổng thu hồi.

Để tránh hiện tượng vi sinh vật phát triển, trong quá trình bảo quản cần giữ cho rỉ đường không bị pha loãng. Muốn vậy, bồn chứa rỉ đường phải đậy kín không để nước mưa bên ngoài xâm nhập và hạn chế dùng nước rửa. Đồng thời dùng các chất sát trùng như formol, Na_2SiF_6 với tỷ lệ 0,015÷0,02% so với khối lượng rỉ đường.

2.2.3. Nước

Trong công nghiệp sản xuất ethanol, nước được sử dụng với nhiều mục đích khác nhau. Nước được dùng để xử lý nguyên liệu, nấu nguyên liệu, pha loãng môi trường, làm nguội, vệ sinh thiết bị và nhà xưởng, dùng cho sinh hoạt, cung cấp cho lò hơi...

Thành phần, tính chất hóa lý và chất lượng nước có ảnh hưởng trực tiếp tới kỹ thuật sản xuất và chất lượng sản phẩm.

Yêu cầu của nước và xử lý nước dùng cho sản xuất ethanol xem phần yêu cầu của nước trong sản xuất bia.

2.3. Nấm men dùng trong sản xuất ethanol

Trong sản xuấtethanol, người ta sử dụng những chủng (nòi) nấm men thuộc loài *Saccharomyces cerevisiae*. Các chủng này cần phải đáp ứng được một số các yêu cầu đối với công nghệ sản xuất ethanol.

2.3.1. Yêu cầu đối với chủng nấm men dùng trong sản xuất ethanol

Ngoài tính chất chung là nấm men có khả năng biến hóa đường thành ethanol và CO_2 trong công nghệ sản xuất ethanol còn đòi hỏi những đặc thù riêng như:

- Khả năng lên men nhanh và triệt để.
- Có đặt tính sinh lý, sinh hoá ổn định trong thời gian dài.
- Chịu đựng được những yếu tố không thuận lợi của môi trường. Đặc biệt là các chất sát trùng, độ pH thấp và nhiệt độ tương đối cao.
- Chịu được áp suất thẩm thấu lớn, tức là chịu được nồng độ dịch lên men cao.
- Lên men được nhiều loại đường.
- Tạo ra nhiều ethanolvà ít tạo ra sản phẩm trung gian và phụ.

Để được chủng nấm men đáp ứng các yêu cầu trên phải trải qua thời gian tuyển chọn, thuần hoá, gây đột biến, lai ghép. Đồng thời để duy trì được lâu dài các đặc tính tốt của chủng nấm men cần phải giữ giống, cấy chuyền cẩn thận.

2.3.2. Một số chủng men thường dùng trong sản xuất ethanol tại Việt Nam

Các chủng nấm men thuộc loài *Saccharomyces cerevisiae* được dùng trong lên men từ mật rỉ khác với các chủng lên men từ tinh bột. Lên men rượu từ tinh bột dùng các chủng XII, M, $R_2$11…, lên men rỉ đường dùng chủng T, 396 và ℜ (i-a).

- Chủng men XII: được phân lập được từ nấm men bánh mì. Tế bào có dạng hình tròn hoặc hình ovan, kích thước khoảng 5x8μm. Có thể lên men được các loại đường fructose, glucose, maltose, galactose và 1/3 rafinose. Không lên men được các loại đường lactose, arabinose. Sau khi lên men, nồng độ rượu trong môi trường có thể đạt 13%. Chủng XII được xem là tốt nhất dùng để lên men dịch đường từ tinh bột.

- Chủng M: Thực ra đây không phai là một chủng thuần khiết mà là một hỗn hợp gồm 4 chủng nấm men nổi. Chủng M được Ginneberg đề nghị dùng từ năm 1905. Nó có khả năng lên men các loại đường khác nhau, trong đó có cả dextrin và rafinose. Những đường này được lên men không đồng thời bởi các chủng riêng biệt trong hỗn

hợp. Giống hỗn hợp này rất bền vững với các điều kiện không bình thường trong thực tế sản xuất.

- Chủng $R_2$11: được phân lập từ men thuốc bắc ở nhà máy rượu Hà Nội. Tế bào hình ovan, có kích thước (3÷5) x (5÷8)µm. Nó có thể lên men được fructose, glucose, maltose, rafinose, saccharose. Nó được dùng để sản xuất rượu từ nguyên liệu chứa tinh bột như gạo, khoai sắn. Lên men tốt dịch đường có nồng độ 120÷140g/l. Nồng độ ethanol tạo thành trong môi trường lên men 10÷12%. Nhiệt độ lên men thích hợp 28÷32^{0}C, nhưng tới 38^{0}C vẫn có thể lên men được, như vậy rất thuận tiện cho lên men mùa hè khi thiếu nước làm nguội các thùng lên men. Chủng $R_2$11 có khả năng chịu được chất sát trùng fluorsilicate natri ở nồng độ 0,02%.

- Chủng men 396 Trung Quốc (2610): được phân lập từ rỉ đường ở Trung Quốc, có khả năng lên men được đường fructose, glucose, maltose, galactose và 1/3 rafinose; không lên men được đường arabinose, lactose, dextrin. Nhiệt độ thích hợp 33^{0}C, pH_{opt} = 4,5÷5,0; chịu được nồng độ rượu 10% (nấm men 2610 là loại được thuần hóa từ 396).

- Chủng men ℜ (i - a): thích hợp cho việc lên men rỉ đường, chịu áp suất thẩm thấu lớn, lên men được các loại đường: glucose, fructose, saccharose, maltose và 1/3 đường rafinose.

- Chủng men T (Việt Nam): được phân lập từ rỉ đường đặc 35÷40^{0}Be và đặt tên T (trời), chủng nấm men này lên men được ở nhiệt độ cao 33÷37^{0}C, pH từ 4,5÷5, nồng độ dịch lên men có thể đạt 18÷24% có thể đạt được nồng độ rượu trong dịch lên men là 8÷12%, chịu được chất sát trùng với nồng độ 0,02÷0,025% so với thể tích dịch lên men, chất sát trùng ở đây là formol hoặc fluorsilicate natri (Na_2SiF_6). Kích thước tế bào từ 4÷5x6÷9(µm) tế bào có dạng hình trứng, tốc độ phát triển nhanh.

2.3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm men rượu

a) Nhiệt độ

Mỗi loại nấm men đều chịu ảnh hưởng của nhiệt độ tới hoạt động sống của chúng. Giống *Saccharomyces* có nhiệt độ t^0_{opt} là 28÷32^{0}C, t^0_{min} là 5^{0}C và t^0_{max} là 38^{0}C. Khi tiến hành lên men thì khả năng chịu đựng nhiệt độ sẽ cao hơn, trên 50^{0}C thì nó mới chết.

Nhiệt độ thích hợp cho vi khuẩn phát triển gần trùng với nhiệt độ thích hợp của nấm men rượu. Do vậy không thể dùng yếu tố nhiệt độ để hạn chế mức độ nhiễm khuẩn trong quá trình nuôi cấy hoặc lên men.

b) pH

Mỗi loại vi sinh vật chỉ có thể hoạt động tốt trong vùng pH nhất định. Nấm men có thể phát triển trong môi trường pH = 2÷8, nhưng phát triển mạnh nhất khi pH = 4,5÷5. Vi khuẩn bắt đầu phát triển ở pH ≥ 4,2. Do vậy khi môi trường có pH < 4,2 thì chỉ có nấm men phát triển.

Dựa vào điều kiện này, người ta điều chỉnh pH môi trường về pH = 3,8÷4,0 khi nuôi cấy hoặc lên men để ngăn ngừa sự phát triển của vi khuẩn, biết rằng nấm men có phát triển chậm hơn so với khi pH = 4,5÷5,0. Để điều chỉnh pH thì có thể dùng một trong các loại acid như: acid lactic, acid sulfuric, acid phosphoric.

Khi pH môi trường tăng lên thì nấm men hoạt động yếu dần và môi trường dễ bị nhiễm vi khuẩn, vi khuẩn phát triển rất nhanh.

c) Nồng độ rượu

Mục đích của quá trình nuôi cấy nấm men là tạo điều kiện cho nấm men phát triển để đạt số lượng nấm men theo yêu cầu (tức là tăng sinh khối). Trong quá trình nuôi cấy nấm men có tạo ra một lượng rượu trong môi trường, lượng rượu này tuỳ thuộc vào điều kiện nuôi cấy có sục khí và khuấy trộn hay không. Lượng rượu tạo ra trong môi trường có ảnh hưởng không tốt tới khả năng phát triển của nấm men.

Khi lượng rượu trong môi trường đạt 1% thì tỷ lệ nấm men nẩy chồi giảm còn 83%. Khi nồng độ rượu trong môi trường còn 2% thì sự sinh sản của nấm men chậm dần, khi nồng độ rượu 5% thì nấm men ngừng phát triển. Vì vậy, để bảo đảm cho nấm men phát triển bình thường thì cần tìm biện pháp để hạn chế lượng rượu sinh ra trong môi trường nuôi cấy.

d) Sục khí, đảo trộn

Sục khí hoặc đảo trộn nhằm mục đích cung cấp khí oxy cho quá trình hô hấp của nấm men, để tăng sinh khối.

Sục khí và đảo trộn còn có tác dụng làm cho môi trường ở trạng thái chuyển động, nấm men luôn chuyển động trong môi trường nên tế bào nấm men có thể hấp thu được nhiều chất dinh dưỡng và phát triển nhanh, nhờ đó rút ngắn được thời gian nuôi cấy. Trong thực tế sản xuất cho thấy rằng nếu trong quá trình nuôi cấy nấm men có sục khí và đảo trộn đầy đủ sẽ rút ngắn được 1/3 thời gian nuôi cấy so với khi nuôi cấy thiếu không khí.

Khi thiếu không khí thì nấm men sẽ chuyển dần sang hình thức hô hấp kỵ khí, sinh ra rượu, làm giảm hoặc ngừng sự phát triển của nấm men.

e) Các yếu tố khác

- Chất sát trùng: Trong sản xuất, chất sát trùng được sử dụng để sát trùng môi trường nuôi cấy nhằm ngăn ngừa các vi sinh vật lạ phát triển. Hiện nay trong sản xuất người ta thường dùng hai loại hoá chất để ngăn ngừa vi sinh vật lạ phát triển trong rượu đó là: formol, fluor silicat matri, tỷ lệ dùng nhiều hay ít tuỳ theo chất lượng hoá chất, nhưng yêu cầu đối với hoá chất là phải hạn chế sự phát triển của vi sinh vật lạ, nhưng không ảnh hưởng xấu đến sự hoạt động của nấm men nuôi cấy.

- Muối của kim loai nặng: Trong môi trường có chứa nhiều loại muối kim loại nặng như: Pb, Hg, Ba... sẽ hạn chế sự phát triển của nấm men. Vì vậy, môi trường nuôi cấy nấm men không được có các muối của các kim loại nói trên, muốn vậy chúng ta phải chú ý đến chất lượng của nước sử dụng.

2.4. Quy trình công nghệ sản xuất ethanol

2.4.1. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất ethanol

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất ethanol từ nguyên liệu rỉ đường và sắn lát khô được thể hiện hình 6.19.

2.4.2. Thuyết minh quy trình

2.4.2.1. Chuẩn bị dịch lên men từ nguyên liệu giàu tinh bột

a) Nghiền nguyên liệu

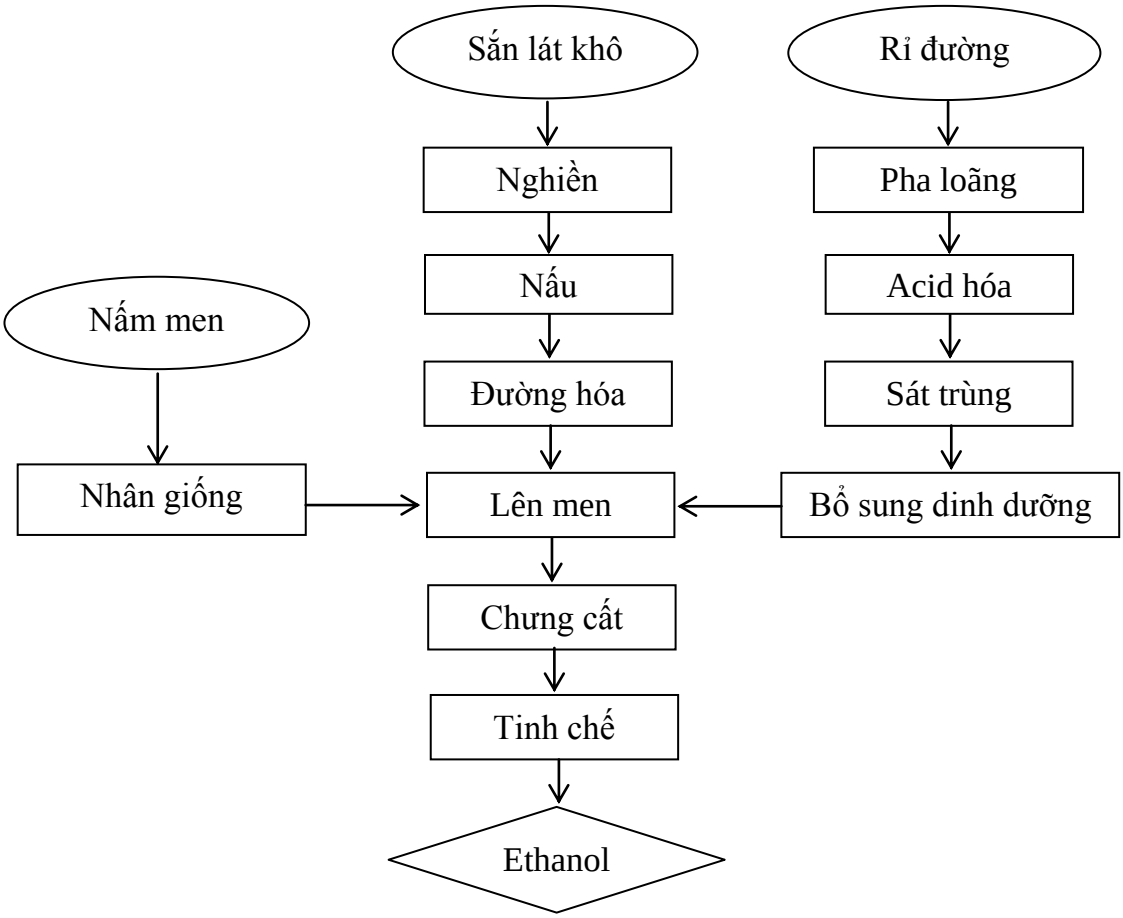
Nghiền nguyên liệu mục đích nhằm phá vỡ cấu trúc màng tế bào thực vật để giải phóng các hạt tinh bột khỏi các tế bào.

Hiện nay, ở nước ta, thường dùng các loại máy nghiền búa để nghiền các loại nguyên liệu chứa tinh bột như sắt lát khô, ngô...

b) Nấu nguyên liệu

* Mục đích: Trong các nguyên liệu như gạo, ngô, khoai, sắn v.v..., hạt tinh bột luôn nằm trong màng tế bào. Khi nghiền chỉ một phần các màng đó bị phá vỡ, phần lớn màng tế bào còn lại sẽ ngăn cản sự tiếp xúc của amylase với tinh bột. Mặt khác, hạt tinh bột ở trạng thái không hòa tan thì amylase tác dụng lên tinh bột rất chậm và kém hiệu quả. Vì vậy, mục đích của nấu nguyên liệu giàu tinh bột là nhằm phá vỡ màng tế bào của tinh bột và biến đổi tinh bột sang trạng thái hòa tan trong nước.

Trước đây, người ta nấu nguyên liệu tinh bột ở chế độ "mềm" là 135÷138^{0}C hoặc chế độ "cứng" là 145÷155^{0}C. Hiện nay, nhiều nhà máy đã áp dụng công nghệ nấu mới có sự hỗ trợ của chế phẩm enzyme nên nhiệt độ khối nấu cao nhất cũng chỉ hơn 100^{0}C một ít.



Hình 6.19. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất ethanol

* Biến đổi của nguyên liệu: trong quá trình nấu xảy ra các biến đổi nguyên liệu như:

- Sự phá vỡ các cấu trúc tế bào thực vật: Độ bền của màng tế bào không giống nhau đối với các nguyên liệu và ngay cùng một nguyên liệu, độ bền ở các phần cũng khác nhau. Nếu chỉ dùng lực cơ học để phá hủy tế bào thì tốn nhiều năng lượng. Nếu đun nguyên liệu với nước sẽ xảy ra hiện tượng trương nở, hòa tan các chất kết dính giữa tế bào, sẽ làm giảm độ bền cơ học của nguyên liệu. Vì vậy, muốn phá vỡ cấu trúc tế bào nguyên liệu để tinh bột thoát ra ngoài màng tế bào một cách dễ dàng và tiết kiệm năng lượng, cần kết hợp nghiền và xử lý nhiệt ẩm đối với nguyên liệu.

- Sự trương nở và hòa tan tinh bột: Trương nở là tính chất của những chất rắn cao phân tử có khả năng hút dung môi để tăng thể tích. Khi cho nguyên liệu tinh bột tiếp xúc với nước, các phân tử nước có kích thước phân tử nhỏ nên chúng xâm nhập vào

giữa các phân tử tinh bột. Các phân tử nước sẽ tương tác với các nhóm hoạt động của tinh bột làm yếu một số kiên kết trong phân tử tinh bột, phân tử tinh bột bị "rão" ra và bị trương lên. Khi nhiệt độ tăng lên, các liên kết trong phân tử tinh bột bị đứt càng nhiều sẽ dẫn đến quá trình trương nở không hạn chế, nghĩa là tinh bột bị hòa tan, chuyển thành dạng dung dịch. Quá trình trương nở luôn xảy ra trước quá trình hòa tan.

Ở nhiệt độ bình thường, tinh bột hấp thụ 25÷50% nước mà hạt chưa trương. Khi nhiệt độ tăng, liên kết hydro giữa phân tử của tinh bột bị phá vỡ. Ví dụ ở 60^0C tinh bột ngô hấp thụ 300% nước so với khối lượng ban đầu, khi ở 70^0C thì hấp thụ 1000% nước và khi trương cực đại tinh bột có thể hấp thụ đến 2500% nước. Nhiệt độ để phá vỡ lực liên kết giữa các nhóm phân tử trong tinh bột, làm cho cấu trúc hạt tinh bột bị phá vỡ chuyển thành trạng thái dung dịch keo gọi là nhiệt độ hồ hóa.

Nhiệt độ hồ hóa phụ thuộc vào loại nguyên liệu và kích thước hạt tinh bột. Những hạt lớn bao giờ cũng trương nở và hồ hóa ở nhiệt độ cao hơn so với hạt bé cùng loại. Trong cùng một nguyên liệu bao giờ cũng gồm một hỗn hợp chứa nhiều hạt tinh bột có kích thước khác nhau nên nhiệt độ hồ hóa luôn ở trong một khoảng nhiệt độ. Ví dụ nhiệt độ hồ hóa tinh bột sắn: $61÷80^0$C, tinh bột gạo: $65÷85^0$C.

Ngoài ra nhiệt độ hồ hóa còn phụ thuộc vào sự hiện diện của các chất điện giải trong dung dịch. Các muối kiềm và muối trung tính làm giảm nhiệt độ hồ hóa, các chất đường thì ngược lại. Nhiệt độ hồ hóa còn phụ thuộc vào nồng độ tinh bột và tốc độ tăng nhiệt.

Quá trình hồ hóa các tinh bột giống nhau, ban đầu độ nhớt của tinh bột tăng lên, sau đó đạt cực đại rồi lại giảm xuống khi nhiệt độ tiếp tục tăng.

Khi làm nguội dung dịch hồ tinh bột đến 55^0C thì xảy ra hiện tượng thoái hóa tinh bột làm cho amylase không tác dụng được. Vì vậy trong quá trình nấu nguyên liệu cần tránh hiện tượng này.

- Sự thủy phân tinh bột: Một lượng nhỏ tinh bột biến thành đường và dextrin do tác dụng của amylase chứa trong nguyên liệu. Theo Askinydi, khi nâng nhiệt đến 60^0C trong khoảng 15 phút, trong khối nấu của hạt kê có gần 8% chất khử. Sự tạo đường trong khối nấu nguyên liệu là không mong muốn. Đường sẽ bị chuyển hoá khi khối nấu được tiếp tục nấu ở nhiệt độ cao, tạo ra caramen, furfurol và melanoidin. Để giảm tổn thất này, trong quá trình nấu, hạn chế tối thiểu thời gian dừng ở vùng nhiệt độ $50÷60^0$C.

- Sự biến đổi các chất đường: Trong nguyên liệu chứa sẵn một lượng đường nhất định, bao gồm các loại: glucose, fructose, saccharose, maltose. Trong quá trình nấu, các loại đường có trong khối nấu bị phân hủy do các phản ứng caramen, melanoidin, tạo thành oxymethylfurfurol. Một phần oxymethylfurfurol ngưng kết tạo ra chất màu vàng.

- Biến đổi của hemicellulose, cellulose và pectin: Trong quá trình nấu, với môi trường acid yếu, cellulose không bị thủy phân. Hemicellulose cấu tạo chủ yếu từ pentosan có bị thủy phân một phần. Sự thủy phân này bắt đầu từ khi chuẩn bị dịch bột do tác dụng của cytase chứa trong nguyên liệu và được tiếp tục trong quá trình nấu do tác dụng của ion H^+ và nhiệt độ cao. Kết quả là tạo ra một lượng nhỏ dextrin và các hợp chất có phân tử thấp, kể cả đường 5 carbon như arabinose và xylose. Bị thủy phân nhiều hơn cả là các chất pectin (là ester của acid polygalacturonic và ethanol).

* Phương pháp nấu: Nấu nguyên liệu có thể thực hiện theo một trong ba cách: gián đoạn, bán liên tục hoặc liên tục. Tuỳ theo điều kiện trang thiết bị, mỗi nước, mỗi

cơ sở sản xuất có thể chọn cho mình phương pháp này hay phương pháp khác phù hợp, nhằm đạt hiệu quả cao nhất trong hoàn cảnh cho phép.

c) Đường hóa tinh bột

Quá trình thủy phân tinh bột trong khối cháo nhờ xúc tác của amylase biến thành đường được gọi là đường hóa, sản phẩm gọi là dịch đường hóa.

Trước đây, hầu hết các nhà máy rượu ở nước ta đều dùng amylase thu được từ nuôi cấy nấm mốc. Hiện nay, hầu hết các nhà máy dùng chế phẩm amylase của các hãng sản xuất enzyme như Novo, Genecor, v.v… để dịch hóa, đường hóa.

* Sự biến đổi tính chất của khối nấu: Quan sát hiện tượng xảy ra trong đường hóa tinh bột bằng amylase, ta thấy: độ nhớt của dung dịch giảm dần, tính khử tăng lên, phản ứng định tính với dung dịch thuốc thử iodine đổi từ xanh, tím xanh đến không màu. Dựa vào các tính chất đó biết được các giai đoạn, các sản phẩm tạo ra trong quá trình đường hóa. Trong sản xuất ethanol, đường hóa được xem là đạt yêu cầu khi hàm lượng đường tính theo glucose đạt trên 30g/l dịch thủy phân. Ở giai đoạn này nếu thử với dung dịch iodine thì vẫn còn màu xanh.

* Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình đường hoá: Quá trình đường hóa dưới tác dụng của emzyme chịu ảnh hưởng của các yếu tố như: nhiệt độ, pH và nồng độ enzyme.

- Nhiệt độ: Nhiệt độ tối thích của enzyme phụ thuộc vào nguồn gốc enzyme. Trong cùng một nguồn, nhiệt độ tối thích của α-amylase cao hơn β-amylase. Ví dụ α-amylase của vi khuẩn chịu nhiệt có nhiệt độ tối thích là $90 \div 95^0C$, có loại lên đến $100 \div 105^0C$ nhưng α-amylase của thóc mầm có nhiệt độ tối thích là $73 \div 75^0C$. Nhiệt độ tối thích của β-amylase các loại nấm mốc là $55 \div 60^0C$. Nhiệt độ tối thích của enzyme còn phụ thuộc vào nồng độ cơ chất và của các sản phẩm thủy phân khối nấu. Trong dung dịch tinh bột 1%, nhiệt độ tối thích của β-amylase từ *A. awamori* là 55^0C, trong dung dịch tinh bột 10% là 60^0C. Thời gian tác dụng nhiệt lâu sẽ làm giảm khả năng chịu nhiệt của enzyme. Vì vậy cần tìm biện pháp tăng tốc độ phản ứng để rút ngắn thời gian phản ứng.

- pH khối nấu: α-amylase của chế phẩm nấm mốc có pH tối thích là 4,5÷5,0; của glucoamylase là 4,5÷4,6. Hãng enzyme Novo có chế phẩm α-amylase có pH tối thích khoảng 5,5÷5,7, của glucoamylase là 4,0÷4,5. Do đó, khi pH của khối nấu cao hơn pH tối thích thì cần điều chỉnh pH khối nấu bằng acid (H_2SO_4 hoặc H_3PO_4) cho phù hợp với hoạt động của enzyme.

- Nồng độ enzyme: Dịch hóa bằng chế phẩm Termamyl 120L (α-amylase) của hãng NOVO thì nồng độ sử dụng 0,02÷0,03% so với khối lượng tinh bột, đường hóa bằng chế phẩm San Super 240L (glucoamylase) cần dùng là 0,8÷1% so với khối lượng tinh bột.

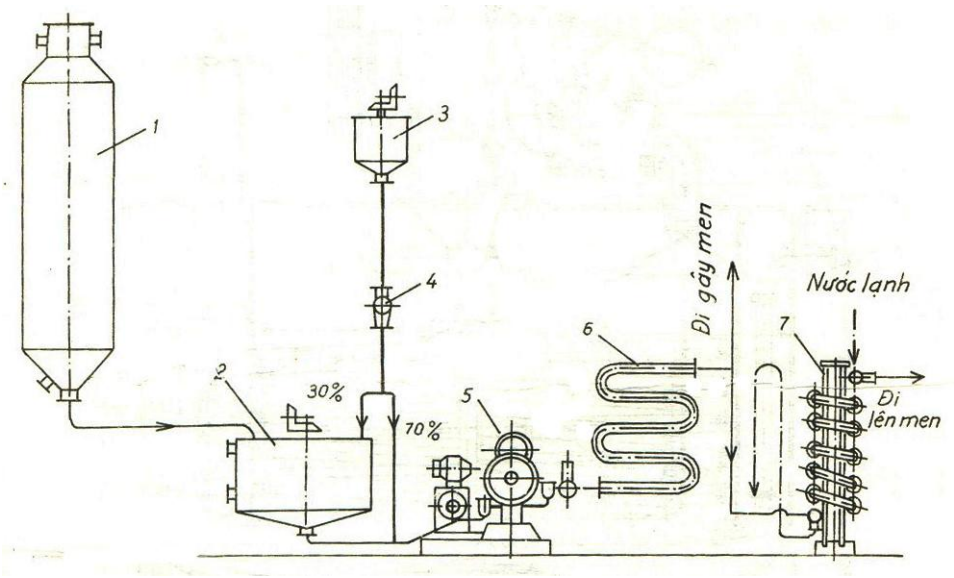
* Các phương pháp đường hoá: Tùy theo yêu cầu và quy mô nhà máy mà có các phương pháp đường hóa như: gián đoạn, bán liên tục, liên tục. Quá trình đường hóa gồm các công đoạn sau:

- Làm lạnh dịch cháo sau khi nấu đến nhiệt độ đường hóa;

- Cho chế phẩm amylase vào dịch cháo và giữ ở nhiệt độ xác định để amylase chuyển hóa tinh bột thành đường;

- Làm lạnh dịch đường đến nhiệt độ lên men.

Phương pháp làm nguội và đường hóa liên tục minh họa ở hình 6.20.



Hình 6.20. Sơ đồ làm nguội và đường hoá liên tục hai lần

1. Thùng chứa cháo; 2. Thùng đường hóa lần 1; 3. Thùng chứa amylase; 4. Bộ phận phân phối; 5. Bơm; 6. Thùng đường hóa lần 2; 7. Thiết bị làm nguội

Khối cháo được chứa ở thùng chứa (1) liên tục vào thùng đường hóa lần 1 (2). Cho 30% chế phẩm enzyme amylase từ thùng (3) qua bộ phận phân phối (4) vào thùng đường hóa, thời gian đường hóa 15÷30 phút. Ra khỏi thùng (2) dịch cháo được bổ sung 70% chế phẩm enzyme amylase còn lại, sau đó qua bơm (5) đi vào thiết bị đường hóa lần 2 (6). Tổng thời đường hóa ở cả hai thiết bị không quá 30 phút. Sau đó dịch đường được làm nguội xuống nhiệt độ lên men 30÷33^{0}C rồi từ đây được chuyển một phần khoảng (10÷ 15%) vào các thiết bị phát triển nấm men, phần còn lại chuyển vào các thùng lên men.

* Nấu và đường hóa sử dụng chế phẩm enzyme tinh: Hiện nay hầu hết các nhà máy ethonol ở nước ta sử dụng kết hợp quá trình nấu và đường hóa bằng chế phẩm enzyme tinh, hoạt lực cao của Novo (Đan Mạch)

Tiến hành nấu và đường hóa sử dụng các chế phẩm enzyme tinh như sau: Nước nóng có nhiệt độ 30÷40^{0}C hòa với bột nguyên liệu (thường dùng là bột sắn) trong nồi nấu theo tỷ lệ nước/bột là 4/1÷5/1 rồi cho cánh khuấy hoạt động. Cho khoảng 80% lượng chế phẩm enzyme cần dùng vào khối nấu (nếu sử dụng chế phẩm Termamyl 120L của hãng Novo lượng dùng khoảng 0,02÷0,03% so với khối lượng bột). Điều chỉnh pH của dịch bột đến 5,2÷5,4. Dùng hơi nước đun trực tiếp sao cho sau 40÷50 phút thì đạt đến 85÷90^{0}C, giữ tại nhiệt độ này trong khoảng 30 phút. Sau thời gian đó tiến hành đun sôi khối dịch và giữ sôi trong 30 phút. Tháo khối dịch xuống thùng đường hóa và làm nguội đến 90^{0}C, bổ sung 20% lượng Termamyl còn lại và làm nguội khối dịch xuống 55÷57^{0}C. Khi đạt được nhiệt độ này thì cho chế phẩm San Super 240L (glucoamylase) vào, duy trì ở nhiệt độ 55÷57^{0}C để đường hóa. Lượng chế phẩm San Super 240L cần dùng là 0,8÷1% so với khối lượng tinh bột trong khối dịch. Thời gian đường hóa khoảng 20÷30 phút. Đường hóa xong, làm nguội dịch đường xuống nhiệt độ lên men.

* Chỉ tiêu chất lượng dịch đường hóa

- Nồng độ chất hòa tan của dịch đường: được biểu diễn theo phần trăm khối lượng. Nồng độ dịch đường thường vào khoảng 16÷18%. Nồng độ chất khử tính theo

glucose chỉ cần lớn hơn 3% đủ bảo đảm cho phát triển ban đầu của nấm men. Các dextrin và oligosaccharide sẽ được tiếp tục chuyển hóa thành glucose trong thời gian lên men.

- Độ chua của dịch đường: có thể biểu diễn theo lượng H_2SO_4 chứa trong 1 lít dịch. Độ chua có thể biểu diễn theo độ (^{0}). Đó là số ml NaOH nồng độ 1N cần để trung hòa hết acid tự do chứa trong 20ml. 1 độ chua tương đương với 2,45g H_2SO_4/lít. Độ chua dịch đường yêu cầu khoảng từ 0,8÷1,2 gam/lít.

- pH: dịch đường từ sắn yêu cầu pH khoảng 4,8÷5,2.

- Hàm lượng hợp chất chứa nitơ: trong dịch đường từ sắn thường không đủ cho nhu cầu của nấm men. Vì vậy cần bổ sung nguồn nitơ từ muối vô cơ như urea với lượng khoảng 0,5 gam/lít dịch đường hóa.

2.4.2.2. Chuẩn bị dịch lên men từ rỉ đường

Việc chuẩn bị dịch lên men từ rỉ đường gồm các công đoạn: pha loãng sơ bộ, acid hoá, bổ sung chất dinh dưỡng, bổ sung chất sát trùng và pha loãng đến nồng độ yêu cầu.

a) Mục đích của việc xử lý, pha loãng rỉ đường

Trong rỉ đường, nồng độ chất khô và hàm lượng đường rất cao nên tạo ra áp suất thẩm thấu lớn, nấm men không thể phát triển và lên men được. Trong rỉ đường còn có nhiều tạp chất có hại cho nấm men như chất keo, chất màu lại nghèo chất dinh dưỡng, đặc biệt là các chất chứa N, P nên không phải là điều kiện thuận lợi cho nấm men phát triển. Rỉ đường có chứa nhiều loại vi sinh vật khác nhau, bị ức chế khi hàm lượng chất khô cao nhưng khi pha loãng dung dịch đến nồng độ thấp nhất định thì chúng sẽ phát triển.

Vì những lý do trên mà không thể tiến hành lên men rỉ đường nguyên được. Do vậy cần phải pha loãng rỉ đường để giảm áp suất thẩm thấu cho nấm men phát triển, và xử lý bằng các biện pháp như: acid hoá, bổ sung chất dinh dưỡng, sát trùng… để tạo điều kiện thuận lợi cho nấm men rượu phát triển mạnh.

b) Các bước thực hiện

* Pha loãng sơ bộ: Rỉ đường ban đầu có nồng độ 80÷85^{0}Bx cần được pha loãng đến nồng độ 50÷55^{0}Bx. Chú ý: Nếu pha loãng quá thì tốn thiết bị và tốn nhiều hơi nếu thanh trùng bằng nhiệt nhưng có lợi là tạp chất lắng nhanh. Nếu pha đặc quá thì độ nhớt lớn, tạp chất khó lắng, acid hoá sẽ không đều.

* Acid hoá: Dịch rỉ dường sau khi pha loãng được acid hoá bằng cách dùng acid vô cơ như HCl hoặc H_3PO_4 hoặc acid lactic cho vào trong rỉ đường để hạ pH của rỉ đường xuống còn 4,5÷5,0. Các nhà máy thường dùng H_2SO_4 đậm đặc với tỷ lệ 0,6% so với khối lượng rỉ đường đặc. Có hai phương pháp acid hoá:

- Acid hoá nguội: Cho acid với tỷ lệ nhất định vào rỉ đường đã pha loãng sơ bộ, ở nhiệt độ môi trường (không gia nhiệt).

- Acid hoá nóng: Nâng nhiệt độ của rỉ đường đã pha loãng sơ bộ đến 78÷82^{0}C rồi mới cho acid vào theo tỷ lệ quy định. Acid hoá nóng có lợi là giảm độ nhớt của rỉ đường, giúp cho các chất kết tủa dễ dàng, dễ lắng, dễ lọc... Đồng thời acid hoá nóng đường saccharose chuyển hoá tạo ra các đường dễ lên men.

* Sát trùng: Có thể sử dụng nhiều chất sát trùng như: formol hoặc fluorsilicat natri... vào trong rỉ đường nhằm ngăn ngừa hoặc tiêu diệt vi sinh vật xâm nhập và phát triển. Tính toán lượng hóa chất sát trùng sao cho nồng độ 0,02% so với thể tích dịch

lên men. Chú ý: Cần pha loãng các chất sát trùng trước khi cho vào rỉ đường.

* Bổ sung chất dinh dưỡng: Bổ sung chất dinh dưỡng để cho nấm men phát triển tốt, quan trọng nhất là các muối chứa nitơ và phospho. Nguồn bổ sung nitơ là các loại muối sunfat amon hoặc urea. Tỷ lệ sunfat amon là 0,6÷0,8% so với rỉ đường, urea là 0,3÷0,4% so với rỉ đường. Bổ sung phospho bằng muối $Ca(H_2PO_4)_2$ với tỷ lệ 1%. Ngoài ra có thể bổ sung $MgSO_4.7H_2O$ với lượng khoảng 0,1% so với khối lượng rỉ đường.

Sau khi rỉ đường đã được pha loãng sơ bộ, acid hoá, bổ sung các chất sát trùng và các chất dinh dưỡng thì khuấy đều rồi để yên trong khoảng 2÷4h để cho các tạp chất lắng xuống.

Nếu rỉ đường bị nhiễm khuẩn nặng phải kết hợp dùng hơi nhiệt để nâng nhiệt lên $90÷100^0C$. Việc nâng nhiệt độ rỉ đường sẽ nâng cao hiệu quả xử lý rỉ đường vì ngoài tác dụng sát trùng còn có tác dụng làm cho các chất kết tủa lắng nhanh, làm chuyển hoá một lượng đáng kể đường saccharose.

* Pha loãng đến nồng độ yêu cầu: Tuỳ theo phương pháp lên men một nồng độ hay nhiều nồng độ mà chúng ta pha loãng rỉ đường thành dịch rỉ đường có nồng độ khác nhau. Lên men một nồng độ: Dịch rỉ đường để nhân men và để lên men có cùng nồng độ $10÷12^0Bx$ hoặc $12÷14^0Bx$. Lên men nhiều nồng độ: Pha loãng dịch rỉ đường đến $12÷14^0Bx$ để nuôi cấy nấm men và nồng độ cao hơn để lên men: $16÷18^0Bx$, $20÷22^0Bx$, $30÷35^0Bx$.

c) Tính toán pha loãng rỉ đường

* Phương pháp đại số

Nếu gọi P: Khối lượng rỉ đường ban đầu, kg.

N_1: Nồng độ của rỉ đường ban đầu, Bx.

N_2: Nồng độ yêu cầu cần pha loãng, Bx.

W: Lượng nước cần thêm vào để tạo hạ N_1 đến N_2, kg.

Khi đó, do khối lượng chất khô trong rỉ đường trước khi pha nước vào và sau khi pha nước là không đổi, nên

$$P.N_1 = (P+W).N_1 \quad (6.1), \quad hay \quad W = \frac{P.(N_1 - N_2)}{N_2} \quad (6.2)$$

Áp dụng: Tính lượng nước cần cho vào 600 kg rỉ đường, nồng độ 80^0Bx để được dịch rỉ đường có nồng độ 50^0Bx.

Giải: W = 600. (80 - 50)/50 = 360kg.

* Công thức thường gặp trong tính toán pha loãng rỉ đường

Nếu ta gọi: V là thể tích của rỉ đường đã pha loãng, lít.

d là khối lượng riêng rỉ đường đã pha loãng.

Vậy khối lượng của rỉ đường đã pha loãng sẽ là: M = V . d

Ta sẽ có: P + W = V . d (6.3)

Thay (6.3) vào (6.1) ta có: $P . N_1 = V . d . N_2$. (6.4)

$$P = \frac{V.d.N_2}{N_1} \quad (6.5)$$

Lượng nước cần bổ sung: W = V . d - P (6.6)

Áp dụng: Cần có $25m^3$ dịch rỉ đường 16^0Bx (d = 1,028). Xác định lượng rỉ đường

80^0Bx và lượng nước cần dùng.

Giải: P = (25 . 1,028 . 16) / 80 = 5,14 tấn.

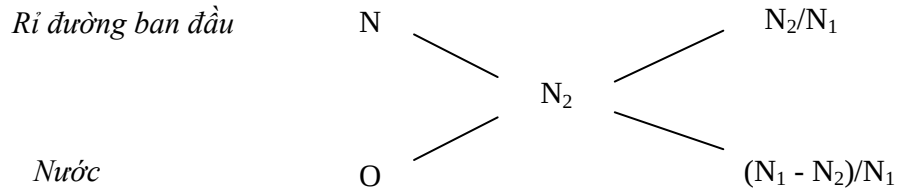
Lượng nước cần dùng : W = V. d - P = 25 . 1,028 - 5,14 = 20,56 tấn.

* Phương pháp đường chéo

Gọi: N_1: nồng độ rỉ đường ban đầu, Bx;

N_2 : nồng độ rỉ đường cần pha, Bx.

Ta sử dụng sơ đồ đường chéo sau để pha loãng:



Trong đó:

N_2/N_1: tỷ lệ rỉ đường cần dùng so với khối lượng dung dịch đã pha.

$(N_1-N_2)/N_1$: tỷ lệ nước cần dùng so với khối lượng dung dịch đã pha.

Áp dụng: Tính lượng nước cần cho vào 600kg rỉ đường, nồng độ 80^0Bx để được dịch rỉ đường có nồng độ 50^0Bx.

Tỷ lệ nước cần dùng: $V_N = (N_1-N_2)/N_1 = (80-50)/50 = 0,6$

Khối lượng nước cần dùng: $M_N = 0,6 \times 600 = 360$kg

2.4.2.3. Lên men

a) Nhân giống nấm men

Nấm men giống thường được chuẩn bị qua 2 giai đoạn: giai đoạn trong phòng thí nghiệm đến 10 lít và giai đoạn trong sản xuất – nhân giống tới số lượng đủ 10÷15% thể tích so với thùng lên men.

Trình tự tiến hành: Giống ống nghiệm thạch nghiêng → Ống nghiệm dịch thể 10ml → Bình tam giác 100ml → Bình cầu 1000ml → Thùng nhân giống 10l → Thùng nhân giống 100l → Thùng nhân giống 1000l → Thùng phát triển lớn (dung tích tương đương 10÷15% thể tích của thùng lên men).

Trong thực tế sản xuất giai đoạn phát triển từ ống nghiệm 10ml → 100ml, có thể sử dụng lại 3÷5 lần mới thay thế giống từ ống nghiệm cố thể. Thậm chí ngay cả giai đoạn phát triển 1000l → thùng phát triển lớn cũng có thể sử dụng lại 2÷3 lần. Yêu cầu đặt ra là phải kiểm tra kỹ tình hình chất lượng và số lượng tế bào nấm men, hiện tượng nhiễm khuẩn. Bằng cách này sẽ rút ngắn được thời gian chuẩn bị nấm men và giảm bớt số lượng thiết bị nuôi cấy.

* Nhân giống trong phòng thí nghiệm: Nhân giống này còn gọi là nuôi cấy nấm men thuần khiết. Môi trường nuôi cấy phải chứa đầy đủ chất dinh dưỡng và được tiệt trùng. Môi trường nuôi cấy giai đoạn này thường dùng dịch đường hóa của malt.

Cách chuẩn bị dịch đường hóa từ malt: Bột malt đại mạch trộn với nước theo tỷ lệ nước/malt là 5/1 rồi khuấy đều, tăng dần nhiệt độ lên đến $48\div52^0$C giữ trong thời gian 20÷30 phút tạo điều kiện cho protease thủy phân protein. Tiếp đó tăng dần nhiệt độ lên đến $60\div63^0$C và giữ trong 30 phút để đường hóa. Có thể bổ sung chế phẩm enzyme đường hóa để tăng tốc độ đường hóa và tạo ra một lượng glucose trong dịch đường. Đường hóa xong thì nâng nhiệt độ lên $70\div75^0$C cho tới khi đường hóa hoàn toàn. Đường hóa xong đem lọc, dùng nước và acid để điều chỉnh nồng độ dịch đường

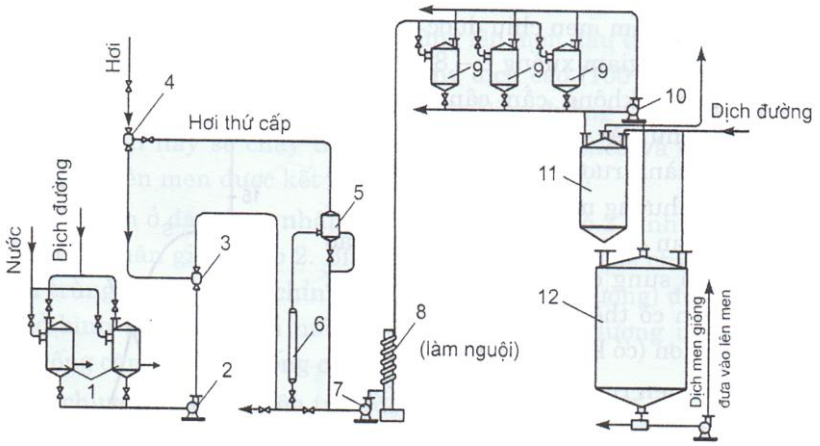
cho đạt 12÷14%, pH = 4,5÷5,0. Sau khi điều chỉnh đạt yêu cầu, phân phối dịch đường vào ống nghiệm và bình tam giác. Dùng bông không thấm nước để nút các ống nghiệm và các bình lại rồi đem hấp tiệt trùng ở áp suất dư là 0,5÷0,7kG/cm^2 trong 30 phút.

Đối với môi trường nuôi cấy 10 lít có thể lấy dịch đường hóa trong sản xuất, lọc bỏ bã thô rồi tiệt trùng như trên. Yêu cầu nồng độ đường trong dịch nuôi cấy nấm men phải đạt trên 60g/l.

Nếu chuẩn bị môi trường thạch để giữ giống thì tiến hành như sau: Lấy 500ml dịch đường hóa của malt sau khi đã điều chỉnh (nồng độ 12÷12,5^{0}Bx, pH 4,5÷5) trộn đều với 100g khoai tây đã luộc chín, bóc vỏ, nghiền nhỏ, lọc. Cho vào 10g thạch, phân phối vào các ống nghiệm, đậy nút bông và hấp thanh trùng ở 120^{0}C, thời gian 30 phút. Đặt ống nghiệm nằm nghiêng. Khi nguội môi trường đóng rắn lại ta được môi trường thạch nghiêng.

Khi đã có men giống và đã chuẩn bị môi trường xong, ta bắt đầu tiến hành giai đoạn cấy truyền nấm men giống từ môi trường thạch nghiêng sang môi trường dịch thể 10ml. Sau đó chuyển ống nghiệm đã cấy men vào trong tủ ấm, duy trì nhiệt độ từ 28÷32^{0}C và giữ trong thời gian 20÷24h. Sau thời gian đó chuyển nấm men từ ống nghiệm 10ml sang bình tam giác 100ml đã có môi trường chuẩn bị sẵn và nuôi trong thời gian 12h. Sau đó lại chuyển nấm men từ môi trường 100ml sang bình nuôi cấy 1000ml cũng đã chứa môi trường dinh dưỡng đã được chuẩn bị từ trước, thời gian nuôi cấy 12h. Tiếp tục, chuyển sang nuôi cấy ở bình 10 lít, sau 10÷12h chuyển sang nuôi cấy ở các thiết bị lớn hơn.

* Nhân giống trong sản xuất: Môi trường dùng để nhân giống trong sản xuất không có gì đặc biệt, thường lấy trực tiếp dịch lên men. Nhân giống có thể tiến hành gián đoạn, bán liên tục hoặc liên tục. Cách tiến hành nhân giống liên tục từ dịch đường hóa được thể hiện ở hình 6.21.



Hình 6.21. Sơ đồ dây chuyền nuôi cấy nấm men liên tục

1. Thùng chứa dịch đường; 2, 7, 10. Bơm; 3,4. Thiết bị gia nhiệt; 5. Máy phân ly tách hơi thứ; 6. Bình chứa dịch đường; 8. Thiết bị làm nguội; 9,11,12. Nhân giống cấp 1, 2, 3

Thuyết minh hệ thống: Quá trình nhân giống liên tục tiến hành 3 cấp: cấp 1 ở bình số 9, cấp 2 ở bình số 11, cấp 3 ở bình số 12. Các bình 1 chứa chứa dịch đường và cân bằng dinh dưỡng được nâng nhiệt bằng hơi đến 75-78^{0}C, giữ 30 phút để thanh trùng rồi đưa sang bình 6 nhờ bơm 2, chuyển qua máy ly tâm tách hơi thứ 5, hơi thứ cấp được đưa về thiết bị 4. Nhờ bơm 7 bơm dịch qua thiết bị làm nguội 8 làm nguội về thiết bị nhân giống cấp 1 ở các bình 9. Bình 11 nhận dịch đường từ đường ống chính và dịch giống từ bình 9. Bình 12 nhận dịch đường từ đường ống chính và dịch giống từ

bình 11. Thời gian nhân giống cấp 1, 2, 3 là 16, 12, 8 giờ và lượng giống chuyển tiếp là 10, 20 và 30% lượng giống đã hoàn thành nuôi ở mỗi cấp. Sau một thời gian ngắn nuôi ban đầu sẽ hình thành dòng dịch và giống vào các bình nuôi 9,11, 12 và lượng men giống ra từ bình 12 đều đặn để đưa vào các thùng lên men. Số lượng tế bào nấm men trong dòng chuyển giữ ở mức 80-90 triệu tế bào.

Chất lượng men giống được coi là bình thường nếu như thỏa mãn các điều kiện như:

- Mật độ tế bào 100÷120 triệu/ml;
- Số tế bào nẩy chồi chiếm 10÷15%;
- Số tế bào chết không quá 5%;
- Độ chua dịch men giống tăng không quá $0,1^o$ so với độ chua của dịch đường trước khi gây men;
- Mức độ nhiễm khuẩn không quá 1 con trong kính trường có độ phóng đại 400 lần.

Khi mức nhiễm khuẩn vượt quá giới hạn cho phép ta phải thay men giống bằng cách gây men từ bình 10l vào thùng (1). Trường hợp men giống bị nhiễm ít nhưng chưa chuẩn bị kịp giống ở giai đoạn của giai đoạn trước thì có thể xử lý như sau: dùng acid sulfuric đặc pha loãng 8÷10 lần cho vào dịch nấm men cho đến khi pH của dịch đạt đến 2,8÷3,0 và giữ trong 1÷2h để cho tạp khuẩn và các tế bào nấm men yếu sẽ chết. Tiếp đó dùng Na_2CO_3 điều chỉnh pH lên lại 4,5÷5,0 làm giống cho các thùng lên men nhưng phải tăng số lượng lên 15÷20% so với bình thường.

b) Lên men rượu

Lên men rượu bởi nấm men thuộc loại lên men kỵ khí, sản phẩm chủ yếu là ethanol, nên thường được gọi là rượu hoá hay ethanol hoá.

Lên men rượu là giai đoạn quan trọng nhất trong quá trình sản xuất rượu, dịch lên men sau khi tiến hành quá trình lên men xong gọi là dịch lên men kết thúc hay còn gọi là dấm chín. Gọi dấm chín là vì trong dịch lên men kết thúc, hàm lượng athanol trong dịch 6÷10% thích hợp cho quá trình lên men acid acetic (dấm).

* Cơ sở lý thuyết của quá trình lên men rượu: Quá trình lên men rượu là quá trình biến đổi đường dưới tác dụng của các hệ enzyme khác nhau để tạo thành một loạt chất trung gian trong đó, giai đoạn trung gian quan trọng là biến thành acid piruvic (CH_3-CO-COOH). Từ acid piruvic trong điều kiện thiếu CO_2 sẽ hình thành nên ethanol và một số sản phẩm khác tuỳ theo điều kiện lên men. Quá trình men rượu bình thường xảy ra theo phương trình sau:

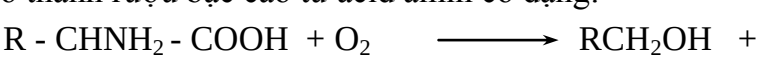
$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{zymase} CH_3CH_2OH + 2CO_2 + 28,2\ Kcal.$$

- Sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian quá trình lên men rượu: Trong quá trình lên men, ngoài sản phẩm chính là rượu và CO_2, còn tạo ra nhiều chất khác. Bằng phân tích sắc ký khí người ta phát hiện trên 50 chất khác nhau, có thể xếp thành 4 nhóm chính: acid, ester, aldehyt và rượu cao phân tử.

+ Sự tạo thành acid: Trong quá trình lên men rượu luôn tạo ra các acid hữu cơ bao gồm: acid acetic, lactic, citric và succinic nhưng nhiều hơn cả là acid acetic và lactic.

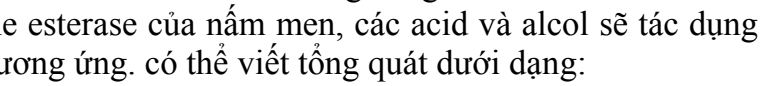
+ Sự tạo thành aldehyd và rượu cao phân tử: Rượu cao phân tử là các rượu có số nguyên tử C trong phân tử lớn hơn 2, là những sản phẩm phụ quan trọng của quá trình

lên men rượu. Còn aldehyd là sản phẩm trung gian của quá trình lên men rượu. Rượu bậc cao tuy trong dịch lên men ít, khoảng 0,1÷0,5% nhưng nếu vào rượu sản phẩm thì sẽ ảnh hưởng xấu đến mùi vị sản phẩm. Hỗn hợp rượu bậc cao có tên gọi chung là dầu fusel, còn gọi là dầu khét, có mùi rất khó chịu, kém tan trong nước. Nguồn gốc tạo thành rượu bậc cao là do các acid amin có sẵn trong môi trường hoặc do phản ứng thuỷ phân protein, polypeptid khi nấm men thoái hoá, tự phân huỷ. Phương trình tổng quát tạo thành rượu bậc cao từ acid amin có dạng:



$$R - CHNH_2 - COOH + O_2 \longrightarrow RCH_2OH + NH_3 + CO_2.$$

+ Sự tạo thành ester: Song song với việc tạo ra acid và alcol, dưới tác dụng của enzyme esterase của nấm men, các acid và alcol sẽ tác dụng lẫn nhau để tạo ra những ester tương ứng. có thể viết tổng quát dưới dạng:



$$R_1CH_2OH + R_2COOH \longrightarrow R_2COO\text{-}CH_2R_1 + H_2O$$

Kết quả thu được trong phòng thí nghiệm cũng như trong sản xuất cho thấy rằng lượng sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian tạo thành trong quá trình lên men phụ thuộc vào nhiều yếu tố. Chúng thay đổi theo nhiệt độ, pH, mức độ sục khí cũng như chủng nấm men và cả nguồn nguyên liệu.

* Các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình lên men: Quá trình lên men rượu dưới tác dụng của nấm men chịu ảnh hưởng của các yếu tố như: nhiệt độ, pH, nồng độ dịch lên men…

- Nhiệt độ: Nhiệt độ thích hợp cho nấm men *Sacharomyces* phát triển là 28÷32^{0}C nhưng nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men là khoảng 20^{0}C. Vì vậy khi lên men dịch đường, nếu có điều kiện thì nên tiến hành ở 20^{0}C. Ở nhiệt độ này thì hoạt độ của nấm men cao, đồng thời còn hạn chế được sự phát triển của tạp khuẩn, sau 8÷10h lên men thì nhiệt độ của dịch lên men sẽ tăng dần lên và đạt 28÷30^{0}C, tiếp đó cần vận hành hệ thống cấp lạnh để duy trì ổn định nhiệt độ lên men. Nhiệt độ lên men cao thì hoạt lực của nấm men giảm nhanh, tạp khuẩn và nấm men dại phát triển thuận lợi; khi đó tốc độ phát triển của nấm men dại có thể cao hơn của nấm men giống nhiều lần. Ở 30^{0}C thì men dại phát triển nhanh hơn *Sacharomyces* từ 2÷3 lần, ở 38^{0}C thì phát triển nhanh 6÷8 lần, men dại còn lên men được ở nhiệt độ 42÷45^{0}C, ở 60÷65^{0}C vẫn còn nhiều men dại sống sót. Lên men ở nhiệt độ cao cũng tạo ra nhiều ester, aldehyde.

- pH: Mỗi loại vi sinh vật chỉ có thể hoạt động tốt trong vùng pH nhất định. Nấm men có thể phát triển trong môi trường pH 2÷8, phát triển mạnh nhất khi pH 4,5÷5. Vi khuẩn bắt đầu phát triển ở pH cao hơn 4,2. Do vậy khi môi trường có pH thấp hơn 4,2 thì chỉ có nấm men phát triển. Dựa vào điều kiện này, người ta điều chỉnh pH môi trường có pH = 3,8÷4,0 khi nuôi cấy hoặc lên men để ngăn ngừa sự phát triển của vi khuẩn, tuy rằng ở pH này nấm men phát triển chậm hơn so với khi pH = 4,5÷5,0. Đối với dịch đường thuỷ phân từ nguyên liệu tinh bột thì pH nên ở 4,3÷5,2 để amylase tiếp tục quá trình thuỷ phân. Để điều chỉnh pH thì có thể dùng một trong các loại acid như: acid lactic, acid sulfuric, acid phosphoric. Trong quá trình lên men rượu, không nên để pH ở mức cao. pH càng cao thì glycerin và acid tạo ra càng nhiều, làm giảm hiệu suất lên men, môi trường dễ bị nhiễm tạp khuẩn. Khi pH từ 4÷4,2 thì nấm men vẫn phát triển và lên được nhưng phần lớn vi khuẩn bị vô hoạt.

- Nồng độ dịch lên men: Nồng độ chất khô của dịch lên men cần khống chế trong khoảng 16÷18%, tương đương khoảng 13÷15% đường, để khi lên men đạt được nồng độ rượu trong giấm chín 8,5÷9,5% thể tích. Không nên lên men với nồng độ dịch lên men quá cao (trên 22%) vì áp suất thẩm thấu lớn làm mất cân bằng sinh lý nấm men;

Cũng không nên lên men với nồng độ dịch lên men thấp vì hàm lượng rượu tạo ra trong giấm chín sẽ ít, dẫn đến giảm năng suất thiết bị, đồng thời tốn nhiều nhiệt khi chưng cất. ethanoltạo thành khi lên men làm ức chế khả năng sinh trưởng và phát triển của nấm men.

- Chất sát trùng: Trong điều kiện sản xuất, rất khó đảm bảo yêu cầu vô trùng. Vì vậy, để ngăn ngừa và hạn chế sự xâm nhập và phát triển của các vi sinh vật lạ cần phải dùng các chất sát trùng. Hiện nay trong sản xuất người ta thường dùng hai loại hoá chất để ngăn ngừa vi sinh vật lạ phát triển trong rượu đó là: formol và fluoro silicat natri. Yêu cầu đối với hoá chất là phải hạn chế sự phát triển của vi sinh vật lạ, nhưng không ảnh hưởng xấu đến sự hoạt động của nấm men nuôi cấy. Vì vậy chúng ta cần điều chỉnh nồng độ hợp lý, nồng độ các chất sát trùng từ 0,02÷0,025%.

- Nguồn nitơ bổ sung: Ở nước ta ethanol được sản xuất chủ yếu từ sắn. Do trong sắn chứa ít protein nên lượng nitơ trong dịch đường không đảm bảo cho sự phát triển của nấm men. Vì vậy cần phải bổ sung nitơ. Theo kết quả nghiên cứu nếu bổ sung urea với hàm lượng 30mg/100ml cho phép rút ngắn thời gian lên men 84h xuống 60h, đồng thời hiệu quả lên men cao hơn. Nguồn nitơ bổ sung tốt nhất là urea.

* Các phương pháp lên men

- *Lên men rượu từ dịch đường hóa tinh bột:* Quá trình lên men rượu từ dịch đường hóa tinh bột có thể tiến hành gián đoạn hoặc liên tục.

+ *Lên men gián đoạn:* Đặc điểm các giai đoạn lên men đều diễn ra trong cùng một thiết bị lên men (thùng lên men). Đầu tiên kiểm tra kỹ toàn bộ thiết bị lên men và các bộ phận phụ trợ sau đó vệ sinh thiết bị bằng nước sạch và sát trùng thiết bị lên men bằng hơi nước bão hòa.

Cho lượng dịch men giống đã nuôi cấy ở giai đoạn gây men sản xuất vào thùng lên men. Lượng dịch men giống chiếm khoảng 10% thể tích thùng lên men. Có thể cho dịch men giống vào đồng thời với dịch đường hóa. Thể tích dịch lên men trong thùng chiếm 80÷90% thể tích thùng lên men. Tiến hành theo dõi nhiệt độ lên men và cứ sau 6÷8h thì lấy mẫu một lần để kiểm tra các chỉ tiêu như: nồng độ dịch lên men, độ acid, chất lượng nấm men,…

Sau khoảng 8÷10h lên men, giai đoạn lên men đầu kết thúc, giai đoạn lên men chính bắt đầu xảy ra thì tiến hành mở nước làm nguội để khống chế nhiệt độ lên men trong khoảng 30÷32^{0}C. Lưu lượng nước làm nguội tăng lên dần theo thời gian lên men chính. Ở nước ta, về mùa hè nhiệt độ trong thùng lên men có khi lên đến 36÷37^{0}C, điều này ảnh hưởng không tốt tới hiệu suất lên men. Trong bất kỳ trường hợp nào cũng không để nhiệt độ lên men đến 39^{0}C.

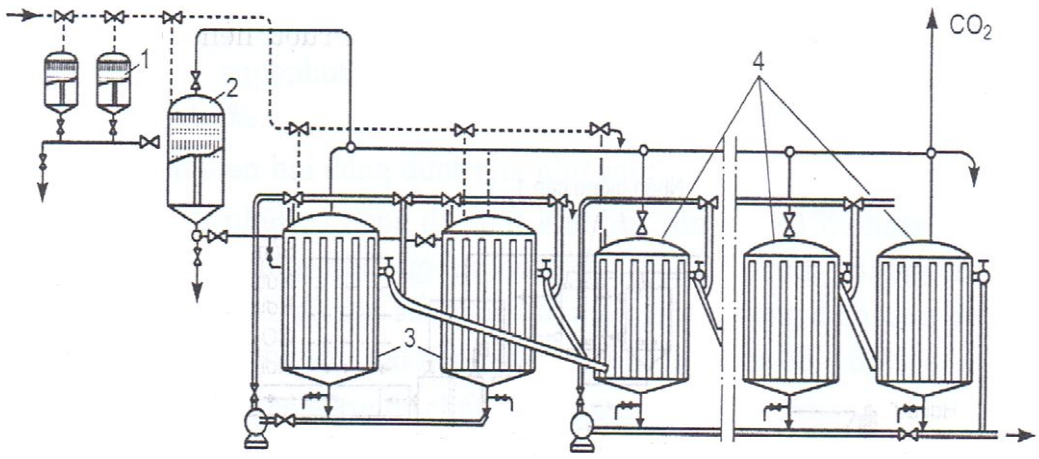
Khi đo độ acid, nếu lượng acid tăng thêm không quá 0,8g H_2SO_4/lít thì xem như quá trình lên men bình thường. Nếu pH giảm đột ngột hoặc lượng acid tăng quá 0,8g H_2SO_4/l thì có khả năng bị nhiễm khuẩn, cần kiểm tra vi sinh vật và xử lý ngay như sau: Chia dịch lên men của thùng bị nhiễm khuẩn sang các thùng lên men gần kết thúc và lên men mạnh. Nếu nhiễm khuẩn nhiều thì có thể dùng acid để điều chỉnh pH = 4,0÷4,2 để 1÷2h rồi mới cho sang các thùng lên men gần kết thúc. Đối với các thùng mới lên men thì nâng nhiệt lên sát trùng rồi tiếp thêm dịch men giống vào.

Kết thúc quá trình lên men: Lên men được coi là kết thúc nếu sau hai lần kiểm tra lên tiếp (cách nhau 6÷8h) nồng độ dịch lên men không giảm hoặc chỉ giảm 0,1÷0,2%. Thời gian lên men vào khoảng 68÷80h. Sản phẩm thu được sau khi kết thúc quá trình lên men gọi là dấm chín.

Phương pháp này có ưu điểm: thiết bị có thể chế tạo trong nước dễ vận hành, xử lý nhiễm trùng dễ dàng và phù hợp với điều kiện khí hậu việt Nam. Tuy nhiên nó có nhược điểm: năng suất không cao, tốn nhiều thiết bị, hiệu suất lên men thấp, chất lượng lên men không ổn định, khó cơ giới hoá và tự động hoá. Vì vậy phương pháp lên men gian đoạn hiện nay ít được sử dụng.

+ *Lên men liên tục:* Lên men liên tục có đặc điểm: Các giai đoạn lên men rải đều trong các thiết bị lên men có liên hệ với nhau. Hệ thống lên men liên tục thường có 11÷12 thùng, các thùng được nối với nhau bằng các ống chảy chuyền có đường kính 15÷20cm, có van điều chỉnh. Thể tích thùng lên men phụ thuộc vào năng suất nhà máy. Thùng phát triển nấm men nhỏ có thể tích bằng 1/4 thùng lên men giống. Còn thể tích thùng lớn thì có thể tích bằng 35÷40% thể tích của thùng lên men đầu dây. Trên mỗi thiết bị và hệ thống ống dẫn đều có ống nước sạch và ống dẫn hơi, để tạo điều kiện thuận lợi cho việc vệ sinh, sát trùng. Trong thiết bị lên men có ống xoắn ruột gà để làm nguội dịch lên men khi cần.

Sơ đồ hệ thống lên men liên tục được trình bày ở hình 6.22.



Hình 6.22. Hệ thống lên men liên tục

1. Thùng phát triển men nhỏ; 2. Thùng phát triển men lớn; 3. Thùng lên men đầu dây; 4. Thùng lên men tiếp tục; 5. Bơm chuyển thùng đầu dây; 6. Bơm chuyển thùng lên men tiếp tục; 7. Thiết bị thu hồi ethanol trong CO2

Quá trình thực hiện: Sau khi tiến trình vệ sinh và sát trùng kỷ hệ thống thiết bị thì ta cho nấm men giống ở thùng phát triển lớn xuống thùng lên men đầu dây, rồi bơm tiếp dịch đường cho đến đầu thùng đến dây có thể thực hiện một trong 2 cách:

Cách 1: Chia đôi dịch lên men từ thùng 3a đến 3b. Sau đó đun tiếp dịch rỉ đường vào đồng thời cho cả hai thùng cho dến khi đầy. Khi thùng 3b đầy thì mở van đường ống chảy chuyền cho dịch lên men tự chảy sang thùng lên men (4), đồng thời mở van ống chảy tràn từ thùng 3a sang 3b, tiếp tục bơm đều đặn dịch đường vào cả hai thùng, như vậy coi như có 2 thùng phát triển nấm men và lên men chính. Dịch lên men cứ tiếp tục chảy tràn từ thùng 4 (1) sang 4 (2) và cứ thế đến cuối cùng thì kết thúc. Sau quá trình lên men giấm chín chuyển sang bộ phận chưng cất, tính toán sao cho thùng lên men cuối cùng vừa đầy cũng vừa đủ thời gian lên men.

Sau 36÷40h kể từ khi chuyển nấm men giống vào thùng 3a thì tiến hành vệ sinh, sát trùng thiết bị lên men theo trình tự (gọi là chế độ "vệ sinh sát trùng định kỳ").

Cách tiến hành vệ sinh sát trùng định kỳ: Dùng bơm 5 chuyển hết dịch nấm men từ 3a sang 3b và cả thùng 4(1) khi cần, trong lúc đó dịch rỉ đường chỉ bơm vào thùng

3b. Sau khi chuyển hết dịch lên men 3a thì ta vệ sinh và sát trùng thùng này bằng hơi nước bão hoà. Sau đó thùng 3a có thể bắt đầu cho chu kỳ mới, trong khi lập lại chu kỳ mới thùng 3a thì tiến hành bơm dịch thùng 3b qua thùng 4(1), không bơm dịch rỉ đường vào thùng 3b nữa mà chỉ bơm thùng 3a. Khi thùng 3b hết dịch, vệ sinh sát trùng, sau đó sẵn sàng tiếp nhận dịch từ thùng 3a chuyển sang, cứ như vậy ta vệ sinh sát trùng các thùng lên men cuối.

Như vậy sau 36÷40h toàn bộ hệ thống thiết bị lên men lần lượt được vệ sinh sát trùng, nhờ đó ngăn ngừa được hiện tượng nhiễm khuẩn trong quá trình lên men.

Cách 2: Khi thùng 3a đầy, mở van ống chảy chuyền từ thùng 3a sang thùng 4(1) không qua thùng 3b. Khi thùng 4(1) đầy thì mở van ống chảy chuyền sang thùng 4(2), cứ thế cho đến thùng cuối cùng thì kết thúc quá trình lên men, dịch đường chỉ bơm vào thùng 3a, còn thùng 3b đóng vai trò dự trữ.

Sau 36÷40h kể từ khi thùng 3a bắt đầu sử dụng thì tiến hành lập lại chu kỳ mới ở thùng 3b. Cách lập: Tiến hàng bơm dịch lên men ở thùng 3a sang 4(1), khi dịch trong thùng 3a chuyển hết thì làm vệ sinh sát trùng thùng 3a chuẩn bị cho chu kỳ mới, đối với các thùng lên men 4(2), 4(2) thì ta tiến hành tương tự.

Ưu điểm của lên men liên tục là: Hệ số sử dụng thiết bị cao nên với cùng một năng suất như nhau thì số thiết bị trong dây chuyền lên men liên tục ít hơn so với lên men gián đoạn hay bán liên tục. Hiệu suất lên men ổn định và hiệu suất tổng thu hồi cao. Tiêu hao hơi nhiệt để vệ sinh, sát trùng và làm nguội ít. Tuy nhiên có nhược điểm dễ bị nhiễm khuẩn hàng loại do các thiết bị lên men liên hệ với nhau và yêu cầu tổ chức sản xuất trình độ cao.

- *Lên men rượu từ dịch rỉ đường:* có thể tiến hành lên men gián đoạn hoặc liên tục như liên men từ dịch thủy phân tinh bột. Tuy nhiên phương pháp lên men gián đoạn dịch rỉ đường có thể tiến hành lên men một nồng độ hoặc lên men hai nồng độ hoặc lên men hai nồng độ phân cắt thành 2 thùng lên men.

+ *Lên men gián đoạn một nồng độ:* Cho một lượng dịch nấm men với tỷ lệ 10÷15% so với thể tích thùng lên men vào thùng rồi từ từ cho dịch rỉ đường đã xử lý và pha loãng đến nồng độ 16÷19^{0}Bx vào. Khống chế tốc độ dịch rỉ đường vào thùng lên men sao cho sau 5÷6h thì đầy. Mở van khí nén để sục khí cho môi trường lên men trong khoảng thời gian 6÷12h, nếu thiết bị lên men không có hệ thống khí nén thì dùng phương pháp khuấy trộn. Tiếp đó để lên men trong khoảng thời gian 40÷48h. Trong thời gian lên men cần lấy mẫu kiểm tra kiểm tra nồng độ dịch lên men, độ chua và vi sinh vật.

Cứ sau 2 giờ thì lấy mẫu kiểm tra một lần. Theo dõi nhiệt độ, mở nước làm nguội duy trì nhiệt độ dịch lên men ở 30÷32^{0}C. Quá trình lên men kết thúc khi sau 2 lần đo nồng độ dịch lên men thấy nồng độ không giảm thì coi như lên men đã kết thúc. Trong điều kiện lên men bình thường, sau khi kết thúc lên men nồng độ lên men vào khoảng 4÷6^{0}Bx, nồng độ rượu vào khoảng 7,5÷8,5%V, hàm lượng đường 15÷20g/l, hàm lượng acid khoảng 1,96÷2,45g/l.

+ *Lên men gián đoạn hai nồng độ:* Sau khi chuẩn bị thùng lên men thì cho 10÷15% dịch nấm men vào thùng và chuyển dịch rỉ đường 12÷14^{0}Bx vào với tốc độ sao cho sau 3 giờ thì đầy 50% thùng lên men. Tiếp đó cho rỉ đường nồng độ 30÷35^{0}Bx vào với tốc độ sao cho sau 3÷4h thì đầy thùng.

Trong thời gian lên men thường xuyên theo dõi tình hình lên men để kịp thời phát hiện những hiện tượng không bình thường trong quá trình lên men: nhiễm khuẩn,

chất lượng nấm men giảm đột ngột, lên men chậm; theo dõi nhiệt độ, duy trì nhiệt độ của dịch lên men $30 \div 32^0$C.

Cứ 2 giờ lấy mẫu kiểm tra 1 lần. Nếu 2 lần kiểm tra mà nồng độ dịch lên men không đổi thì coi như quá trình lên men kết thúc, chuyển giấm chín đến bộ phận chưng cất.

+ *Lên men gián đoạn hai nồng độ phân cắt thành 2 thùng lên men:* Cho dịch men giống vào thùng, lượng dịch nấm men khoảng 30% so với thể tích của thùng. Cho dịch rỉ đường nồng độ $12 \div 14^0$Bx vào, lượng dịch rỉ đường chiếm khoảng 40% thể tích thùng lên men rồi trộn đều bằng khí nén hoặc bằng cánh khuấy, sau đó ta để yên, đo nồng độ dịch lên men.

Cách 2 giờ thì đo nồng độ 1 lần, khi thấy nồng độ dịch lên men giảm 9^0Bx thì ta chuyển bớt sang thùng thứ 2 một lượng dịch lên men bằng 30% thể tích thùng, như vậy lượng dịch lên men trong thùng 1 còn 40% thể tích thùng, thùng 2 có lượng dịch lên men 30% thể tích thùng, tiếp đó ta bơm vào thùng 1 lượng dịch rỉ đường $12 \div 14^0$Bx khoảng 20% thể tích thùng và bơm vào thùng thứ 2 khoảng lượng dịch rỉ đường $12 \div 14^0$Bx khoảng 30% thể tích thùng. Như vậy lượng dịch lên men trong cả hai thùng lúc này đều 60% so với thể tích thùng.

Kiểm tra nhiệt độ và nồng độ dịch lên men trong các thùng, khống chế nhiệt độ trong thùng vào khoảng $30 \div 32^0$C. Khi thấy nồng độ dịch nấm men trong thùng còn 9^0Bx thì bơm dịch đường đặc $30 \div 35^0$Bx vào cho tới khi đầy thùng theo quy định.

Sau khi chuyển hết dịch rỉ đường vào thì tiến hành đo nồng độ cứ 2 giờ đo 1 lần, khi thấy kết quả 2 lần đo không thay đổi thì kết thúc quá trình lên men.

+ *Lên men liên tục* (tương tự như lên men liên tục từ dịch đường hóa tinh bột)

2.4.2.4. Chưng cất và tinh chế ethanol

Chưng cất là quá trình tách ethanol và các tạp chất dễ bay hơi khỏi dấm chín. Kết quả ta nhận được ethanol thô hay cồn thô. Tinh chế là quá trình tách tạp chất khỏi ethanol thô và nâng cao nồng độ ethanol. Sản phẩm thu được gọi là ethanol tinh chế có nồng độ trong khoảng 95,5÷96,5%V.

a) Chưng cất ethanol

* Cơ sở lý thuyết về chưng cất ethanol

Dấm chín bao gồm các chất dễ bay hơi như: ethanol, ester, aldehyd và một số alcohol có số carbon > 2, các alcohol này hay gọi là rượu bậc cao hay dầu fusel, dầu khét. Ngoài các chất kể trên, trong dấm chín còn chứa tinh bột, dextrin, protid, acid hữu cơ và chất khoáng. Tuy là hỗn hợp nhiều cấu tử nhưng trong thành phần của dấm chín chứa chủ yếu là ethanolvà nước, vì thế khi nghiên cứu người ta xem dấm chín như hỗn hợp hai cấu tử.

Khi nghiên cứu về chưng cất hỗn hợp rượu-nước, Conovalov và Vrepski đưa ra các định luật sau:

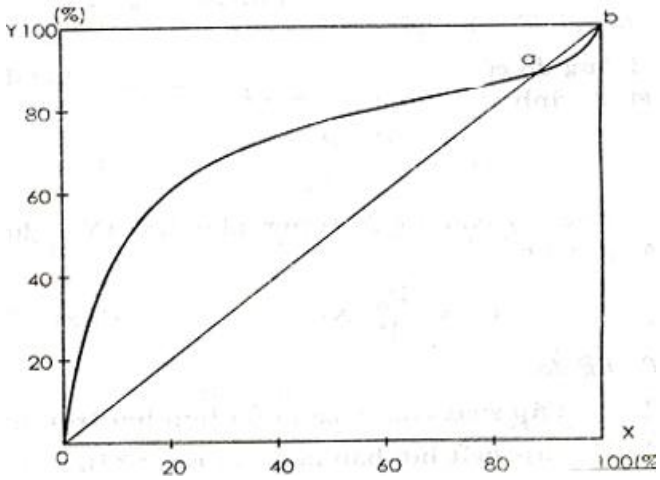
Định luật 1: thiết lập quan hệ giữa thành phần pha lỏng và pha hơi. Ở trạng thái cân bằng chất lỏng, cấu tử dễ bay hơi trong thể hơi luôn luôn nhiều hơn trong thể lỏng. Nếu ta thêm cấu tử dễ bay hơi vào trong dung dịch thì điều đó sẽ dẫn đến làm tăng độ bay hơi của hỗn hợp, nghĩa là làm giảm nhiệt độ sôi của dung dịch ở áp suất đã cho. Tuy nhiên, độ bay hơi của hỗn hợp chỉ tăng theo nồng độ rượu trong pha lỏng tới C%. Sau đó nếu tiếp tục thêm rượu vào pha lỏng thì độ bay hơi không tăng nữa mà sẽ giảm đi.

Như vậy định luật I chỉ đúng trong khoảng 0%÷C%. Trong khoảng từ C%÷100% nồng độ rượu trong pha hơi lại nhỏ hơn trong pha lỏng. Điểm a nằm trên đường cong áp suất hơi bão hòa gọi là điểm cực đại - ứng với nồng độ rượu là 95,57% khối lượng (97,2% thể tích; 89,41% phân tử).

Định luật II: Trên đường cong áp suất hơi bão hòa, a là điểm sôi chung của hỗn hợp rượu - nước, tại đó thành phần rượu trong pha hơi và pha lỏng bằng nhau. C là nồng độ của hỗn hợp đẳng phí khi chưng cất của áp suất thường (p = 760mmHg) hỗn hợp này có nhiệt độ sôi 78,15^{0}C. Nồng độ rượu bằng 97,2%V. Như vậy chưng cất và tinh chế ở áp suất khí quyển, chỉ có thể nhận được ethanol có nồng độ ≤ 97,2%V.

Hỗn hợp rượu - nước khi sôi, ở trạng thái cân bằng pha, thì mỗi thành phần ở pha lỏng nhất định sẽ cho tương ứng một thành phần pha hơi nhất định và có một nhiệt độ sôi nhất định.

Dựa vào sự cân bằng thành phần rượu ở thể hơi và thể lỏng, người ta vẽ được đồ thị biểu diễn sự cân bằng pha thể hiện hình 6.23.



Hình 6.23. Đường cân bằng lỏng - hơi của hệ 2 cấu tử rượu - nước

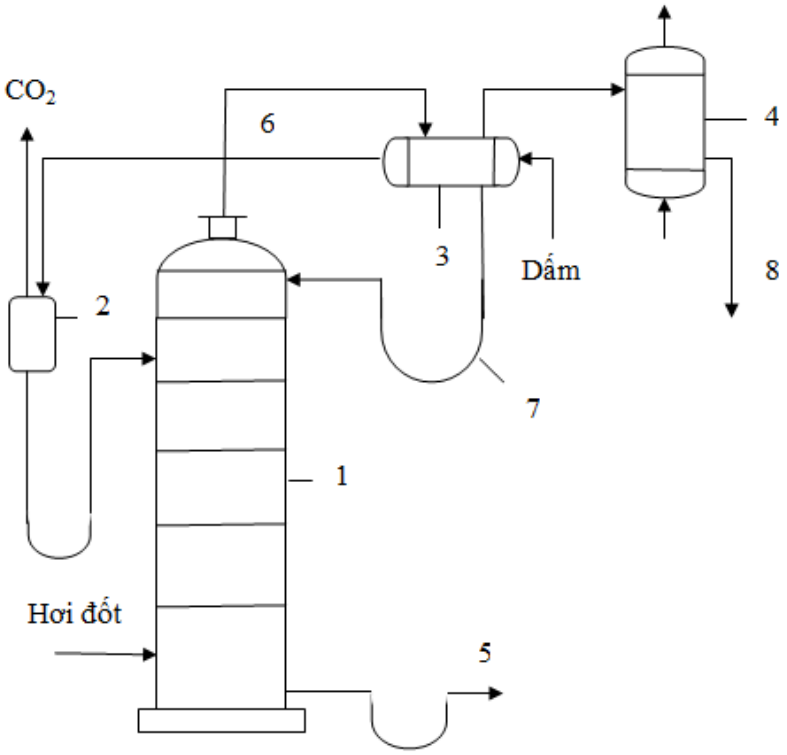
Xét đồ thị T-X-Y (nhiệt độ-thành phần pha hơi-thành phần pha lỏng) của hỗn hợp 2 cấu tử có nhiệt độ sôi khác nhau.

Xét một dung dịch S có cấu tử dễ bay hơi là x_s. Ta nâng nhiệt độ của dung dịch đến nhiệt độ T_1, lúc này dung dịch sẽ phân thành 2 pha: lỏng và hơi. Trong pha lỏng, cấu tử có nồng độ X_1, trong pha hơi nồng độ cấu tử dễ bay hơi cân bằng vơi pha lỏng là Y_1 ($Y_1 > X_1$).

Nếu nhiệt độ của pha hơi hạ xuống T_2 thì một phần hơi được ngưng tụ lại. Pha lỏng có nồng độ cấu tử dễ bay hơi là $X_2 > X_1$ còn pha hơi có nồng độ cân bằng với pha lỏng lúc này là $Y_2 > Y_1$. Tiếp tục hạ nhiệt độ của pha hơi thì một phần hơi ngưng tụ thành lỏng. Nồng độ cấu tử dễ bay hơi trong pha lỏng là $X_3 > X_2$ còn pha hơi có nồng độ cấu tử dễ bay hơi là $Y_3 > Y_2$. Cứ tiếp tục như vậy thì dần dần trong pha hơi lượng cấu tử dễ bay hơi càng tăng và đến lúc nào đó, trong pha hơi hầu như chỉ có cấu tử dễ bay hơi nguyên chất.

* Quá trình chưng cất dấm chín: Dấm chín là một hỗn hợp rất phức tạp, gồm nhiều thành phần, trong đó có chất rắn lơ lửng không hòa tan, chất hòa tan, rượu, nước và các tạp chất bay hơi khác. Thành phần các chất trong dấm chín thay đổi rất nhiều, phụ thuộc vào nguyên liệu sản xuất, quá trình công nghệ. Hàm lượng ethanoltrong dấm chín dao động trong khoảng khá lớn, từ 6÷10%V. Quá trình chưng cất dấm chín

được thực hiện theo sơ đồ hình 6.24.



Hình 6.24. Sơ đồ hệ thống chưng cất ethanol

A. Tháp thô; B. Bộ tách CO_2; C. Thiết bị gia nhiệt hồi lưu; D. Thiết bị ngưng tụ-làm lạnh

1. Ống dẫn dấm chín; 2. Ống dẫn hơi đốt; 3. Ống dẫn bã thải; 4. Ống dẫn hơi rượu thô;

5. Ống dẫn rượu thô hồi lưu; 6. Ống hơi rượu thô vào thiết bị D; 7. Ống dẫn ethanol thô.

Dấm chín từ bể chứa theo đường ống (1) đi qua thiết bị gia nhiệt và hồi lưu (C), ở đây xảy ra quá trình trao đổi nhiệt giữa dấm chín và hơi rượu thô bốc lên từ tháp thô (A) theo ống (4). Dấm chín được gia nhiệt tới nhiệt độ $75 \div 80^0C$ và qua bộ phận tách bọt (khí CO_2) (B) rồi chảy vào tháp thô. Ở thiết bị gia nhiệt hồi lưu (C), một phần rượu và các chất có nhiệt độ sôi cao bị ngưng tụ và được hồi lưu về đỉnh tháp thô theo ống (5).

Hơi nóng cung cấp cho tháp thô được đưa vào ngăn dưới đáy tháp. Hơi nóng bốc lên gặp dấm chín từ trên xuống, xảy ra quá trình trao đổi nhiệt và chuyển khối trên các đĩa của tháp.

Các cấu tử dễ bay hơi có trong dấm chín như rượu, aldehyde, acid, ester và một số tạp chất khác cùng với nước được tách ra khỏi dung dịch và bay lên đỉnh tháp. Hơi rượu thô này theo ống dẫn (4) qua thiết bị gia nhiệt hồi lưu, một phần sẽ được ngưng tụ và hồi lưu về tháp còn phần lớn tiếp tục theo ống (6) vào thiết bị ngưng tụ làm lạnh (D). Ở thiết bị (D) hầu như toàn bộ hơi ethanol thô được ngưng tụ thành ethanol thô rồi theo ống dẫn (7) tới tháp trung gian. Các phần tử không ngưng tụ ở thiết bị này được xả ra ngoài dưới dạng khí thải.

Bã ở đáy tháp được xả ra ngoài qua bộ phận tháo bã rồi theo ống (3) ra ngoài.

* Những yếu tố ảnh hưởng tới quá trình làm việc của tháp thô

- Nồng độ rượu trong dấm chín: Nồng độ rượu trong dấm chín thay đổi sẽ làm cho nhiệt độ sôi của dấm chín thay đổi, dẫn đến dễ làm phá vỡ cân bằng nhiệt trong tháp khi làm việc. Khi nồng độ rượu trong dấm chín vào tháp thấp sẽ làm cho nhiệt độ đỉnh tháp tăng lên, năng suất của tháp sẽ giảm xuống. Khi tăng độ rượu trong dấm chín

vào tháp thì nhiệt độ của đỉnh tháp giảm. Vì vậy, cần phải khống chế nồng độ rượu trong dấm chín ổn định (≥ 6%V).

- Nhiệt độ của dấm chín khi vào tháp: Dấm chín trước khi vào tháp phải được gia nhiệt, nâng nhiệt độ của dấm chín lên gần nhiệt độ sôi của dung dịch. Nếu nhiệt độ sôi của dấm chín tăng lên quá cao sẽ gây ra hiện tượng bốc hơi ngay trong ống dẫn dấm, gây trở lực cho quá trình vận chuyển dấm vào tháp, có khi dấm không vào được. Ngược lại nếu nhiệt độ dấm chín vào tháp quá thấp sẽ, dễ gây ra hiện tượng rượu sót theo bã quá quy định. Vì vậy, trên đường ống dẫn dấm chín vào tháp, người ta thường bố trí thêm bộ phận gia nhiệt phụ để gia nhiệt dấm chín khi cần thiết. Nhiệt độ dấm chín vào tháp $75 \div 80^0C$

- Lưu lượng dấm chín vào tháp: Lưu lượng dấm chín vào tháp quá nhiều hay quá ít đều ảnh hưởng không tốt tới quá trình làm việc của tháp. Nếu lưu lượng dấm chín vào tháp quá ít trong khi hơi nóng cung cấp cho đáy tháp vẫn bình thường thì sẽ làm cho dấm bị hâm lên quá nóng khi đi qua bộ gia nhiệt hồi lưu. Nếu hiện tượng này xảy ra trong một thời gian dài (khoảng 15÷20 phút) thì dấm chín trong ống của bộ gia nhiệt sẽ tự sôi và sinh hơi ngay trong ống lại làm cản trở lượng dấm xuống tháp tiếp theo. Nếu lưu lượng dấm chín vào tháp quá nhiều trong khi chế độ cấp hơi nóng ở đáy tháp bình thường thì sẽ không bốc hết ethanol thô lên đỉnh tháp, rượu sót theo bã tăng lên và có thể dẫn đến tình trạng đáy tháp ngập dấm. Để đảm bảo dấm chín vào tháp một cách ổn định, người ta dùng bơm đưa dấm chín vào thùng chứa trên cao (thùng cao vị) rồi cho dấm tự chảy vào tháp. Trên đường ống dẫn dấm chín, người ta còn lắp thêm các thiết bị điều chỉnh lưu lượng, nhiệt độ. . .

- Khử bọt CO_2 trong dấm chín: Bọt trong dấm chín chủ yếu là khí CO_2 và một số acid bay hơi khác do quá trình lên men tạo thành. Khí CO_2 và các khí khác vào tháp làm biến đổi áp suất trong tháp thô làm cho tháp làm việc không ổn định. Vì vậy cần có thiết bị khử CO_2 trong dấm chín sau khi gia nhiệt và trước khi vào tháp.

- Chế độ cấp hơi nhiệt vào tháp: Tháp thô làm việc ở chế độ cấp sao cho áp lực đáy tháp nằm trong khoảng 0,12÷0,15atm (tương ứng với nhiệt độ ở đáy tháp $102 \div 105^0C$). Trên thực tế để đạt được điều kiện trên thì van cấp hơi phải mở sao cho đồng hồ áp lực sau van có áp suất tuyệt đối vào khoảng 1,5÷1,6atm là được. Để bảo đảm hơi vào đáy tháp ổn định, người ta lắp một bộ phận tự điều chỉnh.

- Tháo bã (nước thải): Tháp làm việc theo chế độ liên tục: dấm chín vào liên tục, bã tháo ra cũng liên tục và cân bằng. Để thực hiện được yêu cầu này, hầu hết các nhà máy rượu đã dùng hệ thống tháo bã tự động.

b) Tinh chế ethanol

* Tạp chất trong ethanol thô: Ethanol nhận được sau khi chưng cất còn chứa nhiều tạp chất (trên 50 chất), có cấu tạo và tính chất khác nhau. Trong đó gồm các nhóm chất như: aldehyd, ester, alcohol cao phân tử và các acid hữu cơ. Hàm lượng chung của các tạp chất ít không quá 0,5% so với khối lượng ethanol.

Hàm lượng các rượu cao phân tử cũng rất khác nhau nhưng chủ yếu là rượu amylic, isobutylic. Một số các tạp chất mang tính chất đặc thù của nguyên liệu. Ví dụ ethanol nhận được từ mật rỉ ít chứa furfurol nhưng lại chứa các tạp chất gây mùi mía, nhất là ethanol nhận được từ mật rỉ mới sản xuất. Người ta cho rằng mùi này là do các hợp chất chứa nitơ hoặc ester của acid butyric. Ethanol tinh bột thường chứa furfurol và các tạp chất gây vị đắng, đó là các terpen.

Theo quan điểm tinh chế ethanol, người ta chia tạp chất thành 3 loại:

- Tạp chất đầu: Là các chất dễ bay hơi hơn ethanolở nồng độ bất kỳ, nghĩa là hệ số bay hơi cao hơn hệ số bay hơi của rượu. Các chất có nhiệt độ sôi thấp hơn nhiệt độ sôi của ethanol gồm: acetaldehyd, methyl acetat, ethyl formiat, aldehyd butyric.

- Tạp chất cuối: gồm các alcol cao phân tử như amylic, isoamylic, isobutylic, propylic, isopropylic. Ở khu vực nồng độ của ethanolthấp, độ bay hơi của tạp chất cuối có thể nhiều hơn so với ethanol. Tạp chất cuối điển hình nhất là acid acetic, vì rằng độ bay hơi của nó kém hơn ethanolở tất cả mọi nồng độ.

- Tạp chất trung gian: Có hai tính chất vừa có thể là tạp chất đầu vừa có thể là tạp chất cuối. Ở nồng độ cao của ethanol, nó là tạp chất cuối. Ở nồng độ ethanol thấp chúng có thể trở thành tạp chất đầu. Đó là các chất ethyl isobutyrat, ethyl isovalerat, isoamyl và isoamyl acetat.

Cách phân loại như trên chỉ có tính chất tương đối và quy ước, vì tính chất của tạp chất có thể thay đổi tùy theo nồng độ ethanol có trong tháp. Độ bay hơi của các tạp chất phụ thuộc vào nồng độ ethanol trong dung dịch.

Đặc tính và hàm lượng tạp chất có trong ethanol thô phụ thuộc vào loại nguyên liệu và chất lượng nguyên liệu. Phụ thuộc vào phương pháp sản xuất và thiết bị công nghệ đặc biệt là thiết bị chưng cất tinh chế. Ethanol thô sản xuất từ rỉ đường có chất lượng kém hơn sản xuất từ các hạt cốc.

* Lý thuyết tinh chế ethanol: Cơ sở của quá trình tinh chế là dựa vào độ bay hơi tương đối của các cấu tử khác nhau trong hỗn hợp. Nếu hàm lượng tạp chất không lớn, ta có thể giả thuyết rằng độ bay hơi của tạp chất này không phụ thuộc vào sự có mặt của các tạp chất khác. Trên giả thuyết đó, ta có thể nghiên cứu được sự vận chuyển từng loại tạp chất trong tháp tinh chế và biết được sự phân bố của chúng theo chiều cao của tháp.

Quá trình tinh chế ethanol thực chất là một quá trình tách phân đoạn các tạp chất và rượu có nhiệt độ khác sôi nhau. Ethanol thô vào tháp được cấp nhiệt sẽ bốc hơi và chuyển động đi lên, qua các đĩa của tháp. Càng lên cao, nhiệt độ càng giảm. Khi hơi chuyển động qua các đĩa của tháp gặp chất lỏng từ trên đi xuống, các cấu tử có nhiệt độ sôi cao sẽ ngưng tụ, cấu tử có nhiệt độ sôi thấp được bổ sung thêm. Cuối cùng, ở trên đỉnh tháp chủ yếu là cấu tử có nhiệt độ sôi thấp, hơi đó được qua thiết bị làm lạnh - ngưng tụ, một phần chất lỏng ngưng tụ cho trở lại (hồi lưu) tháp.

Ngược lại, chất lỏng trong tháp, đi từ trên xuống gặp hơi bốc lên có nhiệt độ cao hơn, một phần cấu tử có nhiệt độ sôi thấp được bốc hơi do đó nồng độ cấu tử khó bay hơi trong chất lỏng càng xuống gần đáy tháp càng tăng. Ở đáy tháp gần như chỉ còn cấu tử khó bay hơi (nhiệt độ sôi cao).

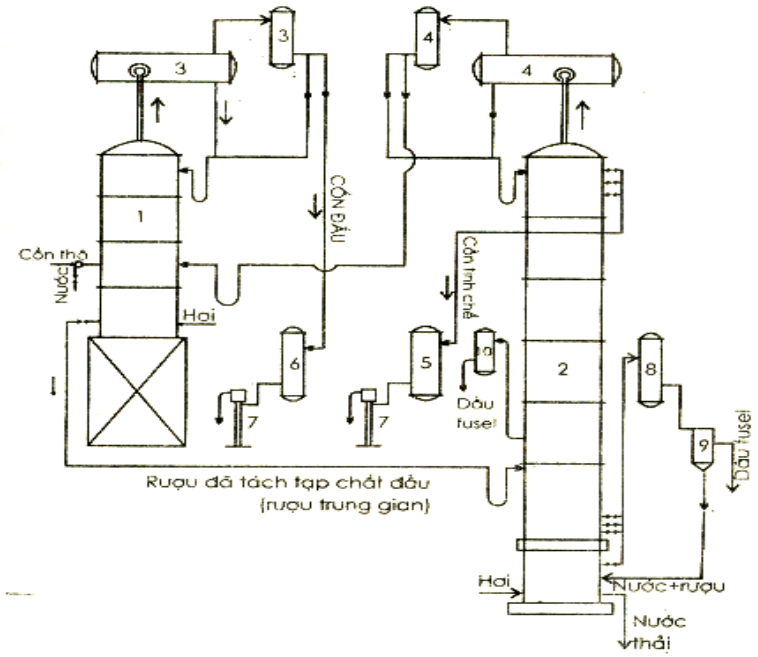
Từ đó, ta lấy được các cấu tử có nhiệt độ sôi khác nhau ứng với các đĩa khác nhau của tháp và tinh chế được ethanol có chất lượng theo yêu cầu.

* Tiến hành tinh chế ethanol: Để tinh chế ethanol thô, sử dụng hệ thống 1, 2, 3 hoặc 4 tháp với chế độ làm việc gián đoạn, bán liên tục hoặc liên tục. Hệ thống tinh chế 2 tháp được trình bày ở hình 6.25.

Nguyên tắc hoạt động: Ethanol thô vào tháp trung gian tại đĩa tiếp liệu (1), còn hơi nóng được đưa vào tháp trung gian ngăn đáy. Nhiệt độ đáy tháp trung gian khoảng $87 \div 88^0$C, ở nhiệt độ này các tạp chất đầu có nhiệt độ sôi thấp hơn rượu và một ít ethanol đi lên phía trên đỉnh tháp. Trong quá trình đi lên, hơi này bị các mũ chụp trên các đĩa chặn lại nên phải sục qua lớp chất lỏng trên mỗi đĩa. Ethanolcó nhiệt độ sôi cao hơn nên bị ngưng tụ nhiều hơn và chảy xuống đáy tháp, còn tạp chất đầu tiếp tục đi lên

đỉnh tháp.

Như vậy hơi ra khỏi đỉnh tháp chủ yếu là tạp chất đầu và rất ít ethanol, hơi này đi qua hai thiết bị ngưng tụ làm lạnh (3). Chất lỏng ngưng tụ từ hai thiết bị (3) này chủ yếu được hồi lưu về đỉnh tháp trung gian, chỉ một lượng nhất định ở thiết bị ngưng tụ làm lạnh (3) thứ hai được lấy ra ngoài, chủ yếu chứa tạp chất đầu nên còn gọi ethanol đầu. Chất lỏng ở đáy tháp trung gian chủ yếu là ethanol và tạp chất cuối theo đường ống sang tháp tinh chế (2). Tại tháp tinh chế, hơi được cấp vào ở đáy tháp. Ethanol thô (đã tách tạp chất đầu) nhận nhiệt và bốc hơi đi lên đỉnh tháp. Hơi bốc lên chủ yếu là ethanol cùng với một lượng hơi nước và tạp chất cuối. Khi hơi này sục qua lớp chất lỏng trên các đĩa thì một phần hơi bị ngưng tụ lại, chủ yếu là nước và các tạp chất cuối. Như vậy qua mỗi đĩa, thành phần ethanol trong hơi càng tăng lên. Hơi đi ra từ đỉnh tháp tinh chế được dẫn qua 2 bình ngưng tụ và làm lạnh (4) chất lỏng ngưng tụ được hồi lưu về đỉnh tháp, ngăn trên cùng.



Hình 6.25. Sơ đồ hệ thống tinh chế 2 tháp

1. Tháp trung gian (tách tạp chất đầu); 2. Tháp tinh chế (tách tạp chất cuối và nâng cao độ ethanol);
3. Bình ngưng tụ và hồi lưu tháp trung gian; 4. Bình ngưng tụ và hồi lưu tháp tinh chế;
5. Bình làm nguội sản phẩm tinh chế; 6. Bình làm nguội sản phẩm đầu;
7. Bộ phận kiểm tra chất lượng; 8. Bình ngưng tụ, làm lạnh dầu fusel thể hơi;
9. Thiết bị phân ly dầu fusel; 10. Bình làm nguội dầu fusel thể lỏng.

Ethanol thành phẩm được lấy ra ở ngăn số 1, số 2 (tính từ đỉnh), nhiệt độ vùng lấy sản phẩm 80÷84^{0}C. Ethanol lấy ra cho vào bình làm lạnh sản phẩm (5) rồi qua bộ phận kiểm tra (7), sau đó dẫn về thùng chứa.

Dầu fusel được lấy ra ở thể lỏng lẫn thể hơi. Dầu fusel từ tháp tinh chế được dẫn qua bộ phận ngưng tụ làm lạnh (8) rồi qua bộ phận phân li (9) dầu fusel được tách ra cho vào bình chứa. Hỗn hợp nước và rượu được cho trở lại tháp hoặc bể dấm để cất lại. Nước thải (bã) ở đáy tháp tinh chế được tháo ra ngoài qua bộ tháo bã tự động.

* Các yếu tố ảnh hưởng tới hoạt động của tháp tinh chế ethanol: Ngoài những yếu tố tương tự đối với quá trình chưng cất như: chế độ nạp nguyên liệu vào tháp, nồng độ rượu thô, chất lượng rượu thô, chế độ tháo bã (nước thải), chế độ cấp nhiệt

v.v... thì các yếu tố sau đây cũng có ảnh hưởng lớn đến chất lượng ethanol tinh chế:

- *Hồi lưu sản phẩm*: Với cùng trang thiết bị và điều kiện công nghệ như nhau nhưng chế độ hồi lưu sản phẩm khác nhau sẽ cho ra sản phẩm với chất lượng khác nhau. Hồi lưu càng nhiều lần, nồng độ ethanol thành phẩm càng cao, tạp chất càng giảm, nhất là tạp chất cuối. Đối với tạp chất đầu còn phụ thuộc vào chế độ giữ nhiệt ở các bình ngưng tụ, làm lạnh và hồi lưu. Riêng đối với tháp trung gian (còn gọi là tháp aldehyd, tháp làm sạch tạp chất đầu) thì chỉ số hồi lưu gấp 15÷20 lần so với tháp tinh chế. Tháp tinh chế chỉ số hồi lưu 3÷5. Chỉ số hồi lưu càng cao thì năng suất thiết bị càng giảm. Trong quá trình tinh chế cần tăng lượng hồi lưu khi chất lượng của ethanol sản phẩm không đạt yêu cầu, tháp đang hụt ethanol. Nếu tháp bị ngậpethanolở đáy thì ta giảm bớt lượng hồi lưu.

- Chế độ lấy sản phẩm: Tùy theo hệ thống thiết bị tinh chế làm việc gián đoạn, bán liên tục hoặc liên tục mà có chế độ lấy sản phẩm tương ứng. Tuy nhiên, dù hệ thống tháp làm việc ở chế độ nào lượng sản phẩm lấy ra phải cân đối với lượng rượu cung cấp vào tháp. Nếu sản phẩm lấy ra nhiều trong một thời gian ngắn thì sẽ làm cho chế độ làm việc của hệ thống tháp bị rối loạn, ảnh hưởng xấu đến chất lượng sản phẩm và phải tốn một thời gian dài mới khôi phục lại như cũ. Hiện tượng phổ biến thường xảy ra khi lấy sản phẩm quá lượng quy định làm nhiệt độ đỉnh tháp tăng lên, các tạp chất cuối bốc hơi nhiều hơn và theo ethanollên đỉnh tháp và tồn tại trong sản phẩm.

- Chế độ lấy dầu fusel: Dầu fusel được lấy ra từ tháp tinh chế có hai dạng hơi và lỏng. Trong đó lấy ở thể hơi là chủ yếu. Dầu fusel thể hơi tập trung trong tháp tinh chế ở vùng có nhiệt độ 95÷97^{0}C, ứng với nồng độ rượu là 15÷20%V. Dầu fusel thể lỏng tập trung tại vùng có nhiệt độ 85÷86^{0}C ứng với nồng độ ethanol 45÷50%V. Tại các vùng nói trên người ta bố trí các ống để dẫn dầu fusel ra. Dầu fusel dù thể hơi hay lỏng thì khi ra khỏi tháp tinh chế đều qua bộ phận ngưng tụ rồi phân ly tách dầu riêng còn ethanolđược quay trở lại tháp tinh chế hoặc cho vào bể chứa dấm, tỉ lệ dầu fusel lấy ra thường 0,2÷0,4% so với tổng số ethanol cất được.

- Chế độ lấy sản phẩm đầu: Sản phẩm đầu còn gọi là ethanol đầu thường được lấy ra vào khoảng 3÷5%V so với tổng số ethanol thành phẩm. Có trường hợp ethanol lấy ra cao hơn 5%V nhưng chất lượng ethanol thành phẩm vẫn không tốt. Ngược lại nếu điều chỉnh, khống chế tốt nhiệt độ bình ngưng tụ, làm lạnh của tháp trung gian và tháp tinh chế thì lượng ethanol lấy ra 2÷3%V nhưng chất lượng thành phẩm vẫn đạt. Ethanol đầu được lấy ra ở bình ngưng tụ, làm lạnh cuối cùng của mỗi tháp, nhiệt độ thích hợp vào khoảng 45÷50^{0}C. Nếu nhiệt độ thấp quá, lượng ethanol lấy ra sẽ nhiều, nếu nhiệt độ cao quá lượng ethanol đầu lấy ra ít, mất mát do bay hơi ra ngoài. Cả hai trường hợp đều không tốt.

2.4.3. Yêu cầu chất lượng ethanol

- Nồng độ ethanol, %V ở 20 ^{0}C : > 95,6.
- Hàm lượng aldehyd, mg aldehyd acetic/1 lít ethanol không nước : < 10.
- Hàm lượng ester, mg ethyl acetate/1 lít ethanol không nước) : < 40.
- Hàm lượng acid, mg acid acetic/1 lít ethanol không nước : <10.
- Hàm lượng dầu fusel, mg/1 lít ethanol không nước : < 30.
- Furfurol : không được có.
- Thời gian oxy hoá, phút : < 30.
- Chất khô còn lại sau đun : < 15mg/l.

- Độ tinh khiết (thử trong môi trường H_2SO_4 đậm đặc) : Không màu.

- Cảm quan: Ethanol trong suốt; hoà tan trong nước không vẫn đục; có mùi ethanol đặc trưng, không có mùi lạ.

3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT RƯỢU VANG NHO

3.1. Giới thiệu chung về rượu vang nho

Rượu vang vốn có nguồn gốc từ quả nho nên có tên gọi là "wine", ngày nay người ta mở rộng ý nghĩa rượu vang là rượu không chưng cất từ các loại quả. Trên thế giới, phần lớn rượu vang được chế biến từ quả nho. Ngoài ra còn có thể chế biến rượu vang từ nhiều loại quả như: dứa, dâu, mơ…

Rượu vang nho là loại đồ uống lên men từ quả nho. Khi quá trình lên men kết thúc, người ta không chưng cất mà để lắng trong tự nhiên, gạn lọc và hoàn thiện sản phẩm. Rượu vang nho có đặc điểm: độ ethanol thấp, giá trị dinh dưỡng cao, không có hóa chất độc hại...

Sản xuất vang nho dựa trên cơ sở các quá trình sinh hóa xảy ra trong quá trình lên men dịch quả nho dưới tác dụng của hệ enzyme của nấm men. Hiện nay có hai phương pháp lên men vang cơ bản: lên men tự nhiên và lên men nhờ các chủng nấm men thuần khiết.

Phương pháp sản xuất rượu vang từ chủng thuần khiết có rất nhiều triển vọng: Thời gian lên men nhanh, quá trình lên men không bị dừng nửa chừng, hàm lượng đường trong dịch quả được lên men triệt để, nồng độ ethanol thu được trong vang cao hơn lên men tự nhiên, vang sáng màu hơn, hương vị tinh khiết hơn.

Theo màu sắc của giống nho người ta chia rượu vang nho ra vang trắng và vang đỏ; Theo công nghệ sản phẩm vang nho gồm hai nhóm chính: Nhóm rượu vang không có gas và nhóm rượu vang có gas.

Nhóm rượu vang không có gas bao gồm nhóm rượu vang phổ thông (không bổ sung ethanolvào) và nhóm rượu vang cao độ (có bổ sung ethanol vào). Nhóm rượu vang phổ thông bao gồm vang khô (lên men cạn kiệt, hàm lượng ethanol 9÷14%V, đường sót không quá 0,3%) và vang bán ngọt (hàm lượng ethanol 9÷12%V, đường sót 3÷8%). Nhóm rượu vang cao độ bao gồm vang nặng (hàm lượng ethanol 17÷20%V) và vang khai vị (hàm lượng ethanol 12÷17%V và hàm lượng đường cao từ 5÷35%).

Nhóm rượu vang có gas bao gồm rượu vang có gas tự nhiên và rượu vang có gas nhân tạo (do nạp CO_2 vào sản phẩm). Rượu vang có gas tự nhiên được thực hiện quá trình lên men phụ ở thùng kín và điều kiện lên men thích hợp để giữ lại CO_2 cho sản phẩm.

3.2. Nguyên liệu sản xuất rượu vang nho

3.2.1. Nho

a) Giới thiệu chung về nho

Cây nho, tên khoa học là *Vitisvinifera*, thuộc họ Nho (*Ampelidaceae)*. Nho là loài cây đã được con người trồng từ thời tiền sử. Hiện nay, có trên 7000 giống nho khác nhau, đang được trồng nhiều nước trên thế giới. Quả nho hình cầu hoặc van. Quả có màu sắc khác nhau khi còn non có màu xanh, khi lớn và chín quả có màu tuỳ thuộc vào đặc điểm của giống**.**

Nho có thể chia làm 2 nhóm cơ bản là: Nho trắng (trái nho khi chín vỏ không có màu hoặc màu vàng lục nhạt) và nho đỏ (trái nho khi chín có màu đỏ - tím ở những mức độ khác nhau.

Quả nho có chứa đường glucose (đường nho), saccharose, các acid hữu cơ, các loại vitamin C, B_1, B_2. Quả nho có thể sử dụng ở dạng tươi hoặc có thể làm nguyên liệu để chế biến rượu vang, nước quả nho, nho khô.

Nho được trồng nhiều nước trên thế giới. Diện tích trồng lên 10 triệu ha. Sản lượng hàng năm trên thế giới 60 triệu tấn quả. Năng suất bình quân của thế giới là 6 tấn quả/ha. Những nơi thâm canh có thể đạt 8÷9 tấn quả/ha.

Ở Việt Nam, nho được trồng nhiều ở vùng Nha Hố (Ninh Thuận). Một số tỉnh miền Đông Nam Bộ cũng có trồng nhưng không tập trung. Các giống nho hiện nay đang trồng ở nước ta nhập nội từ Thailand, Pháp và một số nước khác.

Khả năng thích nghi với điều kiện khí hậu thổ nhưỡng của cây nho rất cao. Nó có thể phù hợp với tất cả các loại đất. Nho trồng ở lưng chừng đồi sẽ cho các loại rượu vang có chất lượng cao. Ở Việt Nam chỉ có Ninh Thuận được đánh giá là vùng trồng nho tiềm năng dùng cho sản xuất vang.

b) Cấu trúc và thành phần hóa học của nho

* Cấu trúc: Theo Navarre (1994) thì thành phần của một chùm nho gồm có: cuống (2÷5%), vỏ (7÷11%), hạt nho (2÷6%) và thịt nho (80÷85%).

- Cuống: Thành phần hóa học của cuống gồm: nước, tanin, cellulose, các chất khoáng... Các chất tanin trong cuống không có lợi cho sản phẩm. Người ta thường tách một phần cuống nho ra khỏi dịch nho trước khi lên men rượu vang.

- Vỏ: Thành phần quan trong của vỏ là pectin, chất màu và chất chát. Thành phần chất màu ở nho xanh chủ yếu là flavones và ở nho đỏ là anthocyanes và flavones.

- Hạt: Hạt nho có chứa tanin và dầu. Cả hai thành phần này đều ảnh hưởng xấu đến chất lượng của cảm quan của rượu vang nho.

- Thịt nho: Thịt nho là phần quan trọng để cung cấp chất chiết cho nước nho. Thịt nho gồm có nước, đường, các acid hữu cơ, khoáng, các hợp chất chứa nitơ...

* Thành phần hoá học của quả nho: Nho rất giàu dinh dưỡng bao gồm: nước, đường, các hợp chất chứa nitơ, glucid… Ngoài ra nho còn chứa nhiều chất khoáng và vitamin.

- Đường: Một lít nước nho có khoảng 200÷250g đường, thành phần chủ yếu là glucose và fructose. Ngoài ra trong nước nho còn chứa đường pentose, galactose, methyl pentose...

- Acid hữu cơ: 90% hàm lượng acid hữu cơ trong nho là acid tartatic và acid malic. Phần còn lại là acid citric, acid cetonic, acid phenilic...

- Polyphenol: Polyphenol trong nho được chia làm hai nhóm: hợp chất màu và hợp chất không màu. Hợp chất màu gồm có anthocyanes và flavones và hợp chất không màu gồm phenolmonomer, polyphenol ngưng tụ và tanin.

Thành phần hóa học trung bình được trình bày ở bảng 6.5.

Bảng 6.5. Thành phần hoá học trung bình của 100g nho

Thành phần	*Hàm lượng*	*Thành phần*	*Hàm lượng*
Nước	93,6	Sắt	1,4mg%
Hợp chất chứa nitơ	0,4	Calcium	40mg%
Đường	3,1	Caroten	15mg%
Cellulose	2,4	Vitamin B_1	0,05mg%
Tro	0,5	Vitamin B_2	0,04mg%

Thành phần	*Hàm lượng*	*Thành phần*	*Hàm lượng*
Phospho	21mg%	Vitamin PP	0,3mg%
Vitamin C	45mg%		

3.2.2. Đường

Đường được bổ sung vào trong sản xuất rượu vang nho khi nồng độ đường trong dịch nho chưa đạt yêu cầu. Các nhà sản xuất thường bổ sung đường ở dạng syrup vào dịch nho. Phổ biến là dùng đường saccharose. Tuy nhiên một số quốc gia không cho phép bổ sung đường vào dịch nho. Khi đó để tăng nồng độ đường trong dịch nho các nhà sản xuất sẽ bổ sung dịch nho cô đặc vào môi trường trước khi lên men.

3.2.3. Các hợp chất chứa nitơ

Tùy theo quy định của mỗi quốc gia mà nguồn nitơ bổ sung vào dịch nho cho nấm men phát triển có thể thay đổi. Thông dụng nhất là $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)_2SO_4$ hoặc urea

3.3. Nấm men vang

3.3.1. Yêu cầu đối với nấm men vang

Theo tác giả Schandel, nấm men vang cần đạt những yêu cầu sau:

- Khả năng lên men cao. Những chủng này ở điều kiện tối ưu cần đạt 18÷20%V ethanol.

- Chịu được nhiệt độ thấp. Những nấm men của nhóm này cần có khả năng lên men ở nhiệt độ 4÷10^{0}C và tích lũy trong môi trường trong thời gian ngắn phải được 8÷12%V ethanol.

- Những nấm men đã được sulfit hóa: Gồm những chủng có thể bắt đầu và hoàn thành quá trình lên men ở pH rất thấp.

- Bền vững với ethanol. Những chủng này có thể gây nên sự lên men mới trong môi trường đã có sẵn 8÷12%V, trong đó ta có cho thêm đường. Ở đây gồm những chủng lên men thứ đối với các loại rượu có bọt.

- Bền vững đối với nồng độ đường cao. Những nấm men này có thể lên men được khi dịch lên men nồng độ đường trên 30% và tích lũy được trong môi trường 10÷13%V ethanol.

3.3.2. Các chủng nấm men dùng trong sản xuất vang nho

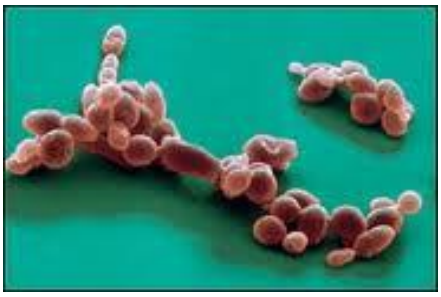
Trong sản xuất vang thường sử dụng nấm men của loài *Saccharomyces vini* và *Sacharomyces oviformis*.

a) Saccharomyces vini (hình 6.26)

Đây là tên gọi phổ biến hiện nay, trước đây người ta gọi là *Saccharomyces vini Meyer* hay *Saccharomyces ellipsoideus* còn theo Lodder là *Saccharomyces cerevisiae Hansen*.

Nấm men này phổ biến trong nước quả chiếm 80% tổng số *Saccharomyces.* Nấm men vang phần lớn có dạng hình cầu, oval hoặc elip, phần ít hơn có dạng hình elip kéo dài. Ở điều kiện thích hợp, nấm men vang sinh sản bằng cách nảy chồi, nhưng trong điều kiện không thuận lợi, chúng có thể sinh sản bằng bào tử. Khả năng sinh sản của nấm men và hoạt lực enzyme của nấm men phụ thuộc nhiều ở điều kiện nhiệt độ. Việc bảo quản nấm men trong phòng thí nghiện dẫn đến mất dần khả năng hình thành bào tử của chúng. Những nấm men như vậy sẽ phục hồi khả năng tạo bào tử nếu ta đặt những tế bào trẻ trong môi trường dịch đường thích hợp. Khả năng tạo bào tử của loài

này phụ thuộc nhiều vào nhiệt độ. Nhiệt độ tối ưu là 25^0C, $t^0_{max}=31,5^0C$ và $t^0_{min}= 7,5^0C$ với thời gian tương ứng là 21÷36h và 11 ngày.



Hình 6.26. Saccharomyces vini

Những nang bào tử thường có dạng hình cầu với kích thước từ 2÷4μm. Chúng được hình thành không cần sự trùng dính, tức là đơn tính. Sự trùng dính chỉ xảy ra sau khi bào tử đã nảy chồi.

Các nấm men của loài này có thể sử dụng được các loại đường như: glucose, fructose, manose, galactose, maltose, saccharose và 1/3 raffinose. Những nấm men này không sử sụng được dextrin, lactose và arabinose.

Sự phân bố của các chủng nấm men vang này rất rộng rãi trong tự nhiên. Ta thường gặp chúng trên các loại trái cây chín, đặc biệt là trên những chùm nho chín. Sau khi chà xát và ép nước nho trong môi trường này, số nấm men *Sac. vini* có mặt không nhiều so với những vi sinh vật dại khác (như nấm mốc, nấm men dại, vi khuẩn dại). Tuy vậy, khi đã xảy ra quá trình lên men vang tự nhiên trong nước quả thì nấm men loại này sẽ vượt nhanh hơn so với những vi sinh vật dại khác, nhất là ở giai đoạn kết thúc quá trình lên men. Như vậy không có nghĩa là trong sản xuất vang ta chỉ dùng một phương pháp lên men vang tự nhiên. Khả năng này của nhóm nấm men lên men vang nói lên rằng chúng có thể thích nghi với điều kiện sản xuất vang. Trong điều kiện như vậy, chúng có khả năng chủ động tốt với những sản phẩm trao đổi chất của những vi sinh vật dại - kể cả những sản phẩm hoạt động sống của bản thân chúng.

Đặc biệt nấm men vang có khả năng chịu đựng tốt với ethanol. Ethanol là sản phẩm do hoạt động của bản thân nấm men tạo ra. Đối với vi sinh vật dại trong vang thì chỉ có một loài vi khuẩn lactic tồn tại và phát triển trong điều kiện 20%V ethanol. Đây cũng chính là nguyên nhân gây hư hỏng một số loại vang. Phần lớn vi sinh vật dại khác không chịu đựng được ethanol nên trong quá trình lên men, số lượng nấm men vang vượt xa những vi sinh vật dại. Ngoài ra CO_2 hình thành cũng gây ức chế vi sinh vật dại mạnh hơn so với nấm men vang.

Môi trường tự nhiên mà nấm men vang thích là loại nước trái cây, trong thành phần nước trái cây không có maltose. Tuy vậy, như trên đã nói, nấm men vang vẫn có khả năng lên men đường maltose. Theo Kudriavzev, nấm men *Sac. vini* và *Sac. cereviciae* tác dụng như nhau đối với maltose. Khả năng hình thành enzyme ở nấm men vang không ổn định,. trong môi trường không có maltose, chúng không tạo được enzyme maltase. Chỉ có một vài nòi tạo được maltase ổn định.

Mặc dù những nấm men của hai loài *Sac. vini* và *Sac. cereviciae* đều tác dụng như nhau lên maltose, song ngày nay, trong sản xuất rượu vang không dùng nấm men bia và trong bia không dùng nấm men vang. Để phân biệt rõ hai loại này ta căn cứ trên khả năng tác dụng của chúng đối với dextrin: Nấm men *Sac. cereviciae* lên men được dextrin nhưng *Sac. ellipsoideus* không lên men được dextrin. Nếu ta cho cả hai loại

nấm men phát triển trong môi trường dịch đường lên men thì *Sac. cereviciae* sẽ vượt hẳn *Sac. vini* và nếu cùng trong dịch nước quả thì ngược lại *Sac. vini* sẽ vượt hẳn *Sac. cereviciae*. Những đặc điểm khác nhau này cho thấy chúng là những loài nấm men biệt lập về mặt sinh học. Như vậy nếu coi *Sac. cereviciae* là một phân nhánh của *Sac. vini* là không có cơ sở.

Nếu nấm men vang phát triển trong môi trường giàu acid hữu cơ thì sẽ thích nghi để chịu đựng được acid tartric hàm lượng cao. Trong khi đó nấm men bia *Sac. cereviciae* hoặc *Sac. carlbergensis* không chịu được môi trường acid mạnh. Khả năng này của nấm men vang giúp ta có thể giải thích được tại sao nếu cùng rơi vào dịch nước trái cây thì sau đó chúng lại vượt hẳn các vi sinh vật khác.

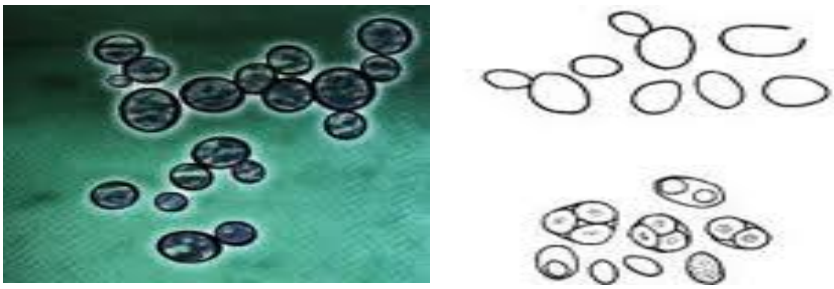
b) Sacharomyces oviformis

Giống này được phân lập từ dịch nho lên men tự nhiên ở Thuỵ Sĩ. Trong tài liệu, tên giống này được ghi với các từ đồng nghĩa: *Sac. Cerevisiae var. alpinus steinor; Sac. cerevisiae rasse blanchard lodder; Sac. ellipsoideus; Sac. oviformis var. bisporus castelli.*

Về mặt hình thái giống này không có gì khác biệt với các giống của *Sacharomyces*.

Các nấm men của loài này có thể sử dụng được các loại đường như: glucose, fructose, manose, maltose, saccharose và 1/3 rafinose. Những nấm men này không sử sụng được dextrin, galactose, lactose và arabinose.

Về mặt sinh học, những môi trường tự nhiên trong đó ta gặp *Sac. oviformis* đều có thấy hiện diện *Sac. ellipsoideus*. Thông thường, loại thứ nhất ít gặp hơn về số lượng so với loại thứ hai do hiện tượng đối kháng giữa các loại vi sinh vật. Kudriavzev đã chứng minh là nếu cấy hỗn hợp hai loài trên môi trường nước nho thì sau 2÷4 chu kỳ giống, *Sac. ellipsoideus* sẽ vượt lên hẳn nhóm kia. *Sac. oviformis* phát triển tốt trong môi trường nước nho và có thể tạo được đến 18%V ethanol.



Hình 6.27. Saccharomyces oviformis

Nhiều loài nấm men *Saccharomyces* có đặc trưng là phát triển trên bề mặt môi trường lên men (vang, bia) và một số loài tạo vòng váng trên bề mặt; Một số loài khác tạo cả một lớp váng trên bề mặt. Phần lớn những loại này có khả năng tạo ethanolchỉ từ 5÷10%V. Người ta đã chứng minh được rằng, những váng vang do các nhóm giống *candida (mycoderma), pichia*... hoặc vi khuẩn tạo màng bề mặt.

c) Nấm men gây váng rượu vang

Trong một số tài liệu, nhóm nấm men này được viết dưới các tên đồng nghĩa sau: *Mycoderma vini pasteur, Saccharomyces sp. frolov-bagreev, Sac. cheresanus-chovienco và Babenco, Sac. ellipsoideus schanderl-saenco…*

Về hình thái, giống này không khác với những loài của *Saccharomyces*. Cũng tương tự ở *Sac. oviformis*, khi phát triển trong môi trường dịch nho giống này có thể

tạo ra 18÷19%V ethanol.

Lần đầu tiên Frolov-Bagreev đã chứng minh rằng những nấm men gây váng thuộc giống *Saccharomyces* tạo được bào tử và gây lên men rượu mạnh trong môi trường nước nho. Cũng lần đầu tiên ông đã chứng minh được khả năng phát triển của chúng trong môi trường nước nho là sau khi đã lên men làm cho môi trường đó có váng. Dấu hiệu bên ngoài của nguyên nhân gây váng là *Mycoderma vini*. Sự khác nhau giữa giống nấm men gây váng ở vang và giống *Mycoderma vini* là ở chỗ, giống nấm men thứ nhất làm tăng hương vị của vang, giống thứ hai làm giảm chất lượng của nó. Khi nghiên cứu lớp váng trên bề mặt vang các tác giả thấy rằng, ngoài những nấm men của giống *Saccharomyces* còn có mặt những nấm men tạo váng của giống *Pichia* và *Hansenula* nhưng không đáng kể.

Những điểm khác nhau giữa *Sac. ellipsoideus* và nấm men gây váng như sau:

- *Sac. ellipsoideus* lên men được glactose còn nấm men gây váng thì không.

- Giữa *Sac. ellipsoideus* và nấm men gây váng có sự đối kháng và giống thứ hai trội hơn nhóm thứ nhất.

- Nấm men gây váng có khả năng phát triển trên bề mặt vang có 14÷15%V ethanol. Những giống khác không phải tất cả đều có khả năng này.

Khả năng đặc biệt này của nấm men gây váng chỉ thấy trong môi trường sản xuất còn trong môi trường tự nhiên không hiện rõ, vì môi trường lên men tự nhiên không đạt được nồng độ rượu cao như vậy. Để chứng minh những loại nấm men gây váng và nấm men *Sac. oveformis* là cùng một loài, người ta dựa vào khả năng sử dụng đường của chúng. Cả hai đều gặp trong môi trường nước nho lên men tự nhiên. Những nấm men thuần khiết của chúng đều có thể phát triển tốt như nhau và tạo cùng một lượng rượu như nhau, giữa hai loại không có sự đối kháng. Những đặc điểm đó nói lên chúng có cùng thuộc một loài sinh học. Sự khác nhau rõ rệt giữa chúng là nấm men gây váng sau 2÷3 ngày có thể gây được một lớp váng mỏng rõ rệt trên bề mặt. Lớp váng này dần dần sẽ tăng lên, trong khi đó nấm men *Sac. oveformis* chỉ thỉnh thoảng mới tạo ra được một lớp váng xung quanh thùng hoặc tạo được lớp váng mỏng nhưng phải mất vài tuần.

Saenko, bằng cách thay đổi các điều kiện nuôi cấy đã thu được nòi *Heres 96-K* và *Heres20-C,* những nòi này có thể tạo váng ở 17%V ethanol. Việc tạo váng trên bề mặt của vang là dấu hiệu của sự chuyển quá giai đoạn oxy hoá của nấm men *Heres.* Ở giai đoạn chúng hình thành và tích tụ glucogen không cần sự có mặt của đường trong môi trường.

Trong giai đoạn oxy hoá, những nấm men gây váng (*Heres*) là nguyên nhân của sự biến đổi sinh hoá về thành phần của rượu vang để tạo những sản phẩm mới tham gia vào sự hình thành mùi vị, hương thơm mới của vang.

Những biến đổi sinh hoá kéo theo sự giảm dần khối lượng của một số chất đồng thời tăng thêm khối lượng các chất khác trong rượu vang. Sự giảm dần của ethanollà dễ thấy nhất. Chúng chuyển hoá về dạng acetaldehyde. Đây là giai đoạn quan trọng nhất trong quá trình hình thành váng của vang (còn gọi là heres hoá). Những nấm men *Heres* này cũng có thể oxy hoá những rượu bậc cao.

Sự phát triển của lớp váng do nấm men *Heres* gây nên sẽ dẫn đến làm giảm hàm lượng nitơ nói chung, trong đó gồm cả một số acid amin. Chúng dùng những nguồn nitơ này để xây dựng nguyên sinh chất tế bào. Theo Saenko và Sacarova, ở thời điểm lớp váng trên bề mặt lên men phát triển mạnh nhất thì hàm lượng nitơ amin trong vòng

30 ngày sẽ giảm từ 63mg/l xuống còn 34mg/l. Sau 120 ngày chỉ còn 19,7mg/l, đồng thời chúng có thể sử dụng hoàn toàn NH_3. Theo nghiên cứu của Vancil thì nấm men sau 12 tháng sử dụng hoàn toàn asparagine, serine, glicine, valine, leucine, và phenyl alanin, và theo ông, một số acid amin như alanine, lysine, arginine, methionin, asparagine và glutamic acid cũng đóng vai trò như chất sinh trưởng. Khi thí nghiệm dùng các muối amoni làm nguồn cung cấp nitơ duy nhất thì những nấm men *Heres* không tạo được váng.

Những nấm men *Heres* sẽ làm giảm các chất sinh trưởng trong vang như biotine, meso-inoside, pantothenic acid và muối amid của nicotinic acid, chất tro trong rượu. Khả năng hấp phụ chất sắt dưới dạng sulfit sắt hoặc poly-sulfit của nấm men là nguyên nhân của sự giảm hàm lượng sắt trong rượu.

3.3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt động của nấm men vang

a) Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng bậc nhất đối với nấm men nói chung và lên men vang nói riêng. Nhiệt độ có tác dụng rõ rệt đến khả năng lên men và chất lượng của rượu vang. Lên men vang được thực hiện ở nhiệt độ $10 \div 30^0$C. Nhiệt độ lên men cao quá trình lên men xảy ra mạnh mẽ nhưng kết thúc lên men khi hàm lượng đường sót còn lại trong dịch quả lớn, lượng đường này dễ bị vi khuẩn lactic sử dụng tạo ra nhiều acid lactic làm cho vang có vị chua-nhọt khó chịu. Ở nhiệt độ thấp ví dụ 16^0C, nấm men vang hoạt động chậm và yếu, vì vậy hàm lượng đường còn lại trong môi trường lớn, và đây chính là môi trường tốt cho vi sinh vật gây bệnh rượu vang hoạt động. Nhiệt độ tối ưu cho nấm men vang là $25 \div 28^0$C.

Nấm men vang khá bền vững ở nhiệt độ thấp: nó có thể sống trong băng nhiều tháng, thậm chí ở nhiệt độ -190^0C. Nấm men vang rất nhạy cảm với nhiệt độ cao, trong môi trường lỏng ở nhiệt độ $40 \div 50^0$C nấm men hầu như ngưng trệ hoạt động và sau 1,5h sẽ bị chết. Ở nhiệt độ $60 \div 65^0$C chúng bị chết sau 5 phút. Trong môi trường khô (w = 13%) chúng chịu nhiệt tốt hơn, có thể chịu đến $85 \div 105^0$C. Nhiệt độ có thể tăng lên 36^0C nấm men vẫn hoạt động bình thường, song trên 36^0C nấm men vang bắt đầu bị ức chế. Ở nhiệt độ trên 36^0C thì lại rất thuận lợi cho vi khuẩn acetic hoạt động. Do đó trong sản xuất rượu vang cần khống chế không cho nhiệt độ vượt quá 36^0C.

b) Ảnh hưởng của oxy

Nấm men vang được coi là vi sinh vật hiếu khí tùy tiện. Trong điều kiện có oxy thì hoạt động sinh sản của nấm men mạnh mẽ hơn, vì vậy lượng sinh khối tăng lên nhanh và trở thành sản phẩm chủ yếu của quá trình lên men. Ngược lại trong điều kiện thiếu hoặc không có mặt của oxy nấm men sẽ chuyển từ hô hấp hiếu khí sang kỵ khí, khi đó sản phẩm trong môi trường lên men là ethanol là chủ yếu. Tuy nhiên 2 kiểu hô hấp trên đều có mối quan hệ chung với nguồn đường có trong môi trường. Qua thực tế sản xuất cho thấy: lượng đường tiêu hao cho kiểu hô hấp hiếu khí chiếm khoảng 1/5; Tiêu hao cho hô hấp kỵ khí là 4/5 (thực chất là lên men để tạo ethanol).

c) Ảnh hưởng của ánh sáng

Ánh sáng là yếu tố kìm hãm hoạt động của nấm men vang. Đặc biệt các tia cực tím trong ánh sáng sẽ giết chết tế bào nấm men. Vì vậy quá trình lên men cần tránh ánh sáng.

d) Ảnh hưởng của hàm lượng đường

Quá trình lên men vang xảy ra nhanh, thuận lợi khi hàm lượng đường trong nước nho $10 \div 25\%$. Khi hàm lượng đường trong nước nho > 25% thì quá trình lên men bắt

đầu bị chậm lại và khi hàm lượng đường > 35% thì quá trình lên men xảy ra rất yếu.

e) Ảnh hưởng của ethanol

Sản phẩm chủ yếu của quá trình lên men kỵ khí là ethanol. ethanolkìm hãm hoạt động sống của tế bào nấm men, tuy nhiên mức độ kìm hãm khác nhau đối với các chủng nòi nấm men khác nhau. Ví dụ, đối với *Sac. ellipsoideus* có thể chịu được 18%V ethanol, nhưng *Kl. Apiculata* chỉ chịu được 4÷6%V ethanol. Khả năng chịu ethanolcủa nấm mốc, vi khuẩn kém hơn nhiều so với nấm men. Điều này có ý nghĩa lớn trong sản xuất, bởi vì khi qua trình lên men kỵ khí xảy ra ethanolhình thành trong môi trường có tác dụng kìm hãm mạnh mẽ nấm mốc, vi khuẩn (luôn có đi kìm trong dịch nho), và sau đó là ức chế nấm men dại, để rồi nhường đường cho nấm men vang hoạt động.

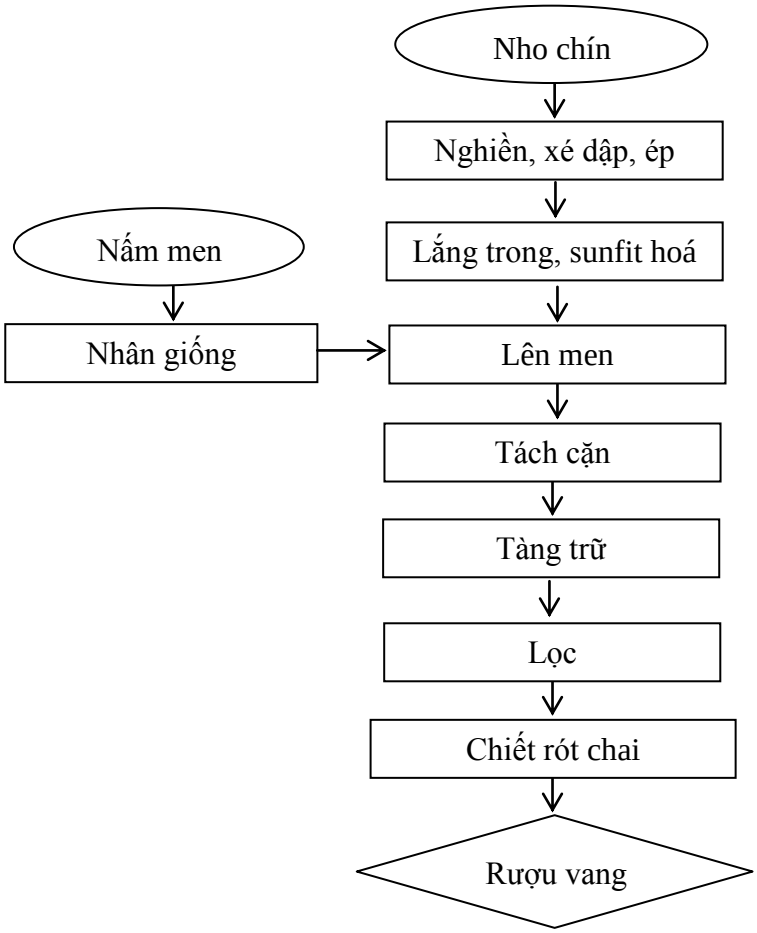
f) Ảnh hưởng của CO_2

Hàm lượng CO_2 hình thành trong quá trình lên men thường hạn chế mạnh sự sinh sản của nấm men vang. Theo nghiên cứu của Miuler-thurrau, khi hàm lượng CO_2 trong rượu vang đạt 0,25% trọng lượng thì việc sinh sản của nấm men bị đình trệ. Khi hàm lượng CO_2 trong rượu vang đạt 1,5% trọng lượng thì nấm men không còn sinh sản được nữa.

3.4. Quy trình công nghệ sản xuất rượu vang nho

3.4.1. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất vang nho

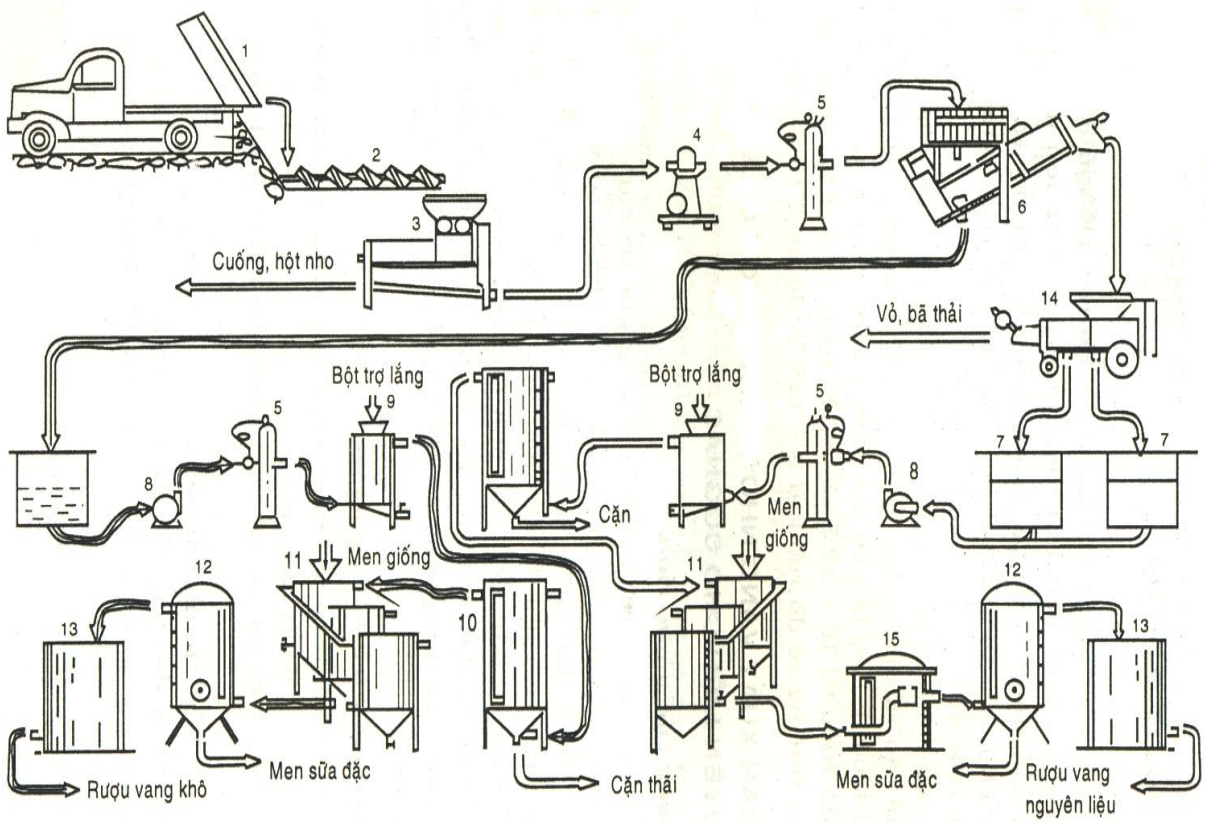
Để sản xuất vang nho có thể sử dụng nho đỏ hoặc nho trắng. Sơ đồ quy trình công nghệ chung để sản xuất vang nho được thể hiện ở hình 6.28.



Hình 6.28. Quy trình công nghệ sản xuất vang nho

Sản xuất vang nho từ nho trắng: Đặc điểm công nghệ riêng của vang nho trắng là dịch nước nho phải được tách riêng ra khỏi phần xác (gồm cuống chùm nho, cuống trái nho, hột nho và vỏ quả nho), sau đó mới tiến hành lên men dịch nho, nhờ vậy vang trắng luôn có mùi, vị và màu sắc hài hòa, tinh tế hơn vang đỏ, cũng chính vì vậy mà vang trắng rất nhạy với mùi vị ngoại lai. Mặt khác, nho trắng luôn có hiệu suất rượu vang thấp hơn nho đỏ.

Sơ đồ quy trình thiết bị sản xuất vang nho trắng được trình bày ở hình 6.29.



Hình 6.29. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất vang nho trắng

1. Xe vận chuyển nho chín;
2. Bể chứa nguyên liệu;
3. Máy xé nho dạng trụ;
4. Bơm vận chuyển;
5. Sulfit hóa dịch nho;
6. Ép tách nước nho;
7. Bồn chứa nước nho;
8. Bơm vận chuyển;
9. Bồn xử lý nước nho với bentonit;
10. Bồn lắng trong nước nho;
11. Lên men nước nho liên tục;
12. Lắng trong rượu nho non;
13. Bồn trữ rượu vang nho;
14. Máy ép bã thu hồi dịch nho;
15. Bồn bổ sung ethanol khi lên men phụ.

Sản xuất vang nho từ nho đỏ: Sự khác nhau giữa nho đỏ và nho trắng là ở nho đỏ hàm lượng sắc tố đỏ (anthocyanins) ở vỏ và thịt nho rất cao. Đồng thời hàm lượng chất chát (polyphenol) trong vỏ, cuống cũng lớn hơn nho trắng 5÷10 lần. Về mặt công nghệ, căn cứ vào sự khác biệt này để đưa ra giải pháp phù hợp cho từng loại nho.

Để sản xuất vang đỏ có thể tiến hành trích ly hoặc không trích ly chất màu và chất chát. Công nghệ sản xuất vang đỏ không trích ly chất màu được trình bày ở hình 6.30 và công nghệ sản xuất vang đỏ trích ly chất màu được trình bày ở hình 6.31.

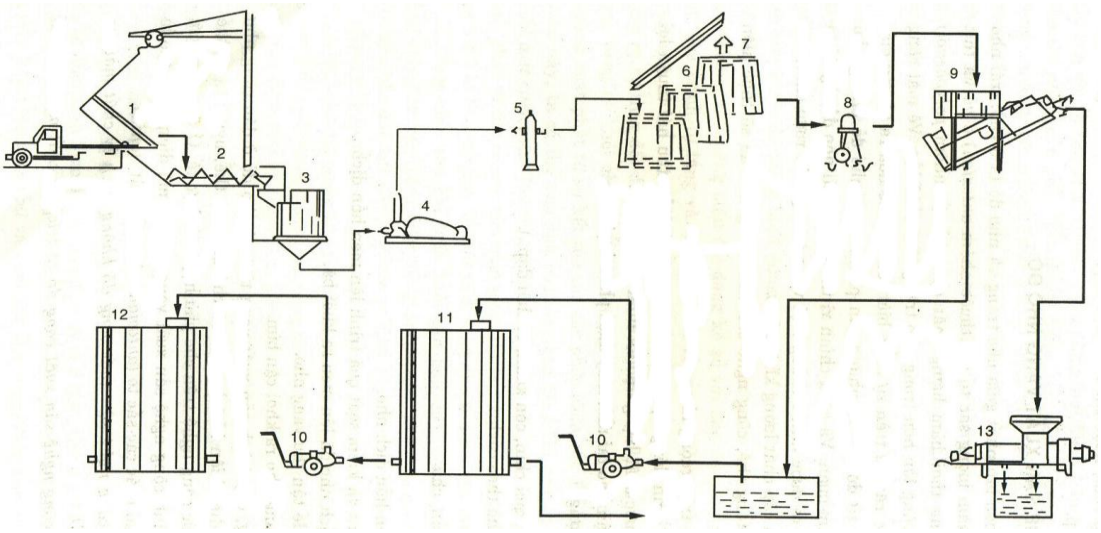
3.4.2. Thuyết minh quy trình

a) Tiếp nhận nguyên liệu

Nho phải thu hoạch đúng thời vụ, thời điểm đạt độ chín kỹ thuật. Tại thời điểm này, trái nho phải có một hàm lượng đường và acid theo một tỷ lệ cân đối thích hợp

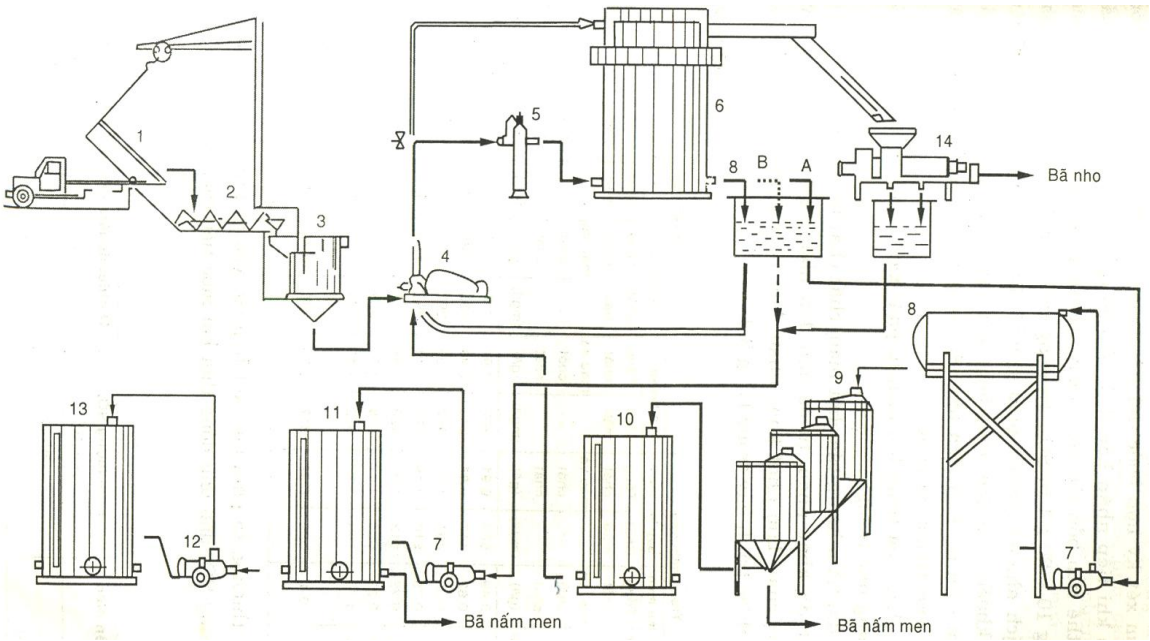
cho mục đích sản xuất vang nho. Trong quá trình thu hái nho chín bao giờ cũng có một số chùm quả bị dập. Để đảm bảo cho sản phẩm có chất lượng cao, cần phải tách và xử lý riêng những quả loại này.

Nho sau khi thu hoạch phải được vận chuyển nhanh chóng về nhà máy sản xuất rượu vang. Khi tiếp nhận nguyên liệu, tiến hành phân thành các loại: nho chín kỹ thuật, nho chưa chín tới, nho quá chín. Việc tiếp nhận theo giống rất quan trọng vì có những giống nho cho chất lượng thấp. Muốn có vang nho chất lượng cao thì cần phải có giống nho chất lượng cao.



Hình 6.30. Sơ đồ công nghệ sản xuất vang nho đỏ không trích ly chất màu và chất chát

1. Xe vận chuyển nho chín;
2. Bể chứa nguyên liệu;
3. Máy làm dập ly tâm;
4. Bơm vận chuyển;
5. Sulfit hóa dịch nho;
6. Lên men;
7. Bồn đảo trộn dịch nho;
8. Bơm vận chuyển;
9. Tách riêng dịch nho đã lên men;
10. Bơm vận chuyển;
11, 12. Bồn trữ và ủ vang chín;
13. Máy ép bã thu rượu vang nho.



Hình 6.31 . Sơ đồ công nghệ sản xuất vang nho đỏ trích ly chất màu và chất chát

1. Xe vận chuyển nho chín;
2. Bể chứa nguyên liệu;
3. Máy làm dập ly tâm;
4. Bơm vận chuyển;
5. Sulfit hóa dịch nho;
6. Trích ly chất màu và chất chát;
7, 12. Bơm vận chuyển;
8. Bồn cao vị;
9. Hệ thống bồn lên men liên tục;
10, 11, 13. Các bồn trữ rượu vang;
14. Máy ép tận thu dịch nước nho.

Mỗi giống nho riêng biệt sẽ cho một sản phẩm vang có hương vị riêng biệt và sẽ mang lại những dấu hiệu cảm quan đặc trưng. Trong trường hợp dùng kết hợp hai hay ba giống khác nhau để đưa ra một sản phẩm, có thể sản phẩm không còn giữ được dấu hiệu cảm quan đặc trưng cho từng giống nho, song về mặt hương vị thì có thể hài hòa hơn.

Nho sau khi tiếp nhận, cần phải lấy mẫu, ép tách nước nho và xác định hàm lượng đường, acid có trong nguyên liệu.

b) Nghiền, xé dập, ép

Nho sau khi được tiếp nhận cần nhanh chóng đưa sang máy xé dập để tránh kéo dài thời gian lưu giữ ở nơi tiếp nhận có thể dẫn đến tình trạng lên men tự phát, nhất là vào những ngày trời nắng. Tuỳ thuộc vào nguyên liệu nho chín và sản phẩm thuộc chất lượng loại nào mà ta chọn phương pháp xé dập trái nho thích hợp.

Với trái nho trắng cần phải chọn phương pháp nghiền, xé dập, ép sao cho thu được nhiều dịch nho nhất. Khi nghiền, xé dập nho trắng cần phải lưu ý: tránh tối đa việc băm quá nát các cuống chùm nho và trái nho, không làm dập hạt nho, hạn chế việc gia tăng chất chát trong dịch nước nho vì điều này sẽ làm giảm chất lượng sản phẩm vang nho. Phần thịt trái nho phải được xé nhuyễn vì như vậy mới thu được nhiều dịch trái nho.

Sau khi xé dập hoặc ép trái nho, dịch nho cần phải được nhanh chóng tách khỏi phần bã (cuống, vỏ, hạt nho). Quá trình phải tiến hành nhanh chóng nhằm ngăn chặn sự lên men tự phát có thể xảy ra.

Với nho đỏ hoặc hỗn hợp giữa nho đỏ với nho trắng thì không cần tách bã hoặc chỉ cần tách một phần bã.

c) Lắng trong, sulfit hoá

Với nho trắng dịch nho mới ép xong khá đục bởi những phần tử bị dập từ cuống, vỏ quả, hạt… Vì vậy, bắt buộc phải lắng để loại bỏ những cặn đi theo dịch nho. Bằng cách sulfit hoá (xông SO2) nước nho trước khi lên men vừa lắng trong nước nho, đồng thời còn ngăn chặn được việc lên men tự phát do đã loại bỏ được phần lớn vi sinh vật dại. Vi sinh vật dại chủ yếu là nấm mốc, vi khuẩn và một số nấm men sẽ được thải ra ngoài theo cặn.

Khí SO_2 tồn tại trong dịch nho ở hai dạng: 10÷20% ở dạng tự do (bisulphite hoặc dạng H_2SO_3 hòa tan) và 80÷90% ở dạng liên kết (tạo phức với đường hoặc aldehyde). Chỉ khi SO_2 ở dạng H_2SO_3 hòa tan thì mới có tác dụng ức chế vi sinh vật. Ngoài ra, SO_2 còn có tác dụng ngăn ngừa phản ứng oxy hóa một số hợp chất có trong nguyên liệu do nó tác dụng ức chế enzyme oxydase. Mặt khác H_2SO_3 có thể tác dụng với oxy tạo acid H_2SO_4. phản ứng này làm giảm hàm lượng oxy tự do trong dung dịch và hạn chế hiện tượng oxy hóa.

SO_2 có tác dụng lắng thúc đẩy quá trình lắng trong dịch nho. Theo Navarre (1994), đó là do khả năng ức chế vi sinh vật có trong nguyên liệu của SO_2 nên không xảy ra hiện tượng lên men tự nhiên dịch nho, nhờ đó mà sự kết lắng các cấu tử lơ lững trong dịch nho sẽ diễn ra nhanh và hiệu quả.

Việc xử lý nước nho với SO_2 thường được kéo dài từ 12÷24h và phải tiến hành ngay sau khi tách nước nho ra khỏi bã. Thường dùng 15÷29g SO_2 cho 100 lít nước nho, SO_2 có thể được nạp dưới dạng lỏng, nguyên chất hoặc dưới dạng dung dịch của các muối sulfit. Khi tiến hành sulfit hoá nước nho trong vòng 12÷24h những phần tử cặn sẽ từ từ lắng xuống đáy bồn, phần dịch trong sẽ ở bên trên lớp cặn. Phần cặn chia

hai lớp: Lớp cặn nhẹ nằm phía trên gồm chủ yếu các hợp chất của pectin và lớp cặn nặng nằm phía dưới gồm cuống, vỏ quả và hạt bị nho.

Dịch nho trắng sau khi sulfit hóa còn được xử lý với bentonit với mục đích để lắng hết các cặn protein lơ lững trong nước nho.

Ngoài ra khi quá trình lên men xảy ra, những bọt khí CO_2 sẽ tách ra với xu hướng đi lên trên bề mặt lên men tạo thành lớp bọt. Đồng thời, nó sẽ kéo theo những phần tử cặn của cuống, vỏ quả và hột bị dập tạo thành lớp bọt dần dần chuyển từ màu trắng sang màu nâu nhạt. Ở thời điểm lên men mạnh nhất thì lớp bọt nhiều nhất, thậm chí có thể trào ra khỏi bồn. Nhờ vậy, một phần lớp cặn được tách ra theo bọt. Trường hợp này là sự tách cặn tự nhiên.

Với trái nho đỏ thì chủ yếu là sulfit hoá để ức chế vi sinh vật dại trước khi lên men. Nếu tình trạng vệ sinh nguyên liệu tốt thì lượng SO_2 cần sử dụng là 3g/hl. Hàm lượng SO_2 có thể tăng lên 6-8g/hl nếu mật độ vi sinh vật trong nguyên liệu tăng cao

d) Lên men

* Chuẩn bị men giống: Trong sản xuất rượu vang ở quy mô trang trại hoặc công nghiệp thường dùng các nguồn giống sau:

- Giống ban đầu hay giống khởi động ở quy mô nông trại thường được lưu trữ từ các mẻ lên men truyền thống từ nhiều năm. Qua sàng lọc và tuyển chọn có được giống ban đầu tương đối thuần khiết với một hỗn hợp của chủng *Saccharomyces vini* và *Sacharomyces oviformis*. Hỗn hợp giống này được gữ ở dạng sữa đặc hoặc bánh khô ở nhiệt độ lạnh khoảng 0-2^{0}C. Trước khi sử dụng làm giống khởi động phải hoạt hóa. Hoạt hóa đơn giản nhất là nuối cấy trong môi trường nước nho có nồng độ đường 10% hoặc môi trường nước dịch quả với dịch đường malt. Nếu thấy men phát triển kém thêm vào môi trường dịch quả hỗn hợp sau: amoni sulfat: 100g/l, vitamin B1: 0,25g/l, calcium pentotenat: 0,25g/l, biotin: 0,002g/l theo tỷ lệ 0,2ml hỗn hợp cho vào 1 lít dịch quả.

- Nhân giống từ ống thuần chủng: Giống được giữ ở các ống thạch nghiêng hoặc các ống đông khô. Giống được hoạt hóa trong môi trường dịch quả như trên rồi nhân lên tăng dần 1:10… để có đủ lượng giống dùng cho sản xuất.

- Cũng có thể dùng lại giống sau thời gian lên men chính. Các tế bào nấm men lắng xuống đáy thùng được lấy ra và xử lý (giống như dùng lại giống men bia).

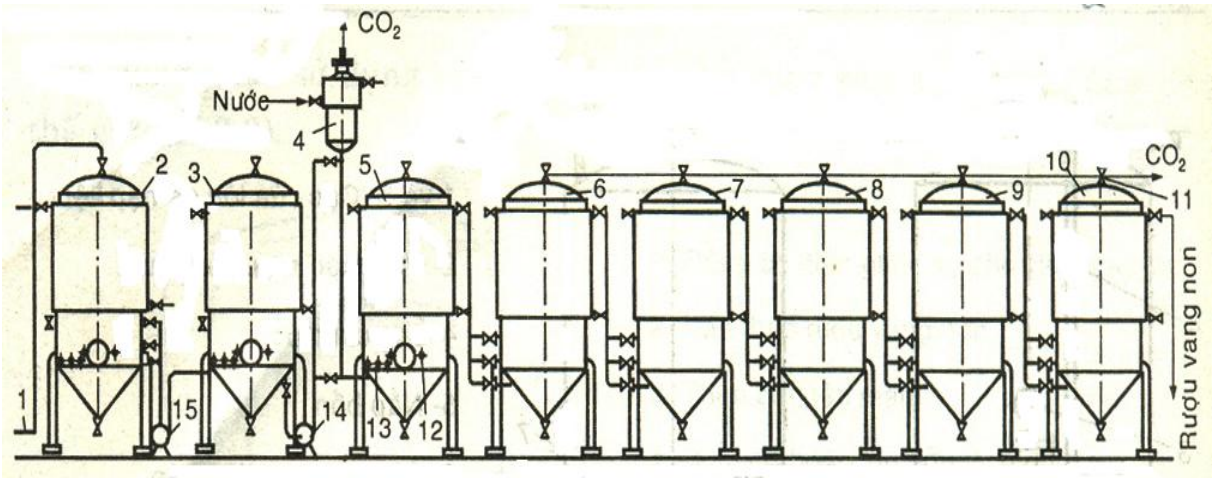
* Tiến hành lên men

- *Với nho trắng:* Sau khi được xử lý cặn dịch nước nho, cần phải bơm nhẹ nhàng phần dịch trong sang các bồn lên men tránh làm xáo động lớp cặn dưới đáy bồn. Song song với việc bơm dịch nho sang bồn lên men, cần nạp vào bồn lên men ngay một lượng polyphenol tinh khiết được hoà tan với nước nóng hoặc nước nho nóng với liều lượng 10g polyphenol trong 100 lít dịch nước nho. Polyphenol có tác dụng kết tủa những thành phần protein có trong nước nho giúp cho sự tự trong của rượu vang được dể dàng hơn. Ngoài ra polyphenol còn góp phần ngăn chặn một loại bệnh thường gặp ở rượu vang với tên gọi là *"bệnh nghèo polyphenol"* thể hiện qua hiện tượng đục của sản phẩm. Khi đã hoàn tất việc bơm dịch nho và polyphenol hoá dịch nho ở bồn lên men, ta tiếp men giống thuần khiết theo tỷ lệ 2% thể tích dịch nước nho.

Quá trình lên men có thể tiến hành ở trong các bồn gổ, bê tông cốt thép hoặc thùng kim loại với nhiều kích cỡ khác nhau. Quá trình lên men vang được tiến hành ở chế độ nhiệt độ càng ổn định tốt nhất từ 18÷22^{0}C thì chất lượng vang càng tốt. Vì vậy cần phải đạt được mục tiêu chế độ nhiệt độ tối ưu và thật ổn định.

Thông thường sau khi tiếp giống men thuần vào bồn lên men khoảng 12 giờ thì xuất hiện những dấu hiệu đầu tiên của quá trình lên men - đó là những bọt khí CO_2 bám ở quanh thành bồn lên men và lớn dần bao phủ các bề mặt. Quá trình lên men sẽ mạnh dần. Thông qua việc theo dõi nhiệt độ, lượng CO_2 thoát ra, độ dày và màu sắc của lớp bọt và nhất là tốc độ giảm dần của hàm lượng đường ta sẽ xác định được thời điểm cực đại của quá trình lên men vang. Sau đó, quá trình lên men sẽ yếu dần cho đến khi kết thúc quá trình lên men chính và bắt đầu quá trình lên men phụ. Lên men chính kéo dài 6÷10 ngày sau khi CO_2 thoát ra giảm nhiều và tiến hành hạ nhiệt độ xuống 15÷20^{0}C để lên men phụ từ 2÷6 tuần. Ở thời kỳ lên men phụ, đường sót tiếp tục được chuyển hoá thành C_2H_5OH và CO_2 dù yếu và chậm, tuỳ thuộc hàm lượng đường ban đầu trong dịch nước nho và hoạt độ của nấm men.

Sơ đồ hệ thống lên men vang nho liên tục được thể hiện ở hình 6.32.



Hình 6.32. Hệ thống bồn lên men vang nho liên tục

1. Ống dẫn dịch nho vào; 2. Bồn lắng trong dịch nho; 3. Bồn ổn định dịch nho; 4. Bình nhân men giống; 5-10. Các bồn lên men liên tục; 11. Van điều chỉnh áp suất và CO2 của hệ thống; 12. Nhiệt kế theo dõi nhiệt độ lên men; 13. Van thử mẫu; 14, 15. Bơm

Việc kéo dài thời gian lên men phụ của vang nho không phải bao giờ cũng cho kết quả tốt hơn, đôi khi lượng đường sót lại sẽ là nguồn thức ăn tốt cho vi sinh vật gây hại. Đây chính là nguyên nhân dẫn đến một số hư hỏng thường gặp ở vang. Một sản phẩm được coi là lên men tốt nếu hàm lượng đường sót nhỏ hơn 1÷2g/l.

Với nho đỏ: Các bồn lên men sau khi tiếp nhận hỗn hợp dịch nho đỏ gồm dịch nho cùng bã đầy đến 4/5 thể tích bồn lên men. Ngay lập tức phải tiến hành sulfit hoá với liều lượng 10÷20gSO_2/hl. Bơm hoàn lưu cho đến khi nhận thấy dịch nho đã chuyển sang màu sẫm tối hơn lúc ban đầu thì khi đó SO_2 đã khuếch tán đều lên hỗn hợp dịch nho. Sử dụng SO_2 nhằm mục đích ngăn chặn quá trình lên men tự phát xảy ra và thay đổi hàm lượng chất màu, chất chát trong sản phẩm vang

Sau khi sulfit hoá khoảng 2 giờ ta nạp men giống thuần khiết với tỷ lệ khoảng 2% so với thể tích hỗn dịch nho lúc đầu. Lúc đầu, các phần tử bã (vỏ, cuống dập, hạt..) nặng hơn chúng có xu hướng nằm ở dưới đáy bồn lên men hoặc lơ lững trong lớp dịch nho nhưng khi quá trình lên men xảy ra thì các bọt khí CO_2 sinh ra sẽ bám vào các phần tử bã. Mật độ bọt càng ngày càng dày dần dần các phần tử bã sẽ nhẹ hơn và từ từ nổi lên trên bề mặt bồn lên men tạo thành một lớp bã dày, ta thường gọi là "nón", lớp bã "nón" này có phần dưới ngập vào dịch nho, phần trên tiếp xúc với không khí. Điều này dẫn đến hoạt động của nấm men ở phần trên bồn thuận lợi hơn, quá trình lên men nhanh hơn ở dưới bồn và nhiệt độ cũng cao hơn ở vùng dưới. Vì vậy hằng ngày phải

tiến hành đảo lớp "nón" này từ 1÷3 lần để đảm bảo cho quá trình xảy ra đồng đều, cũng như tạo cơ hội tốt cho các chất màu, chất chát tập trung ở lớp "nón" được trích ly ra dịch lên men.

* Kiểm soát quá trình lên men

Việc kiểm soát quá trình lên men vang luôn được đặt ra một cách nghiêm túc. Trước hết, chế độ kiểm soát phải chặt chẽ thường xuyên và liên tục. Chế độ kiểm soát phải được tiến hành hàng ngày mỗi ngày hai lần vào buổi sáng và buổi chiều bằng phương tiện kiểm soát chuyên dụng là thước đo tỷ trọng có kèm theo nhiệt kế (gọi là phù kế) để theo dõi hàm lượng đường lên men và nhiệt độ dịch lên men trong từng bồn.

Kết quả được ghi lại trên một phiếu theo dõi cho từng bồn. Căn cứ vào số liệu đo được ta theo dõi và biết được diễn biến trong từng bồn lên men để có thể điều chỉnh, kiểm soát quá trình lên men một cách hiệu quả. Tốt nhất nên khống chế nhiệt độ lên men ổn định từ 18÷22^{0}C. Song song với việc theo dõi 2 thông số trên, cần lấy mẫu để đánh giá chất lượng nấm men giống (mật độ nấm men trong 1ml dịch, tỷ lệ tế bào sống, tỷ lệ nấm men đang nảy chồi) và mức độ tạp nhiễm. Thông qua việc kiểm tra vi sinh vật, theo dõi được thực trạng hoạt động của nấm men; Đồng thời sớm phát hiện những dấu hiệu tiêu cực do vi sinh vật gây hại gây ra, để sớm có phương pháp điều chỉnh thích hợp.

Việc xác định acid bay hơi cũng có thể cho ta biết tình trạng lên men trong bồn có bình thường không. Hàm lượng acid bay hơi cao là dấu hiệu cho biết trong bồn lên men đã có nguy cơ hư hỏng do vi sinh vật; Cần có biện pháp xử lý ngay bằng cách sulfit hóa bổ sung, sau đó lại bổ sung thêm men giống thuần khiết vào.

* Sản phẩm tạo thành trong quá trình lên men: Đây là những chất do nấm men tạo ra trong quá trình sống và được giải phóng vào môi trường. Trong lên men có hai sản phẩm chính là ethanolvà CO_2. Ngoài ra còn có các sản phẩm phụ như: glycerin, các acid bay hơi, aceton, ester…

- Glycerin: được tạo thành trong lên men khi acetaldehyt liên kết với bisulfit natri hoặc lên men trong môi trường kiềm. Glycerin tạo thành mạnh mẽ từ khi bắt đầu lên men. Nhờ có vị ngọt và sánh như dầu glycerin đóng vai trò nhất định trong sự làm hài hòa vị của vang. Hàm lượng của glycerin có trong vang từ 7÷14g/l. Sự khác nhau về hàm lượng chất này phụ thuộc vào công nghệ, nhiệt độ lên men, mức độ sulfit hóa và đặc biệt là chủng nấm men.

- Acetoin và diacetyl: đều có ảnh hưởng đến chất lượng của vang mặc dù chúng tạo ra trong vang không lớn lắm: acetoin 2,0÷84mg/l và diacetyl 0,1÷1,8mg/l. Sự có mặc của chúng ở trong vang ảnh hưởng lớn đến hương vị và gây sự biến đổi sinh hóa. Diacetyl nồng độ thấp cho vang mùi xác định nhưng lớn hơn 1mg/l sẽ cho vang tông mùi vị chua oxy hóa. Diacetyl dễ bị khử thành acetoin và cuối cùng thành 2,3 butylenglycol. Sự tạo thành acetoin và diacetyl có quan hệ tương tác với sự sulfit hóa dịch quả. Hàm lượng acetoin trong dịch quả không sulfit hóa vượt trội gấp hai lần so với dịch quả được sulfit hóa. Ngoài ra số lượng diacetyl, acetoin và 2,3 butylen glycol được tạo thành trong lên men phụ thuộc vào nồng độ đường ban đầu (nồng độ càng cao càng tích tụ nhiều diacetyl) và chủng nấm men dùng để lên men.

- Aldehyt: hay gặp ở vang là aldehyt acetic, propionic, butyric… Các aldehyt này có mùi rất gắt khi không pha loãng. Khi pha loãng có mùi dễ chịu của tông mùi quả tự nhiên (trừ aldehyt acetic). Aldehyt acetic có mùi khó chịu. Lên men rượu vang trong

điều kiện có oxy không khí sẽ oxy hóa ethanoltạo thành aldehyt acetic.

- Các acid: Các acid hay gặp ở vang là: acid acetic, propionic, butyric, capronic, valeric, lactic, citric… Các acid bay hơi được tích tụ chủ yếu ở giai đoạn đầu lên men. Acid acetic tạo thành trong giai đoạn đầu lên men nhưng giai đoạn sau giảm đáng kể do một số nấm men có thể dùng acid acetic làm cơ chất dinh dưỡng. Acid lactic thường xuyên có mặt trong lên men vang và khoảng 5% đường tiêu hao để sinh tổng hợp loại acid này. Sự tạo thành các acid phụ thuộc vào chủng nấm men và điều kiện lên men.

- Các ester: được tạo thành trong lên men với một lượng đáng kể và chúng là những hợp chất quan trong hình thành hương vị của vang. Trong số này có ester etylacetat là vượt trội hơn cả về số lượng. Nó có mùi quả tự nhiên. Sự tạo thành các ester phụ thuộc vào chủng nấm men và điều kiện lên men hiếu khí hay kỵ khí.

- Lipid: là hỗn hợp các chất béo thực (ester của acid béo và glycerin), sáp (ester của acid béo và rượu bậc cao) và phospholipid (chứa acid béo, glycerin, phosphat vô cơ và amin hoặc acid amin). Lipid có trong vang do hai con đường: từ quả và từ chủng nấm men. Giống quả có chất béo thì trong lên men chất béo sẽ chuyển sang vang non. Trong vang hàm lượng chất béo cao hơn ở dịch quả do trong lên men các chủng nấm men sinh tổng hợp ra chất béo. Tùy thuộc vào giống nho sử dụng và chủng nấm men mà hàm lượng chất béo trong vang khác nhau. Ngoài ra còn phụ thuộc điều kiện lên men và tàng trữ vang.

- Các rượu bậc cao: được tạo thành trong pha sinh trưởng của nấm men. Quá trình này là kết quả sự trao đổi chất liên quan đến sinh trưởng và phát triển của nấm men. Bổ sung muối amoni vào môi trường nghèo nitơ sự tạo thành rượu bậc cao giảm 1,4÷1,7 lần. Khi thêm dư các acid amin như α-alanin, lơxin, valin… vào môi trường lên men không chỉ thúc đẩy tạo thành rượu tương ứng với cấu trúc của acid amin mà còn tạo ra hàng loạt rượu bậc cao khác. Trong điều kiện dư oxy của không khí sẽ tạo ra hàm lượng chung các rượu bậc cao lớn hơn ở điều kiện kỵ khí và dưới áp lực CO_2. Lên men dưới áp suất CO_2 sẽ giảm được hàm lượng rượu bậc cao đặc biệt là isobutylic và amylic nâng cao được hàm lượng rượu β-phenyletylic. Điều này nâng cao chất lượng cho vang vì rượu isobutylic và amylic có ảnh hưởng xấu đến mùi vị của vang.

- Sulfuahydro (H_2S): có mùi khó chịu và có ở trong vang với hàm lượng vượt quá 0,005mg/l làm giảm chất lượng cảm quan. Mức độ tạo H_2S trong lên men phụ thuộc chủng nấm men sử dụng và nhiệt độ lên men. Nấm men có thể chuyển S và SO_2 thành H_2S. Các chất metionin, acid pentotenic, vitamin B_6 lại kìm hãm sự tích tụ H_2S. Có thể dùng chủng nấm men có khả năng và không có khử sulfat trong lên men sẽ làm giảm được nồng độ H_2S tạo thành trong môi trường.

e) Tách cặn

- *Với vang nho trắng*: Khi quy trình lên men kết thúc, vang nho trong bình dần dần chuyển sang trạng thái tĩnh. Sự xáo trộn yếu dần, các phần tử cặn lơ lửng không tan sẽ dần dần kết lắng hình thành một lớp rất mịn gọi là cặn bùn. Thời điểm tiến hành tách cặn bùn tốt nhất là đường lên men đã được nấm men sử dụng gần hết, thông qua đo nồng độ chất tan.

Trước lúc tiến hành tách vang nho ra khỏi cặn bùn, cần kiểm tra xem quá trình tự lắng và tự trong của vang nho đã thực sự kết thúc chưa. Điều này thường được thực hiện bằng cách: Lấy một cốc vang từ trong bồn ra, đặt ở nơi có nhiều ánh sáng và nhiệt độ hơi cao hơn nhiệt độ trong phòng (khoảng $1 \div 2^0C$), để tự do như vậy trong 48 giờ,

sau đó quan sát độ trong, màu sắc và thử mùi vị của vang. Nếu màu không có những biến đổi đáng kể so với ban đầu, coi như chấm dứt quá trình tự lắng và tự trong của vang nho. Trường hợp ngược lại, vang nho có màu nhạt hơn hoặc sẫm hơn ban đầu; Mùi vị cũng có sự thay đổi đáng kể thì ta phải xử lý vang nho trước khi tách vang ra khỏi cặn bùn. Hiện tượng đổi màu của vang nho thường xuất phát từ sự kết tủa của các phức sắt. Để loại bỏ nguyên nhân này, ta có thể bỏ vào bồn lên men 50g acid tartric/hl hoặc 30g acid citric/1hl, sau đó mới tiến hành tách ra khỏi cặn bùn. Nếu nguyên nhân xuất phát từ các enzyme của nấm men thì ta tiến hành sunfit hoá bổ sung 3÷5gSO_2/1hl, rồi sau đó mới tách vang nho ra khỏi cặn bùn.

- *Với vang nho đỏ*: sau khi lên men chính kết thúc ta tách vang non ra khỏi bã. Việc tách vang non ra khỏi bã sớm hay muộn tuỳ thuộc vào từng trường hợp cụ thể. Việc tách muộn có lợi là làm tăng chất hoà tan trong rượu vang non nhưng đồng thời cũng tăng vị chát đắng thô của cuống trong vang non làm giảm chất lượng cảm quan của rượu vang. Vì tách càng chậm vang non ra khỏi bã càng thuận lợi cho việc oxy hoá các chất màu. Vì vậy, xu hướng sau khi kết thúc quá trình lên men chính đối với vang nho đỏ ta nhanh chóng tách vang non ra khỏi bã càng sớm càng tốt. Nhiệt độ lên men càng cao thì các diễn biến của quá trình xảy ra trong bồn lên men càng mạnh. Vì vậy, càng phải sớm thực hiện việc tách bã ra khỏi vang non. Ngược lại, nhiệt độ càng thấp thì ta cần tiến hành chậm hơn.

f) Tàng trữ

* Mục đích: Sau khi tách cặn vang trong thu được sẽ đem đi tàng trữ hay còn gọi là quá trình lên men phụ. Quá trình tàng trữ là quá trình hoàn thiện chất lượng vang. Trong quá trình tàng trữ xảy ra quá trình lắng trong những phần tử gây đục vang, làm tăng thêm chất thơm, làm giảm độ chua và lên men lượng đường còn sót để tăng thêm độ rượu. Sau quá trình này, chất lượng vang nho thay đổi hẳn về màu sắc, độ trong, mùi thơm.

* Các biến đổi xảy ra khi tàng trữ:

- Biến đổi sinh học: Trong quá trình tàng trữ, nấm men sẽ tiếp tục quá trình lên men nhưng với tốc độ yếu do nồng độ cơ chất thấp, nhiệt độ thấp và nồng độ các chất ức chế (ethanol, acid hữu cơ, CO_2) tăng cao. Ngoài ra trong một số trường hợp hệ vi khuẩn lactic, đặc biệt là nhóm vi khuẩn lên men malolactic sẽ tồn tạo và lên men trong vang non.

- Biến đổi hóa sinh và hóa học: Đường còn sót lại sẽ lên men thành ethanolvà CO_2 nhờ hệ enzyme của nấm men; Các quá trình trao đổi chất của nấm men vang sẽ tạo ra các sản phẩm phụ tương tự như quá trình lên men bia; Một phần acid malic sẽ được chuyển hóa thành acid lactic và CO_2 nhờ hệ vi khuẩn lên men malolactic, từ đó cải thiện mùi vị của sản phẩm; Aldehyde và keton sẽ tham gia phản ứng khử, ngoài ra chúng còn tham gia tạo phức với anthocyanes; Rượu và acid tham gia tạo ester ảnh hưởng tốt đến hương sản phẩm của rượu vang; Tanin sẽ tham gia phản ứng tạo phức với protein và làm giảm vị chát của vang.

- Hóa lý: Một số cấu tử dễ bay hơi trong dịch lên men bị tổn thất, đặc biệt khi lên men phụ trong thùng gỗ sồi; Một số hợp chất keo bị đông tụ, nhờ đó mà độ trong của vang được cải thiện; Một số chất trong gỗ sồi như tannin gallic, chất mùi, một số chất khoáng… sẽ được trích ly vào rượu.

- Vật lý: Tế bào nấm men và và một số cấu tử lơ lững sẽ lắng xuống đáy thùng tàng trữ giúp rượu vang tong hơn.

* Tiến hành: Việc tàng trữ được tiến hành trong một khoảng thời gian nhất định nhưng thời gian tối thiểu là 6 tháng và nhiệt độ dưới 15^0C. Thường trong quá trình này phải tránh ánh sáng và không khí để tránh quá trình oxy hoá gây biến đổi màu và độ trong của vang nho. Rượu vang được tàng trữ trong bồn gỗ nhằm kết tủa các chất gây đục, gây đắng từ vỏ nho; Đồng thời tạo thêm chất màu và chất thơm cho vang nho. Trong quá trình tàng trữ định kỳ tách bỏ phần cặn ở đáy thiết bị tàng trữ vang non bằng cách bơm phần dịch ở phía trên vào thiết bị tàng trữ khác và châm thêm rượu vang định kỳ vào thiết bị tàng trữ để giảm đi khoảng trống ở phía trên bề mặt dịch.

i) Làm trong

Độ trong là một trong những yêu cầu hàng đầu về chất lượng rượu vang. Nó là yếu tố quan trọng khi tiếp xúc lần đầu tiên với rượu vang và là yếu tố quyết định thỏa mãn thị giác của khách hàng.

Mục đích của quá trình làm trong rượu vang tách các cặn mịn, pectin, protein… có trong rượu vang sau giai đoạn tàng trữ giúp vang ổn định về thành phần hóa học cũng như hoàn thiện các tính chất cảm quan để có được sản phẩm vang đúng với yêu cầu kỹ thuật.

Để làm trong rượu vang có thể sử dụng phương pháp lắng hoặc lọc. Để lọc vang có thể sử dụng thiết bị lọc ống hoặc máy lọc khung bản với sự hỗ trợ của bột trợ lọc diatomide để sản phẩm đạt độ trong theo yêu cầu. Quá trình lọc nên thực hiện trong điều kiện kín để hạn chế sự xâm nhập vi sinh vật từ bên ngoài vào sản phẩm.

j) Chiết rót và đóng chai

Sản phẩm sẽ được chiết rót vào các bao bì thuỷ tinh với những hình dạng và dung tích khác nhau đáp ứng yêu cầu về thị hiếu người tiêu dùng. Trong quá trình rót sản phẩm, đóng nắp và dán nhãn không xảy ra những biến đổi đáng kể trong vang. Yêu cầu là rót trong điều kiện kín để hạn chế sự xâm nhập của vi sinh vật.

3.4.3. Các chỉ tiêu chất lượng của rượu vang

a) Chỉ tiêu cảm quan

Các chỉ tiêu cảm quan của rượu vang được trình bày ở bảng 6.6

Bảng 6.6. Chỉ tiêu hóa lý của rượu vang (TCVN 7045-2002)

Tên chỉ tiêu	*Yêu cầu*
1. Màu sắc	Đặc trưng cho từng loại vang
2. Mùi	Thơm đặc trưng của sản phẩm lên men, không có mùi lạ
3. Vị	Chua chát, có hoặc không có vị ngọt, không có vị lạ
4. Trạng thái	Trong không vẫn đục

b) Các chỉ tiêu hoá lý

Các chỉ tiêu hóa lý của rượu vang được trình bày ở bảng 6.7

Bảng 6.7. Chỉ tiêu hóa lý của rượu vang (TCVN 7045-2002)

Tên chỉ tiêu	*Mức*
1. Hàm lượng ethanol ở 20^0C, %(V/V)	6÷18
2. Hàm lượng rượu metylic trong 1 lít ethanol ở 100^0C, g/l, không lớn hơn	3,0

Tên chỉ tiêu	*Mức*
3. Hàm lượng acid bay hơi, tính theo acid acetic, g/l, không lớn hơn	1,5
4. Hàm lượng SO_2, mg/l, không lớn hơn	350
3. Xianua và phức xianua, mg/l, không lớn hơn	0,1
4. Hàm lượng CO_2	Theo tiêu chuẩn được công bố của nhà sản xuất

c) Các chỉ tiêu vi sinh (TCVN 7045-2002)

Các chỉ tiêu về vi sinh vật của rượu vang được trình bày ở bảng 6.8

Bảng 6.8. Chỉ tiêu vi sinh vật của rượu vang (TCVN 7045-2002)

Chỉ tiêu	*Giới hạn tối đa*
1. Tổng số vi sinh vật hiếu khí, số khuẩn lạc trong 1ml sản phẩm	10^2
2. *Coliform,* số vi khuẩn trong 1ml sản phẩm	10
3. *Escheria Coli,* số vi khuẩn trong 1ml sản phẩm	0
4. *Staphylococcus aureus*	0
5. *Clostridium perfringene*	0
6. Tổng số nấm men, nấm mốc, số khuẩn lạc trong 1ml sản phẩm	10

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày vai trò của các nguyên liệu sử dụng trong sản xuất bia.
2. Nêu đặc điểm của các nhóm nấm men bia và yêu cầu của nấm men dùng trong sản xuất bia.
3. Mô tả quy trình và các bước tiến hành trong công nghệ sản xuất bia.
4. Quá trình nấu bia nên dừng ở những khoảng nhiệt độ nào? Vì sao?
5. Nấu bia trong trường hợp sử dụng nguyên liệu thay thế nhiều cần lưu ý những vấn đề gì?
6. Diacetyl có đặc điểm gì và nó ảnh hưởng thế nào đến chất lượng của bia? Làm thế nào để hạn chế hàm lượng diacetyl trong bia thành phẩm?
7. Thế nào là một sản phẩm bia đạt yêu cầu chất lượng?
8. Hãy nêu yêu cầu và đặc điểm của những nguyên liệu thường hay sử dụng để sản xuất ethanol.
9. Nấm men trong sản xuất cồn cần có những yêu cầu gì? Làm thế nào để có được chủng nấm men có được những yêu cầu trên?
10. Trình bày quy trình sản xuất ethanol từ nguyên liệu tinh bột và mật rỉ.
11. So sánh công nghệ sản xuất vang nho đỏ và vang nho trắng.
12. Phân biệt được các chủng vi sinh vật để sản xuất bia, rượu và rượu vang.
13. So sánh được công nghệ sản xuất bia, ethanol và rượu vang.
14. Bài toán: Tính lượng nước cần dùng cho vào $30m^3$ dịch rỉ đường 50^0Bx (d = 1,078) để được rỉ đường có nồng độ 14^0Bx. Thể tích dịch rỉ đường 14^0Bx thu được là bao nhiêu?
15. Bài toán: Cần có 50 m^3 dịch rỉ đường 16^oBx (d = 1,028) để lên men. Xác định lượng rỉ đường 85^oBx và lượng nước cần dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Bùi Ái (2005), *Công nghệ lên men ứng dụng trong công nghệ thực phẩm*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

[2]. GS. TS. Nguyễn Thị Hiền (2007), *Khoa học – Công nghệ malt và bia*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

[3]. PGS. TS. Hoàng Đình Hoà (2002), Công nghệ sản xuất malt và bia*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.*

[4]. PGS. TS. Nguyễn Đức Lượng (2006), *Công nghệ vi sinh vật*, Tập 1, *Cơ sở vi sinh vật công nghiệp*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

[5]. PGS. TS. Nguyễn Đức Lượng (2002), *Công nghệ vi sinh vật*, Tập 2, *Vi sinh vật công nghiệp*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

[6]. Lê Văn Việt Mẫn (chủ biên), Lại Quốc Đạt, Nguyễn Thị Hiền, Tôn Nữ Nguyệt Minh, Trần Thị Thu Trà (2010), *Công nghệ chế biến thực phẩm,* Nhà xuất bản Đại học quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

[7]. Phan Bích Ngọc (1990), *Công nghệ lên men*, Nhà xuất bản Đà Nẵng.

[8]. PGS. TS. Lương Đức Phẩm (2005), Nấm men công ngh ịệp*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.*

[9]. PGS, TS. Nguyễn Đình Thưởng, TS. Nguyễn Thanh Hằng (2000), *Công nghệ sản xuất và kiểm tra ethanol,* Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

[10]. GS. TS. Phạm Xuân Vượng (2007), *Giáo trình công nghệ sản xuất rượu bia*, Nhà xuất bản Hà Nội.

[11]. Wolfgang Kunze (2004), *Technology brewing and malting*, VLB, Berlin, Germany.

Chương 7. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT MỘT SỐ THỰC PHẨM LÊN MEN KHÁC

Trong các loại gia vị thường được sử dụng trong chế biến thực phẩm, nếu mì chính là một gia vị thường được sử dụng để làm tăng vị ngọt đậm đà của các món ăn thì giấm được sử dụng như là một gia vị tạo vị chua trong các món gỏi, trộn. Ngoài ra giấm còn dùng để chế biến các sản phẩm rau quả dầm giấm hoặc sử dụng trong bảo quản một số nguyên liệu. Giấm và sản phẩm mì chính lên men đều là những sản phẩm lên men bởi vi khuẩn với nguồn nguyên liệu tinh bột và đường để tạo ra các sản phẩm là những acid hữu cơ.

Mặt khác, nếu xem xét về bản chất của quá trình, sản xuất mì chính là quá trình sinh tổng hợp acid glutamic dưới tác dụng của vi khuẩn *Corynebacterium Glutanicum* còn sản phẩm thạch dừa là quá trình sinh tổng hợp cellulose dưới tác dụng của vi khuẩn *Acetobacter Xylinum*.

Vì vậy, xét cho cùng thì cả ba sản phẩm mì chính, giấm và thạch dừa đều được tạo thành từ quá trình lên men của các vi khuẩn trên các môi trường có chứa đường. Trong nội dung của chương này sẽ lần lượt đề cập đến công nghệ sản xuất của ba sản phẩm nói trên.

1. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT MÌ CHÍNH

Mì chính hay còn gọi là bột ngọt, nó là một muối của acid glutamic và nguyên tố natri, có tên tiếng Anh là mono sodium glutamate, hay được viết tắt là MSG. Tên thường gọi glutamat natri. Glutamate natri đóng vai trò đặc biệt trong thực phẩm vì nó có vị đặc trưng, tạo vị hài hòa cho thực phẩm. Nó là chất điều vị có giá trị trong công nghiệp thực phẩm, là phụ gia được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm chế biến khác nhau. Trong y học acid glutamic được coi như là chất bổ não, dùng để điều trị một số bệnh suy nhược thần kinh, chống mệt mỏi và mất trí nhớ, đau đầu…

Hiện nay trên thế giới có 4 phương pháp cơ bản sản xuất acid glutamic để từ đó tạo ra mì chính là: phương pháp tổng hợp hóa học, phương pháp thủy phân, phương pháp lên men và phương pháp kết hợp. Trong đó 2 phương pháp chính để sản xuất mì chính là phương pháp thủy phân và phương pháp lên men bởi vi khuẩn.

- *Phương pháp thủy phân:* Thủy phân các nguồn nguyên liệu protein giàu acid glutamic tạo ra hỗn hợp các acid amin dưới tác dụng của acid hoặc enzyme. Sau đó tách acid glutamic ra để sản xuất mì chính.

- *Phương pháp lên men:* Dùng các vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp acid glutamic từ các nguồn glucid và đạm vô cơ tạo ra acid glutamic và từ đó sản xuất ra mì chính.

Phương pháp thủy phân có nhược điểm là sử dụng nguồn nguyên liệu giàu protein hiếm và đắt, cần nhiều hóa chất và các thiết bị chống ăn mòn, hiệu suất thấp và giá thành cao. Ngày nay sản phẩm mì chính đã được sản xuất hoàn toàn theo phương pháp lên men trên khắp thế giới do khắc phục được các nhược điểm của phương pháp thủy phân. Tuy nhiên, mì chính dù sản xuất theo phương pháp nào cũng thường tuân theo một số tiêu chuẩn sau:

- Mì chính chứa không ít hơn 99% glutamate natri tinh khiết;
- Độ ẩm (trừ nước kết tinh) không được cao hơn 0,5%;
- Thành phần NaCl không được quá 0,5%;

- Các tạp chất còn lại không chứa Asen, kim loại và hợp chất calcium.

1.1. Các tính chất của mì chính

Mì chính có công thức hóa học: $C_5H_8NO_4Na.H_2O$

Công thức cấu tạo:

$$\begin{array}{l} CHOOC - CH_2 - CH_2 - \underset{\underset{CH_2}{|}}{CH} - COONa.H_2O \end{array}$$

Mì chính hay glutamat natri thường ở dạng bột trắng hoặc tinh thể hình kim óng ánh, kích thước tùy theo điều kiện khống chế khi kết tinh. Mì chính thuần độ 99%, tinh thể hình khối 1÷2 mm màu trong suốt, dễ dàng hòa tan trong nước, và không hòa tan trong cồn, có vị Umami giúp kích thích vị giác. Vị của mì chính có thể nhận ra rõ nhất trong khoảng pH = 6,0÷8,0.

Mì chính có khối lượng phân tử là 187, nhiệt độ nóng chảy 195°C. Khi tiếp xúc với nhiệt độ cao (trên 300°C) trong thời gian dài glutamat natri dễ bị phân hủy thành các chất khác làm mất đi tính chất ban đầu và vị ngọt của nó.

Mì chính có 2 dạng đồng phân quang học: dạng D và L. Dạng đồng phân L của mì chính có mùi thơm ngon và vị ngọt hơn dạng đồng phân D, vì vậy trong quá trình sản xuất cần hạn chế tạo thành dạng D và tạo điều kiện tạo thành dạng L.

1.2. Nguyên liệu sản xuất mì chính

Nguyên liệu trong sản xuất mì chính phụ thuộc vào phương pháp sản xuất.

1.2.1. Nguyên liệu sản xuất mì chính theo phương pháp thủy phân

Nguyên liệu sản xuất mì chính theo phương pháp thủy phân là các nguyên liệu hoặc phế liệu có chứa protein. Các nguyên liệu phổ biến hơn cả là gluten của lúa mì và bắp, phế liệu trong quá trình sản xuất tinh bột, khô đậu nành, phế liệu trong sản xuất đường củ cải v.v…Các dạng phế liệu này có thể sử dụng dưới dạng tươi hoặc khô.

1.2.2. Nguyên liệu sản xuất mì chính theo phương pháp lên men

Nguyên liệu sản xuất mì chính theo phương pháp lên men chủ yếu là dịch có đường, rỉ đường, hoặc các nguồn nguyên liệu tinh bột đã qua giai đoạn đường hóa. Nguyên liệu tinh bột được sử dụng nhiều nhất hiện nay là tinh bột sắn.

a) Tinh bột sắn

Tinh bột sắn được chế biến từ củ sắn, có thành phần tinh bột chiếm khoảng 83÷88% với tỉ lệ amylopectin và amylo là 4:1, nhiệt độ hồ hóa 60÷80°C.

Để sử dụng làm nguồn nguyên liệu cho sản xuất mì chính, tinh bột sắn phải được chuyển hóa thành đường glucose dưới tác dụng của acid như: HCl, H_2SO_4 hoặc dưới tác dụng của enzyme amylase.

b) Rỉ đường mía

Rỉ đường mía được thu nhận sau khi ly tâm tách đường kết tinh trong quá trình sản xuất đường từ cây mía. Rỉ đường mía chứa 62% đường gồm các loại: đường lên men được chiếm 57÷59% (saccharose, glucose, fructose) và khoảng 3÷5% đường không lên men được. Trong rỉ đường mía còn có một lượng các chất phi đường chiếm tỉ lệ 10% và 20% nước. Ngoài ra, rỉ đường mía còn chứa một ít các nguyên tố kim loại như: K, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, B, Co, Mo…và giàu các chất sinh trưởng như: acid pantotenic, nicotinic, folic, vitamin B1,B2, đặc biệt là biotin.

Trong rỉ đường mía có chứa nhiều vi sinh vật tạp nhiễm vì vậy khi sử dụng rỉ đường làm nguyên liệu sản xuất mì chính cần có một chế độ thanh trùng nghiêm ngặt

để loại bỏ các vi sinh vật trước khi đưa vào lên men.

1.3. Sản xuất mì chính bằng phương pháp thủy phân

Phương pháp này thường sử dụng acid làm tác nhân thủy phân nguồn nguyên liệu chứa protein thành một hỗn hợp acid amin, từ đó tách acid glutamic ra để sản xuất mì chính.

Quá trình sản xuất mì chính từ nguyên liệu gluten bột mì theo phương pháp thủy phân được mô tả như sau:

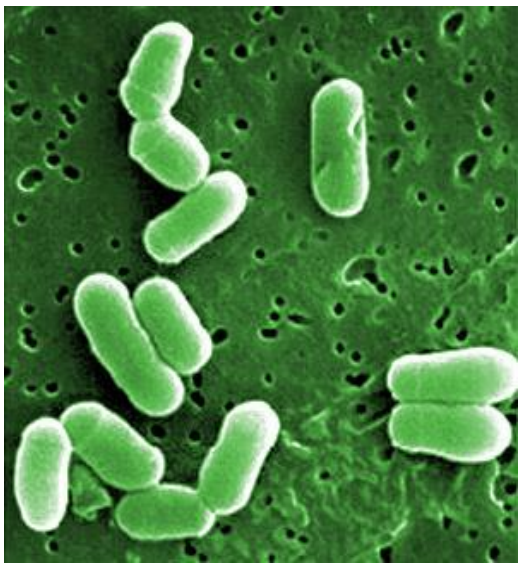
Gluten bột mì được thủy phân thành các acid amin dưới tác dụng của acid HCl trong điều kiện nhiệt độ 150°C. Sau đó được lọc tách cặn để thu dịch lọc, cô đặc dịch lọc và kết tinh hydroclorat glutamic natri ($C_5H_{10}NO_4Cl$). Các hạt tinh thể này sẽ được tách riêng và hòa tan trong nước. Trung hòa dung dịch bằng Na_2CO_3 cho tới khi đạt pH = 3,2 (pH đẳng điện), ở pH này tinh thể acid glutamic sẽ kết tinh ra khỏi dung dịch và được tách riêng bằng phương pháp ly tâm. Pha loãng và kết tinh lần 2 với dung dịch Na_2CO_3 ở pH = 5,7÷7,0. Dùng than hoạt tính và Na_2CO_3 để khử màu và kết tủa các tạp chất. Tiến hành lọc tách tạp chất, dịch lọc được cô đặc bằng phương pháp bay hơi chân không sau đó ly tâm tách nước để thu được mì chính dạng ẩm. Sấy khô sản phẩm và thu được tinh thể mì chính tinh khiết. Hiệu suất thu hồi mì chính tùy thuộc vào loại nguyên liệu sử dụng, đối với bột mì hiệu suất thu hồi đạt khoảng 15÷25%, còn đối với đậu nành thì hiệu suất thu hồi thấp hơn rất nhiều chỉ đạt khoảng 4÷7%.

1.4. Sản xuất mì chính bằng phương pháp lên men

Khác với phương pháp thủy phân, phương pháp lên men dựa vào khả năng sinh tổng hợp acid glutamic của một số loài vi sinh vật với sự có mặt của NH_3. Từ acid glutamic sẽ sản xuất ra mì chính. Phương pháp này được ứng dụng trong một số nhà máy tại Việt Nam như: VeDan, Ajino Moto, Việt Trì, Thiên Hương…

1.4.1. Vi sinh vật lên men

Vi sinh vật thường được dùng trong phương pháp lên men để sản xuất mì chính là vi khuẩn *Corynebacterium Glutanicum* (hình 7.1), *Micrococus glutamicus* và một số chủng vi khuẩn thuộc giống *Brevibacterium*; nhưng chủ yếu nhất là chủng *Corynebacterium Glutanicum*. Những vi khuẩn này có hình cầu đến que ngắn, gram dương, không tạo bào tử, không chuyển động, hiếu khí. Chúng thuộc nhóm có yêu cầu dinh dưỡng đặc biệt được gọi là dị dưỡng chất sinh trưởng, hoặc trợ dưỡng (auxotropbe). Cụ thể là các vi khuẩn lên men acid glutamic đều cần thiết có biotin trong môi trường lên men.



Hình 7.1. Corynebacterium Glutanicum

1.4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men

a) Nồng độ Biotin

Biotin là chất điều hòa sinh trưởng có vai trò đặc biệt quan trọng trong quá trình lên men acid glutamic. Biotin quyết định sự tăng trưởng tế bào, quyết định cấu trúc

màng tế bào, cho phép acid glutamic thẩm thấu ra ngoài môi trường hay không và có vai trò quan trọng trong cơ chế oxy hóa cơ chất tạo nên acid glutamic. Biotin có thể được cung cấp vào môi trường lên men dưới dạng tinh khiết hay qua các nguyên liệu giàu biotin như cao bắp, rỉ đường.

Trong môi trường đủ biotin, vi khuẩn sinh trưởng vừa phải, lên men tốt và tạo được nhiều acid glutamic. Khi thừa biotin, vi khuẩn sinh trưởng rất mạnh mẽ, tiêu hao đường nhanh, sinh rất ít acid glutamic nhưng lại sản sinh ra nhiều acid lactic, α-xetoglutaric, succinic, aspartic và alanin. Khi thiếu biotin, vi khuẩn sinh trưởng và tạo acid glutamic kém.

Nồng độ biotin tối ưu cho quá trình tạo acid glutamic thay đổi theo nguồn cơ chất, nồng độ cơ chất trong môi trường và phân biệt cho từng loại giống. Nói chung nồng độ biotin thường nằm trong khoảng từ 2 đến 5 µg/l môi trường. Cá biệt có giống cần đến 10µg/l. Khi dùng glucose với nồng độ 10% làm cơ chất thì nồng độ biotin tối ưu là 3µg/l. Nếu hạ thấp nồng độ glucose thì nồng độ biotin tối ưu cũng giảm xuống.

b) Nồng độ oxy hòa tan

Vi khuẩn tham gia trong quá trình lên men tạo acid glutamic là loại rất cần oxy hòa tan trong môi trường để sinh trưởng và tích lũy acid glutamic. Nhu cầu oxy cho từng giai đoạn lên men có khác nhau. Việc thông gió và khuấy trong quá trình lên men acid glutamic có ý nghĩa vô cùng quan trọng do nó có tác dụng duy trì và điều chỉnh nồng độ oxy hòa tan trong quá trình lên men. Một trong những yếu tố làm giảm lượng oxy hòa tan vào trong môi trường là tốc độ cánh khuấy, tốc độ cánh khuấy giảm chút ít sẽ làm lượng oxy hòa tan giảm rất nhanh.

Khi cung cấp đủ oxy quá trình lên men diễn ra nhẹ nhàng, trơn tru, hoạt lực hô hấp của các tế bào cao, tiêu thụ đường nhanh, thời gian tạo acid glutamic dài, tốc độ tạo acid glutamic và hiệu suất lên men tốt.

Khi cung cấp thiếu oxy, nhu cầu oxy không đảm bảo thì sau 10 giờ lên men, tốc độ sinh trưởng và tốc độ tiêu thụ đường chậm, thời gian tạo acid glutamic ngắn, hiệu suất lên men acid glutamic kém nhưng lại tạo ra một lượng lớn acid lactic và acid succinic.

Cung cấp dư thừa oxy thì sự sinh trưởng và tiêu hao đường bị ức chế mạnh mẽ, hoạt lực hô hấp của các tế bào thấp, chỉ có một lượng cực kỳ nhỏ acid glutamic được tạo thành và thay vào đó là acid α-xetoglutaric.

Như vậy cung cấp thừa hoặc thiếu oxy đều không tốt. Cung cấp ít oxy làm hại cho sinh trưởng, cung cấp thừa oxy làm hại cho sự tạo thành acid glutamic.

c) Nồng độ muối amoni

Các loại muối chứa NH_4^+ như NH_4Cl, $(NH_4)_2SO_4$, $NH_4H_2PO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$, NH_4OH, NH_3 hoặc ure thường là nguồn cung cấp nitơ cho quá trình lên men acid glutamic. Việc cung cấp nitơ cho quá trình lên men acid glutamic là rất quan trọng, bởi vì nitơ cần cho việc tổng hợp protein tế bào và chiếm tới 9,5% trọng lượng phân tử acid glutamic.

Tuy trong môi trường chứa một lượng lớn NH_4^+ là cần thiết nhưng lại không có lợi cho sự phát triển của vi khuẩn cũng như việc tích lũy acid glutamic. Do vậy, nồng độ muối amoni thường được giữ ở mức độ thấp trong giai đoạn đầu và bổ sung thêm dần về sau. Ure là nguồn rất tốt để cung cấp nitơ cho vi khuẩn tổng hợp protein tế bào, tích lũy acid glutamic, giữ pH môi trường ở trung tính hay kiềm yếu. Khi thiếu ure, các cơ chế sinh tổng hợp acid glutamic bị đảo lộn dẫn tới việc tạo ra acid hữu cơ khác

thay cho acid glutamic. Khi thừa ure làm giảm hiệu suất tạo acid glutamic. Với chủng *Corynebacterium* nồng độ ure ban đầu khoảng 1,7÷1,8% là tối thích.

d) pH

pH tối ưu cho sinh trưởng và tạo acid glutamic của các vi khuẩn sinh acid glutamic là trung tính hoặc hơi kiềm. Trong quá trình lên men, do sự hình thành acid glutamic và các acid hữu cơ khác nên pH môi trường luôn có xu hướng bị giảm xuống, vì vậy để đảm bảo cho quá trình lên men được tốt người ta phải thường xuyên điều chỉnh pH trong suốt quá trình lên men. Việc bổ sung dần muối amoni NH_4^+ vào trong môi trường sẽ thực hiện được hai chức năng cơ bản là điều chỉnh pH và bổ sung NH_3 cho việc tổng hợp phân tử acid glutamic. Có thể dùng ure để điều chỉnh pH trong khoảng 7÷8, tối ưu cho sinh trưởng và tạo acid glutamic.

Corynebacterium sinh trưởng và tích lũy acid glutamic tốt ở khoảng pH = 7,2÷7,5; sinh trưởng được trong khoảng pH = 6,0÷8,0. Vì vậy theo quy định nên pha môi trường có pH = 6,5÷6,7 (để sau khi thanh trùng pH có giảm xuống chút ít và sau khi tiếp ure, pH sẽ tăng dần tới trị số tối ưu 7,3÷7,5).

e) Nhiệt độ

Đa số vi khuẩn sinh acid glutamic sinh trưởng và tạo acid glutamic tốt ở nhiệt độ 30÷35°C, số ít ở 35÷37°C, cá biệt ở 41÷43°C. Khi nhiệt độ thay đổi đột ngột từ 30°C đến 37°C sẽ dẫn đến việc biến quá trình lên men acid glutamic thành quá trình lên men acid lactic, do vậy việc duy trì một chế độ nhiệt độ ổn định trong sản xuất mì chính là cần thiết.

g) Ảnh hưởng của thực khuẩn thể

Trong quá trình lên men acid glutamic, các vi khuẩn chỉ tích lũy lượng lớn acid glutamic trong điều kiện lên men không bị nhiễm trùng. Một số vi khuẩn sinh bào tử và thực khuẩn thể có thể nhiễm vào môi trường sản xuất qua nhiều con đường như không khí, thiết bị rò rỉ và môi trường chưa được tiệt trùng triệt để làm giảm hiệu suất lên men hoặc làm hỏng môi trường lên men. Do vậy cần phát hiện nhanh và có biện pháp ngăn ngừa, xử lý thích hợp để đảm bảo hiệu suất cho quá trình lên men.

1.4.3. Sơ đồ quy trình công nghệ

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất mì chính bằng phương pháp lên men được trình bày ở hình 7.2.

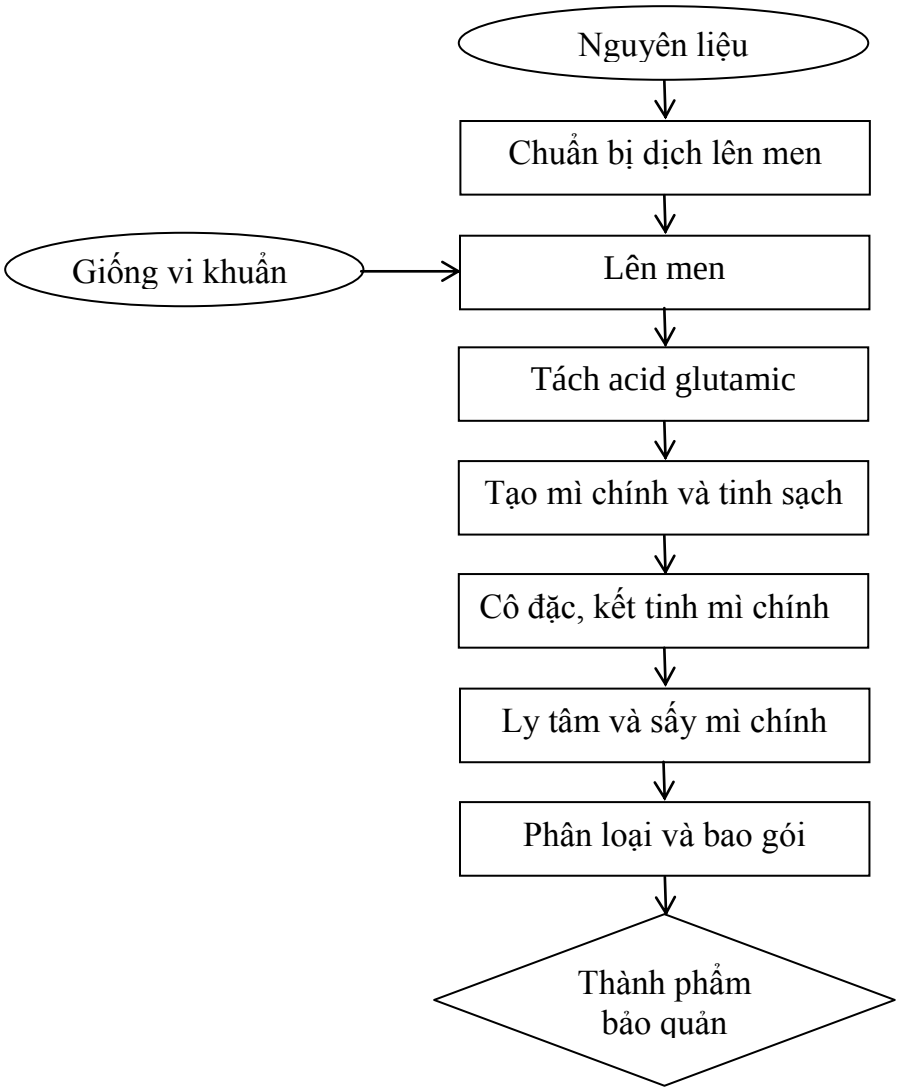
1.4.4. Thuyết minh quy trình

a) Chuẩn bị dịch lên men

Nguyên liệu sử dụng trong pha chế dịch lên men acid glutamic có thể là các loại dung dịch đường glucose, saccharose hay dịch thủy phân tinh bột, cellulose. Trong dung dịch, đường thường chiếm khoảng 8÷25%. Trong quá trình lên men, người ta có thể sử dụng nồng độ đường cao ngay từ ban đầu. Nhưng phương pháp sử dụng đường làm nhiều lần trong suốt thời gian lên men thường cho hiệu suất cao hơn. Lượng đường cần thiết cho quá trình lên men còn tùy thuộc vào giống vi khuẩn mà ta đưa vào sản xuất.

Rỉ đường là nguyên liệu rất thích hợp để pha chế dịch lên men do có chứa đủ lượng đường cần thiết cho quá trình lên men, hơn nữa có chứa hàm lượng biotin rất cao. Hàm lượng biotin thích hợp cho lên men acid glutamic là 2÷5µg/lít môi trường, nhưng nếu hàm lượng biotin quá cao sẽ tạo ra nhiều alanin, acid lactic và aspartic làm ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi acid glutamic.

Trong trường hợp dùng các dung dịch chứa đường khác để tiến hành lên men cần phải cung cấp thêm hàm lượng biotin. Nguồn biotin sử dụng thường lấy từ cao bắp. Mặc dầu biotin có ảnh hưởng tốt đến sự tạo thành acid glutamic nhưng lại có ảnh hưởng xấu đến khả năng bán thấm của màng tế bào. Do đó, trong quá trình lên men người ta phải sử dụng một số chất ức chế tạo thành các lipoglucoprotein ở màng tế bào. Các chất ức chế thường được sử dụng trong sản xuất acid glutamic là Tween 60, với liều lượng sử dụng là 0,15%, muối calcium của benzin penicillin 5UI/ml.



Hình 7.2. Quy trình sản xuất mì chính bằng phương pháp lên men

Nguồn nitơ được sử dụng trong dịch lên men nhiều nhất là ure. Người ta thường cho hàm lượng ure khoảng 0,5÷2%. Thông thường trong sản xuất, lượng ure được cho vào nhiều lần. pH trong quá trình lên men duy trì ở mức 6,8÷7,8 là tốt nhất. Ngoài nguồn ure ra, người ta còn sử dụng $(NH_4)_2SO_4$ hoặc $(NH_4)Cl$ với liều lượng là 0,5%. Trong nhiều trường hợp người ta sử dụng cả NH_4OH hoặc khí ammoniac thổi vào dung dịch lên men để cung cấp nguồn nitơ cho vi khuẩn hoạt động. Các hợp chất khoáng thường được sử dụng trong quá trình sản xuất bao gồm:

KH_2PO_4	0,1÷0,2%
$MgSO_4.7H_2O$	0,03÷0,3%

$MgSO_4.4H_2O$ 0,001%

Dùng $CaCO_3$ để giữ pH 6,7÷8,0

Môi trường dùng cho quá trình lên men sản xuất acid glutamic thường được pha chế như sau:

Đường: 10÷12%

Cao bắp (nước chiết bắp cô đặc): 0,7%

KH_2PO_4: 0,15%

$MgSO_4$: 0,075%

Ure: Ban đầu cho 2,2%, sau đó bổ sung khi lên men là 1,2%

$MnSO_4$: 2%

Vitamin H (biotin): 2÷5µg/lít

pH của môi trường được điều chỉnh 6,7÷ 8,0

Dịch lên men sau khi chuẩn bị xong phải được thanh trùng rồi làm nguội đến nhiệt độ 32°C. Việc thanh trùng môi trường cần được làm thận trọng, đúng nhiệt độ và thời gian quy định. Thanh trùng ở nhiệt độ cao quá, thời gian kéo dài quá mức quy định sẽ làm cho đường bị caramen hóa, melanoit hóa, một số acid amin bị phân hủy, một số chất sinh trưởng bị mất dẫn đến giảm chất lượng môi trường kéo dài thời kỳ tiềm phát của giống, giảm hiệu suất chuyển hóa đường thành acid glutamic ở giai đoạn sau.

Trong thực tế sản xuất, người ta dùng rỉ đường làm môi trường lên men thay cho cao bắp. Rỉ đường thường pha loãng đến 13÷14% và thanh trùng trước khi lên men. Nếu là nguyên liệu chứa tinh bột, thì tinh bột phải được thủy phân (quá trình dịch hóa và đường hóa) nhờ enzyme α-β- amylase rồi sau đó mới bổ sung thêm dinh dưỡng vào môi trường lên men.

b) Lên men

Đây là khâu có tính chất quyết định nhất đối với toàn bộ dây chuyền sản xuất. Trong công đoạn này gồm các công đoạn nhỏ là: chuẩn bị giống sản xuất, chuẩn bị ure và dầu phá bọt, xử lý không khí và lên men.

b.1) Chuẩn bị giống sản xuất

* <u>Chuẩn bị môi trường lên men</u>

- Môi trường thạch nghiêng

Môi trường thạch nghiêng gồm: pepton: 1%, cao thịt bò: 1%, NaCl tinh chế: 0,5%, thạch 2%.

- Môi trường nhân giống cấp 1

Đường glucose tinh khiết: 2,5%

Rỉ đường: 0,25%

Nước chấm: 0,32%

$MgSO_4.7H_2O$ (đã pha 10%): 0,04%

$(Fe^{+2}, Mn^{+2})SO_4$ (đã pha 2000g/l): 0,002%

Ure: 0,5%

Vitamin B1 (đã pha 150g/l): 0,00015%

pH 6,7

- Môi trường nhân giống cấp 2

Đường glucose:	3,5%,
$MgSO_4.7H_2O$:	0,04%
H_3PO_4 + KOH:	0,1%
Nước chấm:	0,5%
Rỉ đường:	1%
Ure:	0,8%
Dầu lạc:	0,1%
Vitamin B1:	0,003g/100ml
pH	6,5÷6,7

* Nhân giống cấp 1, 2

Cho ống giống (bảo quản ở 5÷7°C) vào tủ ấm, giữ ở nhiệt độ 30÷32°C trong thời gian 30 phút đến 1 giờ để hoạt hóa giống. Giống sau khi hoạt hóa được cấy chuyền sang môi trường thạch nghiêng đã chuẩn bị sẵn giữ ở 32°C trong 24 giờ.

Tiếp tục cấy giống thạch nghiêng vào bình tam giác 1000ml có chứa sẵn 250ml môi trường nhân giống cấp 1, nuôi trên máy lắc tốc độ 90÷ 96v/ph ở nhiệt độ 30÷32°C trong 12 giờ. Tiến hành thanh trùng thiết bị lên men (có dung tích 60 lít) ở 130°C trong 30 phút, chuẩn bị và thanh trùng môi trường nhân giống cấp 2 ở 120°C trong 30 phút. Quá trình nuôi giống khống chế ở nhiệt độ 32°C, lượng không khí cho vào tính theo tỉ lệ 0,5 lít môi trường/1 phút. Thời gian nhân giống 8÷9 giờ, đến giờ thứ 8 thì soi chọn giống, nếu thấy giống đạt yêu cầu thì 9 giờ giống có thể cấy tiếp qua nồi lên men chính.

b.2) Chuẩn bị ure và dầu phá bọt

* Chuẩn bị ure: Ure tham gia vào quá trình lên men gồm lượng ure cho vào môi trường lúc ban đầu gọi là ure đầu và lượng ure bổ sung thường xuyên trong quá trình lên men gọi là ure tiếp. Môi trường sau khi được thanh trùng và làm nguội đạt nhiệt độ 32°C, trước khi tiếp giống, được cho vào một lượng ure đầu với tỉ lệ 1,8% so với lượng môi trường sau khi đã cho ure vào.

Lượng ure tiếp vào trong quá trình lên men có số lượng không cố định. Trong quá trình lên men, do lượng acid glutamic tạo thành nên pH môi trường giảm liên tục. Khi pH dịch lên men giảm đến 7 thì phải tiếp dần ure để pH đạt 7,5÷8, quá trình tiếp ure được thực hiện cho đến khi lượng đường trong dịch lên men còn khoảng 1% thì không cần tiếp nữa.

Dung dịch ure trước khi tiếp vào nồi lên men phải được thanh trùng ở nhiệt độ 115°C trong 15 phút và làm nguội đến nhiệt độ 32÷33°C.

* Dầu phá bọt: Dầu phá bọt thường là dầu lạc thô, được thanh trùng ở nhiệt độ 120÷140°C trong 120 phút rồi hạ nhiệt độ đến 32÷33°C trước khi dùng để phá bọt. Sở dĩ có một lượng bọt tạo ra trong môi trường là do sự tích lũy CO_2 được thải ra trong quá trình lên men dưới tác dụng của vi khuẩn, vì vậy cần phải dùng một lượng dầu thích hợp để phá bọt.

b.3) Xử lý không khí

Vi khuẩn lên men acid glutamic có nhu cầu sử dụng oxy để hoạt động, vì vậy cần cung cấp một lượng không khí cho quá trình lên men. Tuy nhiên do yêu cầu phải đảm bảo tránh việc nhiễm trùng dịch lên men qua con đường không khí nên không khí

trước khi đưa vào nồi lên men thường được tách bụi và cho qua một hệ thống lọc. Nhiệt độ không khí đưa vào phải được điều chỉnh phù hợp với quá trình lên men.

b.4) Lên men chính

Quá trình lên men thường chia làm 3 giai đoạn:

- Giai đoạn đầu: 8÷12 giờ, chủ yếu là sinh khối, đường hao chậm, acid glutamic chưa tích lũy hoặc có thì rất ít, pH tăng dần. Giai đoạn này các chất đường, đạm vô cơ và hữu cơ, các chất muối khoáng, vitamin và các chất sinh trưởng có trong môi trường thẩm thấu vào tế bào vi khuẩn làm cho vi khuẩn lớn lên, đạt kích thước cực đại và bắt đầu sinh sản, phân chia. Quá trình lặp lại cho đến khi lượng vi khuẩn đạt đến giá trị cực đại.

- Giai đoạn hai: từ giờ thứ 12 đến giờ thứ 24, đường hao nhanh, acid glutamic được tạo ra mạnh. pH giảm nhanh, nhiệt độ và bọt tăng nhanh. Giai đoạn này giữ cho số tế bào không tăng thêm nữa hoặc tăng rất ít. Quá trình chủ yếu trong giai đoạn này là: đường và đạm vô cơ thẩm thấu qua màng tế bào vi khuẩn, các quá trình chuyển hóa bởi men và các phản ứng để tạo ra acid glutamic trong tế bào. Lượng acid glutamic tạo thành lại hòa tan vào môi trường làm cho pH môi trường giảm dần, CO_2 bay ra nhiều, lượng bọt tăng lên. Trong giai đoạn này nhiệt độ tăng nhanh, lượng đường giảm nhanh từ 8,9% xuống còn 2,3%, lượng acid glutamic tăng nhanh từ 0 đến 30÷40g/lít

- Giai đoạn 3: những giờ còn lại tất cả các biểu hiện đều giảm dần cho đến khi hàm lượng đường chỉ còn nhỏ hơn hoặc bằng 1% thì kết thúc quá trình lên men.

Quá trình lên men phải luôn giữ ở nhiệt độ 30÷32°C, áp suất 1kg/cm^2, Lượng không khí 30÷40 m^3/giờ cho 1m^3 môi trường, tốc độ cánh khuấy 180÷200v/phút. Khi pH giảm đến 7, bổ sung ure để đạt pH = 8, thường bổ sung 1 nồi lên men gián đoạn 2÷3 lần. Khi bọt nhiều phải tiếp dầu để phá bọt tạo điều kiện cho CO_2 thoát ra ngoài dễ dàng.

Tổng thời gian lên men khoảng 28÷32 giờ, lúc này đường còn lại ≤ 1% và hàm lượng acid glutamic đạt khoảng 17%, pH ≈ 7.

c) Tách acid glutamic

Sau khi kết thúc quá trình lên men, dung dịch lên men lúc này có chứa cao nhất 150÷180g/l acid glutamic, một lượng các acid amin khác và các thành phần môi trường chưa lên men hết. Do đó cần phải tách để thu nhận acid glutamic.

Dịch sau lên men có nồng độ acid glutamic khoảng 17%, pH ≈ 7 sẽ được đưa qua hệ thống cô đặc chân không đến quá bão hòa để tạo ra dung dịch acid glutamic có nồng độ khoảng 30%, pH ≈ 5,5÷6. Dịch sau cô đặc được acid hóa bằng cách sử dụng H_2SO_4 98% để hạ pH của dịch xuống 3,22. Đây chính là điểm đẳng điện pI của acid glutamic và tinh thể sẽ kết tinh.

Dùng nước lạnh khoảng 5°C (thông qua hệ thống trao đổi nhiệt có cấu trúc xoắn ruột gà) để hạ nhiệt độ dịch acid hóa (45°C) xuống càng thấp càng tốt và tiến hành kết tinh acid glutamic trong điều kiện lạnh. Ở nhiệt độ thấp các hạt tinh thể sẽ lớn dần lên, thuận lợi cho quá trình ly tâm.

Dùng máy ly tâm cao tốc (super decantor – SDC) để tách hạt tinh thể trong dịch sau kết tinh ra. Trong giai đoạn này, tinh thể sẽ được thu hồi, dịch sau ly tâm còn lẫn một ít acid glutamic (khoảng 2%) và các vitamin, khoáng chất, chất hữu cơ khác cùng xác tế bào vi khuẩn (gọi chung là dịch nước cái) có thể được xử lý để làm phân bón lỏng.

Tinh thể acid glutamic sau khi ly tâm có bám màu nâu sẽ được làm sạch bằng dịch sau quá trình lọc rồi được tách ra khỏi dịch rửa tinh thể bằng cách cho qua máy lọc vải (belt filter). Tinh thể đi tiếp qua quá trình trung hòa, dịch sau lọc sẽ được tái sử dụng cho các quá trình trước đó.

d) Tạo mì chính và tinh sạch

Để tạo ra mì chính cần thực hiện quá trình trung hòa bằng cách sử dụng Na_2CO_3 để chuyển acid glutamic thành mì chính (glutamate natri)

Phản ứng chuyển acid glutamic thành mì chính được thể hiện như sau:

$C_5H_9NO_4 + Na_2CO_3 = C_5H_8NO_4Na + CO_2 + H_2O$

Quá trình được thực hiện qua 2 giai đoạn:

- Trung hòa 1

Cho từ từ acid glutamic và Na_2CO_3 vào nồi trung hòa có cánh khuấy đã chứa sẵn nước nóng ở 70^oC cho đến khi pH = 5÷5,5. Cho than hoạt tính vào để tẩy màu, sau đó cho Na_2S (đã được pha loãng đến nồng độ $13÷15^oBe$) vào để khử sắt theo phản ứng:

$FeCl_2 + Na_2S \longrightarrow FeS\downarrow + 2NaCl$

$Fe(OH)_2 + Na_2S \longrightarrow FeS\downarrow + 2NaOH$

Ngoài ra Na_2S cũng có thể tác dụng với acid glutamic theo phản ứng:

$$2HOOC\text{-}(CH)_2\text{-}\underset{\underset{NH_2}{|}}{C}H\text{-}COOH + Na_2S = 2HOOC\text{-}(CH)_2\text{-}\underset{\underset{NH_2}{|}}{C}H\text{-}COONa + H_2S\uparrow$$

Tiếp tục cho Na_2CO_3 vào trung hòa đến pH = 6,5÷6,8 thì ép lọc lần 1. Cho nước nóng vào ép rửa bã cho đến khi dịch ép ra có độ baumé bằng 0.

Kết thúc giai đoạn trung hòa 1, yêu cầu dung dịch sau trung hòa phải trong suốt và có nồng độ $21÷23^oBe$.

- Trung hòa 2

Mục đích chủ yếu là tẩy màu dịch ép lọc sau khi trung hòa 1.

Cho dịch ép lọc lần 1 vào thùng trung hòa 2 và gia nhiệt đến $50÷60^oC$. Cho than hoạt tính vào khuấy đều để tẩy màu. Tiếp tục cho Na_2S vào để khử cho hết sắt (kiểm tra quá lượng Na_2S). Tiến hành ép lọc lần 2 và ép rửa bã, thu được dung dịch glutamate natri đưa đi cô đặc.

Kết thúc giai đoạn trung hòa 2, yêu cầu dung dịch sau trung hòa phải có màu trắng, trong; pH đạt 6,5÷6,8. Kiểm tra quá lượng Na_2S không còn sắt (vết kết tủa đen).

e) Cô đặc, kết tinh mì chính

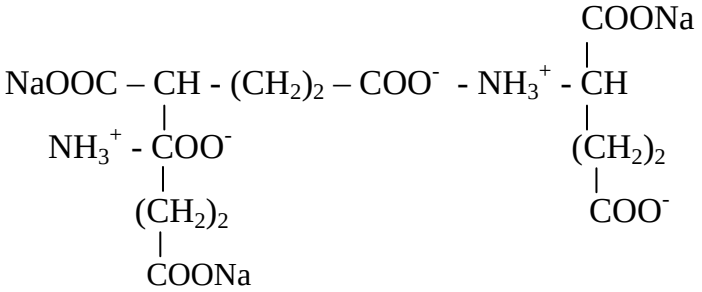
Công đoạn này khá phức tạp, đòi hỏi việc thực hiện nghiêm ngặt theo đúng yêu cầu kỹ thuật.

Về nguyên tắc, diễn biến của quá trình cô đặc kết tinh như sau:

Đầu tiên khi nồng độ dịch còn loãng, các phần tử natri glutamate trong dịch nằm riêng lẻ và xen kẽ giữa các phân tử nước theo kiểu:

$$NaOOC\text{-}\underset{\underset{NH_3^+ - OH}{|}}{C}H\text{-}(CH_2)_2\text{-}COO^- - H^+$$

Quá trình cô đặc phân tử nước tự loại dần do tác dụng của nhiệt chân không và chuyển động hỗn loạn (sôi) khi lượng nước càng giảm đi, mật độ phân tử glutamate natri càng dày đặc, tỉ lệ va chạm vào nhau càng lớn, kết quả là tạo nên các liên kết đa phân tử theo kiểu:



Các tập hợp phân tử cứ lớn lên mãi tạo thành các hạt nhỏ li ti. Các hạt này lại tiếp tục lớn lên do liên kết thêm được nhiều phân tử đơn độc hoặc tự liên kết với nhau thành hạt lớn hơn.

Quá trình cô đặc, kết tinh mì chính như sau:

- Cho khoảng 80% dịch trung hòa có nồng độ 20÷21°Be vào nồi cô đặc, tiến hành cô ở áp suất 600mmHg, nhiệt độ 70°C, áp suất hơi ≤ 1kg/cm^2.

- Khi dịch đã đạt đến nồng độ 31,5÷32°Be (phải đo chính xác) tiến hành tiếp mầm tinh thể. Lượng mầm tiếp vào khoảng 7% so với tổng lượng mì chính đưa vào cô. Sau khi tiếp mầm, pha loãng 20% dịch còn lại đến ~ 12°Be và gia nhiệt lên 60°C rồi bổ sung liên tục vào nồi cô đặc sao cho lượng bổ sung cân bằng với lượng bốc hơi của nồi. Lúc này mầm tinh thể lớn dần nhưng phải chú ý quan sát, nếu thấy xuất hiện các tinh thể nhỏ thì phải tiếp nước ngưng tụ đã gia nhiệt 60^{0}C vào phá đi rồi lại tiếp tục cô. Nuôi mầm tinh thể lớn dần đến khi đạt độ lớn theo yêu cầu thì ngừng cô và chuyển sang ly tâm.

- Trong quá trình cô đặc và kết tinh cần chấp hành nghiêm ngặt các chỉ tiêu kỹ thuật, tránh xảy ra các hiện tượng: mì chính kết tinh thành khối lớn, mầm tinh thể tiếp vào bị hòa tan, kết tinh dày đặc các tinh thể nhỏ.

- Kết tinh thành khối lớn: Mì chính không kết tinh thành tinh thể như ý ta mong muốn mà kết tinh tảng to và cuối cùng toàn bộ kết tinh thành một khối lớn nằm chặt trong nồi. Khi đó không còn cách nào khác là cho nước nóng vào hòa tan ra rồi cô đặc lại thành mì chính bột. Một số sẽ bị cháy và kết quả cuối cùng là được mì chính bột màu vàng cháy.

- Mầm tinh thể tiếp vào bị hòa tan hết.

- Kết tinh dày đặc: Ngoài mầm tinh thể ta tiếp vào còn xuất hiện dày đặc các tinh thể mới nhỏ. Kết quả ta được một loại mì chính nửa bột nửa tinh thể lẫn lộn, không đạt yêu cầu.

g) Ly tâm và sấy mì chính

Các tinh thể glutamate natri sau khi kết tinh xong được đem đi ly tâm tách nước cái và các chất không kết tinh ra khỏi tinh thể glutamate natri. Tiếp tục phun nước ấm, sạch tia nhẹ vào khối mì chính để rửa sạch các chất bám xung quanh bề mặt tinh thể hoặc để hòa tan các tinh thể nhỏ tạo mì chính có độ sáng, bóng. Dịch và nước rửa ly tâm được thu hồi để pha vào cô với mẻ sau. Mì chính thu được ở dạng mì chính ẩm được đưa đi sấy trong các thiết bị như tủ sấy, hầm sấy, sấy phun…Mì chính được sấy

ở nhiệt độ 70÷80°C cho đến khi đạt độ ẩm 0,5% thì kết thúc quá trình sấy. Thời gian sấy khoảng 2 giờ.

h) Phân loại và bao gói

- Phân loại

Phân loại mì chính trên các sàng rung có số lỗ và kích thước lỗ sàng khác nhau gồm: loại mặt sàng 12 lỗ, 24 lỗ, 36 lỗ/1 tấc vuông Anh:

+ Loại trên sàng 12 lỗ là loại vón cục hoặc quá to, có thể hòa ra nước đưa vào cô mẻ sau.

+ Loại trên và dưới sàng 24 lỗ, 36 lỗ đều là chính phẩm.

+ Loại dưới sàng 36 lỗ dùng làm mầm tinh thể cho mẻ sau.

Cũng có thể sử dụng sàng rung có kích thước lỗ sàng 10 lỗ, 24 lỗ, 42 lỗ để phân loại.

- Bao gói

Mì chính sau khi sàng phân loại, đem cân và đóng bao gói túi polyetylen 2 lần. Trọng lượng mỗi túi tùy theo yêu cầu có thể từ 100g đến 1kg, ở giữa hai lần túi có nhãn hiệu ghi rõ khối lượng tịnh, hàm lượng, người cân, người đóng gói và ngày sản xuất, mặt sau ghi hướng dẫn sử dụng.

Từng túi lớn 10kg hay 20kg được bọc kỹ bằng giấy chống ẩm và đóng kín trong hòm gỗ đưa đi nhập kho bảo quản.

1.4.5. Chỉ tiêu chất lượng mì chính

- Hàm lượng mì chính tinh khiết ≥ 99%
- Độ ẩm ≤ 0.5%
- pH mì chính: 6.7÷7.2
- Độ quay cực đặc trưng: 24,8 ~ 25,3^o
- Hàm lượng Cl^- : ≤ 0.2%
- Không phát hiện PCA (pyrolidone carboxylic acid)
- Tổng số bào tử men, mốc: ≤ 100 (khuẩn lạc/g)
- Hàm lượng Asen: ≤ 2ppm
- Tổng số kim loại nặng quy ra chì nhỏ hơn 10ppm

2. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT ACID ACETIC (GIẤM)

Giấm là sản phẩm của quá trình chuyển hoá rượu etylic (ethanol) thành acid acetic dưới tác dụng của vi khuẩn *Acetobacter* với các loại rượu, rượu vang, rượu bia, rượu nước ép hoa quả. Màu sắc và hương vị của giấm phụ thuộc rất lớn vào nguyên liệu làm ra nó.

Tùy thuộc vào nguồn nguyên liệu ban đầu sẽ có cho nhiều loại giấm khác nhau như: giấm quả, giấm gạo, giấm mật, giấm nước dừa, giấm rượu.

Quá trình lên men acetic theo phương pháp truyền thống có thể được thực hiện trong điều kiện bình thường, thiết bị đơn giản.

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu để sản xuất acid acetic bằng phương pháp lên men có thể là nguyên liệu chứa đường (nước ép trái cây, nước trái dừa, nước ép mía...), cũng có thể là nguyên liệu chứa tinh bột hoặc nguyên liệu chứa cồn.

Nguyên liệu chứa tinh bột để sản xuất giấm thường là các loại cốc đã nấu chín như cơm, bắp và các loại cốc khác, quá trình phải trải qua ba giai đoạn chuyển hoá

- Giai đoạn 1. Chuyển tinh bột thành đường dưới tác dụng của enzyme amylase.
- Giai đoạn 2. Chuyển đường thành rượu dưới tác dụng của nấm men.
- Giai đoạn 3. Oxy hoá rượu thành acid acetic với sự tham gia của vi khuẩn acetic.

Đối với các loại nguyên liệu chứa đường thì quá trình sản xuất giấm chỉ trải qua giai đoạn 2 và 3. Giấm mật được làm từ nước mía. Giấm glucose là sản phẩm lên men giấm của glucose. Giấm nước dừa được sản xuất bằng cách cho đường vào nước dừa với tỉ lệ 16% rồi cho lên men rượu và lên men acetic.

Trường hợp giấm được sản xuất từ nguyên liệu chứa cồn thì quá trình sản xuất giấm thực hiện đơn giản nhất, chỉ thực hiện giai đoạn 3.

Trong thực tế hiện nay để nâng cao chất lượng của giấm người ta dùng các dịch ép trái cây để lên men, tạo ra sản phẩm giấm có chất lượng thơm ngon. Để tạo môi trường dinh dưỡng ban đầu cho quá trình lên men được thuận lợi, trong thành phần của môi trường người ta còn bổ sung thêm đường, muối khoáng, muối amoni và một ít acid acetic để tạo pH thích hợp cho vi khuẩn *Acetobacter* hoạt động tốt.

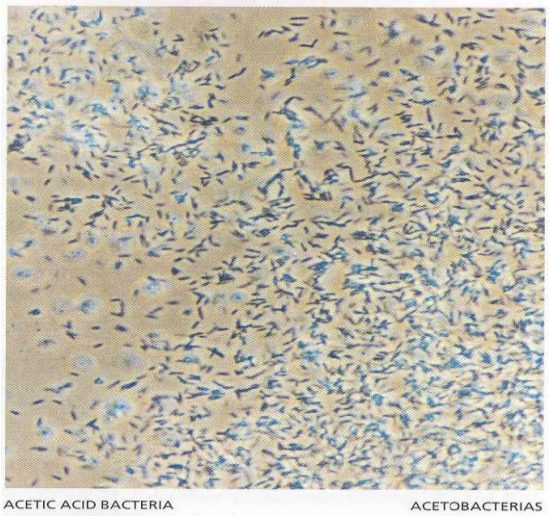
2.2. Vi sinh vật lên men acid acetic

Chủng vi khuẩn tham gia quá trình lên men acid acetic có nhiều loại nhưng gọi chung là *Acetobacter* hay vi khuẩn acetic. Vi khuẩn acetic rất phổ biến trong tự nhiên, hiện diện trên bề mặt lá, hoa, quả đây chính là điều kiện thuận lợi để sản xuất giấm bằng con đường lên men theo phương pháp truyền thống.

2.2.1. Đặc điểm

Vi khuẩn actic là vi khuẩn gram âm, không sinh bào tử. Tế bào có dạng hình elip đến hình que thẳng hoặc hơi cong, đứng một mình thành cặp hoặc thành chuỗi có dạng không chuyển động và dạng chuyển động (hình 7.3)

Vi khuẩn acetic có khả năng tạo bào tử và màng nhày, một số có khả năng di động nhờ tiêm mao. Trên môi trường đặc vi khuẩn acetic phát triển thành những khuẩn lạc tròn, đều đặn, đường kính trung bình 3nm. Trên môi trường lỏng vi khuẩn acetic chỉ phát triển trên bề mặt môi trường tạo thành những lớp màng dày mỏng khác nhau. Một số loài tạo thành màng dày như sứa (0.5mm), nhẵn và trơn, khi lắc chúng chìm xuống đáy bình và thay vào đó 1 lớp màng mỏng mới lại tiếp tục phát triển. Dung dịch dưới màng bao giờ cũng trong suốt.



Hình 7.3. Vi khuẩn acetic

2.2.2. Điều kiện sinh trưởng

Vi khuẩn acetic phát triển tốt trên môi trường nước bia, các môi trường có chứa cao nấm men, glucose, ethanol hay manitol.

Vi khuẩn acetic có khả năng tạo váng (thường gọi là con giấm) trong nồng độ

rượu cao 10÷12%, lên men ở nhiệt độ thích hợp 25÷32^oC, pH 5,4÷5,8. Các loài vi khuẩn acetic là những loài hiếu khí mạnh. Trong điều kiện môi trường đầy đủ và lượng oxy được cung cấp liên tục, chúng có thể tăng sinh khối sau 12 giờ gấp 17 triệu lần so với sinh khối ban đầu.

Tính chất đặc trưng của vi khuẩn acetic là khả năng oxy hóa rượu etylic thành acid acetic ở pH 4,5. Nhu cầu dinh dưỡng của vi khuẩn acetic đối với nguồn C, N và chất sinh trưởng cũng rất đa dạng. Vi khuẩn acetic sử dụng đường, rượu etylic và các acid hữu cơ làm nguồn C, muối amoni làm nguồn N. Trong quá trình phát triển vi khuẩn acetic có nhu cầu đối với một số acid amin như valin, alanin, prolin, isoleucin. Một số chất kích thích sinh trưởng như acid nicotine, acid folic và biotin… có vai trò quan trọng trong sinh trưởng của vi khuẩn acetic.

2.2.3. Một số vi khuẩn thường sử dụng trong sản xuất acid acetic

Các giống vi khuẩn thường được sử dụng trong sản xuất acid acetic là:

- *A. aceti:* có khả năng phát triển trên môi trường có nồng độ rượu khá cao (11%), có khả năng tích lũy 6% acid acetic. Nhiệt độ thích hợp phát triển 34^oC. Nếu nhiệt độ cao quá 43^oC sẽ gây ra hiện tượng co tế bào và tạo thành hình quả lê. Thường phát triển trên bia.

- *A. xylinum*: có thể oxy hóa rượu tạo 4,5% acid acetic trong môi trường, ngoài ra còn có khả năng oxy hóa tiếp acid acetic thành CO_2 và H_2O.

- *A. asteurianum*: có khả năng chịu nồng độ cồn thấp hơn A. aceti. Trong điều kiện môi trường phát triển thuận lợi, chúng có khả năng tạo được 5÷6% acid acetic.

- *A. orleaneuse*: trong dịch nước cấy A. orleaneuse thường tạo ra một váng rất mỏng trên bề mặt. Váng vi khuẩn thường rất chắc, vi khuẩn này chịu đựng được lượng cồn đến 12%V, trong điều kiện lên men thích hợp, chúng có thể tạo ra được 9,5% acid acetic.

- *A. Schiitzenbachii*: vi khuẩn này khi phát triển ở môi trường lỏng, chúng tạo ra lớp màng dày nhưng không chắc. Ở các nước trên thế giới, người ta thường sử dụng chúng để sản xuất giấm theo phương pháp chìm. Trong điều kiện môi trường thuận lợi, chúng có khả năng tạo được 11÷12% acid acetic.

- *A. Curvum*: về cơ bản vi khuẩn này giống A. Schiitzenbachii. Trong môi trường lên men thuận lợi, vi khuẩn này có thể tạo ra được 10÷11% acid acetic. Vi khuẩn A. curvum tạo váng rất chắc trên bề mặt môi trường. Nhiệt độ lên men tối ưu của vi khuẩn này là 35÷37^oC.

- *A. Suboxydans*: vi khuẩn A.suboxydans có khả năng chịu đựng được nồng độ cồn rất cao. Nhiệt độ lên men thích hợp của vi khuẩn này là 28÷30^oC. Vi khuẩn này cần lượng oxy rất nhiều cho quá trình chuyển hóa cồn thành acid acetic và cho quá trình phát triển do đó trong quá trình lên men cần phải thông khí liên tục.

Trong môi trường có thêm một lượng nhỏ các chất dinh dưỡng cần thiết (như glucose), vi khuẩn này có thể chuyển hóa hoàn toàn cồn thành acid acetic. Lượng acid acetic tạo được từ quá trình lên men có thể lên đến 13%. Thời gian lên men xảy ra rất nhanh.

2.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men

2.3.1. Oxy không khí

Oxy là một yếu tố quan trọng cho quá trình lên men giấm. Quá trình oxy hóa chỉ xảy ra khi trong môi trường vi khuẩn được tiếp xúc với không khí. Càng được thoáng

khí khả năng oxy hóa càng tốt, năng suất càng cao. Ở phương pháp chậm do bề mặt tiếp xúc giữa tế bào và không khí bị hạn chế bởi sự bao phủ bề mặt dịch lên men của lớp váng giấm và độ dày lớp dung dịch nên quá trình lên men kéo dài 3÷5 tuần, nồng độ giấm thu được 3÷7% acid acetic. Phương pháp chìm do không khí được thổi trực tiếp vào dung dịch lên men nên quá trình oxy hóa xảy ra rất nhanh, thời gian ngắn 48 giờ, nồng độ giấm 7÷14%.

2.3.2. Nhiệt độ

Acetobacter thuộc nhóm ưa ấm, nhiệt độ thích hợp cho chúng hoạt động là từ 25÷32°C. Nhiệt độ thấp quá trình lên men xảy ra chậm, ở nhiệt độ thấp hơn 6°C các hoạt động sống của vi khuẩn sẽ bị ngừng. Nhiệt độ cao ức chế hoạt động và đến mức độ nào đó sẽ đình chỉ sự sinh sản của tế bào làm tăng sự tổn thất của vi khuẩn và hiệu suất của quá trình lên men giảm do sự bay hơi của acid acetic và rượu etylic. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình sản xuất giấm 22÷35°C, nhiệt độ tối ưu là 18÷24°C, 27÷32°C.

2.3.3. Nồng độ acid acetic

Trong sản xuất giấm ban đầu người ta thường cho vào một lượng giấm nhất định để acid hóa môi trường nhằm để ngăn cản sự phát triển của các loại vi sinh vật không mong muốn, đưa vào dịch lên men một lượng tế bào nhất định, kích thích sự phát triển của các vi khuẩn sản xuất acid acetic. Độ acid ban đầu thường 2÷6%. Nồng độ acid cao sẽ hạn chế sự sinh trưởng của vi khuẩn và giảm khả năng lên men. Nồng độ acid acetic trên 8% sẽ ức chế hoạt động của vi khuẩn.

2.3.4. Nồng độ rượu

Nồng độ rượu rất quan trọng đối với quá trình lên men, nồng độ rượu sử dụng thích hợp khoảng 10÷13% sẽ thúc đẩy quá trình lên men. Nếu nồng độ rượu cao hơn 14% sẽ làm cho rượu không được oxy hóa hoàn toàn để chuyển thành acid acetic và năng suất lên men giảm. Nếu nồng độ rượu quá thấp acid acetic tạo ra sẽ bị oxy hóa tiếp tục tạo thành CO_2 và H_2O gây hiện tượng mất giấm. Để tránh hiện tượng này, trong sản xuất giấm cần giữ lại lượng rượu sót trong sản phẩm từ 0,2÷0,5%, lượng rượu sót có tác dụng ức chế sự tổng hợp enzyme oxy hóa acid acetic và muối acetate.

2.3.5. Các chất C, N, P và nguyên tố vi lượng

Để tạo điều kiện cho vi khuẩn hoạt động tốt, thúc đẩy nhanh quá trình oxy hóa rượu thành acid acetic, trong thành phần môi trường dịch lên men ngoài nước, rượu, acid acetic cần bổ sung một số muối khoáng $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO_4, $CaHPO_4$, $FeCl_3$… tùy thuộc vào nhu cầu dinh dưỡng của từng giống vi khuẩn acetic. Ngoài ra, trong môi trường dinh dưỡng cũng cần bổ sung thêm các vitamin, chất kích thích sinh trưởng như pepton, cao nấm men...

2.4. Các phương pháp lên men

Giấm có thể được sản xuất theo nhiều phương pháp lên men khác nhau, từ phương pháp truyền thống đến các phương pháp dùng trong công nghiệp lên men. Nói chung các phương pháp đều nhằm mục đích tăng tốc độ chuyển hóa rượu thành acid acetic dưới tác dụng của vi khuẩn acetic. Các phương pháp lên men thường được sử dụng là:

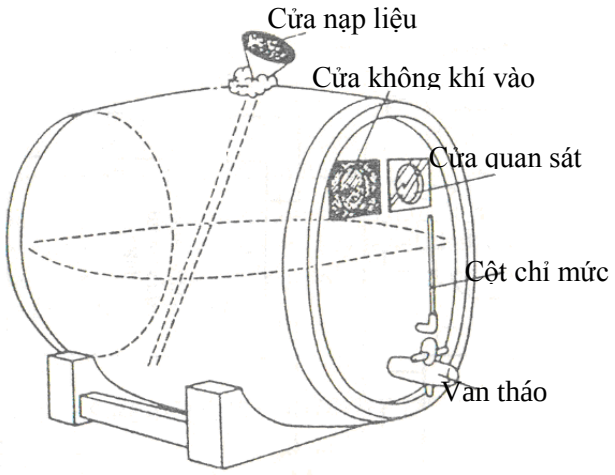
- Phương pháp lên men chậm
- Phương pháp lên men nhanh
- Phương pháp lên men chìm

- Phương pháp kết hợp

2.4.1. Phương pháp lên men chậm (phương pháp Orleans của Pháp)

Nguyên liệu chính dùng để sản xuất acid acetic là rượu vang nho và sau này được áp dụng cho nhiều loại rượu trái cây khác.

Sử dụng thùng gỗ lên men có dung tích 200 lít, phía trên có lỗ thông khí được che lưới chắn để tránh côn trùng xâm nhập (hình 7.4). Cho vào khoảng 1/3 thùng (~ 70 lít) giấm ngon để làm men mồi rồi cho tiếp 15 lít rượu hoặc rượu vang. Tiến hành lên men ở nhiệt độ 21÷29°C trong điều kiện hiếu khí. sau thời gian ngắn vi khuẩn acetic sẽ phát triển thành một lớp màng trắng trên mặt và oxy hóa rượu etylic trong rượu vang thành acid acetic. Trong khoảng thời gian 4 tuần, cứ mỗi tuần lại cho vào thùng lượng rượu như vậy. Sau 5 tuần, khi nồng độ rượu chỉ còn 0,3÷0,5% thì quá trình lên men gần như kết thúc. Sản phẩm tạo thành là acid acetic có vị chua thanh, thơm ngon nồng độ đạt khoảng 5÷6%. Giấm được rút ra khỏi thùng cho đến khi hỗn hợp trong thùng chỉ còn một nửa. Lại tiếp tục cho rượu vào thùng với tỉ lệ như trên và tiếp tục lên men. Cứ như vậy, quá trình được lặp lại cho đến khi không còn muốn làm giấm nữa. Quy trình làm giấm này tuy chậm nhưng liên tục và cho giấm ngon.



Hình 7.4. Thùng lên men theo phương pháp Orleans [10]

Phương pháp lên men chậm chỉ sản xuất acid acetic dùng trong công nghiệp thực phẩm. Ưu điểm của phương pháp này là dễ thực hiện, sản phẩm lên men là giấm có hàm lượng acid acetic thấp, có mùi thơm đặc trưng. Tuy nhiên có nhược điểm là thời gian lên men thường rất dài, hàm lượng acid acetic trong dung dịch thấp, năng suất thấp.

2.4.2. Phương pháp lên men nhanh

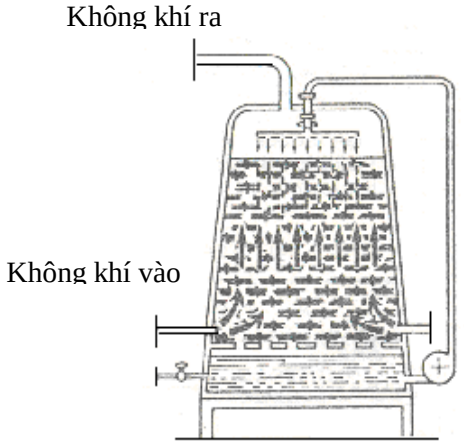
Phương pháp này do người Đức thực hiện theo qui mô công nghiệp.

Thiết bị lên men có dạng hình trụ cao 2,5÷6m, đường kính đáy 1,2÷3m. Tỷ lệ đường kính đáy so với chiều cao khoảng 1/2 là thích hợp nhất. Trong thiết bị được chất đầy vỏ bào gỗ sồi, lõi bắp, than củi hay than cốc. Các vật liệu này được xem như chất mang, giữ vi sinh vật trong quá trình lên men, nhờ đó mà vi sinh vật không đi theo vào sản phẩm cuối cùng.

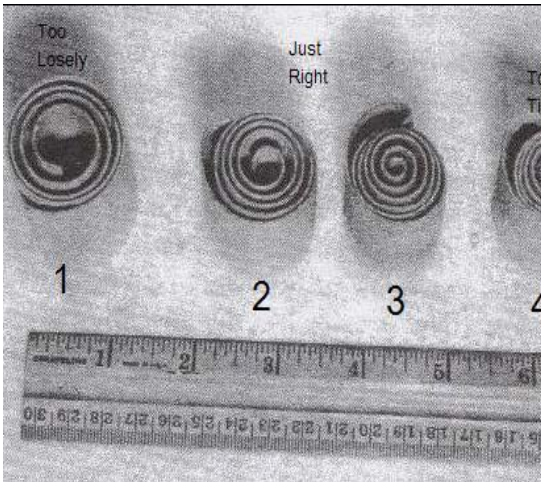
Đầu tiên, cho dung dịch acid acetic có nồng độ 3÷5% chảy qua lớp vật liệu trên để thanh trùng và acid hóa vật liệu chất mang để vi khuẩn acetic dễ thích nghi trong quá trình lên men. Sau đó, dùng nước vô trùng rửa qua và cho giống vi khuẩn acetic vào. Vi khuẩn acetic sẽ phát triển và hình thành lớp chất lỏng đặc, trơn ướt bám trên

vỏ bào hay lõi bắp.

Tiếp đó người ta cho dòng môi trường từ trên xuống qua hệ thống phân phối chảy qua lớp chất mang có chứa các tế bào vi khuẩn một cách đều khắp. Cùng lúc, không khí được thổi từ dưới đáy thùng lên phía trên nhờ một hệ thống phân phối. Lúc này rượu và không khí sẽ thẩm thấu vào tế bào vi khuẩn. Quá trình oxy hóa rượu thành acid acetic được tiến hành, acid acetic thẩm thấu qua màng tế bào ra ngoài và theo dung dịch xuống đáy thiết bị lên men. Quá trình lên men được thực hiện trong khoảng 3÷7 ngày. Khoảng 2/3 lượng giấm thành phẩm được rút ra từ đáy thùng và môi trường mới lại được bổ sung vào thùng và tiếp tục lên men. Nhiệt độ lên men từ 24÷37°C. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men là 30 đến 32°C. Nhiệt độ lên men được kiểm soát bởi một hệ thống để tránh hiện tượng quá nhiệt và vi khuẩn không hoạt động. Trong trường hợp dịch lên men cuối cùng chứa lượng acid acetic thấp, người ta tiến hành tái lên men bằng cách bơm chúng ngược lại từ trên xuống.



Hình 7.5. Sơ đồ lên men acid acetic trên vỏ bào gỗ sồi (lên men nhanh)[10]



Hình 7.6. Vỏ bào gỗ sồi dạng cuộn [12]

Phương pháp lên men nhanh có ưu điểm là thời gian lên men nhanh, thiết bị đơn giản, hàm lượng acid acetic đạt cao từ 10÷11%. Tuy nhiên có nhược điểm, do thổi khí từ dưới lên nên xảy ra quá trình làm mất rượu hoặc acid acetic.

Vỏ bào gỗ sồi dùng trong phương pháp này có thể được định hình thành nhiều dạng khác nhau:

- Dạng cuộn tròn có kích thước khoảng chiều dài 2 inch và đường kính 1,25 inch được sấy khô bằng không khí (hình 7.6).

- Dạng vỏ bào gỗ sồi có kích thước 2.54cm x 1.27cm x 0.3175cm. Trước khi sử dụng, vỏ bào được đun nóng với dung dịch giấm 5% ở nhiệt độ 100°C. Sau khi nấu, vỏ bào được đặt lên trên lớp giấy phẳng để làm khô. Quá trình gia nhiệt nhằm mục đích loại bỏ men dại và vi khuẩn khác trên bề mặt vỏ bào.

Ngoài ra còn có những phương pháp lên men nhanh khác:

- Phương pháp nhúng: Người ta thiết kế thùng lên men hình trụ, bên trong lắp nhiều giỏ chứa đầy chất mang (mạt cưa, lõi bắp, than củi hay các vật liệu cellulose có khả năng giữ vi sinh vật trên đó). Các giỏ này có thể nâng lên hoặc hạ xuống được.

Người ta chuẩn bị môi trường và đổ môi trường váo thùng lên men. Vi sinh vật

sẽ được làm bám dính vào các vật liệu đựng trong giỏ. Giỏ chứa vật liệu có vi sinh vật sẽ được nhúng xuống dung dịch lên men rồi lại nhấc chúng lên khỏi dung dịch. Khi chiếc giỏ chứa chất mang có vi sinh vật thấm đầy môi trường và được nhấc lên không khí, quá trình oxy hóa rượu được xảy ra. Thao tác này được lặp đi lặp lại nhiều lần sẽ có tác dụng oxy hóa hết lượng cồn có trong dung dịch

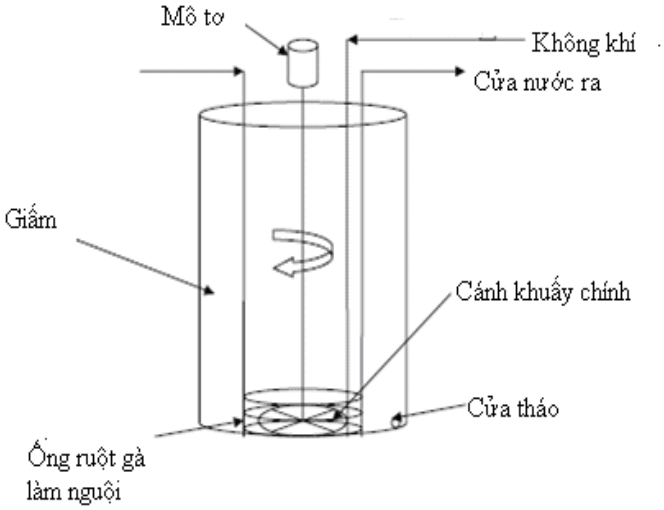
- Phương pháp hình trống quay: Người ta thiết kế thiết bị lên men có hình trụ nằm ngang bên trong một thùng chứa dung dịch lên men hở nắp. Thiết bị hình trụ này được bọc một lớp vật liệu có khả năng thấm nước và có khả năng giữ vi sinh vật. Một nửa thiết bị này nằm trong lòng dung dịch lên men, một nửa nằm trên dung dịch lên men và được tiếp xúc với không khí. Khi vận hành, một nửa thiết bị luôn luôn được tiếp xúc với không khí. Người ta thiết kế hệ thống quay này với vận tốc rất chậm để đủ thời gian cho quá trình oxy hóa ethanol thành acid acetic.

2.4.3. Phương pháp lên men chìm

Ngày nay, sử dụng phổ biến trong sản xuất giấm là phương pháp lên men chìm. Lên men chìm được sử dụng trong công nghiệp sản xuất giấm vì cho sản lượng lớn và thời gian lên men ngắn. Trong các nhà máy, hệ thống thiết bị sản xuất giấm gồm một thùng lên men đặc biệt (acetator) (hình 7.7) và một hệ thống để kiểm soát nhiệt độ của quá trình tạo giấm, có thể ở dạng ống xoắn ruột gà (hình 7.8), thời gian tạo giấm theo phương pháp này khoảng 2 ngày.

Hình 7.7. Thiết bị lên men chìm

Hình 7.8. Ống ruột gà trong thiết bị lên men chìm



Hình 7.9. Sơ đồ thiết bị lên men chìm [12]

Trong quá trình lên men chìm, ngoài lượng rượu đưa vào có nồng độ khoảng 12÷18%, một lượng "cái giấm" được tạo ra rồi đưa vào thùng lên men như là một chất xúc tác cho quá trình lên men. Thùng lên men được cấu tạo có hệ thống giữ cho hỗn hợp liên tục quay, đưa không khí vào hỗn hợp để cung cấp đủ oxy tạo điều kiện cho các vi khuẩn hoạt động. Nhiệt độ hỗn hợp được giữ ở khoảng $27^oC \div 30^oC$ để làm tăng tốc độ quá trình lên men.

Phương pháp lên men chìm có ưu điểm là khi mỗi mẻ giấm được thực hiện thì tất cả nguyên liệu rượu đều được chuyển thành acid acetic, trong khi đó các phương pháp truyền thống khác quá trình lên men diễn ra chậm hơn và còn để lại một lượng rượu trong giấm thành phẩm. Nồng độ acid acetic khi sản xuất theo phương pháp này có thể đạt đến 13%.

2.4.4. Phương pháp kết hợp

Người ta thiết kế hệ thống lên men bao gồm hai phần: Phần trên là lớp đệm hay lớp chất mang chứa vi sinh vật (giống phương pháp nhanh), lớp giữa chỉ là một thùng chứa dung dịch sau khi lên men ở phần trên chảy xuống. Dưới cùng là hệ thống thổi khí mạnh, khí sẽ được thổi qua phần dung dịch này rồi chuyển ngược lên phần trên (giống thiết bị lên men chìm).

2.5. Nâng cao nồng độ và độ tinh khiết của acid acetic trong dịch lên men

Dung dịch acid acetic sau khi lên men thường đạt nồng độ không cao, khoảng 5÷10%, và thường lẫn một số chất khác nên chỉ phù hợp để sử dụng trong chế biến thực phẩm. Trong thực tế sản xuất acid acetic, người ta có thể sử dụng phương pháp chưng cất thông thường hoặc các phương pháp chưng cất khác để nâng cao hàm lượng acid acetic trong dịch lên men và làm sạch acid acetic tạo sản phẩm acid acetic có nồng độ và độ tinh khiết cao sử dụng được trong một số ngành khác.

Phương pháp chưng cất thông thường là phương pháp đơn giản và dễ thực hiện để có thể thu được acid acetic có hàm lượng cao hơn. Tuy nhiên, phương pháp này thường tiêu hao nhiều năng lượng và sản lượng acid acetic thường không cao.

Phương pháp chưng cất bằng muối sử dụng một cấu tử có khả năng phân ly mạnh làm thay đổi trạng thái cân bằng lỏng – hơi. Trong chưng cất có sự tham gia của muối $CaCl_2$ hoặc CH_3COONa, hiệu suất thu nhận acid acetic cao, đạt độ tinh khiết. Tuy nhiên có nhược điểm tốn thiết bị, năng lượng để hoàn nguyên cấu tử phân ly và gây ăn mòn thiết bị.

Phương pháp chưng cất-trích ly được thực hiện trên cơ sở những cấu tử phân ly có độ bay hơi nhỏ hơn cấu tử đã có trong hỗn hợp. Cấu tử phân ly này sẽ kết hợp với một cấu tử có trong dung dịch tạo ra một hỗn hợp khó bay hơi và thoát ra dưới đáy tháp chưng cất. Cấu tử phân ly có thể được thu hồi để sử dụng lại.

Ngoài ra, người ta có thể dùng phương pháp chưng cất chân không. Phương pháp này có ưu điểm là thu nhận được sản phẩm có chất lượng cao, tuy nhiên việc thực hiện rất phức tạp.

2.6. Một số nguyên nhân làm giảm chất lượng lên men acid acetic

2.6.1. Giấm bị đục và giảm độ chua

Trong quá trình oxy hóa rượu thành giấm đôi khi gặp hiện tượng oxy hóa sâu sắc acid acetic tới CO_2 và nước. Giấm bị vẩn đục là do nhiễm các nấm men tạo màng thuộc giống Candida mycoderma thường là Mycoderma vini gây ra. Ngoài ra, còn có thể do nhiễm các vi khuẩn acetic khác như Acetobacter xylinum, Acetobacter aceti…

Chúng dễ oxy hóa acid acetic. Acetobacter xylinum phát triển trong giấm tạo thành màng nhầy trên bề mặt, làm cho giấm lên men phân bổ không đều, tạo cho khối vỏ bào có những vùng có độ acid thấp và ở đây chính là các ổ nhiễm có điều kiện cho các vi sinh vật tạp dần phát triển. Khi nhiễm khuẩn, các chất lỏng này lên men bị oxy hóa và chuyển thành CO_2 và nước, làm giảm lượng giấm.

Để khắc phục tình trạng này, người ta cho lên men lại và trước khi lên men phải vệ sinh thiết bị lên men thật sạch hoặc thanh trùng Pasteur ở nhiệt độ 60÷70^oC, hoặc cho thêm vào giấm $K_2S_2O_5$ với liều lượng 5÷15g/100 lít dấm kết hợp với thanh trùng Pasteur để tăng độ bền của giấm. Có thể cho giấm vào các thùng chứa được đậy kín.

Ngoài ra, một số nước quả và nước dừa có chứa vi khuẩn lactic, nhất là trong nước dừa. Loại vi khuẩn này rất yếm khí và thường cộng sinh với Mycoderma vini. Chúng tồn tại trong cả hai điều kiện yếm khí và hiếu khí. Vi khuẩn lactic tạo mùi khó chịu và làm mất màu giấm. Nó cũng khiến giấm không đủ chua và làm giảm sản lượng giấm.

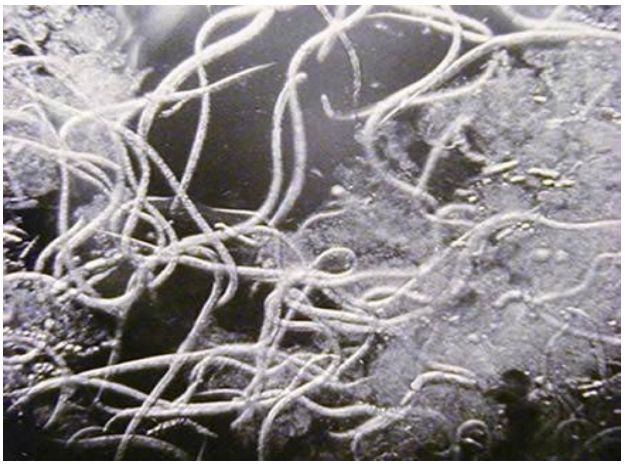
Có 3 biện pháp hữu hiệu để chống lại vi khuẩn lactic là dùng chất đường lắng trong dung dịch đã lên men, lọc và tiệt trùng rượu đã lên men, tăng độ chua lên ít nhất 1% bằng cách cho giấm ngon vào rượu đã lên men. Nếu ta cho 75 phần triệu dioxide lưu huỳnh thì có thể kiểm soát được vi khuẩn lactic.

2.6.2. Giấm chuyển màu đen

Giấm bị chuyển màu đen do 3 nhân tố: tanin, sắt và men oxy hóa. Tanin có ở trong các thùng gỗ mới hoặc trong các nguyên liệu đã được dùng để sản xuất giấm. Ví dụ, loại giấm làm từ quả vối rừng có thể chứa một hàm lượng lớn tanin làm đen giấm. Sắt khi tiếp xúc với giấm thì bị ăn mòn và tạo nên tanat sắt. Chỉ cần một phần sắt so với 10.000 phần giấm là đã đủ để làm cho giấm bị đen. Một số men oxy hóa cũng làm đổi màu giấm nhưng có thể chữa được bằng cách tiệt trùng theo phương pháp Pasteur. Thông khí và lọc là cách chữa đối với tanin và sắt.

2.6.3. Lươn giấm (trùng giấm)

Trong thùng lên men và giấm thành phẩm hay gặp một loại giun tròn nhỏ, có màu hồng gọi là lươn giấm Angillula aceti. Con đực trưởng thành dài tới 1mm, con cái 1÷2 mm (hình 7.10).



Hình 7.10. Lươn giấm

Lươn giấm sinh trưởng và phát triển trong những điều kiện không nghiêm ngặt. Chúng phát triển mạnh trong nồng độ giấm thấp (6% acid acetic). Còn ở nồng độ cao (9÷10%) chúng bị ức chế, nhưng không hoàn toàn ngừng sinh sản, ở nồng độ 12%

chúng còn sống được 1,5 tháng, nồng độ cao hơn chúng bị chết.

Lươn giấm thường sử dụng vi khuẩn acetic như nguồn dinh dưỡng, ngoài ra chúng cũng có thể sử dụng rượu, acid acetic, đường, các chất nitơ và các chất khoáng hòa tan để phát triển. Chúng không độc cho người, nhưng gây đục giấm và làm giảm độ chua của giấm.

Để tránh hiện tượng lươn giấm cần bảo đảm vệ sinh thiết bị làm giấm, các vật liệu phụ như vỏ bào, lõi bắp..., hạn chế sự nhiễm trùng giấm qua quả hư hỏng, rượu, nước, nước quả, ruồi giấm....

Để xử lý giấm thành phẩm bị hiện tượng lươn giấm, người ta thường cho vào 1÷2% muối ăn, sau 1÷2 ngày lươn giấm chết, đem lọc hoặc nâng nhiệt độ dung dịch giấm lên 40÷50°C rồi lọc để loại bỏ lươn giấm. Lươn giấm là sinh vật hiếu khí đó đó có thể tiêu diệt chúng bằng cách đóng kín các thùng chứa giấm.

2.6.4. Bọ giấm

Trong sản xuất giấm, người ta thường thấy hai loại bọ giấm

- Loại to, màu trắng, có kích thước 0,8÷1,5 mm
- Loại nhỏ, màu nâu, có kích thước 0,3÷0,4 mm

Bọ giấm làm thay đổi chất lượng của giấm. Khi thiết bị lên men bị nhiễm nhiều bọ giấm có thể sử dụng hơi nước và nước nóng để tiêu diệt chúng.

2.6.5. Ruồi giấm

Ruồi giấm thường phát triển ở phần trên và phần dưới của thiết bị lên men, chúng thường có màu nâu đỏ, có kích thước khoảng 2,5÷3 mm. Ruồi giấm là vật trung gian lây nhiễm trùng giấm và các loại vi sinh vật gây hại giấm khác.

Để kiểm soát ruồi giấm, có thể dùng lưới chắn các cửa sổ, cửa ra vào khu vực sản xuất và đảm bảo nghiêm ngặt chế độ vệ sinh xung quanh khu vực sản xuất.

3. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THẠCH DỪA

Thạch dừa (Nata de coco) là một loại thực phẩm phổ biến ở Việt Nam, Philippin, Indonesia, Nhật bản và một số nước khác trên thế giới. Thạch dừa có nguồn gốc từ Philippin, có thành phần chủ yếu là cellulose được hình thành bởi sự lên men của vi khuẩn *Acetobacter Xylinum* trong môi trường nước dừa già, nước cốt dừa, chiết xuất thực vật, nước trái cây hoặc các nguyên liệu phế thải giàu đường khác. Thạch dừa có màu trắng trong đến vàng kem, hơi dai, có bản chất hoá học là polysaccharide nên không có giá trị dinh dưỡng cao nhưng có đặc tính kích thích nhu động ruột làm cho việc điều hoà bài tiết được tốt hơn.

Thạch dừa được dùng phổ biến làm món tráng miệng hoặc sử dụng như một thành phần trong các thực phẩm khác như kem, cocktail trái cây, v.v...Ngoài ra, thạch dừa còn có thể làm giá thể nuôi cấy vi sinh vật thay cho môi trường agar, làm màng trị vết bỏng, màng bao xúc xích, ...Trong tương lai, thạch dừa vẫn là đề tài để các nhà khoa học tiếp tục nghiên cứu.

3.1. Vi sinh vật trong sản xuất thạch dừa

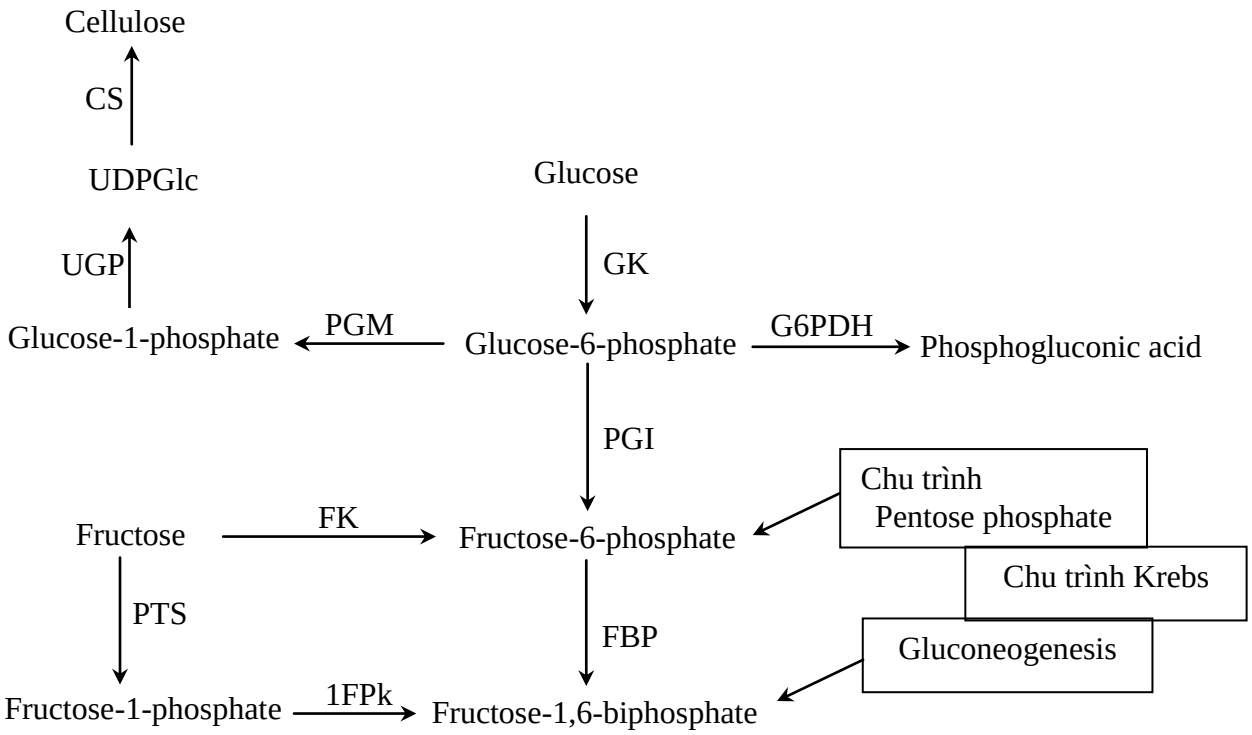
Acetobacter Xylinum (hình 7.11) thuộc nhóm vi khuẩn acetic, tế bào *Acetobacter* khi còn nhỏ có dạng hình que, kích thước thay đổi từ 2÷7µm, đứng riêng lẻ hoặc xếp thành chuỗi, khi trưởng thành có dạng hình cầu với lớp vỏ nhầy bao quanh. *Acetobacter Xylinum* là loại vi khuẩn acetic tạo váng dày và có khả năng oxy hoá các hợp chất hữu cơ. Trong môi trường nuôi cấy nước dừa già có bổ sung các chất dinh

dưỡng cần thiết *Acetobacter Xylinum* tạo nên lớp cellulose dày. *Acetobacter Xylinum* sinh trưởng ở pH < 5,0, $t^o = 28 \div 32^oC$ và có thể tích luỹ 4,5% acid acetic. Acid acetic là sản phẩm sinh ra trong quá trình hoạt động của vi khuẩn, nhưng khi chúng vượt quá mức cho phép, chúng sẽ quay ngược trở lại làm ức chế hoạt động của vi khuẩn.

Hình 7.11. Vi khuẩn Acetobacter xylinum có bao nhầy cấu tạo bởi cellulose [1]

3.2. Bản chất sinh hóa quá trình sản xuất thạch dừa

Thạch dừa được tạo thành bởi sự lên men của vi khuẩn *Acetobacter Xylinum* trong môi trường nuôi cấy nước dừa già có thêm các chất dinh dưỡng cần thiết. Phản ứng sinh hóa sinh tổng hợp cellulose bằng *Acetobacter Xylinum* là một quá trình gồm nhiều bước với sự tham gia một lượng lớn các enzyme xúc tác (hình 7.12).



Hình 7.12. Phản ứng sinh hóa sinh tổng hợp cellulose bởi A.xylinum [14]

CS: cellulose synthase; GK: glucokinase; FBP: fructose-1,6-biphosphate phosphatase; FK: fructokinase; 1FPk: fructose-1phosphate kinase; PGI: phosphoglucoisomerase; PMG: phosphoglucomutase; PTS: system of phosphotransferases; UGP: pyrophosphorylase uridine diphosphoglucose; UDPGlc: uridine diphosphoglucose; G6PDH: glucose-6-phosphate dehydrogenase; NAD: nicotinamide adenine dinucleotide; NADP: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

Khi vi khuẩn *Acetobacter Xylinum* sống trong môi trường nước dừa sẽ hấp thụ đường glucose từ môi trường nuôi cấy, trong tế bào vi khuẩn glucose này sẽ kết hợp với một acid béo tạo thành một tiền chất nằm trên màng tế bào. Sau đó tiền chất này

được tiết ra ngoài tế bào cùng với một enzyme, enzyme này có thể polyme hoá glucose thành cellulose và tạo nên lớp cellulose khá dày và chắc. Trong quá trình hình thành lớp cellulose dưới tác dụng của vi khuẩn *Acetobacter Xylinum*, ban đầu dung dịch môi trường có dạng huyền phù mịn sau đó chuyển sang dạng rời rạc rồi kết lại thành khối lớn hơn ở dạng gel. Thời gian hình thành tối đa là 30 phút sau khi có sự tiếp xúc giữa vi khuẩn với glucose và oxy.

3.3. Nguyên vật liệu trong sản xuất thạch dừa

3.3.1. Nguyên liệu chính

Nguyên liệu chính được sử dụng trong sản xuất thạch dừa là nước dừa. Thông thường thạch dừa được sản xuất từ nguyên liệu nước dừa già cho hiệu quả cao do vừa rất tốt cho quá trình lên men vừa tận dụng được nguồn nước dừa phế phẩm thải ra từ quá trình sản xuất cơm dừa nạo sấy.

Trung bình một trái dừa cho từ 260 đến 300ml nước dừa, chiếm khoảng 25% khối lượng trái dừa. Thành phần và khối lượng các bộ phận của trái dừa được trình bày ở bảng 7.1.

Bảng 7.1. Thành phần và khối lượng các bộ phận của trái dừa nặng 1,2kg [3]

Thành phần	*Trọng lượng (kg)*	*Tỷ lệ % theo khối lượng*
Vỏ	0,4	33
Gáo	0,18	12
Nước dừa	0,26	25
Cơm dừa	0,36	30

Nước dừa chứa nhiều chất dinh dưỡng như đường, protein, lipid, vitamin và một ít chất khoáng tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men. Lượng đường khử, protein và pH nước dừa tăng theo độ chín của trái dừa.

Bảng 7.2. Lượng đường khử, protein và pH trong nước dừa ở các trái có độ chín tăng dần của TP. San Pablo [3]

Tuổi tháng	*Đường khử (g/100ml)*	*Protein (g/100ml)*	*pH*
4	2,20	0,104	4,90
5	2,25	0,210	4,87
6	2,39	0,262	4,92
7	2,56	0,356	4,92
8	2,63	0,504	5,17
9	2,89	0,512	5,40
10	2,79	0,521	

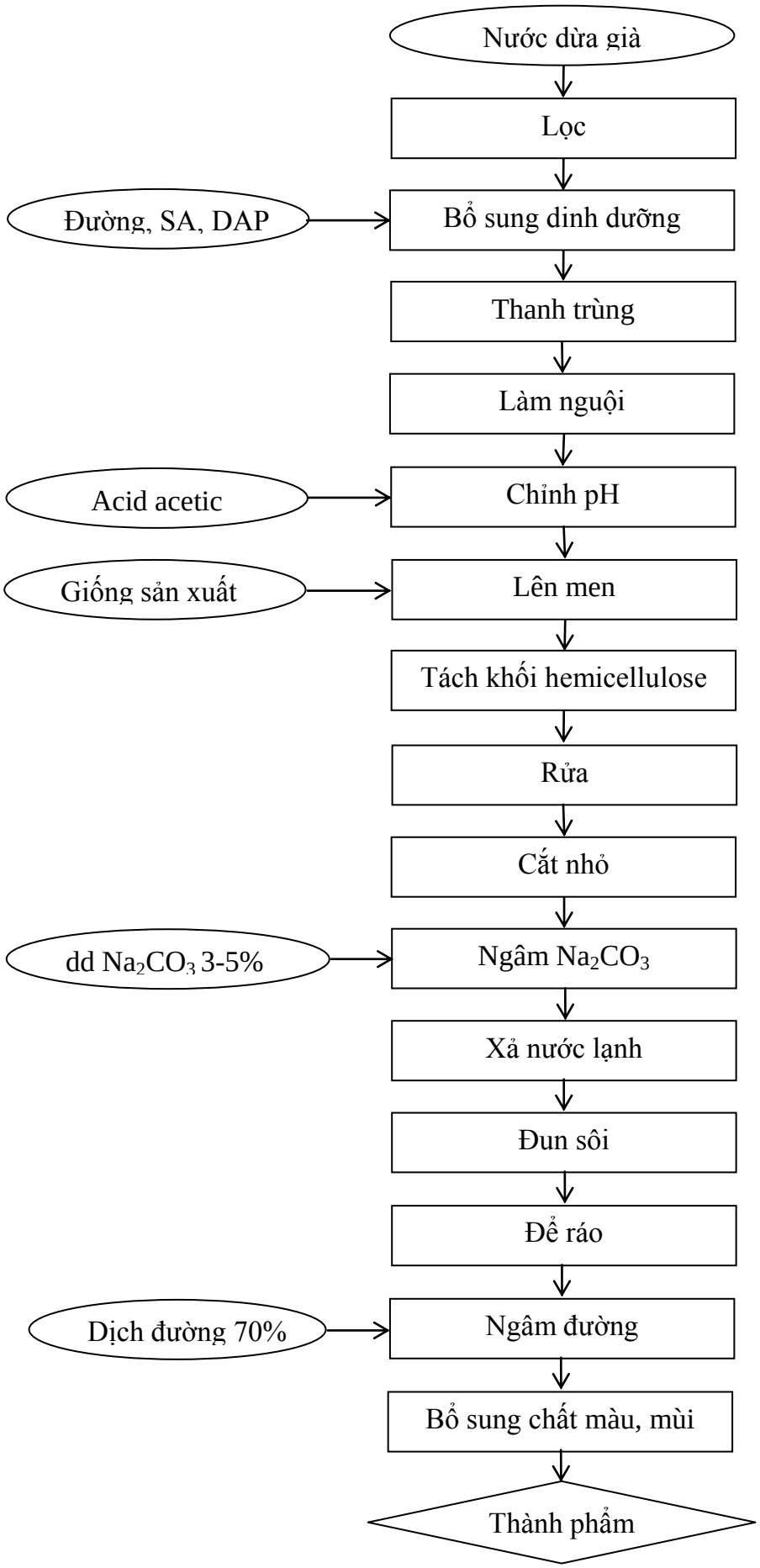
3.3.2. Các hóa chất và phụ gia

Trong sản xuất thạch dừa, để có đủ nguồn dinh dưỡng cho vi khuẩn *Acetobacter Xylinum* hoạt động cần bổ sung một số muối dinh dưỡng như: $(NH_4)_2SO_4$, $(NH_4)_2PO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$…Ngoài ra trong thành phẩm có thể sử dụng một số hóa chất bảo quản như benzoat, sorbat…

3.4. Quy trình công nghệ sản xuất thạch dừa

3.4.1. Sơ đồ quy trình

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất thạch dừa được trình bày ở hình 7.13.



Hình 7.13. Sơ đồ quy trình sản xuất thạch dừa

3.4.2. Thuyết minh quy trình

a) Chuẩn bị giống để sản xuất

* Môi trường phân lập và giữ giống

Giống *Acetobacter Xylinum* được nuôi trong môi trường thạch nghiêng, thành phần gồm:

$(NH_4)_2SO_4$ (SA)	8g
$(NH_4)_2HPO_4$ (DAP)	2g
Saccharose	20g
Agar	20g
Nước dừa	1000ml

Môi trường được chuẩn bị, cho vào các ống nghiệm và thanh trùng ở 121°C trong 20 phút. Sau đó cấy giống và để trong tủ ấm 3÷4 ngày.

Lựa chọn những ống giống phát triển tốt bảo quản trong tủ lạnh ở 2÷4°C để tiếp tục quá trình nhân giống. Quá trình nhân giống có thể qua 1 cấp, 2 cấp hoặc nhiều hơn tùy thuộc vào quy mô sản xuất.

* Môi trường nhân giống cấp 1

Thành phần môi trường nhân giống cấp 1 giống như trên nhưng không có agar và được điều chỉnh pH = 3,8÷4 bằng dung dịch acid acetic.

Môi trường được khử trùng ở 100°C trong 30 phút. Cũng có thể nâng nhiệt độ khử trùng lên đến 121°C. Cho môi trường đã khử trùng vào các bình tam giác (100ml) hoặc chai thủy tinh đã thanh trùng (khoảng 50ml/bình), đậy nắp lại. Để nguội đến 30°C rồi tiến hành cấy giống từ ống thạch nghiêng. Lắc hay sục khí trong thời gian 18÷20 giờ. Sau đó để yên nuôi ở nhiệt độ phòng trong 3÷4 ngày. Khi xuất hiện lớp váng trắng, chắc trên bề mặt môi trường thì tiến hành nhân giống cấp 2.

* Môi trường nhân giống cấp 2

Chuẩn bị thành phần môi trường và khử trùng giống như môi trường nhân giống cấp 1.

Phân môi trường vào các bình tam giác (250ml) hoặc chai thủy tinh, cho khoảng 100ml÷150ml môi trường, đậy nắp. Để nguội đến 30°C, cấy giống theo tỉ lệ 10÷20%. Lắc hay sục khí và nuôi như nhân giống cấp 1.

Tùy theo yêu cầu sản xuất có thể nhân giống đến cấp hai hoặc cấp 3 cho đủ lượng giống để đưa vào sản xuất.

b) Chuẩn bị môi trường lên men

Nước dừa già thu nhận ở các nhà máy sản xuất cơm dừa nạo sấy được lọc qua vải lọc để loại bỏ các tạp chất. Dịch lọc nước dừa được thu vào thùng chứa. Cặn trên vải lọc được tách ra ngoài.

Tiến hành bổ sung các chất dinh dưỡng: SA, DAP, đường glucose vào dịch lọc nước dừa, đây là nguồn cung cấp nitơ, khoáng… tạo môi trường tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp sản phẩm. Môi trường sau khi bổ sung dinh dưỡng được thanh trùng bằng cách đun sôi khoảng 10÷15 phút để tiêu diệt các vi sinh vật có trong môi trường. Sau đó làm nguội.

Dùng acid acetic 40% điều chỉnh môi trường để đạt được pH = 3,8÷4,0 chỉnh nhiệt độ đến 28÷31°C (pH, nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men).

c) Lên men

Đổ môi trường vào các khay, cấy giống theo tỷ lệ 1:10. Đậy các khay chứa dịch lên men bằng vải mỏng hoặc giấy. Giữ nhiệt độ phòng ở 28÷31°C trong vòng 5÷10 ngày. Trong thời gian này quá trình lên men sẽ xảy ra, lớp thạch dần được hình thành trên bề mặt vì vậy không nên làm khuấy động môi trường để tránh làm cho lớp thạch đang hình thành bị tách lớp.

Ngoài quá trình tạo sinh khối màng cellulose, trong quá trình lên men còn tạo ra sự tích lũy các acid hữu cơ trong dịch nuôi cấy, sự tích lũy acid hữu cơ phụ thuộc vào từng chủng trong mỗi loài vi khuẩn, vào thành phần của môi trường, vào sự thông khí và các nhân tố khác. Đối với Acetobater Xylinum việc lên men đi liền với hình thành các acid dicarboxylic không bay hơi (acid malic, fumaric, succinic), các keto acid (acid oxaloacetic, pyruvic) như là các sản phẩm trung gian và các acid mono carboxylic bay hơi (acid propionic, acid acetic, đôi khi cả acid formic) như là các sản phẩm cuối cùng.

d) Thu nhận thạch dừa thô và hoàn thiện sản phẩm

Tách khối cellulose ra khỏi dịch lên men. Sau đó rửa khối cellulose bằng nước lạnh. Cắt khối cellulose thành các miếng nhỏ, đều đặn, kích thước tùy thuộc vào yêu cầu của sản phẩm, có thể cắt bằng tay hoặc dùng máy.

Ngâm sản phẩm trong dung dịch Na_2CO_3 3÷5% trong 15 phút để trung hoà acid acetic còn sót bên trong thạch. Sau đó xả lại bằng nước lạnh. Đun sôi để làm trong sản phẩm, có thể bổ sung chất tạo dai để làm tăng độ dai của sản phẩm.

Chuẩn bị dịch đường 70% và ngâm khối thạch vào dung dịch nước đường để tạo độ ngọt và tăng độ trong cho sản phẩm. Tỉ lệ 1kg thạch/lít dịch đường.

Bổ sung màu, mùi để hoàn thiện giá trị cảm quan.

e) Bảo quản thạch dừa

Khối cellulose tạo ra được ngâm trong dịch đường có nồng độ cao (70%) do đó có thể ức chế được sự hoạt động của vi khuẩn và nấm men. Bảo quản thạch dừa trong điều kiện lạnh sẽ kéo dài được thời gian bảo quản. Có thể sử dụng muối natribenzoat với nồng độ sử dụng khoảng 0,05÷1% sản phẩm thạch dừa và đóng gói kín có thể bảo quản được ở nhiệt độ thường trong thời gian 4 tháng.

3.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men thạch dừa

3.5.1. Ảnh hưởng của $(NH_4)_2SO_4$ và $(NH_4)_2PO_4$

Tỉ lệ thành phần dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy có ý nghĩa quyết định đối với sự sinh trưởng và phát triển của *A.Xylinum*. Sự thay đổi nồng độ $(NH_4)_2SO_4$ trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của *A.Xylinum* và quá trình tạo màng nhầy. Nồng độ các chất dinh dưỡng này tăng sẽ dẫn đến hàm lượng cellulose tạo ra cao.

Tuy nhiên khi tăng hàm lượng bổ sung các chất dinh dưỡng này đến một mức độ nào đó sẽ hạn chế sự tạo thành lớp cellulose do *A.Xylinum* không hấp thu được hết lượng chất dinh dưỡng, phần còn lại trong môi trường sẽ ức chế sự phát triển của tế bào vi khuẩn.

Ảnh hưởng của nồng độ $(NH_4)_2HPO_4$ đến sự hình thành thạch dừa, được trình

bày ở bảng 7.3.

Bảng 7.3. Ảnh hưởng của nồng độ $(NH_4)_2HPO_4$ đến sự hình thành thạch dừa [3]

Nồng độ $NH_4H_2PO_4$ (%)	*Khối lượng trung bình của thạch dừa thô từ 400 ml canh trường sau 15 ngày (g)*
0.0	110.0
0.1	128.70
0.2	135.50
0.3	148.65
0.4	168.20
0.5	210.35
0.6	178.90
0.7	174.85
0.8	170.45
0.9	163.90
1.0	150.40

3.5.2. Ảnh hưởng của các loại đường

A.Xylinum có thể sử dụng các loại đường khác nhau như: glucose, sacchacrose, lactose, maltose, dextrin và galactose trong quá trình lên men sản xuất thạch dừa. Ứng với mỗi loại đường và nồng độ đường khác nhau, thạch dừa hình thành sẽ có khối lượng và trạng thái khác nhau. Khi sử dụng glucose và sacchacrose cho quá trình lên men sẽ cho khối lượng thạch dừa cao và trạng thái rất tốt. Khi không bổ sung đường hoặc sử dụng đường galactose trong dịch lên men thì thạch dừa được tạo ra mỏng, mềm và rất ít.

Bảng 7.4 trình bày ảnh hưởng của các loại đường khác nhau đến sự hình thành thạch dừa trong nước dừa ở pH = 5,0.

Bảng 7.4. Ảnh hưởng của đường đến sự hình thành thạch dừa trong nước dừa ở pH = 5.0 [3]

Đường	*Độ dày – Trạng thái*	*Khối lượng thạch dừa sau 15 ngày lên men (g)*
Glucose	Dày – chắc	198.50
Saccharose	Dày – chắc	193.79
Lactose	Màng mỏng – mềm	84.50
Maltose	Màng mỏng – mềm	86.35
Dextrin	Màng mỏng – mềm	81.20
Galactose	Màng mỏng – mềm	50.45
Không bổ sung đường	Màng mỏng – mềm	50.00

Trong thực tế sản xuất người ta thường sử dụng saccharose do giá thành rẻ và cho năng suất khá cao.

3.5.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men thạch dừa là 28÷32°C. Ở nhiệt độ cao hơn 35°C hoặc thấp hơn 15°C khả năng hình thành thạch dừa hầu như không có.

Bảng 7.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành thạch dừa trong nước dừa ở pH = 5.0 [3]

Nhiệt độ (^{o}C)	*Trạng thái thạch dừa*	*Khối lượng trung bình sau 15 ngày lên men (g)*
15	Không phát triển	0.00
20	Màng mỏng – mềm	87.50
25	Trung bình – chắc	128.82
28÷31	Dày – chắc	195.02
35	Đặc sệt, không tạo thạch	0.00
40	Đặc sệt, không tạo thạch	0.00

3.5.5. Ảnh hưởng của pH

Độ pH ảnh hưởng nhiều đến năng suất và sự hình thành sản phẩm thạch dừa, ở độ pH quá thấp hoặc quá cao đều không tạo ra thạch, thể hiện ở bảng 7.6.

Bảng 7.6. Ảnh hưởng của pH đến sự hình thành thạch dừa [3]

pH	*Độ dày – Trạng thái*	*Khối lượng thạch dừa sau 15 ngày lên men (g)*
2.5	Không hình thành thạch	_
3.0	Không hình thành thạch	_
3.5	Màng mỏng – mềm	92.60
4.0	Trung bình – mềm	148.52
4.5	Dày – chắc	188.32
5.0	Dày – chắc	193.89
5.5	Dày – chắc	184.20
6.0	Dày – chắc	173.70
6.5	Trung bình – chắc	163.85
7.0	Màng mỏng – mềm	86.90
7.5	Không hình thành thạch	_
8.0	Không hình thành thạch	_

3.6. Kiểm tra và đánh giá chất lượng thạch dừa thành phẩm

3.6.1. Phần cái

- Thạch dừa được ngâm trong nước đường có bổ sung mùi của các loại trái cây như vải, nhãn, dâu , ...

- Kích thước thạch dừa nên đạt : 1 x 2 x 2.5 (cm)
- Màu sắc : trắng sữa
- Cấu trúc : dai, chắc
- Mùi vị : mang mùi trái cây tùy thuộc vào từng loại sản phẩm.

3.6.2. Phần nước

- Tỷ lệ cái/nước là 50/50
- Nước đường có vai trò tạo vị ngọt và là môi trường bảo quản thạch dừa
- Hàm lượng đường vào khoảng 60÷70%
- Nước phải trong và mang mùi đặc trưng riêng của từng sản phẩm.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Cơ sở của quá trình sản xuất mì chính bằng phương pháp lên men là gì? Những yếu tố nào ảnh hưởng đến quá trình sản xuất mì chính?

2. Hãy mô tả quy trình sản xuất mì chính bằng phương pháp lên men và giải thích các công đoạn trong quy trình.

3. Cho biết vai trò của biotin và ure trong quá trình sản xuất mì chính bằng phương pháp lên men.

4. Nêu đặc điểm của vi khuẩn acetic và bản chất sinh hóa của quá trình lên men acetic.

5. Trình bày các phương pháp lên men và giải thích ảnh hưởng của các yếu tố: oxy không khí, nhiệt độ, nồng độ acid acetic, nồng độ rượu và các chất dinh dưỡng bổ sung đến quá trình lên men acid acetic.

6. Giải thích một số nguyên nhân làm giảm chất lượng của quá trình lên men acid acetic.

7. Trình bày bản chất của quá trình sản xuất thạch dừa và đặc điểm của vi khuẩn lên men thạch dừa.

8. Nêu quy trình sản xuất thạch dừa và trình bày những công đoạn chính trong quy trình.

9. Việc bổ sung các chất dinh dưỡng và đường có ý nghĩa như thế nào đến quá trình sản xuất thạch dừa? Vì sao?

10. Các thông số nhiệt độ và pH bị thay đổi sẽ ảnh hưởng như thế nào đến việc hình thành cấu trúc của thạch dừa?

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Nguyễn Lân Dũng (2005), *Cấu trúc tế bào vi khuẩn*, http://vietsciences.free.fr/khaocuu/nguyenlandung/cautructebaovk.htm, truy cập 17/01/2010.

[2]. PGS.TS. Nguyễn Thị Hiền (2004), *Công nghệ sản xuất mì chính và các sản phẩm lên men cổ truyền,* NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.

[3]. Nguyễn Thúy Hương (2010), *Sản xuất Thạch dừa*, ĐH Bách Khoa TP HCM.

[4]. Nguyễn Thúy Hương (2008), *Ảnh hưởng của nguồn cơ chất và kiểu lên men đến năng suất và chất lượng cellulose vi khuẩn*, Tạp chí khoa học ĐHQG Hà Nội, Khoa học tự nhiên và công nghệ, số 24, tr. 205-210, Hà Nội.

[5]. Nguyễn Đức Lượng (2006), *Công nghệ vi sinh tập 2 – Vi sinh vật học công nghiệp*, NXB ĐHQG TP HCM.

[6]. TS. Nguyễn Xuân Phương, TSKH Nguyễn Văn Thoa (2005), *Cơ sở lý thuyết và kỹ thuật sản xuất thực phẩm,* NXB Giáo dục.

[7]. PGS.TS. Trần Minh Tâm (2000), *Công nghệ vi sinh ứng dụng,* NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

[8]. PGS.TS. Trần Minh Tâm (2008), *Quy trình sản xuất mì chính "axit Glutamic",* http://muivi.com/amthuc/bai%2Bviet/gia%2Bvi%2B/component/option,com_comprofiler/task,usersList/index.php?option=com_content&task=view&id=6285&Itemid=431, truy cập 17/01/2010

[9]. Lê Thị Bạch Tuyết (Chủ biên) (1994), *Các quá trình công nghệ cơ bản trong sản xuất thực phẩm*, NXB Giáo dục, Hà Nội.

[10]. C.M.Bourgeois, J.P. Larpent (1996) - *Microbiologie alimentaire (Tome 2) - Aliments fermentés et fermentations alimentaire*, Londre Paris.

[11]. Jesse D Dagoon - Sách dịch (2000), *Dinh dưỡng ứng dụng và chế biến thực phẩm,* NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

[12]. San Chiang Tan (A Thesis) (2005), *Vinegar fermentaion*, Master of Science in The Department of Food Science, University of Louisiana at Lafayette.

[13]. Tyler Lacoma (2010), *The Submerged Fermentation Method for Making Vinegar*, http://www.ehow.com/about_5925870_submerged-fermentation-method-making-vinegar.html, truy cập 18/10/2010.

[14]. Prashant R.Chawla, Ishwar B.Bajaj, Shrikant A.Survase and Rekha S.Singhal (2009), *Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications*, Food Technol. Biotechnol. 47 (2) 107-124.