



CÔNG NGHỆ sản xuất & kiểm tra cồn etylic

PGS. TS. NGUYỄN ĐÌNH THƯỜNG
TS. NGUYỄN THANH HẰNG

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT VÀ KIỂM TRA CỒN ETYLIC

(In lần thứ 3 có sửa chữa, bổ sung)



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
HÀ NỘI - 2007

LỜI NÓI ĐẦU

Công nghệ cồn etylic là khoa học về phương pháp và quá trình chế biến các nguyên liệu chứa tinh bột, đường, xenluloza, etylen thành sản phẩm etylic hay etanol.

Trong phạm vi cuốn sách nhỏ này, chúng tôi chỉ đề cập tới những vấn đề có liên quan đến quá trình sản xuất cồn etylic từ nguyên liệu thực phẩm chứa bột và đường. Sản phẩm thu được gọi là cồn thực phẩm.

Công nghệ sản xuất cồn thực phẩm sử dụng các kiến thức về lý hoá học, hoá keo, hoá công và nhất là hoá sinh và vi sinh vật học.

Quy trình công nghệ sản xuất cồn etylic có thể chia thành các công đoạn chính gồm: chuẩn bị dịch đường lên men; gậy men giống, lên men dịch đường và xử lý dịch lên men.

Chuẩn bị dịch lên men: Nếu nguyên liệu chứa tinh bột thì công đoạn này gồm nghiền, nấu, đường hoá và làm lạnh đến nhiệt độ lên men. Nếu nguyên liệu là mật rỉ thì chuẩn bị dịch lên men gồm pha loãng sơ bộ, xử lý mật rỉ, bổ sung nguồn dinh dưỡng, tách cặn rồi pha loãng tới nồng độ gậy men và lên men.

Gậy men giống và lên men: Muốn lên men trước hết cần phát triển men giống tới chất lượng và số lượng cần thiết, thường bằng 10% thể tích thùng lên men. Sau đó đưa men giống và dịch đường vào thùng rồi không chế ở điều kiện xác định để nấm men chuyển hóa đường thành rượu và CO_2 . Dịch nhận được sau lên men gọi là giấm chín.

Xử lý dịch lên men: Công đoạn này có liên quan tới kiến thức lý học và chuyển khối. Thực chất là dùng hệ thống chưng luyện phù hợp để tách rượu và các chất dễ bay hơi khỏi giấm chín, sau đó đem tinh luyện để nhận được cồn sản phẩm, thoả mãn tiêu chuẩn và yêu cầu tiêu dùng. Sản phẩm thu được sau xử lý bao gồm cồn thực phẩm, cồn đầu, dầu fusel hoặc alcol cao phân tử.

Ngoài các sản phẩm kể trên, chúng ta còn thu được bã rượu có chứa nhiều chất hữu ích, có thể dùng làm môi trường nuôi cấy và thu

nhận nấm men thô dùng cho chăn nuôi, chế biến các loại kháng sinh v.v... Ở một số nước, người ta đem cô đặc bã rượu tới nồng độ chất khô nhất định và bổ sung trực tiếp vào khẩu phần ăn của vật nuôi. Trong bã rượu từ rỉ đường còn có thể thu nhận glyxerin, axit glutamic. Trong những năm gần đây bã rượu từ mật rỉ còn được nghiên cứu và đưa vào phụ gia của vật liệu xây dựng.

Ở nước ta việc sử dụng bã rượu chưa được nghiên cứu áp dụng nên còn lãng phí nhiều. Phần lớn bị bỏ đi, chỉ phần rất ít được sử dụng vào mục đích chăn nuôi.

Giáo trình này được viết theo trình tự của một dây chuyền sản xuất. Mỗi chương đều chú ý nêu mục đích và những quá trình biến đổi chủ yếu xảy ra trong từng công đoạn, cũng như các phương pháp thực hiện nhằm đạt hiệu quả cao hơn; đồng thời chỉ ra những tồn tại, nguyên nhân chủ quan và khách quan dẫn đến làm giảm hiệu suất và chất lượng.

Trong phần kiểm tra sản xuất, chúng tôi đề cập đến các phương pháp phân tích thông thường đang áp dụng ở các cơ sở sản xuất của ta theo TCVN-71. Đồng thời giới thiệu một số phương pháp phân tích tiên tiến, chính xác hơn mà chúng ta có thể và nên áp dụng trong thời gian tới để dần hoà nhập với khu vực và thế giới.

Giáo trình “Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic” này được biên soạn chủ yếu cho học sinh, sinh viên hệ chính quy, tại chức cũng như cao đẳng và trung cấp ngành thực phẩm. Đồng thời có thể dùng làm tài liệu tham khảo cho anh chị em công nhân, các nhà kinh doanh, nhà kinh tế và các cán bộ nghiên cứu, những người quan tâm tới hiệu suất và chất lượng cồn rượu ở nước ta.

Trong lần tái bản này chúng tôi có bổ sung thêm một số bảng tra cứu và sửa chữa những thiếu sót của lần đầu. Tuy nhiên chúng tôi vẫn mong nhận được ý kiến đóng góp của bạn đọc để lần tái bản sau cuốn sách sẽ hoàn thiện hơn. Thư từ góp ý xin gửi về Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 70 - Trần Hưng Đạo, Hà Nội.

Các tác giả

MỤC LỤC

Lời nói đầu	3
Phần thứ nhất. TÌNH HÌNH SẢN XUẤT VÀ SỬ DỤNG CỒN, RƯỢU Ở NƯỚC TA VÀ TRÊN THẾ GIỚI	
<i>Chương I. Sơ lược về phát sinh, phát triển cồn, rượu ở nước ta</i>	11
<i>Chương II. Tình hình sản xuất và sử dụng cồn, rượu trên thế giới</i>	18
Phần thứ hai. NGUYÊN LIỆU DÙNG TRONG SẢN XUẤT CỒN	
<i>Chương III. Nguyên liệu chứa tinh bột</i>	21
3.1. Cấu tạo và thành phần hóa học của sản	21
3.2. Thành phần quan trọng và chủ yếu đối với nguyên liệu chứa tinh bột dùng trong sản xuất rượu	24
<i>Chương IV. Nguyên liệu chứa đường - mật ri</i>	30
Phần thứ ba. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CỒN ETYLIC	
<i>Chương V. Nghiền nguyên liệu</i>	33
<i>Chương VI. Nấu nguyên liệu</i>	36
6.1. Mục đích của nấu nguyên liệu	36
6.2. Những biến đổi lý hóa học xảy ra trong khi nấu nguyên liệu	36
6.2.1. Độ bền của tế bào thực vật	36
6.2.2. Sự trương nở và hòa tan tinh bột	37
6.2.3. Những biến đổi của hemixenluloza, xenluloza và pectin	41
6.2.4. Những biến đổi của tinh bột và đường	42
6.2.5. Những biến đổi của protit và các chất khác	46

6.3. Tiến hành nấu nguyên liệu	47
6.3.1. Nấu gián đoạn	48
6.3.2. Nấu bán liên tục	49
6.3.3. Nấu liên tục	51
a. Sơ đồ Mitchurin	52
b. Sơ đồ nấu liên tục Miarotki	54
<i>Chương VII. Đường hóa dịch cháo</i>	62
7.1. Nuôi cấy và thu nhận chế phẩm amylaza từ vi sinh vật	62
7.1.1. Hình thái và sinh lý của nấm mốc	63
7.1.2. Các điều kiện cần và đủ để nhận chế phẩm amylaza có hoạt lực cao	65
7.1.2.1. Chủng giống vi sinh vật	65
7.1.2.2. Môi trường dinh dưỡng	66
7.1.2.3. Điều kiện nuôi cấy	70
7.1.3. Sơ đồ nuôi cấy nấm mốc theo phương pháp bề mặt	74
7.1.4. Sơ đồ nuôi cấy nấm mốc trong môi trường lỏng	75
7.2. Hệ amylaza - vai trò và chức năng tác dụng của chúng trong quá trình thủy phân tinh bột	79
7.2.1. Động thuyết của quá trình thủy phân tinh bột	81
7.2.1.1. Phản ứng và tốc độ thủy phân tinh bột	81
7.2.1.2. Ảnh hưởng của các yếu tố tới thủy phân tinh bột	86
7.2.2. Sự biến đổi của các chất khác trong quá trình đường hóa	94
7.3. Sơ đồ thiết bị và thao tác khi đường hóa	95
7.3.1. Đường hóa liên tục	95
7.3.2. Đường hóa gián đoạn	101
7.3.3. Chỉ tiêu chất lượng dịch đường hóa	105
<i>Chương VIII. Lên men dịch đường</i>	107
8.1. Đại cương về lên men rượu	107
8.2. Cấu tạo, thành phần hóa học và dinh dưỡng của nấm men	110
8.2.1. Cấu tạo của tế bào men	110

8.2.2. Thành phần hóa học và dinh dưỡng của nấm men	113
8.3. Nấm men dùng trong sản xuất cồn etylic	115
8.4. Cơ chế hóa sinh học của lên men rượu	122
8.5. Sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian của quá trình lên men rượu	124
8.5.1. Sự tạo thành axit	124
8.5.2. Sự tạo thành alcol cao phân tử	127
8.5.3. Sự tạo thành este	131
8.6. Các vi khuẩn có hại cho nấm men	132
8.7. Nuôi cấy nấm men giống	135
8.7.1. Nhân giống trong phòng thí nghiệm	135
8.7.2. Nhân giống trong sản xuất	136
8.8. Các yếu tố hóa học và lý học ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển và lên men	139
8.8.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ	139
8.8.2. Ảnh hưởng của pH	140
8.8.3. Ảnh hưởng của nồng độ dịch lên men	141
8.8.4. Ảnh hưởng của một số hóa chất và chất sát trùng	142
8.8.5. Ảnh hưởng của sức khí	143
8.8.6. Ảnh hưởng của nguồn nitơ bổ sung	144
8.9. Tiến hành lên men rượu	145
8.9.1. Động học của quá trình lên men	145
8.9.2. Các thiết bị và sơ đồ công nghệ lên men	149
8.9.2.1. Lên men gián đoạn	149
8.9.2.2. Lên men liên tục	152
8.9.2.3. Lên men cải tiến - bán liên tục	154
8.9.3. Chế độ vệ sinh và thanh trùng thiết bị	156
8.9.4. Các chỉ tiêu của giấm chín	157
8.9.4.1. Độ lên men	157
8.9.4.2. Đường sót sau lên men	159
8.9.4.3. Độ chua giấm chín	159
8.9.4.4. Nồng độ rượu trong giấm chín	159

8.10. Chuẩn bị và lên men dịch đường từ nguyên liệu mật ri	160
8.10.1. Pha loãng và xử lý dịch mật ri	160
8.10.2. Pha loãng tới nồng độ gây men và lên men	162
8.10.3. Gây men giống và lên men dịch đường	163
8.10.3.1. Lên men gián đoạn theo sơ đồ một nồng độ	164
8.10.3.2. Lên men gián đoạn theo sơ đồ hai nồng độ (pha dần)	165
8.10.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến lên men ri đường	166
Chương IX. Chứng cất và tinh chế cồn etylic (xử lý dịch lên men)	169
9.1. Cơ sở lý thuyết về chưng cất và tinh chế	170
9.1.1. Lý thuyết về chưng cất rượu	170
9.1.2. Lý thuyết về tinh chế cồn	173
9.2. Sơ đồ thiết bị và tiến hành chưng cất, tinh chế	178
9.2.1. Chưng luyện gián đoạn	178
9.2.2. Chưng luyện liên tục	183
a. Sơ đồ hai tháp làm việc gián tiếp	183
b. Hệ thống ba tháp làm việc gián tiếp	185
c. Sơ đồ chưng luyện ba tháp + một tháp fusel = bốn	188
d. Sơ đồ tinh luyện để nhận cồn tuyệt đối	192
9.3. Tính cân bằng vật chất các thiết bị chủ yếu của hệ thống chưng luyện	194
9.3.1. Hồi lưu và tỷ số hồi lưu	194
9.3.2. Cân bằng vật chất và nhiệt lượng	195
9.4. Tính và chọn một số chỉ tiết thiết bị của hệ thống chưng luyện	199
9.4.1. Số mâm, khoảng cách và tốc độ hơi trong tháp	199
9.4.2. Cấu tạo các loại mâm (đĩa) và cơ sở để lựa chọn	202
Chương X. hiệu suất, tổn thất và khắc phục các hiện tượng bất thường trong sản xuất	205
10.1. Hiệu suất và tổn thất	205
10.2. Những hiện tượng bất thường, nguyên nhân và cách khắc phục nhằm đảm bảo chất lượng cồn tinh chế	209

Phần thứ tư. KIỂM TRA SẢN XUẤT

Chương XI. Kiểm tra nguyên liệu	213
11.1. Xác định độ ẩm	213
11.2. Xác định hàm lượng tinh bột	214
11.2.1. Xác định hàm lượng tinh bột bằng phương pháp hóa học	214
11.2.2. Xác định hàm lượng tinh bột bằng phương pháp quang học Evec	217
11.3. Xác định hàm lượng đường trong mật rỉ	219
11.4. Xác định hàm lượng protein thô và nitơ hòa tan trong nguyên liệu	225
Chương XII. Xác định hoạt độ của chế phẩm enzym dùng trong nấu và đường hóa tinh bột	229
12.1. Hoạt độ amylaza	229
12.2. Hoạt độ oligo-1,6- glucosidaza (dextrinaza)	233
12.3. Hoạt độ glucoamylaza	235
12.4. Xác định hoạt độ đường hóa chung theo Lino	238
Chương XIII. Kiểm tra dịch đường hóa và giấm chín sau lên men	240
13.1. Độ rượu trong giấm chín và nước thải	240
13.2. Đường và tinh bột sót trong giấm chín	242
13.2.1. Xác định tổng hàm lượng tinh bột và đường theo phương pháp thủy phân bằng axit	243
13.2.2. Xác định hàm lượng tinh bột và đường theo phương pháp dùng antron ($C_6H_4COCH_2C_6H_4$; $M=194,29$)	244
13.3. Xác định nồng độ chất hòa tan của dịch đường hóa và giấm chín	248
Chương XIV. Kiểm tra chất lượng cồn	251
14.1. Nồng độ rượu	251
14.2. Hàm lượng axit và este trong cồn	255
14.3. Xác định hàm lượng aldehyt theo phương pháp iod	256
14.4. Xác định hàm lượng alcol cao phân tử	258
14.5. Xác định hàm lượng alcol metylic (CH_3OH)	260

14.6. Xác định thời gian oxy hóa	261
14.7. Xác định hàm lượng furfural ($C_5H_4O_2$)	262
Phần phụ lục	
<i>Phụ lục I.</i> Hệ số bay hơi K của etylic	264
<i>Phụ lục II.</i> Quan hệ giữa nồng độ rượu và nhiệt độ sôi	264
<i>Phụ lục III.</i> Quan hệ giữa hàm lượng đường và số mg Cu theo phương pháp Bectran	266
<i>Phụ lục IV.</i> Quan hệ giữa % thể tích và % khối lượng của hỗn hợp rượu - nước cùng khối lượng riêng ở điều kiện $20^{\circ}C$ và d_{20}^{20}	269
<i>Phụ lục V.</i> Khối lượng riêng và thể tích riêng của hỗn hợp rượu-nước ở áp suất $p = 1$ at và 1,1 at	272
<i>Phụ lục VI.</i> Nhiệt hàm của hơi rượu-nước ở nồng độ khác nhau khi bay hơi và ngưng tụ ở áp suất 760 mmHg	273
Tài liệu tham khảo	274

PHẦN THỨ NHẤT

TÌNH HÌNH SẢN XUẤT VÀ SỬ DỤNG CỒN RƯỢU Ở NƯỚC TA VÀ TRÊN THẾ GIỚI

Chương I

SƠ LƯỢC VỀ PHÁT SINH, PHÁT TRIỂN CỒN RƯỢU Ở NƯỚC TA

Ở nước ta, nghề nấu rượu thủ công đã có từ ngàn xưa và chưa có tài liệu nào cho biết điểm khởi đầu. Theo kinh nghiệm cổ truyền, nghề nấu rượu thủ công được thực hiện như sau:

Gạo tẻ hoặc nếp được nấu chín thành cơm, dỡ ra nong sạch, để nguội, tiếp đó trộn men giống đã giã nhỏ với số lượng từ 1,5 đến 2,5% so với gạo (thường 1 nắm men cho 1 kg gạo). Sau khi trộn đều, cơm được đưa vào rổ rá sạch, lót lá chuối, đậy kín bằng lá phía trên rồi phủ vải sạch hoặc bao tải, đặt vào chỗ thoáng mát khi trời nóng hoặc chỗ ấm vào mùa đông. Sau 2 đến 3 ngày ta nhận được cơm ủ có mùi thơm dễ chịu, ăn ngon, có vị cay và mềm.

Tiếp đó cho cơm ủ vào chum hoặc vại sạch rồi thêm nước với số lượng 2 đến 3 lít cho 1 kg gạo đem nấu (tốt nhất nên dùng nước đun sôi để nguội tới 30°C), khuấy đều và để cho lên men tiếp 2,5 đến 3 ngày nữa. Nếu ủ men tốt thì da số hạt gạo nấu vẫn giữ nguyên dạng bề ngoài nhưng nổi trên mặt chum vại. Dịch lên men này thường được gọi là "cơm hèm". Đổ cơm hèm vào nồi, đậy vung trát kín, chỉ để một lỗ hở thông với hệ làm lạnh rồi đun cho tới sôi, hơi bay ra ngưng tụ lại ta sẽ thu được rượu.

Chất lượng rượu thu được phụ thuộc rất nhiều yếu tố như nguyên liệu gạo nếp hay tẻ, cơm nấu khô hoặc nhão, men tốt hay

xấu, nhiệt độ khi ủ và lên men, cũng như cách tiến hành chưng cất, lấy sản phẩm. Quan trọng nhất là men giống - nguyên liệu và cách làm men giống rất đa dạng. Mỗi nơi mỗi vùng đều có các bài thuốc làm men khác nhau. Đồng bào dân tộc còn dùng các loại lá rừng để đưa vào làm men giống. Tất cả đều làm theo kinh nghiệm "cha truyền con nối".

Nếu thực hiện đúng theo phương pháp cổ truyền thì rượu làm ra phải nói là uống rất ngon, vị đậm và êm dịu, say mà không cảm thấy xốc hoặc đau đầu. Nhiều khách nước ngoài rất thích uống "rượu nút lá chuối khô" của Việt Nam. Rượu cổ truyền nếu được đầu tư và nghiên cứu nghiêm túc sẽ trở thành sản phẩm đặc thù của Việt Nam, thừa khả năng xếp ngang hàng với các loại rượu của thế giới như Martin, Whisky, Brandy, Mao Đài, Saké, Vodka v.v...

Có nhiều người sành rượu hỏi chúng tôi: Tại sao rượu cổ truyền hay "quốc lủi" chứa nhiều este, aldehyt, tới 500 mg/lít nhưng khi uống lại êm dịu và ngon hơn rượu quốc doanh sản xuất theo phương pháp tiên tiến.

Để hiểu rõ vấn đề này chúng ta phải chú ý hai khía cạnh - Thứ nhất, tại sao rượu sản xuất đúng theo phương pháp cổ truyền uống ngon. Câu hỏi này chưa có đáp án rõ ràng trong hiện tại nhưng theo hiểu biết của mình, chúng tôi đưa ra suy đoán sau:

Thứ nhất là rượu cổ truyền khi ủ và lên men có đưa vào nhiều vị thuốc bắc. Mỗi vị thuốc bắc đều chứa nhiều chất khác nhau, đến nay ngành đông y cũng chưa xác định được hết các chất chứa trong các vị thuốc bắc đó.

Thứ hai là các chất do các vị thuốc bắc đưa vào tuy chỉ với số lượng ít nhưng đa số có mùi thơm; giữa các chất đó có phản ứng với nhau ra sao? tạo thêm chất mới gì nữa? cho tới nay chưa ai biết rõ.

Thứ ba là các vị thuốc bắc phần lớn có khả năng kháng khuẩn, chúng có tham gia vào quá trình điều khiển tạo ra chất này, hạn chế tạo ra chất khác trong quá trình lên men hay không? Este qui định trong TCVN- 71 là este etylic (axetat etyl), còn aldehyt ta cũng

qui theo aldehyt axetic. Biết đâu trong rượu thủ công ngoài este và aldehyt kể trên còn tạo ra những este và aldehyt thơm khác.

Trên đây chỉ là phỏng đoán theo suy nghĩ chủ quan, muốn hiểu rõ và chính xác cần phải có thời gian và phương tiện để nghiên cứu sâu từng yếu tố rồi tổng hợp lại. Nói khác đi cần phải đầu tư nghiên cứu sâu hơn vào từng khía cạnh của sản xuất rượu cổ truyền.

Tại sao rượu quốc doanh uống chưa ngon ? Để trả lời câu hỏi này chúng ta cần chú ý hai khía cạnh:

Thứ nhất, muốn có rượu ngon trước hết phải có cồn chất lượng cao, cũng như muốn có món ăn ngon ta phải có cá thịt ngon và tươi sống kèm theo rau và các gia vị cần thiết.

Cồn của các nhà máy của ta làm ra nói chung chưa đạt TCVN-71, nhưng bản thân TCVN-71 về cồn rượu cũng thuộc loại thấp so với các nước tiên tiến trên thế giới. Hiện tại trên lãnh thổ Việt Nam chỉ có ba cơ sở làm ra được cồn loại I thoả mãn TCVN-71. Đó là Công ty Rượu Bia Đồng Xuân Phú Thọ, Hà Nội và Bình Tây. Tỷ lệ đạt loại I cũng còn chưa nhiều, riêng Rượu Đồng Xuân đạt 70-80%. Ngoài ba cơ sở kể trên, các cơ sở sản xuất còn lại chỉ làm ra được cồn loại II hoặc thấp hơn và hầu hết là cồn từ ri đường. Muốn có cồn tinh khiết, chất lượng cao cần phải có hệ thống chưng luyện tốt và biết sử dụng nó. Mặt khác nên có thêm cồn sản xuất từ gạo, ngô và sắn.

Cồn tốt mới chỉ là điều kiện cần để pha được rượu ngon. Tương tự như nấu ăn, có cá thịt ngon tươi rồi nhưng người đầu bếp tồi thì món ăn làm ra cũng chỉ là ăn được mà thôi. Vì vậy rượu ngon cũng cần những người hiểu biết phương pháp và công thức pha chế.

Từ trước tới nay nhiều người quan niệm rượu chỉ là cồn pha thêm nước. Về đại thể là như vậy nhưng thực ra không hoàn toàn như thế. Trước hết nước đem pha rượu phải là nước sạch được xử lý để đạt các chỉ tiêu lý hoá và sinh học nhất định, nhưng quan trọng hơn cả là muốn có rượu ngon thì phải bổ sung các chất điều hương

vị phù hợp với từng loại rượu. Chất điều hương vị đó là những chất gì, liều lượng bao nhiêu cho 1 lít; chất gì cho trước chất gì sau. Tất cả đều là những bí quyết riêng cần phải tự tìm hiểu mới có được, làm thử và rút kinh nghiệm dần. Vì trong thực tế chẳng có cơ sở sản xuất nào lại tự đem bí quyết của mình đi phổ biến.

Ở nước ta trước đây và hiện nay có một số loại rượu tương đối ngon, được người tiêu dùng trong và ngoài nước ưa chuộng như "Lúa Mới" của Hà Nội, rượu Nàng Hương của Bình Tây và Hoàng Đế của Thanh Ba Phú Thọ (Công ty Rượu bia Đồng Xuân). Các loại rượu kể trên chất lượng không thua kém một số rượu mạnh ngoại nhập nhưng do tâm lý thích dùng đồ ngoại mà có người vẫn xem thường rượu của ta. Mong rằng khách hàng bình tĩnh uống và suy ngẫm để có thái độ khách quan hơn đối với rượu của ta làm ra.

Sản xuất cồn rượu theo kiểu công nghiệp ở nước ta chỉ bắt đầu năm 1898 do người Pháp thiết kế và xây dựng. Trước cách mạng Tháng Tám ở nước ta có các nhà máy rượu Hà Nội, Hải Dương, Nam Định, Bình Tây, Chợ Quán và Cái Ràng. Tất cả đều sản xuất từ ngô, gạo và theo phương pháp amylo.

Theo số liệu chưa đầy đủ, các nhà máy rượu phía Bắc hàng năm sản xuất ra một số lượng còn khá lớn; có thể xem cụ thể trong bảng 1.1.

Sau ngày hoà bình lập lại (1955), các nhà máy không còn thiết bị nguyên vẹn nên chính phủ ta tập trung cải tạo, sửa chữa thành nhà máy Rượu Hà Nội với năng suất 6 triệu lít/năm.

Đến năm 1960, chúng ta có thêm hai nhà máy cồn từ rỉ đường là Việt Trì Phú Thọ và Sông Lam Nghệ An. Năng suất mỗi nhà máy là 1 triệu lít cồn qui 100°/năm. Trong những năm chống Mỹ cứu nước, các tỉnh và địa phương xây thêm hàng loạt nhà máy rượu cỡ 1 triệu lít/năm như Lục Ngạn - Hà Bắc, Hưng Nhân - Thái Bình và Tam Hiệp Phúc Thọ Hà Tây. Ngoài ra ở hầu hết các tỉnh đều có xây dựng phân xưởng cồn cỡ nhỏ 100000 lít cồn/năm như Quảng Bình, Sông Con Nghệ An, Bá Thước và Hàm rồng Thanh Hoá,

Khánh Cư Ninh Bình, Vĩnh Trụ Nam Định, Trường vừa học vừa làm Hoà Bình, Hải Phòng, Hà Giang và Thanh Ba Phú Thọ. Tổng năng suất của tất cả các nhà máy lớn nhỏ vào khoảng 15 triệu lít năm. Sau 1975, chúng ta tiếp quản và xây thêm các nhà máy ri đường như Lam Sơn Thanh Hoá, Rượu Quảng Ngãi, Rượu Bình Dương, Bình Tây và một số cơ sở tư nhân khác. Nếu cộng tất cả các cơ sở sản xuất cồn rượu của nước ta ở thời điểm 1980-1985 thì hàng năm ta có thể sản xuất trên 30 triệu lít cồn. Có thể nói, thời gian này lượng cồn rượu trong cả nước đạt cao nhất, vừa xuất khẩu vừa tiêu dùng trong nước.

Bảng 1-1. Sản lượng cồn rượu trước Cách mạng Tháng Tám

Năm	Công suất cồn ở nhà máy, 10 ⁶ lít			
	Nam Định	Hải Dương	Hà Nội	Tổng cộng
1939	7,324	7,944	-	15,170
1940	7,064	7,083	-	17,267
1941	6,885	7,017	-	18,425
1942	7,783	8,814	-	21,868
1943	5,774	5,125	2,680	13,579
1944	0,850	3,386	0,326	4,162

* Tiêu hao nguyên liệu trung bình cho 1 lít cồn từ 4.18 đến 4.20 kg/lít.

Vào những năm 1986-1987, do đổi mới cơ chế quản lý, nhiều xí nghiệp làm ăn thua lỗ, sản phẩm làm ra tiêu thụ chậm nên hàng loạt phân xưởng, nhà máy đem bán thiết bị mà chủ yếu là đồng để thanh toán nợ nần, nhiều cơ sở sản xuất cồn rượu bị xoá sổ. Lúc này các cơ sở sản xuất cồn rượu do quốc doanh quản lý chỉ còn rất ít. Ở các tỉnh phía Bắc còn cồn rượu Thanh Ba, Việt Trì, Hà Nội, Vĩnh Trụ, Lam Sơn, Sông Lam và Sông Con nghệ An. Ở các tỉnh phía Nam có Quảng Ngãi, Huế, Bình Tây, Bình Dương và một số cơ sở nhỏ của tư nhân hoặc hợp tác xã. Hai nhà máy lớn nhất là Bình Tây và Hà Nội chỉ sản xuất cầm chừng, vì không còn thị trường xuất khẩu như trước đây. Thị trường trong nước cũng bị thu hẹp vì rượu quốc doanh không cạnh tranh nổi với rượu thủ công.

Tình hình trên đặt ra câu hỏi: Ngành sản xuất cồn rượu Việt Nam nên phát triển theo phương hướng nào? Trong hội thảo "Dự án chiến lược phát triển khoa học công nghệ ngành rượu bia nước giải khát", theo đề nghị của các chuyên gia đến năm 2005 nước ta nên có khoảng 180 đến 200 triệu lít rượu các loại, tương đương khoảng 50 triệu lít cồn tinh khiết. Trong đó cồn từ nguyên liệu tinh bột chiếm 30-40%, số còn lại là cồn từ rỉ đường. Cồn tinh bột trước mắt do nhà máy rượu Bình Tây, Hà Nội và Thanh Ba đảm nhiệm nhưng cần hoàn chỉnh công nghệ và thiết bị để có thể sử dụng hết năng suất thiết kế. Đồng thời xây dựng thêm một số nhà máy rượu rỉ đường ở nơi có mật rỉ. Nếu không làm sẽ dẫn đến lãng phí lượng rỉ do các nhà máy đường thải ra.

Cồn làm ra sẽ sử dụng ra sao? Theo chúng ta trước mắt cần đưa vào làm vang quả hỗn hợp, rượu vang cấm, vang nếp để phục vụ người tiêu dùng trong các ngày tết, lễ, hội.

Ngoài ra cần sản xuất ra các loại rượu mạnh như Lúa Mối, Hoàng Đế v.v... để bán trong các khách sạn, đồng thời khai thác thị trường xuất khẩu. Bên cạnh đó cần nghiên cứu làm ra nhiều loại rượu phổ thông khác nhau - chất lượng tốt nhưng giá cả phù hợp với thu nhập của đa số người tiêu dùng. Làm được điều này chúng ta không những phục vụ được nhu cầu của nhân dân mà dần dần đẩy lùi được nạn nấu rượu tràn lan, cũng như tình trạng nhập lậu rượu hiện nay.

Song song với sản xuất các loại rượu uống chúng ta cần nhanh chóng triển khai sản xuất axit axetic, axit xitric từ rỉ đường để cung cấp cho nhu cầu của ngành cao su và các ngành kinh tế khác. Trước mắt có thể phối hợp với chương trình năng lượng nghiên cứu sử dụng cồn vào mục đích thay thế chất đốt. Điều này sẽ vô cùng có lợi vì cồn cháy sẽ ít ảnh hưởng đến môi trường như dầu hoả, lại hạn chế được cả tình trạng phá rừng lấy củi đốt.

Chúng ta cần đổi mới quan niệm "cồn chỉ để pha rượu uống". Trong tương lai không xa nữa, chắc rằng cồn ở nước ta cũng trở

thành nguyên liệu cho nhiều ngành sản xuất khác như nhiều nước đã và đang làm.

Tiện đây chúng tôi cũng xin phép trình bày quan điểm của mình về uống rượu: Rượu etylic nói theo y học là chất độc đối với cơ thể con người. Điều này không ai chối cãi và rất đúng, nhưng chỉ đúng khi uống quá liều lượng cho phép đối với mỗi người.

Nếu mỗi chúng ta thỉnh thoảng hoặc ngày một lần uống vào buổi tối không quá 50 ml (một chén uống trà) rượu ngâm thuốc bắc thì chúng ta ăn và ngủ cũng tốt hơn. Lúc đó rượu sẽ làm tăng sức khoẻ, con người cảm thấy sảng khoái thậm chí mình mẫn hơn. Nhưng nếu ai đó lạm dụng uống nhiều rượu vào cơ thể thì thần kinh sẽ bị ức chế dễ dẫn đến làm điều xằng bậy và sau đó sẽ cảm thấy mệt mỏi. Đối với những người này rượu sẽ trở thành độc hại.

Chúng ta hãy nhìn vào và học ở các cụ đông y. Phần lớn các cụ đều biết uống rượu ngâm thuốc. Đến lúc tuổi cao 70-80 tuổi và hơn nữa nhưng da các cụ vẫn hồng hào, bước đi nhanh nhẹn và tinh thần luôn sảng khoái. Như vậy uống rượu đâu phải là có hại cho sức khoẻ. Sức khoẻ kém và tinh thần bạc nhược chỉ xảy ra đối với những ai tham ăn tục uống và không chịu rèn luyện thân thể mà thôi.

Trên đây là ý kiến của chúng tôi về vấn đề uống rượu. Tuy nhiên với những người không biết uống rượu hoặc khi uống dù chỉ chút ít cũng bị dị ứng thì tốt nhất là nên tránh xa rượu lẫn bia.

Chương II

TÌNH HÌNH SẢN XUẤT VÀ SỬ DỤNG CỒN RƯỢU TRÊN THẾ GIỚI

Cồn rượu được con người xem là sản phẩm thực phẩm nhưng cũng lại là sản phẩm có nguy cơ độc hại đối với cơ thể con người. Tuy nhiên, sản lượng cồn rượu mà thế giới sản xuất ra hàng năm vẫn ngày càng tăng thêm. Chưa có tài liệu nào cho phép chúng ta biết rõ số lượng cồn rượu làm ra và việc sử dụng chúng ở tất cả các nước. Sau đây là những thông tin mà chúng tôi biết và nhận được ở một số nước, ở các thời điểm khác nhau, xin nêu để bạn đọc cùng tham khảo.

Bảng 2-1 cho số liệu thống kê sản lượng cồn sản xuất ở một số nước.

Hầu hết các nước trên thế giới đều dùng cồn để pha chế rượu và cho các nhu cầu khác nhau như: y tế, nhiên liệu và nguyên liệu cho các ngành công nghiệp khác.

Tùy theo tình hình phát triển ở mỗi nước, tỷ lệ cồn dùng trong các ngành rất đa dạng và khác nhau.

Ở các nước có công nghiệp rượu vang phát triển như Italia, Pháp, Tây Ban Nha, Môngđôva v.v... cồn được dùng để tăng thêm nồng độ rượu. Một lượng khá lớn cồn được dùng để pha chế các loại rượu mạnh, cao độ như Whisky, Martin, Brandy, Napoleon, Rhum v.v...

Trong thời gian 1954-1955, ở Nhật chỉ có 19,1% cồn đưa vào pha chế rượu, ở Đan Mạch chỉ 11,6%, còn ở Bỉ cồn đưa vào pha chế rượu mạnh chiếm tới 39% sản lượng năm. Ở Liên Xô (cũ) cồn đưa vào sản xuất các đồ uống chiếm tới 40%; 60% còn lại được dùng vào các ngành kinh tế khác.

Bảng 2-1. Tình hình sản xuất cồn etylic ở một số nước - theo thống kê 1958

Nước sản xuất	Lượng cồn sản xuất 10 ⁶ lít	Bình quân đầu người, l/người
Mỹ	887,000	6,6
Anh	151,000	3,3
Pháp	240,000	6,8
CHLB Đức	169,000	3,2
Italia	102,000	1,5
Bỉ	6,000	1,2
Dan Mạch	13,000	3,3
Achentina	120,000	-
Braxin	246, 000	3,9
Nhật	27,000	0,3
Canada	108,000	6,3
Phần Lan	17,000	3,6
Liên Xô (cũ)*	1323,000	6,0
Ấn Độ	50,000	0,1
Ba Lan (cũ)	190,000	-
Tiệp Khắc (cũ)*	17,000	-
CHDC Đức (cũ)*	40,000	-
Nam Tư (cũ)	17, 500	-

* Số liệu 1970

Ở Mỹ cồn được sử dụng rất đa dạng, tỷ lệ sử dụng vào các ngành cũng thay đổi theo từng thời kỳ. Tình hình sử dụng cồn ở Mỹ được thể hiện trong bảng 2.2.

Rượu và các đồ uống có rượu chiếm một vị trí đáng kể trong công nghiệp thực phẩm. Chúng rất đa dạng, tùy theo truyền thống và thị hiếu của người tiêu dùng mà các nhà sản xuất làm ra nhiều loại rượu mang tên khác nhau. Tuy nhiên có thể chia thành 3 loại chính: rượu mạnh cao độ có nồng độ trên 30% V, rượu thông thường có nồng độ từ 15 đến 30% V và rượu nhẹ có nồng độ dưới 15% V.

Bảng 2-2. Tình hình sử dụng cồn ở Mỹ

Lĩnh vực sử dụng cồn	1944		1950		1958	
	10 ³ tấn	%	10 ³ tấn	%	10 ³ tấn	%
Làm dung môi	64,9	4,5	64,3	11,7	89,0	12,8
Nhiên liệu	-	-	1,5	0,3	1,2	0,2
Các dạng khác	137,8	9,8	31,4	5,9	53,2	7,6
Nước hoa	11,2	0,8	16,5	3,2	28,4	4,0
Y tế	28,9	2,0	31,2	5,8	6,6	0,9
Dược	3,0	0,2	10,0	1,9	12,0	1,7
Axit axetic	16,1	1,2	21,3	4,0	9,0	1,3
Giấm ăn	22,7	1,8	17,8	3,3	31,1	4,5
Aldehyt axetic	178,5	12,0	260,5	48,8	378,0	54,2
Etyl axetat	31,5	2,3	18,6	3,5	20,0	2,9
Etyl clorua	42,9	3,0	13,8	2,6	12,0	1,7
Các hoá chất khác	42,8	3,0	35,6	6,8	57,1	8,2
Cao su tổng hợp	854,7	58,9	11,6	2,2	-	-
Tổng cộng	1435,0	100	534,1	100	897,6	100

Riêng rượu mạnh năm 1961 sản lượng ở một số nước như sau:

Bungari	26.130	Pháp	154.340
Nam Tư	3.740	Italia	13.900
CHDC Đức (cũ)	70.000	Aô	32.000
Tiệp Khắc (cũ)	32.120	Bỉ	23.060
Liên Xô (cũ)	1456.880	Phần Lan	14.060
Mỹ	770.000		

* Đơn vị = triệu lít

Tình hình tiêu thụ các loại đồ uống chứa rượu trong năm 1957 tính theo đầu người lít/năm ở một số nước có ghi trong bảng 2-3.

Bảng 2-3. Tình hình tiêu thụ cồn rượu ở một số nước

Tên nước	Đồ uống có rượu qui ra cồn 100%./người	Trong đó		
		rượu mạnh	rượu vang	bia
Pháp	17,04	0,82	15,32	0,9
Italia	15,09	0,64	14,34	0,11
Anh	4,11	0,80	0,30	2,97
CHLB Đức (cũ)	3,24	0,94	1,45	0,85
Bỉ	4,99	0,56	0,23	4,20
Bắc Ailen	3,09	0,42	0,24	2,43
Đan Mạch	2,81	0,46	0,41	1,94
Aô	4,84	0,47	1,08	3,25
Thụy Sĩ	2,58	1,96	0,31	0,31
Mỹ	3,99	1,62	0,58	1,79

PHẦN THỨ HAI

NGUYÊN LIỆU DÙNG TRONG SẢN XUẤT RƯỢU

Để sản xuất cồn etylic, về nguyên tắc ta có thể dùng bất kỳ nguyên liệu nào chứa đường hoặc polysaccarit nhưng sau thủy phân sẽ biến thành đường lên men được. Do đó chúng ta có thể dùng cả nguyên liệu giàu xenluloza để thủy phân thành đường. Tuy nhiên, dùng nguyên liệu này kém hiệu quả kinh tế. Trong phạm vi quyển sách này, chúng tôi chỉ đề cập đến việc dùng nguyên liệu chứa đường (chủ yếu là mật rỉ) và chứa tinh bột.

Yêu cầu đối với nguyên liệu phải thoả mãn:

- Hàm lượng đường hoặc tinh bột cao, có khả năng đem lại hiệu quả kinh tế cao.
- Vùng nguyên liệu phải tập trung và đủ thoả mãn nhu cầu sản xuất.

Chương III

NGUYÊN LIỆU CHỨA TINH BỘT

Nguyên liệu chủ yếu mà các nhà máy rượu ở nước ta thường dùng là sắn, sau đó là ngô và một phần gạo hoặc tấm.

3.1. Cấu tạo và thành phần hoá học của sắn

Củ sắn gồm ba phần chính: vỏ, thịt củ và lõi; ngoài ra còn có cuống và rễ củ.

Vỏ gồm vỏ gỗ và vỏ cùi. Vỏ gỗ cấu tạo chủ yếu là xenluloza. Vỏ gỗ có tác dụng bảo vệ củ khỏi tác động bên ngoài; đồng thời hạn chế mất nước của củ. Bản thân vỏ củ cứng nhưng liên kết không bền

với vỏ củi, do đó dễ mất khi thu hoạch và vận chuyển. Tỷ lệ vỏ gỗ phụ thuộc giống sắn, độ già và khối lượng củ - thường vào khoảng 1,5 đến 2%.

Vỏ củi dày khoảng 1 đến 3 mm và chiếm 8 - 15% khối lượng củ. Vỏ củi gồm lớp tế bào mô cứng phủ ngoài. Thành phần lớp này cũng chủ yếu là xenluloza, hầu như không chứa tinh bột nhưng chứa nhiều dịch bào (mủ sắn). Trong thành phần dịch bào có chứa các polyphenol. Tiếp theo là lớp tế bào mô mềm, lớp này ngoài dịch bào còn chứa khoảng 5% tinh bột. Các polyphenol, enzym và linamarin có tác dụng bảo vệ củ phát triển bình thường trước thu hoạch, nhưng khi đã đào bởi củ khỏi đất chúng lại gây trở ngại cho bảo quản và chế biến. Tổng lượng các chất polyphenol trong sắn khoảng 0,1 đến 0,3%, trong đó có đến 85 - 90% tập trung ở vỏ củi.

Sau vỏ củi là khe mủ - nơi lưu thông mủ giữa vỏ củi và thịt củ. Do tác dụng này nên liên kết giữa vỏ với thịt sắn không bền, dễ tách vỏ khỏi thịt sắn. Lớp tiếp nối là tầng sinh gỗ, với củ phát triển bình thường thì lớp này chỉ nhìn rõ sau khi luộc chín. Tiếp theo tầng sinh gỗ là thịt sắn chứa nhiều tinh bột, protein và các chất dầu. Đây là phần dự trữ chủ yếu các chất dinh dưỡng của củ. Các chất polyphenol, độc tố và enzym chứa ở thịt củ tuy không nhiều, chỉ 10 - 15% so với chúng có trong củ nhưng vẫn gây trở ngại khi chế biến như làm biến màu, sắn bị chảy mủ sẽ khó thoát nước khi sấy hoặc phơi khô.

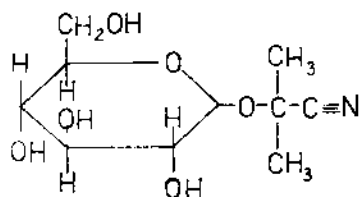
Lõi sắn nằm ở trung tâm củ, dọc suốt chiều dài. Thành phần lõi chủ yếu là xenluloza. Lõi có chức năng dẫn nước và các chất dinh dưỡng giữa cây và củ, đồng thời giúp thoát nước khi sấy hoặc phơi khô.

Thành phần của củ sắn tươi dao động trong giới hạn khá lớn: tinh bột 20 - 34%, protein 0,8 - 1,2%, chất béo 0,3 - 0,4%, xenluloza 1 - 3,1%, chất tro 0,54%, polyphenol 0,1 - 0,3% và nước 60,0 - 74,2%.

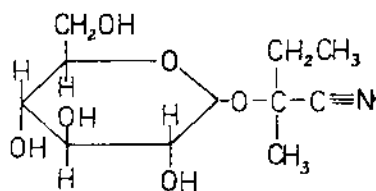
Ngoài các chất kể trên trong sắn còn chứa một lượng vitamin

và độc tố. Vitamin trong sản thuộc nhóm B, trong đó B1 và B2 mỗi loại chiếm 0,03 mg%, còn B6 0,06 mg%. Các vitamin này sẽ bị mất một phần khi chế biến và nhất là khi nấu trong sản xuất rượu.

Độc tố trong sản có tên chung là phazéolunatin gồm 2 glucosit Linamarin và Lotaustralin. Hàm lượng chung của phazéolunatin chỉ vào khoảng 0,001 - 0,04 mg% và chứa nhiều trong sản đắng, tập trung chủ yếu ở vỏ củ. Bình thường phazéolunatin không độc nhưng khi bị thủy phân thì các glucosit này sẽ giải phóng HCN.



Linamarin L



Lotaustralin

Hàm lượng HCN trong củ sản tươi nhỏ hơn 50 mg/kg chưa gây độc hại cho người, từ 50 đến 100 mg người sẽ bị ngộ độc và HCN lớn hơn 100 mg/kg người ăn sẽ bị tử vong (tuỳ ăn nhiều ít). Để tránh bị ngộ độc sản trước khi luộc cần ngâm và bóc bỏ vỏ củ.

Sản tươi đã thái lát và phơi khô sẽ giảm đáng kể hàm lượng glucosit gây độc kể trên. Trong sản xuất rượu, khi nấu lâu ở nhiệt độ cao đã pha loãng nước nên với hàm lượng ít chưa ảnh hưởng đến nấm men. Hơn nữa, các muối xyanat khi chưng cất không bay hơi nên bị loại cùng bã rượu.

Linamarin - $C_{10}H_{17}O_6N$ có phân tử lượng $M = 247,2$, kết tinh trong etyl axetat, nhiệt độ nóng chảy $143-144^{\circ}C$. Lotaustralin - $C_{11}H_{19}O_6N$ có phân tử lượng $M = 261,2$, nóng chảy ở $123,5-124,5^{\circ}C$.

Sản dùng trong sản xuất rượu chủ yếu là sản lát khô hoặc sản dui. Ngoài sản khô chúng ta còn dùng gạo tấm và ngô để sản xuất ra cồn có chất lượng cảm quan cao, dùng pha chế các loại rượu cao cấp và xuất khẩu.

Thành phần hoá học của một số nguyên liệu chứa tinh bột được thể hiện trong bảng 3-1 tính theo % trung bình.

Bảng 3-1. Thành phần hóa học của một số nguyên liệu dùng trong sản xuất cồn rượu

Thành phần	Sắn khô	Gạo tẻ	Tấm	Cám gạo *	Ngô **	
					vàng	đá
Nước	14	11	11,5	11-12,0	12,5	13,0
Gluxit lên men	67,6	69,2	41,0	28-37,0	68,4	72,6
Protit	1,75	7,3	5,3	6,1-13,4	8,3	7,2
Chất tro	1,79	0,9	17,7	13,6-22,3	1,6	1,1
Chất béo	0,87	1,2	2,0	2,3-17,9	5,1	4,1
Xenluloza	3,38	0,5	22,5	6,8-30,1	4,1	2,0

* Dùng để sản xuất chế phẩm amylaza.

** Trước khi dùng nên tách phối đem ép dầu vừa tiết kiệm, lại không ảnh hưởng tới lên men.

3.2. Thành phần quan trọng và chủ yếu đối với nguyên liệu chứa tinh bột dùng trong sản xuất rượu

Đối với sản xuất rượu thì thành phần quan trọng nhất là gluxit lên men được, gồm tinh bột và một số đường. Trong đa số gluxit nói chung thì tỷ lệ giữa H và O đều tương tự như trong nước - $C_n(H_2O)_m$. Tuy nhiên, cũng có những gluxit tỷ lệ giữa H và O không giống như trong nước. Ví dụ ramnoza - $C_6H_{12}O_5$.

Gluxit trong tự nhiên được chia thành ba nhóm chính là mono, oligo và polysaccarit. Monosaccarit là những gluxit đơn giản không thể thủy phân được. Trong đó lại chia ra: monosaccarit trioza - $CH_2OH-CHOHCHO$; tetroza - $CH_2OH(CHOH)_2CHO$; pentoza - $CH_2OH(CHOH)_3CHO$ và hexoza $CH_2OH(CHOH)_4CHO$ và heptoza $CH_2OH(CHOH)_4CO-CH_2OH$. Người ta còn căn cứ vào gluxit chứa nhóm $-CHO-$ gọi là aldoza hay nhóm $-CO-$ gọi là xetoza.

Trong thiên nhiên phổ biến nhất là hexoza và pentoza. Hexoza là gluxit lên men được, dưới tác dụng của nấm men đa số hexoza sẽ biến thành rượu và CO_2 . Pentoza thuộc gluxit không lên men được,

gồm arabinosa, ribosa và xilosa v.v... không có khả năng chuyển hóa thành rượu và CO_2 dưới tác dụng của nấm men.

Oligosaccarit là những glucit chứa từ 2 đến 10 gốc monosaccarit. Trong thiên nhiên phổ biến nhất là oligo chứa 2 hoặc 3 gốc mono và còn gọi là di- hay trisaccarit.

Đại diện cho disaccarit là maltoza và saccaroza ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), còn đại diện cho trisaccarit là rafinoza ($\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$). Maltoza và saccaroza dễ dàng chuyển hóa thành rượu và CO_2 dưới tác dụng hệ zymaza của nấm men, còn rafinoza chỉ lên men được 1/3.

Polysaccarit là những glucit chứa từ 10 gốc mono trở lên và được gọi là glucit có phân tử lớn. Polysaccarit lại được phân chia thành hai loại gồm: Gomopolysaccarit cấu tạo từ nhiều gốc của một loại mono. Ví dụ tinh bột, glucogen hay xenluloza chỉ cấu tạo từ nhiều gốc glucoza - còn gọi là hexozan. Polysaccarit cấu tạo từ các gốc đường 5 cacbon cùng loại cũng thuộc gomo-polysaccarit còn gọi là pentozan. Ghet polysaccarit được cấu tạo từ hai hoặc nhiều loại mono khác nhau. Ví dụ hemixenluloza - trong thành phần của glucit này vừa có đường 6 cacbon lẫn đường 5 cacbon.

Tính chất

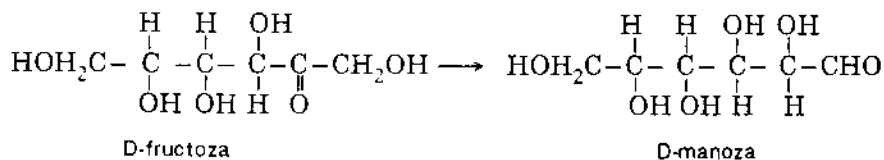
Monosaccarit - Nói chung monosaccarit đều có những tính chất sau:

1. Có tính chất hoạt động quang học, làm quay mặt phẳng phân cực. Tính chất này được áp dụng để xác định hàm lượng của chúng trong dung dịch.

2. Dễ bị phân huỷ ở nhiệt độ cao và làm tăng màu của dung dịch. Trong môi trường axit, các monosaccarit ít bị phân huỷ so với trong môi trường kiềm. Sản phẩm tạo thành từ hexoza là oxymetyl-furfurol, còn từ pentoza là furfurol. Oxymetylfurfurol ít bền nên dễ bị phân huỷ tiếp để tạo thành axit formic và axit levulinovic - $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-COOH}$; một phần sẽ trùng hợp để tạo ra chất màu - vàng gạch.

3. Có khả năng trùng hợp thành những glucit có phân tử lớn hơn. Khả năng này phụ thuộc nhiều vào nồng độ monosaccarit và nhiệt độ dung dịch.

Trong dung dịch kiềm, monosaccarit không bền và dễ bị biến đổi thành mono khác. Ví dụ:



4. Tương tự như aldehyt và xeton nên monosaccarit dễ bị oxy hoá - khử $\text{Cu}^{2+} \longrightarrow \text{Cu}^+$, $\text{Ag}^+ \longrightarrow \text{Ag}^0$. Tuỳ theo điều kiện phản ứng, khi bị oxy hoá monosaccarit có thể tạo thành các sản phẩm khác nhau. Nếu bị oxy hoá nhẹ thì chỉ nhóm CHO bị oxy hoá, sản phẩm tạo thành là axit aldonic - $\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_4\text{COOH}$. Nếu bị oxy hoá mạnh thì sản phẩm tạo thành là axit saccarit - $\text{COOH}(\text{CHOH})_4\text{COOH}$, cả nhóm rượu và nhóm aldehyt đều bị oxy hoá. Tính chất này được ứng dụng để xác định hàm lượng đường trong dung dịch theo phương pháp hoá học.

5. Monosaccarit có khả năng phản ứng với axit amin để tạo ra melanoidin. Đây là quá trình oxy hoá - khử xảy ra rất phức tạp qua nhiều giai đoạn. Phản ứng sẽ xảy ra rất nhanh ở nhiệt độ cao và trong môi trường kiềm; đồng thời còn phụ thuộc tính chất của đường và axit amin. Đối với đường thì khả năng tạo melanoidin được xếp theo thứ tự sau:

Kxiloza > arabinoza > hexoza, mannoza > galactoza > fructoza > glucoza.

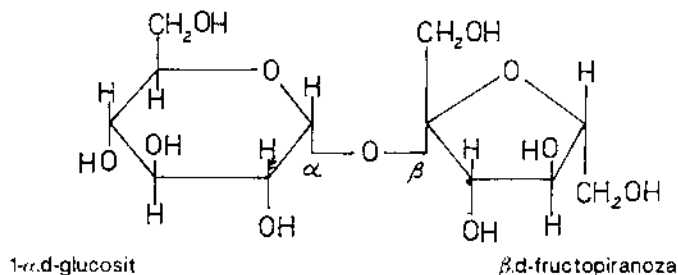
Đường maltoza có khả năng phản ứng kém hơn cả.

Đối với axit amin thì khả năng tạo melanoidin của glycocol >loxin > alanin và kém hơn cả là metionin.

Oligosaccarit - *Oligosaccarit* hay gặp nhất là maltoza và saccaroza. Maltoza thường chứa nhiều trong dịch thủy phân tinh

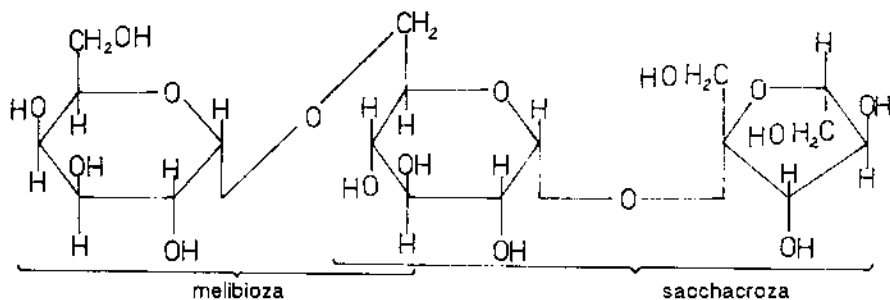
bột bằng amylaza của thóc mầm, cấu tạo gồm hai gốc glucoza nối với nhau bằng nối α -1,4 glucozit. Có tính khử nhưng kém hơn glucoza hai lần. Ngoài ra còn có izomaltoza, cũng gồm hai gốc glucoza nhưng liên kết với nhau bởi nối α -1,6- glucozit bền hơn, chỉ bị phân cắt bởi axit hoặc enzym izomaltoza.

Saccaroza được cấu tạo từ glucoza và fructoza, nối với nhau bởi 1- α -d-glucozit và β -d-fructopiranoza. Disaccarit này không có tính khử.



Cả hai oligosaccarit kể trên đều có thể chuyển hóa thành rượu và CO_2 nhờ tác dụng của hệ zymaza trong nấm men.

Rafinoza là một trisaccarit cấu tạo từ ba đường khác nhau: d-galactosa, d-glucoza và d-fructoza.



Rafinoza không có nhóm aldehyt hoặc xeton tự do nên không có khả năng khử. Dưới tác dụng của axit, rafinoza sẽ bị thủy phân

thành ba đường đơn giản và đều có thể lên men được. Nhưng dưới tác dụng của nấm men thì chỉ fructoza được giải phóng, còn melibioza xem như tổn thất. Vì trong hệ zymaza của đa số nấm men không chứa enzym melibioza - còn gọi là enzym α -galactozidoza. Trên cơ sở đó người ta nói đường rafinoza chỉ lên men được 1/3. Đường này có chứa trong mật rỉ.

Polysaccarit là những glucit có phân tử lớn, cấu tạo từ nhiều gốc monosaccarit để tạo thành mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Khối lượng phân tử có thể từ hàng vạn đến hàng triệu đơn vị. Dưới tác dụng của axit, nhiệt độ hoặc enzym, chúng sẽ bị thủy phân và tạo thành các phân tử thấp hơn là oligo hoặc cuối cùng là monosaccarit.

Tinh bột - Tinh bột là glucit dự trữ phổ biến nhất trong thực vật (khoai, sắn và các hạt cốc). Hạt tinh bột có hình dáng rất khác nhau với kích thước từ 2 đến 15 μ m. Tinh bột không nước có khối lượng riêng khoảng 1,633 - 1,648, là chất hoạt động quang học, có $[\alpha]_{20}^D$ - 176,8 - 203°, (tùy theo từng loại hạt).

Tinh bột là chất keo háo nước điển hình, cấu tạo từ amyloza - mạch thẳng và amylopectin. Tỷ số amylo và amylopectin trong tinh bột thường vào khoảng 1:4. Cả hai đều cấu tạo từ những gốc α -d-glucosa. Amylo có cấu tạo mạch thẳng - chúng được liên kết bởi các nối α -1,4 glucosit, còn amylopectin được nối với nhau bởi các nối α -1,4 glucosit và α -1,6 nên tạo thành nhiều nhánh. Ngoài amyloza và amylopectin trong tinh bột còn chứa một lượng nhỏ các chất khác như muối khoáng, chất béo, protit v.v... Hàm lượng chung của chúng khoảng 0,2 - 0,7%.

Tinh bột không hoà tan trong nước lạnh, trong rượu và ete - amyloza dễ tan trong nước nóng và tạo nên độ nhớt của dung dịch. Amylopectin khi hoà tan trong nước nóng tạo dung dịch rất nhớt.

Trong nước nóng tinh bột sẽ hút nước trương nở và tạo dạng gel. Mức độ trương của tinh bột phụ thuộc nhiệt độ. Khi tăng dần nhiệt độ, dịch tinh bột sẽ biến thành dạng keo và gọi là hồ tinh bột. Nhiệt độ làm cho hồ tinh bột có độ nhớt cực đại được gọi là nhiệt

độ hồ hoá của tinh bột. Trong thực tế luôn tồn tại một giới hạn nhiệt độ hồ hoá, vì tinh bột của nguyên liệu bất kỳ đều gồm nhiều hạt có kích thước khác nhau.

Dưới tác dụng của axit hoặc amylaza, tinh bột sẽ bị thủy phân. Khi đun với axit, tinh bột sẽ biến thành glucoza, còn dưới tác dụng của amylaza thóc mầm thì dịch thủy phân gồm 70-80% là maltoza và 30-20% dextrin - nhưng với amylaza của một số nấm mốc hoặc nấm men *Endomycopsis* thì dịch thủy phân chứa tới 80-90% là glucoza.

Glucogen (tinh bột động vật và vi sinh vật) là chất dự trữ đối với mọi cơ thể động vật cũng như một số nấm men và vi khuẩn. Glucogen có cấu tạo nhánh và công thức chung là $(C_6H_{10}O_5)_n$ - các vòng glucoza được nối với nhau bởi β -d-glucoza.

Xenluloza (chất xơ) là thành phần chủ yếu của màng tế bào thực vật. Trong gỗ chứa tới 40-50% khối lượng chất khô. Là polysaccarit mạch thẳng, các vòng β -d glucoza nối với nhau ở vị trí 1-4 và gồm khoảng 1000 gốc. Dưới tác dụng của axit vô cơ loãng ở nhiệt độ và áp suất cao, xenluloza sẽ biến thành β -glucoza.

Hemixenluloza (chất bán xơ) cũng chứa nhiều trong thành tế bào thực vật, có trong rơm, rạ, lõi ngô và cám. Trong thành phần có chứa hexozan (galactan, manan) và pentozan (kxiloza, arabinoza); dễ bị thủy phân hơn so với xenluloza.

Chương IV

NGUYÊN LIỆU CHỨA ĐƯỜNG - MẬT RỈ

Mật rỉ hay rỉ đường là thứ phẩm của công nghệ sản xuất đường, thường chiếm từ 3 đến 5% so với lượng mía đưa vào sản xuất. Tỷ lệ này phụ thuộc vào chất lượng mía và công nghệ sản xuất.

Theo số liệu của Tổng Công ty Mía Đường, đến năm 2000 sẽ có khoảng 40 nhà máy đường đi vào sản xuất (hiện có và sẽ xây dựng mới) với tổng công suất khoảng 12 triệu tấn mía. Nếu tỷ lệ mật rỉ chiếm 3,5% thì lúc đó các nhà máy đường sẽ thải ra một lượng mật rỉ là 420000 tấn. Với số lượng này chắc chắn các nhà máy mì chính và nhà máy rượu hiện có sẽ không sử dụng hết. Theo thiết nghĩ của chúng tôi, trước mắt chúng ta cần xây dựng nhà máy sản xuất axit xitric và axit axetic. Hai sản phẩm này nước ta vẫn phải nhập ngoại. Mấy năm gần đây đã có khá nhiều đầu tư cho hai đề tài này, hy vọng sẽ sớm có được những kết quả tốt. Ngoài ra cần củng cố và nếu cần xây thêm các nhà máy rượu và nấm men bánh mì, nấm men dùng cho chăn nuôi.

Nên chăng cần sớm xây dựng một tổ hợp công nghiệp để sử dụng liên hoàn mật rỉ, làm ra nhiều sản phẩm khác nhau.

Từ 1 tấn mật rỉ chúng ta có thể thu được: 300 lít cồn 100°, 50 kg nấm men bánh mì; 160 kg CO₂ lỏng; 14 kg glyxerin; 14,2 kg mì chính và một số sản phẩm khác.

Thành phần mật rỉ phụ thuộc vào giống mía, đất đai trồng trọt và điều kiện canh tác cũng như công nghệ sản xuất đường. Bình thường lượng chất khô trong mật rỉ chiếm 80 đến 85%, nước chiếm 15 đến 20%. Có nhà máy rửa nhiều nước sau ly tâm đường nên lượng chất khô giảm còn 70-75%.

Trong số các chất khô thì đường chiếm tới 60%, gồm 35-40% là

saccaroza và 20-25% là đường khử. Số chất khô còn lại gọi chung là chất phi đường và gồm 30-32% là hợp chất hữu cơ và 8-10% là chất vô cơ.

Hàm lượng trung bình của các chất vô cơ trong chất khô vào khoảng sau:

Chất vô cơ:	%
K_2O	76,4
Na_2O	111
CaO	3,5
MgO	0,4
SO_3	2,8
Cl^-	5,0
các oxyt khác	0,8

Hợp chất hữu cơ gồm các chất chứa nitơ, cacbon, oxy và hydro. Chất hữu cơ không chứa nitơ gồm có pectin, chất nhầy furfurol và oxymetyl furfurol, axit v.v.. Ngoài ra còn chứa các chất khử nhưng không lên men được như caramen, chất màu... Hợp chất hữu cơ chứa nitơ phần lớn là ở dạng amin như glutamic, lợxin, alanin v.v... Lượng nitơ trong rỉ đường mía chỉ khoảng 0,5 đến 1%, ít hơn so với rỉ đường củ cải (1,2-2,2%). Do chứa ít nitơ nên khi lên men dịch rỉ đường chúng ta phải bổ sung nguồn nitơ từ ure hoặc amoni sunfat.

Ngoài bổ sung nguồn nitơ, chúng ta cần thêm nguồn photpho để giúp cho sự phát triển bình thường của nấm men. Theo số liệu của Marinchenko, hàm lượng axit photphoric chiếm 6% chất khoáng, tương đương 0,6% khối lượng mật rỉ sẽ không đủ cho dinh dưỡng của nấm men. Trong sản xuất rượu từ rỉ đường trước đây, chúng ta có bổ sung nguồn photpho ở dạng supephotphat với số lượng 1% so với mật rỉ. Hiện nay không còn bổ sung nguồn photpho nữa do có ý kiến cho rằng rỉ đường mía chứa nhiều photpho. Điều này cần được chứng minh bằng nghiên cứu cụ thể.

Trong rỉ đường mía thường chứa nhiều vitamin với hàm lượng khác nhau vào khoảng sau:

Vitamin	mg/g mật rỉ	
B ₁	0.2	→ Tiamin
B ₂	0.04	→ Riboflavin
B ₃	0.13	→ Axit pantotenovic
B ₆	0.54	→ Pirigokxin
PP	5.10	→ Axit nicotinovic
	0.02	→ Axit folievic
	6.0	→ Mezoinozit

pH và độ đậm của mật rỉ

Bình thường pH của mật rỉ từ 6,8 đến 7,2. Rỉ mới sản xuất ra có thể có pH = 7,2 ÷ 8,9. Hiện nay hầu hết các nhà máy đường của ta đều xử lý bằng lưu huỳnh nên pH của rỉ đường thường thấp hơn và vào khoảng 5,6 ÷ 6. Độ kiềm của rỉ vào khoảng 0,5 ÷ 2° (1° kiềm tương đương 1 ml dung dịch H₂SO₄ 1 N trung hoà hết 100 g rỉ). Độ kiềm gây bởi các muối canxi của axit cacbonic và các axit hữu cơ khác.

Độ đậm được biểu thị bằng thể tích dung dịch H₂SO₄ 1N cần thiết để điều chỉnh dung dịch gồm 100 g rỉ + 100 g nước tới pH = 4,5. Tuỳ theo pH của mật rỉ, độ đậm có thể từ 14 đến 45.

Vi sinh vật trong mật rỉ

Mật rỉ nhận được từ sản xuất luôn chứa một lượng vi sinh vật. Trong đó nguy hiểm nhất là vi khuẩn lactic và axetic. Mức độ nhiễm khuẩn được xác định bằng sự tăng độ chua khi để mật rỉ "tự lên men". Mức tăng độ chua (khi tự lên men sau 24 giờ) trong phạm vi 0,2 đến 0,3° được xem là bình thường.

Thực tế trong 1 gam mật rỉ chứa tới 100000 vi sinh vật không nha bào và 15000 có khả năng tạo bào tử. Ở mật rỉ bị nhiễm nặng, con số vi sinh vật có thể đạt 500000 và 50000. Tuy nhiên, đối với rỉ đường có nồng độ trên 70%, hầu hết vi sinh vật trong mật rỉ đều chịu nằm yên, nhưng khi pha loãng chúng sẽ bắt đầu hoạt động và làm giảm hàm lượng đường, dẫn đến tăng tổn thất. Trong quá trình sản xuất cần có biện pháp xử lý phù hợp nhằm diệt bớt và hạn chế hoạt động của tạp khuẩn.

PHẦN THỨ BA

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CỒN ETYLIC

Công nghệ sản xuất cồn etylic có thể chia thành các công đoạn sau đây:

Chuẩn bị dịch đường lên men, bao gồm nghiền và nấu nguyên liệu để thu được dịch cháo chứa tinh bột hoà tan; đường hoá dịch cháo để biến tinh bột hoà tan thành đường rồi làm lạnh đến nhiệt độ lên men.

Việc chuẩn bị dịch đường lên men từ mật rỉ lại bao gồm pha loãng sơ bộ, xử lý mật rỉ, tách cặn rồi pha loãng tới nồng độ gây men và lên men.

Chuẩn bị men giống và tiến hành lên men dịch đường nhằm chuyển hóa đường thành rượu và CO_2 dưới tác dụng của zymaza nấm men.

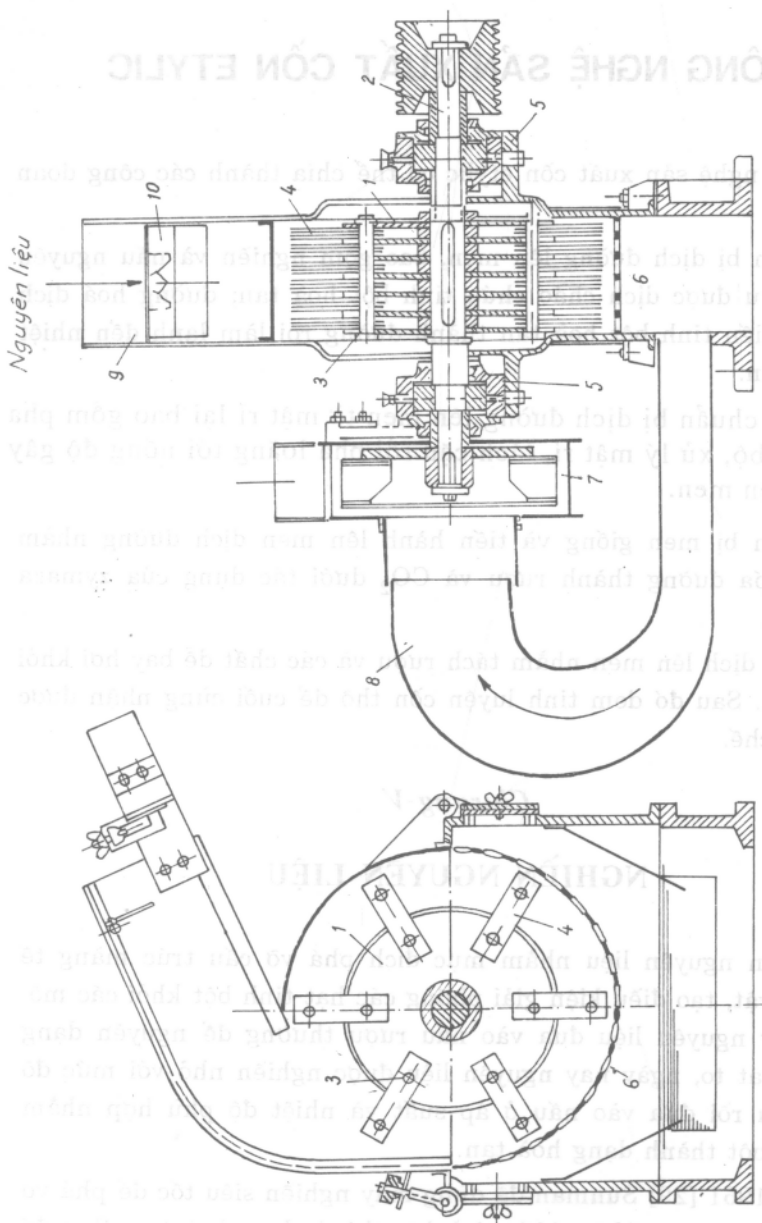
Xử lý dịch lên men nhằm tách rượu và các chất dễ bay hơi khỏi giấm chín. Sau đó đem tinh luyện cồn thô để cuối cùng nhận được cồn tinh chế.

Chương V

NGHIÊN NGUYÊN LIỆU

Nghiên nguyên liệu nhằm mục đích phá vỡ cấu trúc màng tế bào thực vật, tạo điều kiện giải phóng các hạt tinh bột khỏi các mô. Trước đây nguyên liệu đưa vào nấu rượu thường để nguyên dạng hạt hoặc lát to, ngày nay nguyên liệu được nghiền nhỏ với mức độ khác nhau rồi đưa vào nấu ở áp suất và nhiệt độ phù hợp nhằm biến tinh bột thành dạng hoà tan.

Năm 1961 [29] Sunman đã dùng máy nghiền siêu tốc để phá vỡ hoàn toàn các mô tế bào, biến tinh bột thành dạng hoà tan. Sau đó



Hình 5-1 Máy nghiền búa MD-600

1. Các đĩa kim loại; 2. Trục; 3. Các thanh gắn búa; 4. Búa; 5. Gối đỡ trục;
 6. Quạt hút và dây bột ra ngoài; 8. Ống dẫn bột;
 9, 10. Phễu đổ nguyên liệu và van điều chỉnh.

hoà với nước 60°C và dùng amylaza để biến tinh bột thành đường mà không qua khâu nấu nguyên liệu. Tuy nhiên, khi áp dụng vào thực tế thì chi phí điện năng lại tốn hơn dùng nhiệt để biến tinh bột thành dạng hoà tan. Mặt khác, chế tạo máy nghiền siêu tốc có năng suất lớn cũng gây nhiều tốn kém nên nghiên cứu của ông tuy đã ứng dụng vào sản xuất với qui mô thùng lên men 10 m³ đạt hiệu quả, nhưng không có khả năng thực thi trong sản xuất lớn.

Hiện nay nguyên liệu được nghiền trên nhiều kiểu máy khác nhau. Ở nước ta, tại các nhà máy rượu thường dùng máy nghiền búa có cấu tạo như ở hình 5-1.

Muốn nghiền nhỏ ta dùng búa mỏng có chiều dày 2 đến 3 mm, khi nghiền thô dùng búa có chiều dày 6 đến 10 mm. Tốc độ quay của búa 75 đến 80 m/s - tương đương 2750 vòng/phút. Khi nghiền, các phần nhỏ lọt qua rây được quạt hút và đẩy ra ngoài. Phần lớn chưa lọt qua rây được tiếp tục nghiền nhỏ. Năng suất của máy còn phụ thuộc mức độ nghiền và kích thước rây. Lỗ rây bé thì năng suất giảm, mặt rây nhanh bị hỏng. Tùy theo chế độ nấu mà thay đổi kích thước lỗ mặt rây. Với sản khô khi nấu ở áp suất thường có dùng α -amylaza chịu nhiệt, nghiền càng mịn càng tốt.

Hiện nay người ta đã chế tạo máy nghiền búa với năng suất 1000; 2000 và 3000 kg/h.

Ở nước ta các xưởng cơ khí thường chế tạo các máy nghiền búa có năng suất từ 200 đến 500 kg/giờ.

Chương VI

NẤU NGUYÊN LIỆU

6.1. Mục đích của nấu nguyên liệu

Trong các dạng nguyên liệu như gạo, ngô, khoai, sắn v.v... hạt tinh bột luôn nằm trong các 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 enzym amylaza với tinh bột. Mặt khác, ở trạng thái không hòa tan, amylaza tác dụng lên tinh bột rất chậm và kém hiệu quả. Vì vậy mục đích chủ yếu của nấu nguyên liệu là nhằm phá vỡ màng tế bào của tinh bột, tạo điều kiện biến chúng thành trạng thái hoà tan trong dung dịch.

Trong quá trình nấu, phần lớn màng tế bào của nguyên liệu chưa nghiền vẫn giữ nguyên cấu tạo của chúng và chỉ bị phá vỡ khi khuấy trộn hoặc phồng cháo qua van hẹp sang thiết bị lớn hơn. Lúc đó sẽ xảy ra hiện tượng tự bay hơi nước trong tế bào, thể tích hơi tăng khoảng 1500 lần so với thể tích nước trong tế bào, nhờ đó màng tế bào bị xé vỡ và tinh bột được giải phóng. Tính chất này được áp dụng để chế tạo các thiết bị nấu liên tục. Có thể nói nấu nguyên liệu là quá trình ban đầu nhưng rất quan trọng trong sản xuất cồn etylic. Các quá trình kỹ thuật tiếp theo tốt hay xấu phụ thuộc rất nhiều vào kết quả nấu nguyên liệu.

6.2. Những biến đổi lý hoá học xảy ra trong khi nấu nguyên liệu

6.2.1 Độ bền của tế bào thực vật

Tinh bột chỉ có thể được giải phóng sau khi đã phá vỡ cấu trúc màng bao quanh nó. Độ bền của màng tế bào không giống nhau đối với các nguyên liệu và ngay trong cùng một nguyên liệu, độ bền ở các phần cũng khác nhau. Vỏ hạt có độ bền cấu tạo cao nhất, sau

đó là lớp alorông, còn nội nhũ có độ bền cấu tạo kém hơn cả. Để phá vỡ lớp vỏ cứng của hạt lúa mì cần một lực 316 kg/cm^2 , muốn phá vỡ lớp alorông cần 17 đến 33 kg/cm^2 , còn lớp nội nhũ chỉ cần 3 đến 9 kg/cm^2 .

Khi đun nguyên liệu với nước sẽ xảy ra các hiện tượng trương nở, hòa tan các chất kết dính giữa tế bào, dẫn đến làm giảm độ bền cơ học của nguyên liệu. Khi nấu hạt nguyên ở nhiệt độ $120-135^\circ\text{C}$, các chất pectin sẽ trương nở và hòa tan sau 20 đến 25 phút, tiếp đó là tinh bột và pentozan. Nếu tiếp tục tăng nhiệt độ đến $145-155^\circ\text{C}$ thì thành tế bào sẽ bị phá vỡ, các hạt tinh bột sẽ tách ra và hòa tan vào dung dịch.

Theo số liệu của Maravin, muốn phá vỡ thành tế bào của hạt chưa nấu cần một áp lực 18 đến 20 at, nhưng với hạt đã nấu chín chỉ cần 5 at. Theo số liệu của Lêbedév, khi nấu kiểu mạch ở áp suất 4 đến 5 at sau 1 giờ, thành tế bào bị phá vỡ hoàn toàn và có khoảng 63 đến 72% pentozan chuyển vào dung dịch.

Vì rằng độ bền của màng tế bào không giống nhau nên cần phải có chế độ nấu thích hợp cho từng nguyên liệu. Những nguyên liệu bảo quản lâu, bị chua hoặc bốc nóng cần nấu ở nhiệt độ thấp và thời gian ngắn hơn so với nguyên liệu tốt cùng loại. Đây là vấn đề khó, đòi hỏi nhiều ở sự cố gắng và làm việc tỉ mỉ của bộ môn kỹ thuật. Vì chỉ trên cơ sở làm việc nghiêm túc mới phân biệt được chất lượng nguyên liệu và áp dụng kịp thời chế độ nấu phù hợp, nhằm hạn chế đến mức tối đa những tổn thất trong giai đoạn nấu nguyên liệu. Nghiền nguyên liệu là một trong những biện pháp nhằm hạn chế tổn thất đồng thời tiết kiệm được hơi khi nấu.

6.2.2. Sự trương nở và hoà tan tinh bột

Trương nở là tính chất của những cao phân tử rắn có khả năng hút dung môi để làm tăng thể tích. Nhưng khác với sự hút nước đơn giản của vật thể xốp, sự trương nở của các chất (tinh bột, pectin, protein) trong nguyên liệu luôn kèm theo các hiện tượng hiệu ứng nhiệt, co thể tích và giảm độ bay hơi so với dung môi nguyên chất.

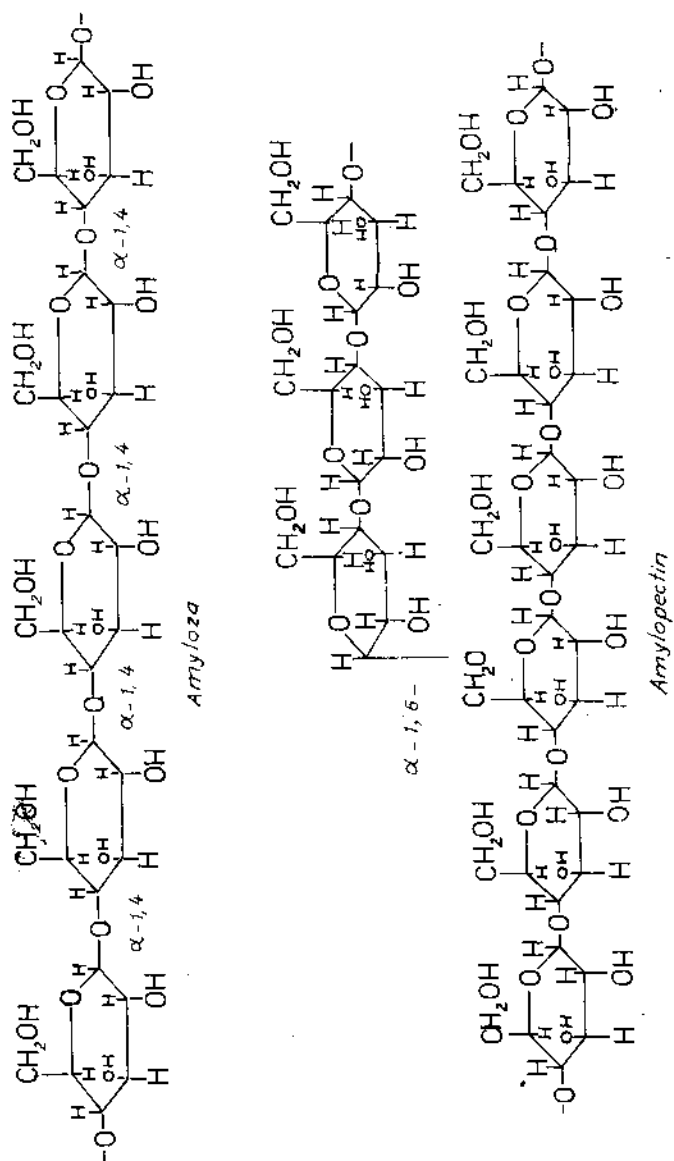
Hơn 50% chất khô của hạt và khoai sắn là tinh bột. Đây là chất chủ yếu để tạo ra sản phẩm cồn etylic trong quá trình sản xuất. Vì thế sự trương nở và hòa tan tinh bột có ý nghĩa thực tiễn trong công nghệ sản xuất rượu. Như chúng ta đều biết, trong nguyên liệu hạt cũng như củ khoai, sắn, tinh bột thường ở dạng hạt nhỏ và nằm trong các mô của tế bào. Kích thước của chúng phụ thuộc vào dạng nguyên liệu và dao động trong giới hạn khá lớn, có thể từ 1 đến 120 μm . Hạt tinh bột khoai tây có kích thước lớn hơn cả, trung bình khoảng 40 đến 50 μm . Tinh bột sắn có kích thước từ 5 đến 28 μm , trung bình 16 μm , còn kích thước trung bình của tinh bột các loại hạt vào khoảng 10 đến 15 μm , và được xếp theo thứ tự sau:

tinh bột gạo < ngô < đại mạch < lúa mì < yến mạch.

Hạt tinh bột không đồng nhất mà cấu tạo từ hai polysaccarit: amyloza và amylopectin. Tùy theo dạng nguyên liệu và nguồn gốc của chúng, hàm lượng amyloza có thể từ 10 đến 30%, còn amylopectin 70 đến 90%. Tinh bột gạo chứa 17% amyloza và 83% amylopectin; tinh bột ngô chứa 10 đến 15% amyloza và 85 đến 90% amylopectin; tinh bột sắn 30% amyloza và 70% amylopectin v.v... Hiện tại, bằng con đường lai giống người ta đã tạo được loại ngô chứa 100% amyloza.

Amyloza cấu tạo từ những gốc glucoza ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$) và liên kết với nhau bởi các nối α -1,4 glucozit nên tạo thành mạch thẳng. Số gốc glucoza trong phân tử amyloza có thể từ 200 đến 1000 và tương ứng với phân tử lượng 34200-162000.

Amylopectin cũng cấu tạo từ những gốc glucoza, nhưng ngoài các nối α -1,4, trong phân tử amylopectin các gốc glucoza còn nối với nhau bởi các nối α -1,6-glucozit. Vì thế chúng tạo thành mạch nhánh. Số nối α -1,6 thường rất ít so với nối α -1,4 nhưng rất bền. Nhiều công trình nghiên cứu cho biết mạch chính của amylopectin chỉ có khoảng 25 đến 30 gốc glucoza; các mạch nhánh bao gồm 15 đến 18 gốc và cách 8 đến 9 gốc (hình 6-1). Tùy theo loại nguyên liệu, số gốc glucoza trong phân tử amylopectin có thể từ 600 đến



Hình 6.1. Cấu trúc của amyloza và amylopectin.

6000, tương đương với phân tử lượng 96120-961200.

Trong dung dịch, hạt tinh bột tương tự những lỗ thấm thấu, trong đó amylopectin đóng vai trò của màng bán thấm. Khi tăng nhiệt độ thì áp suất thẩm thấu và độ trương nở sẽ tăng, hạt tinh bột sẽ hút nước khoảng 25 đến 30 lần nhiều hơn so với thể tích hạt. Amyloza dễ hòa tan trong nước nóng và bắt đầu khuếch tán ra môi trường xung quanh. Nếu tiếp tục tăng nhiệt độ tới giới hạn xác định thì dưới tác dụng của lực thẩm thấu (lực trương nở) các hạt tinh bột sẽ hút nước và tăng thể tích, có thể từ 50 đến 100 lần. Do đó các nối liên kết giữa phân tử sẽ yếu dần và bị đứt, lúc đó hạt tinh bột sẽ được giải phóng và xảy ra hiện tượng hồ hoá. Trong dịch hồ tinh bột, các mạch amylopectin trương nở, đan chéo nhau và giống như mạng lưới không gian ba chiều có nhiều lỗ nhỏ chứa đầy amyloza. Theo một số nhà nghiên cứu thì amylopectin chỉ bắt đầu hòa tan ở nhiệt độ 120°C , nhưng cũng có nhiều ý kiến cho rằng, ở nhiệt độ $85-100^{\circ}\text{C}$ amylopectin, nhất là những phân tử có mức độ trùng hợp thấp đã cùng với amyloza hòa tan vào dung dịch. Ý kiến này phù hợp với thực tế trong sản xuất bia. Vì khi dùng nguyên liệu thay thế người ta chỉ tiến hành nấu ở $85-100^{\circ}\text{C}$, nhưng tinh bột vẫn hoà tan tốt và bảo đảm hiệu suất hoà tan cao.

Nhiều công trình nghiên cứu cho biết, khi tăng dần nhiệt độ của dung dịch bột từ 30 đến 45°C , ta thấy độ nhớt giảm dần và qua điểm cực tiểu, sau đó tinh bột bắt đầu trương nở, hòa tan dần nên độ nhớt tăng nhanh và đạt tới cực đại ở nhiệt độ xác định đối với từng loại tinh bột khác nhau. Tiếp đó nếu tăng nhiệt độ thì độ nhớt sẽ giảm nhưng chậm. Nhiệt độ ứng với độ nhớt cực đại được xem là nhiệt độ hồ hóa của tinh bột (hình 6-2).

Nhiệt độ hồ hóa phụ thuộc vào nguyên liệu và kích thước của 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. Nhưng tinh bột của bất kỳ nguyên liệu nào cũng gồm một hỗn hợp chứa nhiều hạt có kích thước khác nhau, nên trong thực tế luôn tồn tại một khoảng nhiệt độ hồ hóa. Ví dụ tinh bột khoai tây có nhiệt độ hồ hóa trong khoảng

Giáo sư Climofski và các cộng sự đã chứng minh rằng, hàm lượng alcol metylic tỉ lệ thuận với nhiệt độ nấu. Trong điều kiện nấu của sản xuất rượu, hàm lượng alcol metylic trong dịch cháo khoai tây vào khoảng 0,004 đến 0,005% và nhiều gấp 10 lần so với trong dịch cháo nấu từ các loại hạt (0,00035%). Đây cũng là nguyên nhân chủ yếu tạo ra alcol metylic trong sản xuất cồn từ nguyên liệu tinh bột.

6.2.4. Những biến đổi của tinh bột và đường

Khi nấu có một lượng nhỏ tinh bột biến thành đường và dextrin do tác dụng của amylaza chứa trong nguyên liệu. Theo số liệu của Askinudi, ở nhiệt độ 55°C amylaza tác dụng lên tinh bột rất yếu. Sau 15 phút hàm lượng chất khử chỉ chiếm 0,25% so với khối lượng chất hòa tan trong dịch bột; ở nhiệt độ 60°C tăng đến 0,8% trong dịch bột kiểu mạch và 8% trong dịch bột tiểu mạch. Sự có mặt của các chất đường trong dịch bột chưa nấu là điều không mong muốn vì sẽ gây tổn thất khi đun đến nhiệt độ cao. Do đó khi nấu sơ bộ, người ta tăng nhanh nhiệt độ trong giới hạn 50-60°C nhằm rút ngắn thời gian để hạn chế hoạt động của amylaza. Ngoài tác dụng của amylaza, khi nấu tinh bột còn chịu tác dụng của ion H^+ và cũng tạo dextrin và maltoza nhưng với lượng rất ít và chỉ khoảng 0,066 đến 0,073%. Đường chứa trong nguyên liệu chủ yếu là saccaroza, glucoza, fructoza và một ít maltoza được tạo thành trong thời gian nấu. Ở nhiệt độ cao các đường sẽ bị phân huỷ và mất nước để tạo thành caramen, furfural, oxymetyl furfural và melanoidin. Mức độ tạo các chất được xếp theo thứ tự:

tạo melanoidin > furfural > caramen.

Mức độ phân huỷ của đường phụ thuộc vào nhiệt độ và pH. Thực nghiệm cho biết, đường glucoza bị phân huỷ ít nhất ở pH = 3,4 fructoza ở pH = 3,6, còn arabinosa bị phân huỷ ít nhất ở pH = 2,8. Do đó muốn giảm tổn thất (hình 6-3) đường có sẵn trong nguyên liệu ở giai đoạn nấu thì nên khống chế pH của dịch cháo ở pH = 3,5. Ở điều kiện trên glucoza sẽ bị phân huỷ khoảng 5%, còn

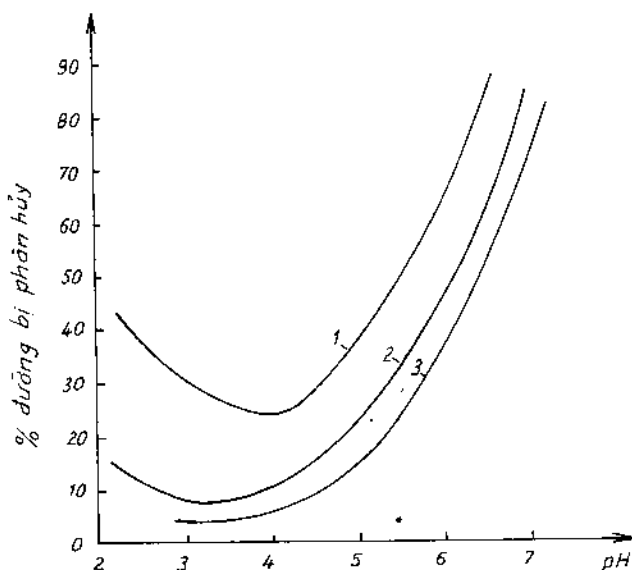
fructoza bị phân huỷ tới 26%.

Nếu tăng pH tới 6,5 thì sự phân huỷ sẽ là 80% đối với glucoza và 90% đối với fructoza. Trong điều kiện nấu của sản xuất rượu (pH = 5), có khoảng 11% glucoza và 30% fructoza bị phân huỷ. Theo mức độ bị phân huỷ thì:

fructoza > arabinoza > glucoza.

Đối với saccaroza và maltoza, sự phân huỷ chỉ xảy ra sau khi đã bị thủy phân. Ở pH = 2,5, saccaroza bị thủy phân hoàn toàn, còn ở pH = 6,5 chỉ khoảng 50% được thủy phân. Phân huỷ đường hoàn nguyên (hỗn hợp glucoza và fructoza) bắt đầu từ pH = 2 và giảm tới 5% ở pH = 3,5, sau đó lại tăng tới 18% ở pH = 5.

Chú ý rằng, mặc dù ở pH = 3,5 đường bị phân huỷ ít, nhưng nếu tiến hành nấu ở pH kể trên thì phải cho thêm axit, thiết bị sẽ bị ăn mòn nhiều, nấu xong lại phải dùng xút hoặc natri cacbonat để trung hòa tới pH thích hợp cho hoạt động của amylaza. Mặt khác ở pH = 3,5 thì lượng đường tạo thành do tác dụng của ion H^+ sẽ tăng. Lúc đó lượng đường chứa trong dịch cháo nấu sẽ không như



Hình 6-3. Ảnh hưởng của pH tới mức độ phân huỷ đường ở điều kiện nấu gián đoạn.
1. fructoza; 2. arabinoza; 3. glucoza.

ban đầu mà nhiều hơn, nên mặc dù tỉ lệ tổn thất thấp nhưng tổng lượng đường bị phân huỷ sẽ nhiều hơn. Vì thế việc lựa chọn pH của dịch chao nấu cần được xem xét một cách cẩn thận và toàn diện, nhằm đạt hiệu quả kinh tế cao nhất.

Tổn thất đường trong thời gian nấu bao gồm tạo caramen, furfural, oxymetyl furfural và melanoidin.

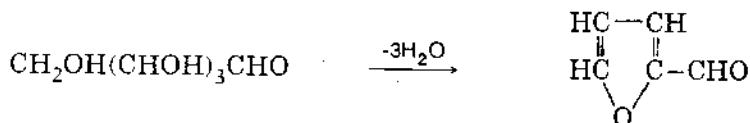
Phản ứng tạo caramen là do đường saccaroza nóng chảy và mất nước gây ra. Tùy theo mức độ mất nước, sản phẩm tạo thành có thể là caramelan, caramenlen hay caramenlin.

Caramelan ($C_{12}H_{18}O_9$) được tạo ra khi một phân tử saccaroza mất hai phân tử nước (10,5%). Nếu ba phân tử saccaroza mất tám phân tử nước (14%) thì sản phẩm tạo thành gọi là caramenlen ($C_{36}H_{50}O_{25}$) và khi hai phân tử saccaroza mất bảy phân tử nước (18,4%) ta sẽ nhận được caramenlin ($C_{24}H_{30}O_{15}$). Trong điều kiện nấu của sản xuất rượu, phản ứng tạo caramen luôn xảy ra và phụ thuộc chế độ nấu.

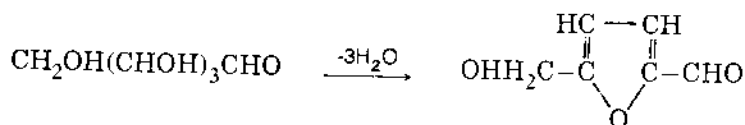
Caramen là chất kìm hãm đối với quá trình lên men rượu. Khi thêm vào dịch đường với số lượng 1; 3 và 5% so với khối lượng dịch thì hiệu suất lên men sẽ giảm một cách tương ứng 2; 4 và 6%. Tuy nhiên trong điều kiện nấu hiện nay ở Công ty Rượu Đồng Xuân Phú Thọ, lượng caramen tạo thành không đáng kể và do đó không ảnh hưởng tới lên men.

Sự tạo thành furfural và oxymetyl furfural cũng do đường mất nước. Quá trình xảy ra qua nhiều giai đoạn và cuối cùng mỗi phân tử đường đơn sẽ mất đi ba phân tử nước.

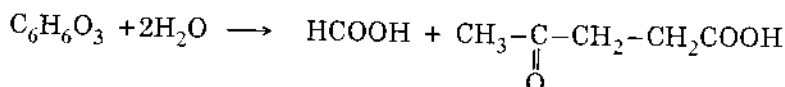
Đối với đường pentoza, sản phẩm tạo thành là furfural:



Đối với đường 6 cacbon (hexoza), sản phẩm tạo thành là oxymetyl furfural:



Do không bền nên oxymetyl furfural dễ bị biến đổi tiếp theo để tạo thành alcol metylic và axit levulinic:



Một phần oxymetyl furfural sẽ trùng hợp và tạo ra chất màu.

Sự tạo thành melanoidin là kết quả của phản ứng oxy hóa khử giữa đường và các axit amin cũng như các sản phẩm trung gian của quá trình thủy phân protit.

Quá trình tạo thành melanoidin rất phức tạp nhưng có thể chia thành ba giai đoạn.

Sản phẩm của giai đoạn đầu không có màu và không hấp thụ tia cực tím. Giai đoạn này gồm hai phản ứng: ngưng tụ giữa axit amin và đường, tiếp theo là chuyển nhóm.

Giai đoạn 2 tạo sản phẩm trung gian, màu vàng, hấp thụ các tia cực tím và bao gồm ba phản ứng: đường bị mất nước, đường bị phân huỷ và phân huỷ các hợp chất amin.

Giai đoạn cuối gồm hai phản ứng: ngưng tụ aldehyt và trùng hợp giữa aldehyt với hợp chất amin.

Thực tế trong môi trường phản ứng, các sản phẩm luôn tồn tại trong suốt quá trình tạo thành sản phẩm cuối - melanoidin.

Tốc độ của phản ứng phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố như nhiệt độ, pH, thời gian cũng như nồng độ, tính chất của các đường và axit amin. Theo số liệu của Crétovic thì phản ứng có thể xảy ra ở 95°C và sẽ nhanh dần khi tăng nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng. Trung bình khi nhiệt độ tăng 10°C thì tốc độ phản ứng tăng 2 đến 3 lần. Xét về ảnh hưởng của pH, Zabrotsky cho biết phản ứng tạo melanoidin xảy ra trong giới hạn khá lớn, có thể từ pH = 2,1

nhưng yếu, phản ứng tăng dần cùng với tăng pH và mạnh đáng kể trong môi trường kiềm.

Khả năng tạo melanoidin của các đường và axit amin được thể hiện trong bảng 6-1.

Bảng 6-1. Khả năng tạo thành melanoidin của các đường và axit amin

Chất đường	Khả năng tạo melanoidin đơn vị	Chất đường	Khả năng tạo melanoidin đơn vị
glucoza	10	xxiloza	5,5
fructoza	12	arabinoza	6,7
manoza	14	furfuroi	15,0
galactoza	2,0	metylglyoxan	30,0

Đối với các axit amin thì glyocol có khả năng phản ứng mạnh nhất, sau đó lần lượt đến alanin, phenylamin, valin, lờxin, metiomin, axit glutamic, xistin, tirozin v.v... Nói chung cùng với sự tăng khối lượng phân tử của axit amin, khả năng phản ứng với các đường của chúng sẽ bị giảm.

Melanoidin là chất keo màu xẫm, mang điện tích âm, có tính khử và mang tính axit, nấm men không đồng hóa được. Nếu dịch đường chứa nhiều melanoidin sẽ gây ảnh hưởng tới hoạt động của enzym và nấm men.

Thành phần melanoidin rất đa dạng và phức tạp, chưa được nghiên cứu tỉ mỉ. Theo số liệu của Cờnhiaghinhichef thì thành phần của hợp chất này chứa cacbon 54-60%; hydro 4,9-5,2%, nitơ 3,5-5,3% và oxy 31,3-35,1%.

6.2.5. Biến đổi của protit và các chất khác

Climôfski và Cờnôvalôp đã nghiên cứu biến đổi của protit trong thời gian nấu và thấy rằng, khi tăng nhiệt độ tới 100°C, độ hòa tan của protit bị giảm do keo tụ và biến tính; nhưng tiếp tục tăng nhiệt độ thì độ hòa tan sẽ tăng do quá trình peptit hóa. Tuy nhiên sự tăng giảm lượng nitơ hoà tan trong thời gian nấu không giống nhau đối với từng loại nguyên liệu. Điều này được thể hiện ở bảng 6-2.

Khi nấu có khoảng 20-50% nitơ của hạt được chuyển vào dung dịch nhưng lượng đạm amin hầu như không thay đổi. Nói khác đi sự thủy phân protit không xảy ra trong thời gian nấu nguyên liệu.

Bảng 6-2. Biến đổi nitơ trong quá trình nấu

Dạng nitơ	Lượng nitơ (%) sau khi nấu 40-50 phút ở t°C							
	Lúa đại mạch				Ngô			
	50	100	120	140	50	100	120	140
Nitơ không hoà tan	74,6	93,1	87,4	78,7	81,4	76,5	68,4	43,0
Nitơ hoà tan	25,4	6,9	12,6	21,3	18,6	23,5	31,6	57,0
Trong số đó:								
- nitơ protit	10,0	4,8	6,9	16,4	9,2	10,4	8,0	5,0
- nitơ amin	-	-	-	-	7,2	7,0	6,8	6,4

Sự biến đổi của chất béo cũng hầu như không xảy ra trong thời gian nấu nguyên liệu.

6.3. Tiến hành nấu nguyên liệu

Nấu nguyên liệu có thể thực hiện theo một trong ba phương pháp sau: gián đoạn, bán liên tục và liên tục. Tùy 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.

Ở nước ta trước năm 1983, hầu hết các nhà máy đều nấu theo phương pháp gián đoạn. Nồi nấu đều thiết kế theo kiểu nằm ngang, có cánh khuấy và do nhà máy Thiết bị Áp lực Đông Anh hay Caric thành phố Hồ Chí Minh chế tạo. Riêng ở phân xưởng Cồn Tam Hiệp (Hà Tây), Lục Ngạn (Hà Bắc), Hưng Nhân (Thái Bình) người ta dùng nồi nấu đứng không có cánh khuấy nhập từ Trung Quốc. Năm 1983 Xí nghiệp Rượu Thanh Ba Phú Thọ cải tạo và áp dụng nấu bán liên tục. Sau mười năm sản xuất, năm 1993 xí nghiệp lại chuyển sang phương pháp nấu mới, chúng tôi sẽ phân tích và trình bày ở phần sau.

6.3.1. Nấu gián đoạn

Đặc điểm của phương pháp là toàn bộ quá trình nấu đều thực hiện trong cùng một nồi. Phương pháp có ưu điểm là tốn ít vật liệu để chế tạo thiết bị, thao tác đơn giản nhưng có nhược điểm là tốn hơi vì không sử dụng được hơi thứ, nấu lâu ở áp suất và nhiệt độ cao nên gây tổn thất đường nhiều.

Nguyên liệu đưa vào nồi nấu có thể để nguyên cả hạt hoặc sắn lát. Tuy nhiên, hiện nay nguyên liệu hầu hết được nghiền thành bột với mức độ to nhỏ khác nhau nhằm mục đích tăng năng suất và hạn chế tổn thất do kéo dài thời gian nấu.

Hiện nay Nhà máy Thiết bị Áp lực Đồng Anh sản xuất hai loại nồi: nồi nhỏ dùng cho các cơ sở nhỏ, mỗi lần nấu được từ 300 đến 400 kg bột sắn, nồi to nấu tới 700-850 kg/mẻ.

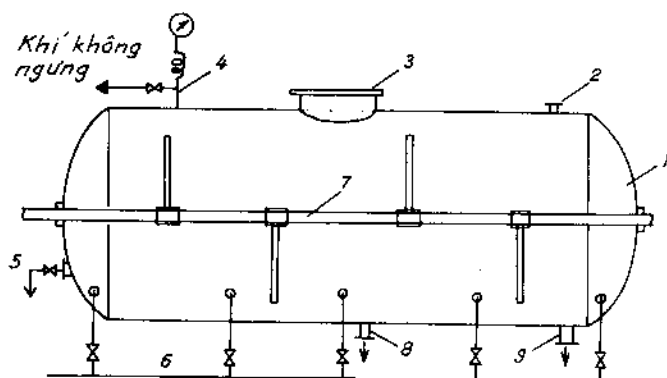
Quá trình nấu được thực hiện như sau:

Cho toàn bộ lượng nước vào nồi với tỉ lệ 3,5-4 lít/kg nguyên liệu tùy thuộc vào hàm lượng tinh bột. Cho cánh khuấy làm việc rồi đổ bột vào, đậy kín nắp và bắt đầu xông hơi sao cho 45 đến 60 phút thì áp suất trong nồi đạt yêu cầu. Lúc đầu cần mở van xả để đuổi hết không khí và khí không ngưng, cho tới khi van xả thoát ra chỉ có hơi nước bão hòa. Đóng bớt van xả và khi áp suất đạt tới áp suất nấu ta bắt đầu tính thời gian. Áp suất và nhiệt độ nấu cao hay thấp là tùy theo trạng thái của nguyên liệu, bột to nhỏ hay chưa nghiền. Đối với bột thường nấu ở áp suất $3 \div 3,5 \text{ kg/cm}^2$, thời gian duy trì 60 đến 70 phút. Còn ngô hạt hay sắn lát thì phải nấu ở áp suất $4,5 \div 5 \text{ kg/cm}^2$ trong khoảng 80 đến 90 phút. Tốt nhất là nên nghiền nguyên liệu và nấu ở $3 \div 3,5 \text{ kg/cm}^2$ tương đương nhiệt độ $135 \div 140^\circ\text{C}$.

Đối với nguyên liệu kém phẩm chất do phát triển của vi sinh vật, cần căn cứ vào chất lượng mà định ra chế độ nấu phù hợp. Nguyên liệu bảo quản lâu kém phẩm chất thường nấu ở áp suất và nhiệt độ thấp hoặc rút ngắn thời gian duy trì.

Ở Nhà máy Rượu Hà Nội, khi nấu có cho thêm axit sunfuric 30

độ Bomè với số lượng 2÷4 kg/tấn nguyên liệu. Cho axit có ưu điểm là nấu chóng chín, khi làm lạnh dịch cháo tinh bột ít hoặc không bị lão hóa. Nhưng axit có nhược điểm làm ăn mòn thiết bị, nếu nhiều sẽ ảnh hưởng tới hoạt độ của amylaza.



Hình 6-4. Cấu tạo nồi nấu.

1. Thân nồi; 2. Dầu nối; Van an toàn; 3. Nắp nồi; 4. Áp kế; 5. Van lấy mẫu; 6. Ống cấp hơi; 7. Cánh khuấy; 8. Ống vệ sinh; 9. Ống phóng cháo.

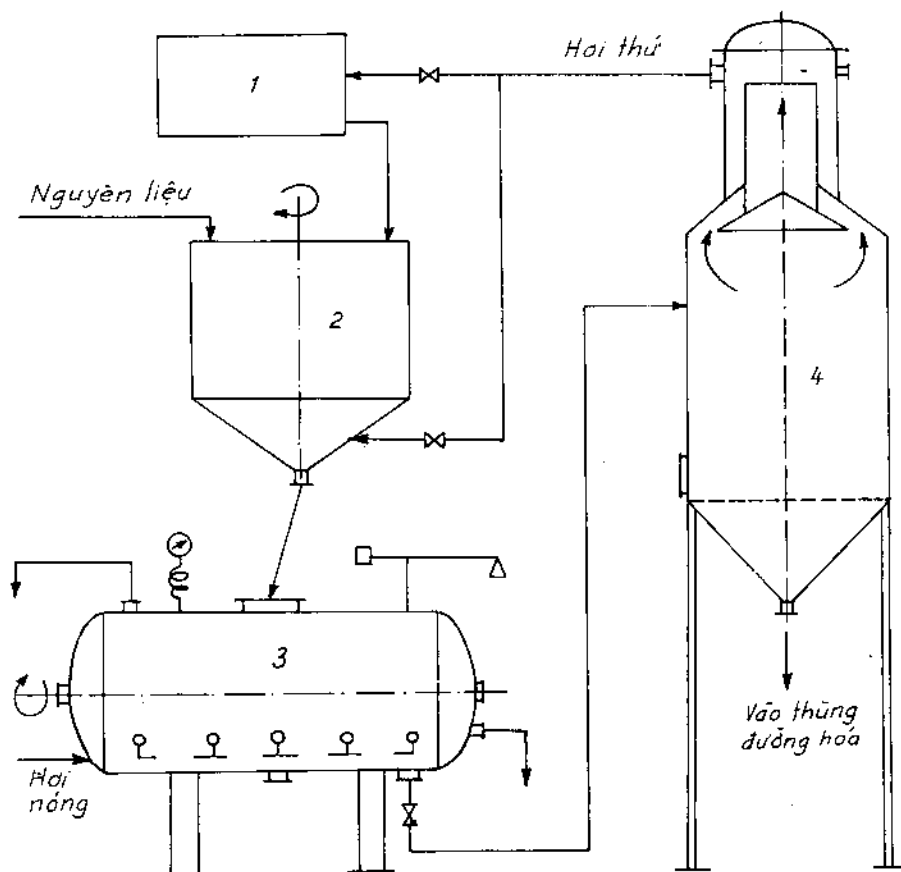
Trong giai đoạn cuối của nấu nguyên liệu, thỉnh thoảng ta cần lấy mẫu để kiểm tra mức độ nấu chín của tinh bột. Độ chín của tinh bột có thể kiểm tra bằng kính hiển vi hay căn cứ vào tốc độ chảy của dịch cháo khi lọc, nhưng kém tin cậy. Hiện nay người ta vẫn dựa vào kinh nghiệm cảm quan của công nhân vận hành. Cháo được xem như chín nếu có mùi thơm nhẹ, màu vàng rơm hoặc cánh gián. Nếu màu tối xẫm, mùi khét, vị đắng là do bị cháy, còn nếu cháo có màu bột trắng, mùi ngái thì xem như chưa chín.

Nấu xong ta mở van từ từ và phóng cháo sang thùng đường hoá. Thời gian phóng cháo 10 tới 15 phút. Toàn bộ chu kỳ nấu kéo dài khoảng 2,5 đến 3 giờ.

6.3.2. Nấu bán liên tục

Đặc điểm của phương pháp là nấu được tiến hành trong ba nồi khác nhau và chia thành nấu sơ bộ, nấu chín và nấu chín thêm.

Phương pháp có ưu điểm là giảm được thời gian nấu ở áp suất và nhiệt độ cao, do đó giảm được tổn thất và tăng hiệu suất đến 7 lít cồn/tấn tinh bột. Nhờ sử dụng được hơi thứ vào nấu sơ bộ nên tiết kiệm 15÷30% lượng hơi dùng cho nấu.



Hình 6-5. Sơ đồ nấu bán liên tục
ở Xí nghiệp Rượu Thanh Ba Phú Thọ (1983-1993).
1. Thùng chứa nước; 2. Nồi nấu sơ bộ;
3. Nồi nấu chín; 4. Nồi nấu chín thêm.

Nhược điểm của phương pháp này là tốn nhiều kim loại để chế tạo thiết bị.

Nấu bán liên tục được áp dụng ở xí nghiệp Rượu Thanh Ba Phú Thọ từ 1983 đến 1993. Ở một số nơi như Xí nghiệp Rượu Nông trường Lục Ngạn Hà Bắc, Phân xưởng rượu Tam Hiệp Hà Tây, Hưng Nhân Thái Bình, Nhà máy Rượu Hà Nội tuy có nồi nấu sơ bộ nhưng sơ đồ nấu chưa hoàn chỉnh nên không sử dụng được hơi thứ.

Nấu sơ bộ được thực hiện trong nồi nấu hình trụ, có dung tích tương đương nồi nấu chín. Đầu tiên cho lượng nước $40 \div 50^{\circ}\text{C}$ vào cùng tới tỉ lệ $3,5 \div 4,0$ lít/kg bột. Cho cánh khuấy làm việc rồi đổ bột vào, sau đó dùng hơi thứ từ nồi nấu chín thêm để đun dịch bột tới $70 \div 85^{\circ}\text{C}$ và duy trì khoảng $50 \div 60$ phút. Sau đó mở van và tháo dịch cháo xuống nồi nấu chín.

Nấu chín cũng tiến hành tương tự như khi nấu gián đoạn, chỉ khác là áp suất nấu và thời gian có ít hơn. Áp suất nấu $2,8 \div 3,2$ kg/cm²; nhiệt độ $130 \div 135^{\circ}\text{C}$, thời gian khoảng 60 phút.

Nấu chín xong ta mở van từ từ và phóng cháo sang nồi nấu chín thêm. Nồi nấu chín thêm có dung tích gấp 3 lần so với nồi nấu chín nhưng chỉ đổ đầy khoảng $2/3$ nồi; $1/3$ còn lại là không gian chứa hơi. Áp suất nấu $0,5 \div 0,7$ at, nhiệt độ $105 \div 106^{\circ}\text{C}$. Thời gian nấu khoảng 50 đến 60 phút. Sở dĩ gọi sơ đồ nấu là bán liên tục vì nấu sơ bộ và nấu chín là gián đoạn, còn nấu chín thêm là liên tục.

6.3.3. Nấu liên tục

Nấu liên tục có nhiều ưu điểm so với nấu gián đoạn và bán liên tục do:

- Tận dụng được nhiều hơi thứ do có thể đun dịch cháo tới nhiệt độ cao mà không ảnh hưởng tới làm việc của thiết bị.
- Cho phép nấu ở nhiệt độ thấp hoặc thời gian ngắn nên giảm được tổn thất đường do cháy và tạo melanoidin. Nhờ đó hiệu suất rượu tăng 5 lít so với nấu bán liên tục và 12 lít/tấn tinh bột so với nấu gián đoạn.

- Năng suất riêng của 1 m³ thiết bị tăng khoảng 7 lần. Tiêu hao kim loại để chế tạo thiết bị giảm khoảng 50% so với bán liên tục.

- Dễ cơ khí hóa và tự động hoá.

- Tốn ít diện tích đặt thiết bị.

Tuy nấu liên tục có nhiều ưu điểm nhưng đòi hỏi các điều kiện nghiêm ngặt.

Nguyên liệu phải nghiền thật nhỏ, bột nằm trên mặt rây có đường kính $d = 3$ mm không quá 10%. Bột lọt qua rây có đường kính $d = 1$ mm phải nhiều hơn 40%. Đối với ngô phải nghiền nhỏ hơn để bột nằm trên rây 3 mm không quá 7% và phải lọt qua rây 1 mm từ 70% trở lên.

Đối với cung cấp điện, hơi, nước yêu cầu phải ổn định.

Nấu liên tục có thể tiến hành trong các thiết bị khác nhau. Khi điều kiện cho phép chúng ta có thể cải tạo các nồi nấu để biến chúng thành liên tục. Quá trình nấu cũng chia thành ba giai đoạn và thực hiện trong ba thiết bị khác nhau: nồi nấu sơ bộ, nồi nấu chín và nồi nấu chín thêm, còn gọi là thiết bị tách hơi.

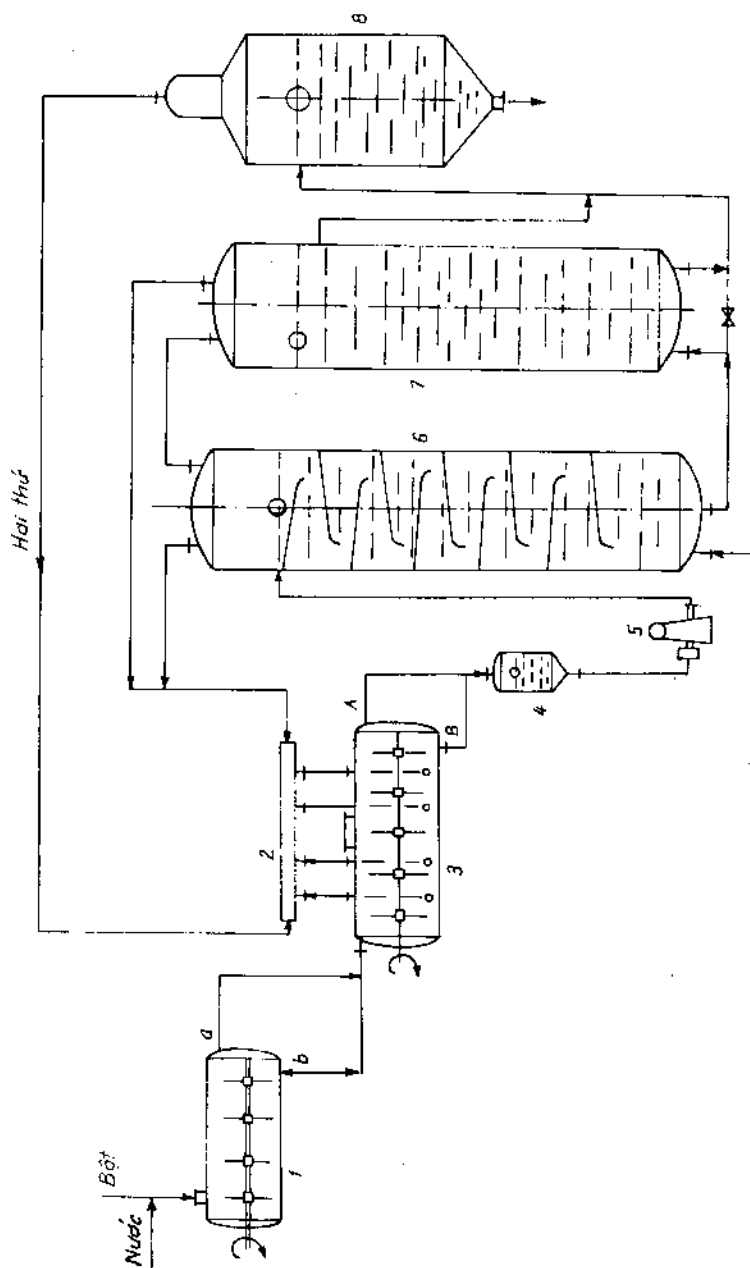
Sau đây chúng tôi xin giới thiệu một vài sơ đồ cụ thể để bạn đọc tham khảo.

a. Sơ đồ Mitchurin

Sơ đồ này do giáo sư Fremen và Ustinhicôp thiết kế và xây dựng từ 1955, ứng với công suất 20000 lít cồn/ngày.

Chế độ làm việc như sau:

Theo tỷ lệ đã tính trước, bột và nước liên tục đi vào thùng hoà bột 1. Nhiệt độ dịch bột đạt $35 \div 40^\circ\text{C}$. Thùng hòa bột là một hình trụ nằm ngang có cánh khuấy 45 vòng/phút, được chia thành hai ngăn không đều nhau. Dung tích của thùng bằng 1,2 m³ (dung tích làm việc 0,72 m³). Thời gian dịch bột lưu lại trong thùng 3÷5 phút. Từ van *a* dịch bột liên tục đi vào nồi nấu sơ bộ 3. Nồi nấu sơ bộ cũng có hình trụ nằm ngang có cánh khuấy với tốc độ 26 vòng/phút.



Hình 8-6. Sơ đồ nấu liên tục ở nhà máy Mitchurin

1. Thùng hoà bột $V = 12 \text{ m}^3$; 2. Bình gộp hơi thuốc 3. Nồi nấu sơ bộ $V = 2 \text{ m}^3$;
4. Thùng chứa tam; 5. Bơm pitông; 6. Nồi nấu chín ($D = 11 \text{ m}$, $H = 6 \div 7 \text{ m}$);
7. Nồi nấu chín thêm ($D = 12 \text{ m}$, $H = 4,9 \text{ m}$); 8. Nồi tách hơi $V = 2 \text{ m}^3$.

Dung tích chung $V = 2 \text{ m}^3$, dung tích hữu ích $1,2 \text{ m}^3$. Thời gian dịch cháo lưu lại trong nồi 4÷5 phút. Ở đây dịch bột được đun nóng bằng hơi thứ tới nhiệt độ $80\div 85^\circ\text{C}$.

Ra khỏi nồi, dịch cháo được tạm chứa ở thùng 4 sau đó nhờ bơm pittông bơm dịch cháo liên tục đẩy vào nồi nấu chín 6. Nồi nấu chín là một hình trụ đứng có đường kính 1100 mm, chiều cao khoảng $6000\div 7000 \text{ mm}$, bên trong được chia thành nhiều ngăn có độ nghiêng, theo đó dịch cháo chảy từ trên xuống. Hơi chính được cấp từ dưới và đi ngược chiều với dịch cháo, do đó tạo ra 3 vùng nhiệt độ khác nhau. Nhiệt độ ở đáy 140°C , ở giữa 130°C và trên cùng 125°C . Nhiệt độ hơi chính cấp cho thiết bị có $p = 3 \text{ at}$ (tương đương $142,9^\circ\text{C}$). Do đó ở vùng dưới hơi chưa bị ngưng tụ, vùng giữa bị ngưng tụ một phần và trên cùng bị ngưng tụ hoàn toàn. Do đi ngược chiều nên dịch cháo được khuấy mạnh và đun nóng tới mức độ cần thiết. Hơi thừa và khí không ngưng qua van điều chỉnh xả ra ngoài một phần, phần lớn còn lại đưa sang nồi nấu chín thêm số 7 hoặc đem nấu sơ bộ.

Đối với nguyên liệu là ngô, chế độ nấu được điều chỉnh tới 150°C , hơi cấp có $p = 4 \text{ at}$.

Ra khỏi nồi nấu 6, dịch cháo liên tục đi vào nồi nấu chín thêm số 7. Nồi này có đường kính $D = 1100 \text{ mm}$, $H = 4900 \text{ mm}$. Bên trong chia làm ba ngăn theo chiều thẳng đứng. Dịch cháo vào dưới đáy dần tới vách ngăn rồi lại đi từ trên xuống tiếp đó theo ngăn thứ ba đi vào nồi tách hơi 8.

Thời gian dịch cháo lưu lại trong thiết bị 6 và 7 đều vào khoảng 25 đến 30 phút, tổng cộng $50\div 60$ phút.

b. Sơ đồ nấu liên tục Miarótki

Sơ đồ này do nhóm nghiên cứu rượu bia Ucraina thiết kế và xây dựng năm 1958. Thiết bị chủ yếu và nguyên tắc làm việc như sau:

Qua cân tự động và lưu lượng kế, nước và bột liên tục đi vào thùng hòa bột có cấu tạo tương tự như với sơ đồ Mitchurin. Ở đây

dịch bột được đun tới $45 \div 50^{\circ}\text{C}$ bằng hơi thứ và nước ngưng ở 3. Tiếp theo bơm pittông 2 bơm dịch bột vào thiết bị nấu sơ bộ 3. Qua thiết bị này dịch bột được đun tới nhiệt độ $85 \div 90^{\circ}\text{C}$ bằng hơi thứ, tiếp đó đi vào thiết bị tiếp xúc hơi rồi vào bộ phận nấu chín 5. Qua thiết bị tiếp xúc hơi, dịch cháo được đun tới $168 \div 170^{\circ}\text{C}$ (với bột ngô $175 \div 177^{\circ}\text{C}$). Với nhà máy có áp suất hơi thấp, nhiệt độ có thể đun tới $158 \div 162^{\circ}\text{C}$, nhưng đồng thời phải nghiền bột mịn hơn sao cho bột nằm trên mặt rây $\phi 3$ mm không được quá 3÷5%.

Cấu tạo của thiết bị tiếp xúc hơi và màng chắn của bộ phận nấu được mô tả trên hình 6-8 và 6-9.

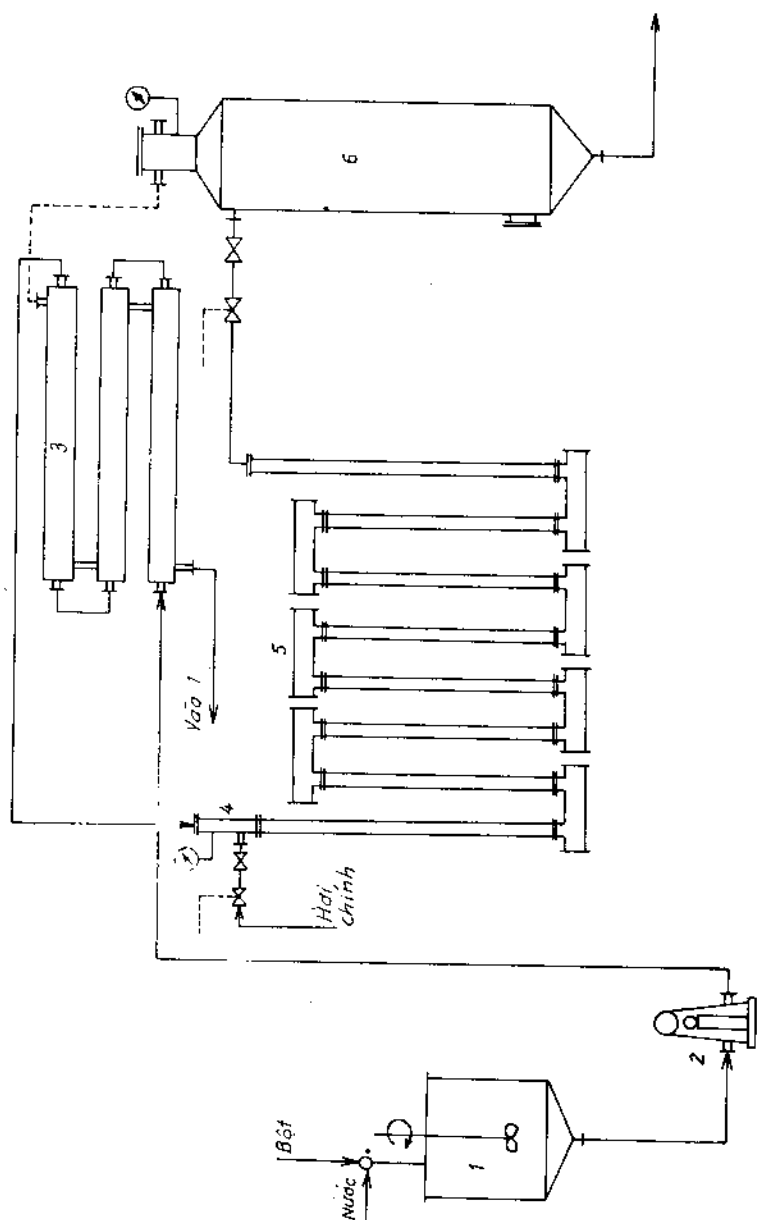
Thiết bị tiếp xúc hơi có dạng hai hình trụ lồng vào nhau. Hình trụ ngoài có đường kính 150 mm, chiều dài 500 mm, ống trong có đường kính 75 mm, dài 350 mm, trên thân ống có tới 80÷100 lỗ $\phi 5$ mm và có góc nghiêng 45° so với trục thẳng đứng. Hai dây lỗ phía trên (đoạn a) nằm xiên, còn các dây lỗ còn lại (đoạn b) thì theo chiều tiếp tuyến. Để bảo đảm cho dịch cháo phân bố đều ta đặt tấm lưới chắn ở đầu ống, qua đó cháo đi vào ống tiếp xúc hơi.

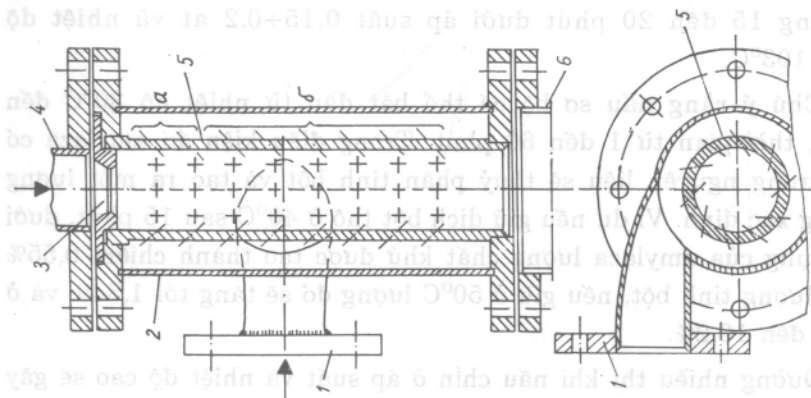
Dịch cháo liên tục vào với tốc độ $1 \div 1,2$ m/s. Hơi qua cửa 1 vòng quanh ống ngoài rồi qua các lỗ của ống 4 hoà lẫn với cháo và đun tới nhiệt độ yêu cầu. Tiếp theo cháo đi vào thiết bị nấu 5 có đường kính 150 mm với chiều dài 40÷45 m và dung tích chung $0,8 \text{ m}^3$. Số đoạn thẳng đứng khoảng 8÷10, số màng chắn 16÷20. Đường kính lỗ màng chắn theo đường đi của dịch cháo tăng dần từ 37 đến 52 mm. Đối với nhà máy có công suất 20.000 lít cồn/ngày, người ta thay ống có đường kính 150 mm bằng ống có đường kính 175÷200 mm.

Qua bộ phận tiếp xúc hơi, dịch cháo lần lượt đi qua các đoạn thẳng và màng chắn của hệ thống ống. Ở đoạn ống đầu tiên dịch cháo chảy với tốc độ $0,1 \div 0,12$ m/s. Khi qua màng chắn dịch cháo sẽ phun mạnh và sau đó giảm áp suất, nhờ đó nước bốc hơi và làm cho hạt tinh bột nhuyễn hơn, tới màng chắn cuối cùng dịch cháo có tốc độ 2,0 m/s và khi ra khỏi hệ thống cháo chảy với tốc độ $1,3 \div 1,5$ m/s.

Hình 6-7. Sơ đồ Miarotki

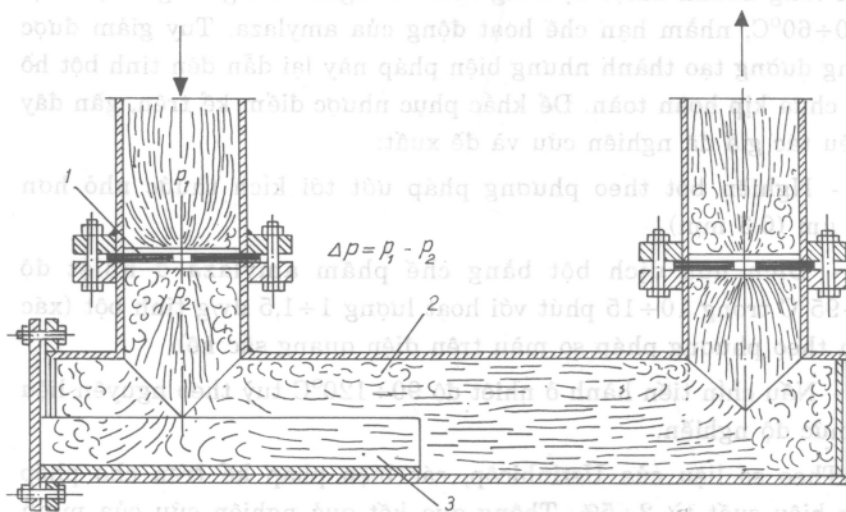
1. Thùng hoà bột; 2. Bơm pittông; 3. Thiết bị nấu sơ bộ;
4. Thiết bị tiếp xúc hơi; 5. Thiết bị nấu chín; 6. Thiết bị tách hơi.





Hình 6-8. Cấu tạo ống tiếp xúc hơi

1. Cửa hơi vào; 2. Ống chứa hơi; 3. Cửa phun cháo; 4. Ống dẫn cháo;
5. Đoạn ống dẫn cháo tiếp xúc với hơi; 6. Đầu nối ống tiếp xúc với thiết bị nấu.



Hình 6-9. Cấu tạo màng chắn

Dịch cháo chỉ chiếm khoảng 20% thể tích của hệ thống, còn 80% là hơi. Toàn bộ thời gian cháo lưu lại trong hệ thống chỉ vào khoảng 2 đến 3 phút. Ra khỏi hệ thống, cháo đi vào thùng tách hơi và lưu lại khoảng 15 đến 20 phút dưới áp suất $0,15 \div 0,2$ at và nhiệt độ $102 \div 103^{\circ}\text{C}$.

Chú ý rằng nấu sơ bộ có thể bắt đầu từ nhiệt độ 30°C đến 95°C , thời gian từ 1 đến 60 phút. Trong điều kiện đó amylaza có sẵn trong nguyên liệu sẽ thủy phân tinh bột và tạo ra một lượng đường xác định. Ví dụ nếu giữ dịch bột thô ở 40°C sau 15 phút, dưới tác dụng của amylaza lượng chất khử được tạo thành chiếm 0,55% khối lượng tinh bột, nếu giữ ở 50°C lượng đó sẽ tăng tới 1,34% và ở 60°C đến 13,2%.

Đường nhiều thì khi nấu chín ở áp suất và nhiệt độ cao sẽ gây tổn thất lớn do bị phân huỷ tạo thành caramen, oxymetyl furfural và melanoidin. Các chất này không chỉ gây tổn thất đường mà còn ảnh hưởng xấu tới hoạt động và sinh trưởng của nấm men sau này. Để giảm tổn thất, trong thời gian nấu sơ bộ người ta thường tìm cách tăng nhanh nhiệt độ đồng thời rút ngắn thời gian giữ dịch bột ở $50 \div 60^{\circ}\text{C}$, nhằm hạn chế hoạt động của amylaza. Tuy giảm được lượng đường tạo thành nhưng biện pháp này lại dẫn đến tinh bột hồ hóa chưa kịp hoàn toàn. Để khắc phục nhược điểm kể trên, gần đây nhiều tác giả đã nghiên cứu và đề xuất:

- Nghiền bột theo phương pháp ướt tới kích thước nhỏ hơn $300\ \mu\text{m}$ (0,3 mm).

- Dịch hóa dịch bột bằng chế phẩm amylaza ở nhiệt độ $90 \div 95^{\circ}\text{C}$ trong $10 \div 15$ phút với hoạt lượng $1 \div 1,5$ đv/g tinh bột (xác định theo phương pháp so màu trên diện quang sắc kế).

- Nấu chín tiến hành ở nhiệt độ $90 \div 120^{\circ}\text{C}$ tùy theo nguyên liệu và mức độ nghiền.

Theo số liệu của Ustinhicôp, các biện pháp kể trên cho phép tăng hiệu suất từ $2 \div 5\%$. Thông qua kết quả nghiên cứu của mình ông đưa ra công thức:

$$t = \frac{A}{K \cdot \tau^n}$$

t - nhiệt độ nấu chín, °C.

τ - thời gian nấu, phút.

A và n - hằng số phụ thuộc nguyên liệu và mức độ nghiền.

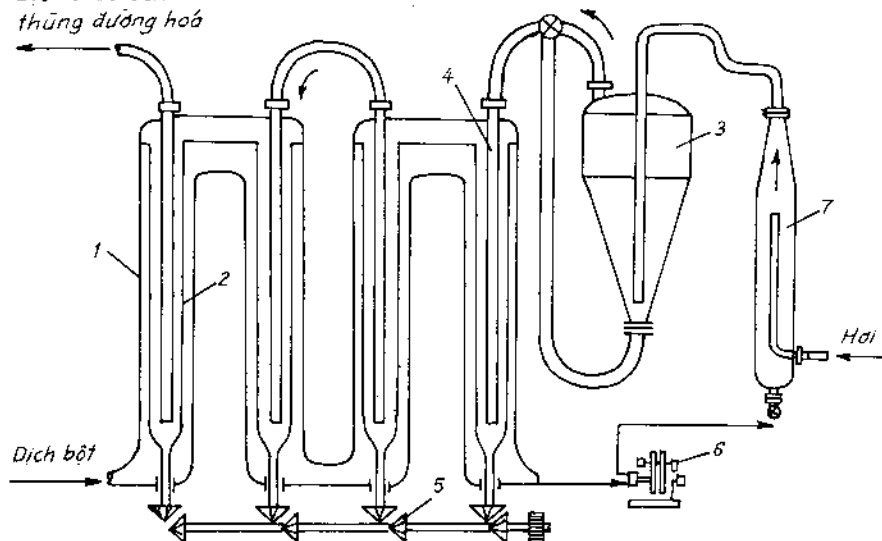
K - hệ số phụ thuộc cấu tạo thiết bị.

A , n và K có thể tham khảo ở bảng dưới đây:

Hệ thống nấu	A	n	K
Miarotki	200	0,085	1088
Mitchurin	209	0,090	1072

Hệ số K phản ánh sự phá vỡ màng tế bào của nguyên liệu trong quá trình nấu.

*Dịch cháo đến
thùng đường hoá*



Hình 6-10. Sơ đồ nấu liên tục ở các nhà máy Tiệp Khắc (cũ).

Chú ý rằng, ở nhà máy Miarotki, kích thước bột nghiền nhỏ hơn và có tới 36,4% bột lọt qua rây có đường kính $d = 1$ mm; còn ở nhà

máy Mitchurin chỉ có 17,2% bột lọt qua rây 1 mm.

Dịch bột được bơm vào thiết bị truyền nhiệt 1 ngược chiều với cháo nấu để đưa nhiệt độ đến 65 - 70°C. Do trao đổi nhiệt với dịch bột nên nhiệt độ cháo nấu giảm từ 130 - 140°C xuống 75 - 80°C. Thiết bị truyền nhiệt gồm bốn cột hình trụ nối với nhau bằng những ống 2. Cháo nóng được bơm pittông 6 bơm vào 7 cùng với hơi chính, sau đó đi vào thùng 3 rồi tiếp tục đi theo ống 4 và vào thùng đường hóa. Dịch cháo nấu được khuấy nhờ hệ thống trục truyền 5 (trên hình không thể hiện cánh khuấy). Thời gian cháo lưu lại ở thùng 3 kéo dài khoảng 30 phút.

Theo kết quả nghiên cứu, các sơ đồ nấu kể trên vẫn tồn tại nhược điểm; tổn thất đường khi nấu và tinh bột chưa hòa tan chiếm từ 3 đến 5%. Với mục đích tăng cường hòa tan tinh bột và giảm tổn thất đường, các nhà nghiên cứu đã và đang khai thác ở những góc độ khác nhau. Đó là:

- Dùng các kiểu máy nghiền khác nhau để bột nghiền đạt nhỏ nhất nhưng vẫn không tổn nhiều điện năng.

- Bột nghiền vừa phải đưa vào nấu tới nhiệt độ hồ hóa rồi đem nghiền lại, cả dịch bột (kiểu máy nghiền bột giấy).

- Bột nghiền mịn được đưa vào nấu kết hợp với dịch hoá bằng α -amylaza chịu nhiệt và nấu ở nhiệt độ thấp 95÷100°C.

- Dịch cháo nấu khi đã trộn lẫn với chế phẩm amylaza được nghiền lần nữa. Biện pháp này không những tăng được hiệu suất thu hồi rượu 2÷5% mà còn tiết kiệm được amylaza.

Trên cơ sở tham khảo các tài liệu và thông qua nghiên cứu của mình, chúng tôi đang áp dụng chế độ nấu và đường hóa dịch bột sản tại Công Ty Rượu Đồng Xuân Phú Thọ như sau:

Bột sản được nghiền mịn tới kích thước cần thiết, hoà với nước 30÷40°C theo tỉ lệ nước/bột bằng 4/1. Khuấy đều rồi cho chế phẩm termamyl 120 L của hãng "Novo" Đan Mạch vào với số lượng từ 0,02 đến 0,03% so với khối lượng tinh bột.

Dùng hơi trực tiếp đun sao cho sau 40 đến 50 phút thì đạt tới $85\div 87^{\circ}\text{C}$. Giữ ở nhiệt độ này $15\div 20$ phút, sau đó đun tới sôi và cho sôi khoảng $50\div 60$ phút nhằm hòa tan các hạt bột có kích thước lớn chưa kịp hồ hóa hết. Tiếp theo tháo dịch cháo xuống thùng đường hoá, làm nguội tới $90\div 93^{\circ}\text{C}$ rồi cho nốt 20% lượng chế phẩm termamyl còn lại (lượng termamyl cho vào trước lúc đun sôi chỉ chiếm 80% của toàn bộ) và làm nguội tới nhiệt độ $55\div 56^{\circ}\text{C}$. Lượng chế phẩm San Super 240 L dùng để đường hóa chiếm $0,8\div 1\%$ so với khối lượng tinh bột trong dịch cháo, tương đương $12\div 14$ đơn vị Ling/g.

Thời gian đường hóa kéo dài 30 phút ở $55\div 56^{\circ}\text{C}$ và pH tự nhiên của dịch cháo là $5,2\div 5,4$.

Với điều kiện kể trên, độ nhớt của dịch cháo giảm tới $1,7^{\circ}\text{E}$ (độ nhớt Angler), nồng độ chất khử đạt $1,0\div 1,25$ g/100 ml - tương đương $6\div 8\%$ so với chất hòa tan trong dịch cháo nấu.

Sau 30 phút đường hóa, nồng độ chất khử tính theo glucoza tăng tới $3\div 3,5$ g/100 ml. Dịch đường sau khi lên men đạt hiệu suất 93,4% so với lý thuyết.

Như vậy bằng phương pháp nghiền mịn tới kích thước 1 mm, đồng thời nấu có sử dụng termamyl cho phép chỉ cần nấu ở 100°C . Nhờ đó giảm được lượng hơi và lượng bột chưa hòa tan cũng chỉ $0,2\div 0,25$ g/100 ml, tương đương $1,3\div 1,6\%$ so với lượng chất hòa tan.

Chương VII

ĐƯỜNG HOÁ DỊCH CHÁO

Nấu xong, tinh bột trong dịch cháo đã chuyển sang trạng thái hòa tan nhưng chưa thể lên men trực tiếp để biến thành rượu được mà phải trải qua quá trình thủy phân do xúc tác của amylaza để biến thành đường. Quá trình trên được gọi là đường hóa và đóng vai trò quan trọng trong công nghệ sản xuất cồn etylic. Nó quyết định phần lớn hiệu suất thu hồi rượu do giảm bớt hoặc gia tăng đường và tinh bột sót sau khi lên men.

Muốn đạt hiệu quả cao trong quá trình thủy phân tinh bột thì vấn đề quan trọng trước tiên là chọn tác nhân đường hóa.

Trước kia người ta hay dùng axit HCl hoặc H_2SO_4 để thủy phân tinh bột, nhưng hiện nay rất ít dùng vì giá thành cao mà hiệu suất thu hồi rượu lại thấp. Ở nhiều nước Châu Âu vẫn còn dùng amylaza của thóc mầm (malt đại mạch) để thủy phân tinh bột trong sản xuất rượu, nhưng hiện nay phần lớn các nước đều dùng amylaza nhận được từ nuôi cấy vi sinh vật. Hầu hết các nhà máy rượu ở nước ta đều dùng amylaza thu được từ nuôi cấy nấm mốc; mấy năm gần đây có mua thêm chế phẩm amylaza của hãng Novo Đan Mạch để dùng trong nấu, dịch hoá và đường hoá.

7.1. Nuôi cấy và thu nhận chế phẩm amylaza từ vi sinh vật

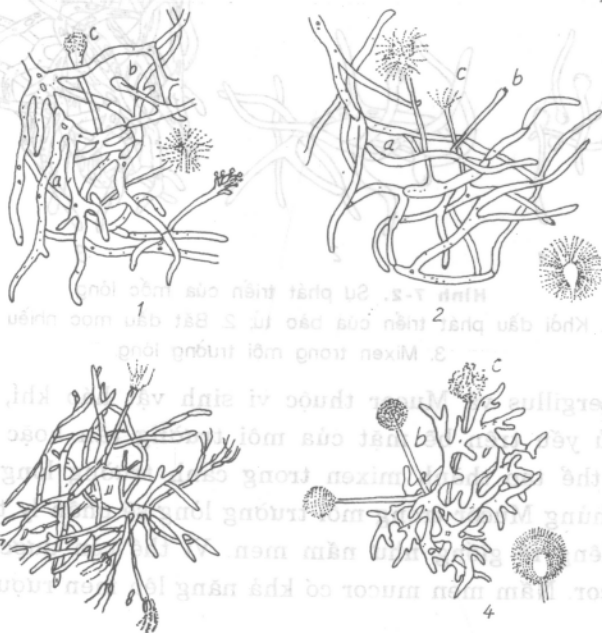
Các loài nấm men, nấm mốc và vi khuẩn đều có khả năng sinh tổng hợp amylaza và nhiều emzym khác nhau. Tuỳ theo mục đích của sản xuất, người ta có thể sử dụng giống, loài khác nhau để nuôi cấy trên môi trường thích hợp, trong các điều kiện xác định để nhận được lượng enzym cần thiết cho sản xuất và đời sống. Trong

sản xuất rượu, để đường hoá tinh bột và thủy phân protit, người ta cần nhiều nhất là amylaza và proteaza. Cho tới nay để thu nhận hai enzym kể trên, nấm mốc được sử dụng nhiều nhất, sau đó là vi khuẩn và cuối cùng là nấm men *Endomycopsis*.

7.1.1. Hình thái và sinh lý của nấm mốc

Nấm mốc rất phổ biến trong thiên nhiên, chủ yếu là trong đất và cỏ cây. Có nhiều giống và loài nấm mốc khác nhau nhưng phần lớn đều có cấu tạo sợi và mang đỉnh bào tử.

Khác với nấm men và vi khuẩn, nấm mốc thuộc vi sinh vật đa bào. Cơ thể nấm được gọi là mixen, gồm nhiều sợi đan chéo nhau tựa rễ cây, nhờ đó nấm hút được chất dinh dưỡng từ canh trường. Từ những sợi nấm sẽ mọc ra các bào tử và trở thành cơ quan sinh



Hình 7-1. Nấm mốc.

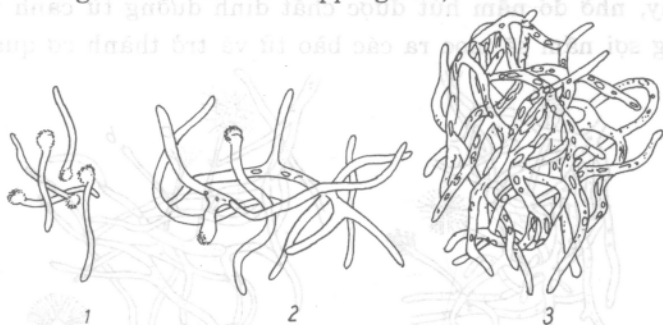
1. *Asp-oryzae*; 2. *Asp.niger*; 3. *Penicillium*; 4. *Mucor*

a-mixen; b-bào tử đính; c-cuống và bào tử.

sản sau này.

Phương pháp sinh trưởng rất khác nhau đối với các giống, loài. Bào tử của loài *Aspergillus* khi gặp điều kiện thuận lợi sẽ phát triển tạo nhiều sợi và phân nhánh đan chéo nhau thành mixen. Từ đây mọc lên những sợi hình kim mang trên đầu những bào tử. Các bào tử có thể mang nhiều màu sắc khác nhau: vàng, xanh lục, đỏ, đen hoặc nâu v.v... Ví dụ bào tử của *Asp. awamori*, *usamii*, *niger* có màu đen hoặc nâu, còn bào tử của *Asp. oryzae* có màu vàng hoặc màu vàng lục v.v...

Trong sản xuất chế phẩm amylaza dùng cho sản xuất rượu, người ta dùng nhiều nhất là *Aspergillus*, sau đó là *Mucor*.



Hình 7-2. Sự phát triển của mốc lỏng

1. Khởi đầu phát triển của bào tử;
2. Bắt đầu mọc nhiều sợi;
3. Mixen trong môi trường lỏng.

Aspergillus và *Mucor* thuộc vi sinh vật hiếu khí, chúng phát triển chủ yếu trên bề mặt của môi trường rắn hoặc lỏng nhưng cũng có thể tạo thành mixen trong canh trường lỏng có sục khí. Một số chủng *Mucor* trong môi trường lỏng sẽ phân ly thành những tế bào riêng rẽ giống như nấm men. Vì thế còn được gọi là nấm men *Mucor*. Nấm men *mucor* có khả năng lên men rượu (men thuốc bắc).

Ở nước ta trước 1972, hầu hết các nhà máy rượu đều dùng *Asp. usamii* do Nhà máy Rượu Hà Nội cung cấp. Sau này một vài nhà máy dùng *Asp. niger* do Viện Công nghiệp Thực phẩm cung cấp. Còn

chủng *Asp. awamori* 22 do trường Đại học Bách Khoa Hà nội xin về từ Liên Xô; chủng này đã được nghiên cứu và ứng dụng ở Công ty Rượu Đồng Xuân Thanh Ba Phú Thọ và đã mang lại hiệu quả nhất định.

Hiện nay ở nước ta tồn tại rất nhiều loài nấm mốc, nấm men và vi khuẩn; các chủng giống này được đưa về từ nhiều nguồn và từ nhiều nước khác nhau. Rất tiếc là chúng ta chưa có những cơ sở giữ giống tốt để từ đó cung cấp cho các cơ sở sản xuất các chủng giống tốt đã được nghiên cứu; đồng thời giúp cho các cơ sở triển khai vào sản xuất tới hiệu quả thiết thực. Chúng ta hy vọng rằng với cách làm ăn đổi mới hiện nay, nước ta sẽ sớm có Viện bảo tàng giống Vi sinh vật. Viện này không phải chỉ "bảo tàng" mà còn phải là nơi nghiên cứu một cách chuyên sâu để có thể cung cấp và hướng dẫn (chuyển giao công nghệ) các cơ sở áp dụng giống vi sinh vật có hoạt lực cao đạt hiệu quả trong sản xuất.

7.1.2. Các điều kiện cần và đủ để nhận chế phẩm amylaza có hoạt lực cao

Muốn thu nhận chế phẩm amylaza có hoạt lực cao ta phải chú ý các điều kiện sau:

7.1.2.1. Chủng giống vi sinh vật

Đây là điều quan trọng hàng đầu. Muốn nhận chế phẩm amylaza có hoạt độ cao, trước hết phải tuyển chọn, nghiên cứu xem chủng, giống nào có khả năng tích tụ nhiều amylaza: nấm mốc, mốc nào, nấm men nào hay vi khuẩn nào?

Ví dụ muốn thu nhận α -amylaza ta có thể dùng vi khuẩn *Subtilis*, *diastaticus* hay *Asp. oryzae*. Muốn nhận glucoamylaza ta sử dụng *Asp. usarii*, *Asp. niger*, *Asp. awamori*, *Rifopus delamar* hoặc nấm men *Endomycopsis* v.v... Khi đã tuyển chọn được giống tốt, tức là đã có được điều kiện cần thiết để tạo ra chế phẩm amylaza có hoạt độ cao. Nhưng cần luôn lưu ý rằng, giống tốt chỉ có tính chất tương đối với thời gian và điều kiện nhất định nào đó. Loài người

luôn tìm cách phân lập và tạo ra các giống mới có hoạt lực ngày càng cao hơn bằng nhiều biện pháp khác nhau như lai tạo, gây đột biến, tách và cấy gen v.v...

Lai tạo là biện pháp đơn giản nhất để làm thay đổi tính chất của cơ thể sống. Người ta kết hợp hai tế bào trong môi trường sinh sản hữu tính để cuối cùng nhận được tế bào mới. Sự phối hợp này chỉ có thể thực hiện đối với các tế bào cùng chủng giống. Hiệu quả thu được có thể tốt hơn nhưng cũng có thể dẫn đến sự thoái hoá của các giống.

Gây đột biến là biện pháp dùng các tia có nguồn gốc khác nhau để tác động lên vi sinh vật nhằm làm thay đổi cấu trúc của ADN (axit dezoxiribonucleic) dẫn tới làm thay đổi tính chất ban đầu của chúng. Tác nhân gây đột biến có thể là những tia ion hóa hay các tia cực tím, cũng có thể là các hóa chất như etylenimin, dietylsunphat, etyletalsunphonat v.v... Khi tiến hành gây đột biến, người ta có thể chiếu riêng biệt các tia với cường độ khác nhau hay kết hợp giữa hóa chất và tia tử ngoại.

Bằng con đường kết hợp giữa etylenimin và tia tử ngoại Ghendina đã tạo được chủng *Asp. awamori* 78-2 và *Asp. awamori* 22 có hoạt lực amylaza cao hơn 2÷3 lần so với ban đầu. Kết quả tương tự cũng nhận được đối với *Asp. oryzae* có hoạt độ proteaza cao.

7.1.2.2. Môi trường dinh dưỡng

Khi nuôi cấy vi sinh vật ta có thể sử dụng môi trường dinh dưỡng. Sử dụng chất này hay chất khác là tùy thuộc vào chủng giống, điều kiện thực tế và mục đích của sản xuất. Cho tới nay nguyên liệu từ thực vật được xem là nguồn dinh dưỡng đầy đủ và tương đối hoàn thiện đối với mọi cơ thể sống. Chất dinh dưỡng bao gồm glucit, protit, chất khoáng, các nguyên tố vi lượng, vitamin v.v...

Trong sản xuất chế phẩm amylaza theo phương pháp nuôi cấy bề mặt trên canh trường rắn người ta hay dùng nhất là cám lúa mì. Đây là môi trường tự nhiên tốt nhất để sinh tổng hợp amylaza và nhiều enzym khác.

Cám lúa mì thường chứa khoảng 20÷30% tinh bột, 10÷12% protit. Ngoài ra còn chứa muối khoáng, các nguyên tố vi lượng, vitamin v.v...

Cho tới nay loài người chưa tìm được nguyên liệu nào có khả năng đem lại hiệu quả thu enzym cao hơn cám lúa mì. Đã có nhiều công trình nghiên cứu nhằm giải thích tính ưu việt này, nhưng cho tới nay các nhà sinh học vẫn chưa đi đến kết quả và chỉ thừa nhận với nhau rằng, "cám lúa mì có chứa một chất kích thích sinh học nào đó" có tác dụng làm tăng khả năng sinh tổng hợp các enzym.

Do tính ưu việt trên nên người ta tìm cách tiết kiệm cám bằng cách trộn thêm các nguyên liệu khác vào môi trường như trấu, mùn cưa, bã khoai tây, bã bia v.v...

Ở nước ta do không có cám lúa mì nên trong sản xuất người ta hay dùng nhất là bột ngô vàng, cám gạo và trấu đem trộn lẫn theo các tỉ lệ khác nhau. Theo nghiên cứu của chúng tôi, cám gạo cho phép nhận được chế phẩm amylaza có hoạt độ không thua kém so với bột ngô mà giá thành lại rẻ hơn, nhưng vì cám gạo trên thị trường không ổn định về chất lượng nên ít nhiều gây khó khăn cho nhà sản xuất. Vì thế phải căn cứ vào chất lượng cám, chủ yếu là hàm lượng tinh bột mà định ra tỉ lệ cho phù hợp.

Nếu cám gạo có hàm lượng tinh bột trên 30% thì có thể trộn theo tỉ lệ 85÷90% cám, cộng với 15÷10% trấu nhỏ. Nếu hàm lượng tinh bột trong cám khoảng 25÷30% thì không cần trộn thêm gì. Ngược lại nếu hàm tinh bột trong cám chỉ chiếm 15÷20% thì nên dùng 70÷80% cám, cộng thêm 30÷20% bột ngô. Ở nhà

máy Rượu Hà Nội thường dùng 70÷80% bột ngô và 30÷20% trấu.

Theo số liệu của chúng tôi thu được bằng qui hoạch toán khi thực nghiệm: thành phần tối ưu để thu được chế phẩm amylaza có hoạt độ cao từ *Asp. awamori* là cám 75% (hàm lượng tinh bột 29%) bột ngô 6% (hàm lượng tinh bột 55%) và 19% trấu. Hàm lượng tinh bột chung là 25%. Điều kiện tối ưu khi nuôi cấy là: nhiệt độ 32°C, độ ẩm 57% và nuôi trong 42 giờ.

Ngoài tinh bột, môi trường cần chứa maltoza và dextrin. Sự có mặt của glucoza, fructoza và saccaroza có tác dụng giúp cho phát triển của nấm mốc nhưng lại hạn chế sự tích tụ amylaza. Ngược lại khi thêm lactoza và MgO vào môi trường lỏng thì nấm mốc phát triển kém nhưng lại tạo nhiều amylaza.

Ngoài glucit, để tổng hợp enzym, vi sinh vật nói chung và nấm mốc nói riêng đều cần đến chất chứa nitơ. Nguồn nitơ có thể có sẵn trong cám, bột ngô, khi cần thiết có thể bổ sung thêm từ khô lạc, khô đậu tương hoặc từ các muối amoni hoặc ure. Theo kết quả nghiên cứu của giáo sư Phenixôva, nấm mốc *Asp. awamori* có thể phát triển tốt trong môi trường chứa 0,05% đạm vô cơ nhưng để tạo α -amylaza thì cần tăng nồng độ tới 0,15%; để tạo glucoamylaza cần tăng tới 0,4%. Nhiều nguồn đạm hữu cơ cũng có tác dụng tốt đến sinh trưởng và phát triển của nấm mốc nhưng ít có hiệu quả về phương diện tích tụ enzym. Ví dụ khi bổ sung gelatin casein và ngay cả cao ngô vào canh trường thì việc tích tụ enzym vẫn thua kém so với nguồn đạm vô cơ. Ngược lại, nếu ta thêm mầm, rễ của hạt ươm mầm vào canh trường lại có tác dụng tốt đến tích tụ enzym.

Đối với nguồn nitơ từ axit amin thì tác dụng lại khác. Axit amin đóng nhiều chức năng trong quá trình trao đổi chất, vừa là nguồn cung cấp cacbon vừa cung cấp nitơ. Chúng tham gia trực tiếp vào việc tạo thành các enzym và vitamin. Một trong những

axit amin đóng vai trò quan trọng trong việc tạo thành amylaza là axit glutamic, khi thêm axit này vào canh trường sẽ có tác dụng tương tự như nước chiết từ mầm và rễ của hạt ươm mầm.

Sự tạo thành và tích tụ amylaza còn gắn với sự có mặt của các ion Mg^{2+} , Ca^{2+} và photpho, đặc biệt là magie. Trong môi trường thiếu $MgSO_4$, amylaza hầu như không được tạo thành, hàm lượng chỉ vào khoảng 0,05% - Sau magie là photpho, ion P đóng vai trò quan trọng trong việc tạo thành axit nucleic. Hàm lượng của muối photpho axit kali (KH_2PO_4) vào khoảng 0,1÷0,2%.

Canxi có trong thành phần của α -amylaza. Một phân tử α -amylaza có tới 2 hoặc 3 ion canxi. Người ta cho rằng tính chịu nhiệt của enzym này phụ thuộc số ion canxi có trong phân tử; nhưng cũng có ý kiến cho rằng tính bền nhiệt của enzym này còn phụ thuộc vào thành phần axit amin, nhất là hàm lượng của axit glutamic.

Lưu huỳnh cũng đóng vai trò quan trọng không kém. Hoạt độ amylaza gắn liền với sự có mặt của nhóm -SH; mặt khác còn tham gia vào thành phần của axit amin cấu tạo thành enzym. Hàm lượng lưu huỳnh trong canh trường chứa 0,04 g/100 ml bảo đảm cho hoạt độ amylaza đạt cực đại và bằng 360 đv/100 ml. Nếu giảm tới 0,004% hoạt độ amylaza của *Asp.oryzae* chỉ còn 50% và bằng 180 đv/100 ml.

Điều quan trọng cần lưu ý là khi nuôi cấy vi sinh vật nào và với mục đích tích tụ enzym bất kỳ thì môi trường cũng phải chứa cacbon, hydro, oxy, nitơ, muối khoáng, vitamin và các nguyên tố vi lượng. Nhưng mỗi vi sinh vật đều có nhu cầu khác nhau về nguồn và tỉ lệ các chất. Hơn nữa với mục đích tích tụ enzym khác nhau thì nguồn và tỉ lệ các chất cũng thay đổi. Vì vậy việc chọn thành phần của các chất trong môi trường nuôi cấy vi sinh vật nhằm thu được nhiều amylaza phải được xem xét trên cơ sở chủng giống và nguyên liệu mà ta có trong các điều kiện cụ thể.

Dưới đây chúng tôi xin giới thiệu một vài kết quả nghiên cứu cụ thể để bạn đọc tham khảo (xem bảng 7-1).

Bảng 7-1. Hoạt độ của một số chủng nuôi trên môi trường cám lúa mì theo phương pháp bề mặt

Chủng	Hoạt độ-dv/g chất khô			
	Hoạt độ amylaza	Hoạt độ D	Hoạt độ Glu	Hoạt độ Pr
Asp.oryzae KC	70,0	450,0	30,0	50,0
Asp.oryzae U476	85,0	665,0	80,0	40,0
Asp.niger.S4-10-10-111	0,65	437,0	70,0	0,5
Asp. awamori 22	14,5	850,0	300	0

7.1.2.3 Điều kiện nuôi cấy

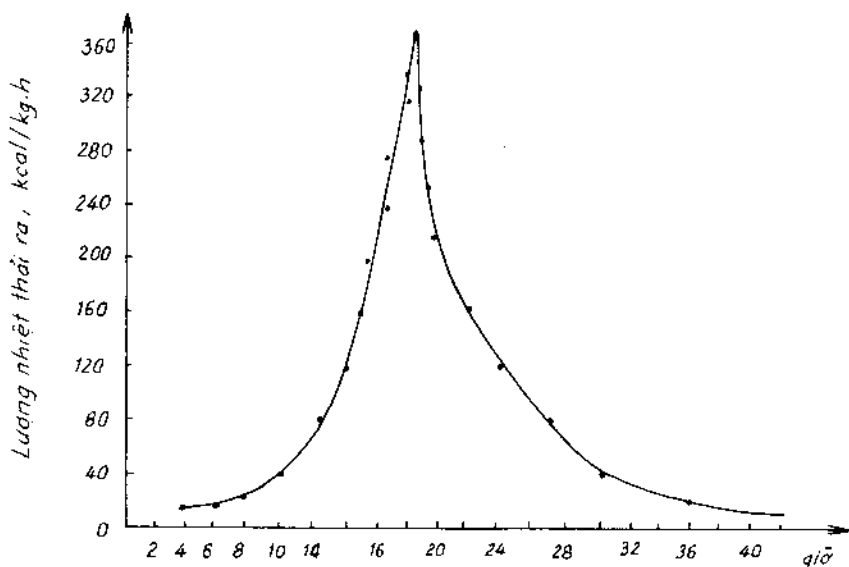
Chủng giống và môi trường dinh dưỡng là tiền đề quan trọng, bảo đảm cho phát triển của nấm mốc và tích tụ enzym nhưng đó chỉ mới là khả năng. Khả năng này sẽ trở thành hiện thực sớm hay muộn, tốt hay xấu là tùy thuộc vào chủ quan của người thực hiện, có nắm bắt và đủ khả năng tạo ra những điều kiện tối ưu cho phát triển của vi sinh vật và tích tụ enzym hay không. Các điều kiện đó là:

Nhiệt độ

Hầu hết các nhà nghiên cứu cho biết, nấm men và nấm mốc có nhiệt độ tối ưu cho phát triển là $28\div 32^{\circ}\text{C}$, vi khuẩn $34\div 38^{\circ}\text{C}$. Biết rằng trong quá trình sinh trưởng và phát triển, nấm mốc sử dụng khoảng $25\div 30\%$ chất khô của canh trường và thải ra một lượng nhiệt khá lớn. Trung bình từ 1 kg chất khô được đồng hóa sẽ thải ra khoảng 85 kcal. Ở thời cao điểm lượng nhiệt thải ra đạt tới $335\div 377$ kcal/kg.giờ.

Do đó cần phải có trang bị phù hợp để duy trì và ổn định nhiệt độ canh trường. Điều này được thực hiện bằng quạt không khí lạnh và ẩm vào canh trường. Nếu nuôi cấy trong môi trường lỏng thì cần làm lạnh đồng thời kết hợp với sục khí.

Nhiệt độ không khí trước khi đưa vào phòng nuôi phải vào khoảng $22 \div 25^{\circ}\text{C}$; còn độ ẩm tương đối của không khí $98 \div 100\%$.



Hình 7-3. Động thái của quá trình thải nhiệt khi nuôi cấy *Asporizae* trên canh trường cám mì.

Độ ẩm canh trường

Trong điều kiện vô trùng ở phòng thí nghiệm, độ ẩm tối ưu theo công bố của nhiều tác giả nằm trong giới hạn $65 \div 70\%$. Trong thực tế sản xuất, mức độ vô trùng không thể đạt như trong phòng thí nghiệm nên người ta thường nuôi cấy trong canh trường có độ ẩm thấp hơn, nhằm hạn chế phát triển của tạp khuẩn. Tùy theo điều kiện trang thiết bị ở mỗi nước và từng nhà máy, độ ẩm có thể khống chế ở $60 \div 50\%$. Ở các nước tiên tiến người ta thường nuôi cấy nấm mốc trên canh trường có độ ẩm tương đối $58 \div 60\%$. Ở các nhà máy rượu của ta thường vào khoảng 50% , có nơi còn thấp hơn. Độ ẩm canh trường thấp thì hạn chế được phát triển của tạp khuẩn, nhưng nấm mốc phát triển chậm dẫn đến tích tụ enzym ít

và phải kéo dài thời gian. Do đó vấn đề cần đặt ra là phải bằng mọi biện pháp thực hiện tốt công việc vệ sinh. Muốn vậy trước hết phải tiệt trùng môi trường ở áp suất và thời gian thích hợp nhằm tiêu diệt các tế bào và bào tử vi sinh vật có sẵn trong nguyên liệu dùng làm môi trường. Ở ta thường thanh trùng ở áp suất thường trong thời gian $3,5 \div 4$ giờ; sau đó môi trường được vò tới và trải trên sàn gạch hoặc xi măng chỉ mới quét và rửa sạch. Đây là một trong những nguyên nhân gây nhiễm tạp khuẩn dẫn đến làm giảm hoạt độ của chế phẩm thu được.

Do toả nhiệt nên canh trường bị nóng và làm giảm độ ẩm. Để nước lạnh xuống nền và phun quanh tường sẽ góp phần giảm nhiệt và giúp cho canh trường đỡ bị khô.

pH môi trường

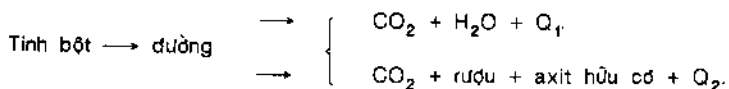
Khi nuôi cấy theo phương pháp bề mặt trên canh trường rắn, pH ít ảnh hưởng tới sinh trưởng và phát triển của nấm mốc, thường áp dụng pH tự nhiên của môi trường vào khoảng $5,5 \div 6,0$. pH thấp thì hạn chế được phát triển của tạp khuẩn nhưng sẽ ảnh hưởng tới tích tụ enzym. Khi nuôi cấy trong môi trường lỏng: pH ban đầu thường vào khoảng $6 \div 7$. Đối với *Asp. oryzae* sau 3 ngày nuôi cấy pH giảm còn $5,5 \div 6,0$. Ngược lại khi nuôi *Asp. awamori* để nhận glucoamylaza, sau 52 giờ pH tăng tới $7,6 \div 7,8$.

Thực tế pH có ảnh hưởng nhiều tới tích tụ enzym, vì thế trong sản xuất người ta sử dụng axit hoặc amoniac để điều chỉnh, giữ cho pH luôn trong giới hạn tối ưu.

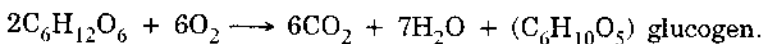
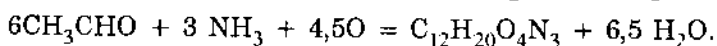
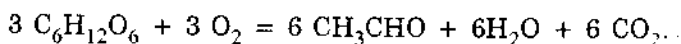
Cung cấp oxy

Trong quá trình phát triển và tích tụ enzym, nấm mốc rất cần oxy. Trong sản xuất sinh học, sự phát triển của tế bào và tích tụ enzym có liên quan mật thiết tới sự có mặt của oxy.

Để sinh trưởng và phát triển, nấm mốc cần đến năng lượng, nguồn năng lượng này được cung cấp bởi các quá trình oxy hóa gluxit hoàn toàn hoặc không hoàn toàn. Đây cũng là những biến đổi chủ yếu khi nuôi cấy nấm mốc để thu nhận enzym.



Song song với quá trình phân huỷ tinh bột, đường và protit kể trên, đồng thời xảy ra quá trình tổng hợp protit và tinh bột từ axit amin và đường đơn giản trong đó có enzym.



Khi nuôi cấy theo phương pháp bề mặt, nấm mốc dễ dàng tiếp xúc với oxy của không khí qua sợi nấm và mixel. Vì thế canh trường phải xốp, giúp cho nấm mốc tạo nhiều sợi và tích tụ enzym. Nếu môi trường dính bết, không khí ít tiếp xúc thì sẽ xảy ra hô hấp yếm khí, ảnh hưởng xấu đến tích tụ enzym.

Ở giai đoạn đầu của sự phát triển, nấm mốc chưa cần nhiều năng lượng, bào tử bắt đầu hút ẩm để phát triển, nhiệt toả ra chưa nhiều. Do đó lượng không khí quạt vào phòng nuôi chỉ chiếm 4 đến 5 lần thể tích phòng nuôi.

Ở giai đoạn hai, nấm mốc phát triển mạnh, toả nhiệt nhiều, cần cung cấp oxy và thải nhiệt để canh trường đỡ bị nóng và khô. Lượng không khí cần trao đổi trong 1 giờ phải vào khoảng 30 đến 60 lần thể tích phòng nuôi. Lượng oxy thực tế cần cho trao đổi chất ở giai đoạn này chỉ khoảng 8 m³/tấn canh trường/giờ (tương đương 40 m³ không khí), nhưng vì nấm mốc chỉ có khả năng kịp sử dụng 6÷7% oxy trong không khí. Mặt khác cần giảm nhiệt độ canh trường nên yêu cầu lượng không khí cần cấp cho 1 tấn canh trường ở giai đoạn này không phải là 40 m³ mà là 600 m³/giờ. Nếu tính đủ lượng không khí cần cho thải nhiệt thì có thể lên tới 3000 m³/tấn/giờ hoặc hơn nữa.

Giai đoạn cuối kéo dài khoảng 8÷12 giờ, cường độ hô hấp và toả nhiệt giảm, lượng không khí chỉ cần 4÷5 lần thể tích phòng nuôi.

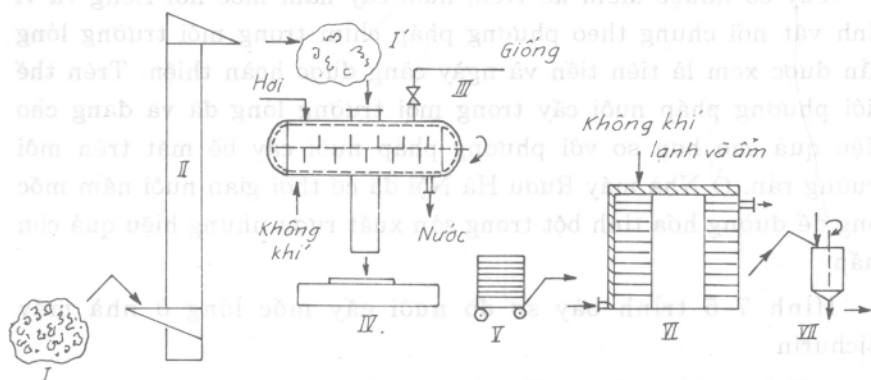
Yêu cầu về số lượng không khí và cung cấp oxy trong môi trường lồng có những khác biệt. Yêu cầu đặt ra là phải làm sao để oxy của không khí hòa tan vào canh trường càng nhiều càng tốt. Trong canh trường lồng tế bào nấm mốc phân tán trong dịch thể; sự tiếp xúc của chúng với oxy phải thông qua canh trường - khuấy và sục khí là biện pháp tốt để oxy có thể hoà tan vào dung dịch. Lượng oxy hòa tan trong canh trường phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố: nhiệt độ, áp suất, công nghệ sục khí cũng như hàm lượng và tính chất của các chất hòa tan trong dung dịch. Đối với nuôi cấy mốc lỏng, với kỹ thuật sục khí thông thường, yêu cầu 30 đến 40 m³ không khí/m³.giờ.

7.1.3. Sơ đồ nuôi cấy nấm mốc theo phương pháp bề mặt

Theo phương pháp này, nguyên liệu được trộn đều sơ bộ với tỉ lệ nước 20÷30 lít/100 kg ở I nhờ gầu tải II đưa lên trộn tiếp ở I' tới độ ẩm 38÷40% cũng với 20÷30 lít nước/100 kg nguyên liệu ban đầu. Tổng lượng nước 50÷60 lít/100 kg.

Tiếp đó cho vào nồi hấp III để tiệt trùng ở 105÷107°, tương ứng áp suất dư 0,5÷0,7 kg/cm². Thời gian giữ ở áp suất và nhiệt độ trên kéo dài 50 đến 60 phút. Khi tiệt trùng có áp suất thì phải dùng hơi gián tiếp để tránh dính bột và độ ẩm không được quá 40%. Muốn vậy nồi tiệt trùng phải là nồi hai vỏ và có cánh khuấy với tốc độ 20÷25 vòng/phút. Tiệt trùng xong ta dùng không khí vô trùng để làm nguội tới 30-38°C, tiếp đó bơm và phun dịch giống vào cùng với nước vô trùng sao cho đạt độ ẩm 58÷60%. Cho cánh khuấy làm việc để trộn đều 15÷20 phút, sau đó cho canh trường vào mảnh IV với chiều dày từ 2 đến 3 cm tùy thuộc thời tiết. Các mảnh được xe V đưa vào các phòng nuôi VI và để cho nấm mốc phát triển. Trong thời gian phát triển, ta theo dõi nhiệt độ để điều chỉnh lượng không khí vào phòng giữ nhiệt độ được ổn định ở 29÷32°C.

Thời gian phụ thuộc vào chủng giống và các yếu tố độ ẩm, nhiệt độ, tỉ lệ giống đưa vào, thường kéo dài 36 đến 42 giờ đối với thu nhận amylaza, còn với proteaza là 48 giờ v.v.



Hình 7-4. Sơ đồ nuôi nấm mốc theo phương pháp bề mặt

Tỉ lệ giống có thể từ 0,2 đến 1% tùy thuộc chất lượng giống chứa bào tử nhiều hay ít. Sau khi nuôi ở phòng VI ta thu được chế phẩm amylaza thô. Chế phẩm này đem hòa với nước vô trùng có chứa 0,05÷0,1% formalin ở VII. Khuấy đều sau 1 giờ bơm đi đường hoá.

Chế phẩm thô có thể đem sấy khô tới độ ẩm 10% ở nhiệt độ không quá 45°C, tiếp đó nghiền và bảo quản để dùng dần. Chế phẩm cần bảo quản ở nơi thoáng mát có nhiệt độ không quá 12°C. Ở nhiệt độ cao hoạt độ amylaza sẽ giảm nhiều, nhất là khi gặp không khí ẩm.

7.1.4. Sơ đồ nuôi cấy nấm mốc trong môi trường lỏng

Nuôi cấy nấm mốc theo phương pháp bề mặt có ưu điểm là dễ thực hiện, khi bị nhiễm ta chỉ việc loại bỏ chỗ bị nhiễm cục bộ mà không ảnh hưởng nhiều tới chất lượng chung. Nhưng phương pháp có nhược điểm là tổn diện tích nhà xưởng, lao động vất vả, khó cơ khí hóa, tự động hóa. Các nhược điểm trên sẽ được khắc phục khi nuôi cấy trong môi trường lỏng. Tuy nhiên, nuôi cấy trong môi

trường lỏng đòi hỏi vô trùng cao, nếu không dễ bị nhiễm tạp hàng loạt. Trong điều kiện diện nước không ổn định dễ xảy ra hư hỏng toàn bộ.

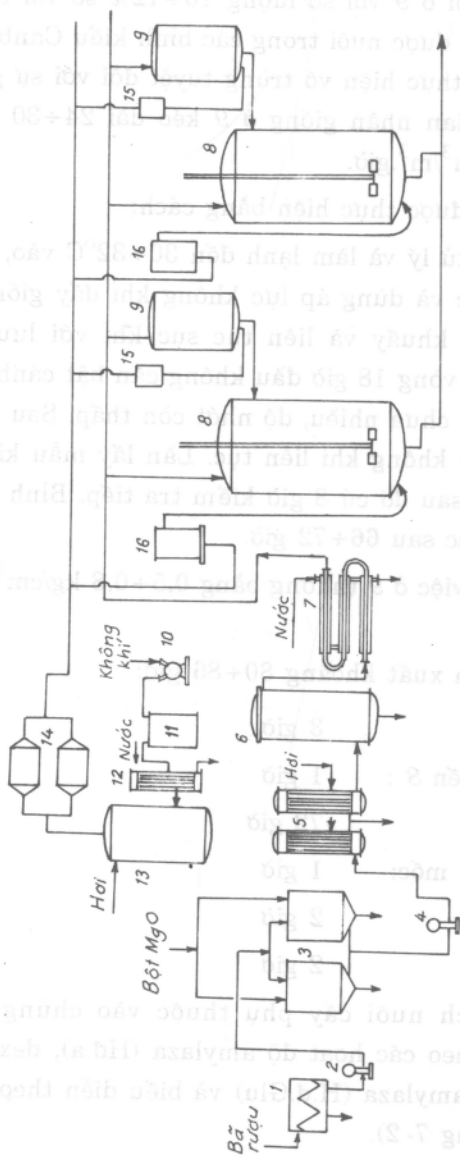
Tuy có nhược điểm kể trên, nuôi cấy nấm mốc nổi riêng và vi sinh vật nổi chung theo phương pháp chìm trong môi trường lỏng vẫn được xem là tiên tiến và ngày càng được hoàn thiện. Trên thế giới phương pháp nuôi cấy trong môi trường lỏng đã và đang cho hiệu quả cao hơn so với phương pháp nuôi cấy bề mặt trên môi trường rắn. Ở Nhà máy Rượu Hà Nội đã có thời gian nuôi nấm mốc lỏng để đường hóa tinh bột trong sản xuất rượu nhưng hiệu quả còn thấp.

Hình 7-5 trình bày sơ đồ nuôi cấy mốc lỏng ở nhà máy Michurin

- Chủng giống: *Aspergillus batate* 61
- Môi trường: Nước bã rượu được lọc qua rây có $d = 2$ mm còn chứa 0,05% bã thô. Nước lọc được trung hòa bằng MgO tới pH=5,8-5,5 (khoảng 0,1÷0,2%). Trung hòa xong cho thêm 2% bột ngô rồi tiệt trùng ở 125÷130 °C trong 50÷60 phút, sau đó làm lạnh tới 30÷32 °C.
- Điều kiện nuôi cấy:
 - Nhiệt độ : 30÷32 °C
 - pH : 5,8÷5,5
 - Sục khí : 40÷60 m³/m³ canh trường/giờ
 - Thời gian nuôi: 3÷4 ngày.

Sơ đồ được thực hiện như sau:

Bã rượu từ tháp thô đi vào thùng lọc 1 sau đó được bơm 2 đẩy vào 3. Ở 3 nước lọc bã rượu được trung hòa bằng MgO tới pH 5,5÷5,8 rồi cho thêm 2% bột ngô so với khối lượng dịch. Tiếp theo dịch được bơm 4 đẩy vào gia nhiệt ở 5 tới nhiệt độ khoảng 125÷130°C rồi đi vào giữ ở 6 từ 50 đến 60 phút. Sau đó được đưa



Hình 7-5. Sơ đồ nuôi cấy nấm mốc trong canh trường lỏng ở nhà máy Mitchurin.

1. Thùng lọc bã rượu liên tục; 2. Bơm pittông; 3. Thùng nhận dịch lọc và pha trộn môi trường; 4. Bơm; 5. Thiết bị gia nhiệt; 6. Thùng chứa tiết trùng; 7. Thiết bị truyền nhiệt ống lồng ống; 8. Thùng lên men - nuôi nấm mốc; 9. Thùng nhân giống mốc; 10. Máy thổi không khí; 11. Thùng tách nước; 12. Bình ngưng tự; 13. Bình chứa không khí; 14, 15, 16. Bình lọc khí.

đi làm lạnh ở 7 tới nhiệt độ $30 \div 32^{\circ}\text{C}$ rồi đi vào thùng 8 hoặc 9.

Giống nấm được nuôi ở 9 với số lượng $10 \div 12\%$ so với thể tích thùng 8. Giống cấy vào 9 được nuôi trong các bình kiểu Canbec. Khi truyền giống vào 9 phải thực hiện vô trùng tuyệt đối với sự giúp đỡ của ngọn lửa to. Thời gian nhân giống ở 9 kéo dài $24 \div 30$ giờ với mức độ sục khí $40 \div 60 \text{ m}^3/\text{m}^3$.giờ.

Nuôi cấy ở thùng 8 được thực hiện bằng cách:

Cho môi trường đã xử lý và làm lạnh đến $30 \div 32^{\circ}\text{C}$ vào, sau đó cho cánh khuấy làm việc và dùng áp lực không khí đẩy giống từ 9 vào 8, tiếp đó tắt cánh khuấy và liên tục sục khí với lưu lượng $40 \div 60 \text{ m}^3/\text{m}^3$.giờ. Trong vòng 18 giờ đầu không cần bật cánh khuấy vì lúc đó lượng sinh khối chưa nhiều, độ nhớt còn thấp. Sau giờ thứ 18 ta khuấy và cung cấp không khí liên tục. Lần lấy mẫu kiểm tra đầu tiên vào lúc 36 giờ, sau đó cứ 8 giờ kiểm tra tiếp. Bình thường thời gian nuôi sẽ kết thúc sau $66 \div 72$ giờ.

Chú ý: Áp suất làm việc ở 9 thường bằng $0,5 \div 0,8 \text{ kg/cm}^2$, còn ở 8 chỉ $0,2 \div 0,3 \text{ kg/cm}^2$.

Chu kỳ của vòng sản xuất khoảng $80 \div 86$ giờ:

Thời gian đổ đầy:	3 giờ
Chuyển giống từ 9 đến 8 :	1 giờ
Thời gian nuôi:	72 giờ
Giải phóng dịch nuôi mốc:	1 giờ
Vệ sinh, kiểm tra:	2 giờ
Tiệt trùng:	2 giờ

Chất lượng của dịch nuôi cấy phụ thuộc vào chủng giống, thường được đánh giá theo các hoạt độ amylaza (Hđ.a), dextrinaza (Hđ.D) và hoạt độ glucoamylaza (Hđ.Glu) và biểu diễn theo đơn vị hoạt độ/100 ml dịch (bảng 7-2).

Bảng 7-2. Chất lượng dịch nuôi cấy theo chủng giống

	Hd.a	Hd.D	Hd.Glu
Asp. niger	35÷50	570÷650	97÷250
Asp. niger S ₄	25÷40	1000÷1400	250÷300
Asp. niger S ₄ -10	50	2000	400
Asp. niger 45	60÷70	2600	700÷800
Asp. patate 4	120	2100	700÷800
Asp. patate 61	150÷200	2400÷2600	900÷1000

Hiện nay ở các nước thuộc SNG, khi nuôi cấy trong canh trường lỏng hay dùng nhất là Asp. patate 4 và Asp. patate 61. Còn khi nuôi cấy theo phương pháp bề mặt hay dùng nhất là Asp. awamori 22 và Asp. awamori 78-2.

Tiêu hao chế phẩm bề mặt khi đường hóa thường chiếm 4,5÷7% so với tinh bột chứa trong dịch cháo. Chế phẩm lỏng chiếm khoảng 8÷10% so với thể tích dịch cháo nấu có nồng độ chất khô 18%.

7.2. Hệ Amylaza- vai trò và chức năng tác dụng của chúng trong quá trình thủy phân tinh bột

Thủy phân tinh bột bằng axit hoặc enzyme cũng đều phân cắt nối glucosít trong phân tử amyloza và amylopectin và dính vào đó một phân tử nước. Như đã biết phản ứng hóa học giữa các phân tử chỉ xảy ra đối với những phân tử hoạt động, nghĩa là phải có năng lượng thừa nhất định so với năng lượng trung bình của tất cả các phân tử. Năng lượng dư này được gọi là năng lượng hoạt hóa và biểu diễn theo kcal/phân tử.

Các phân tử sẽ được hoạt hóa khi tăng nhiệt độ nhưng nếu không có xúc tác cũng sẽ ít hiệu quả mặc dù nấu ở nhiệt độ 150÷170°C.

Sự hoạt hóa các phân tử cũng có thể thực hiện bằng các phương pháp khác. Ví dụ bằng tác dụng của các tia có tần số xác định v.v... Tuy nhiên, biện pháp tốt nhất để tăng khả năng phản ứng giữa các chất là làm giảm năng lượng hoạt hóa của hệ thống. Muốn vậy đòi hỏi phải có chất xúc tác.

Chất xúc tác không mang bản chất sinh học làm giảm năng lượng hoạt hóa khoảng 400-7000, còn xúc tác sinh học làm giảm năng lượng này khoảng 16.000-18.000 kcal/phân tử.

Chất xúc tác sinh học có tên chung là enzym. Chúng là những protit có cấu trúc đặc biệt, các axit amin trong mạch polypeptit được sắp xếp theo một trật tự nhất định và có những liên kết hóa học rất đa dạng giữa các vòng riêng biệt của mạch polypeptit. Cấu trúc này đều khác nhau và là đặc thù của từng enzym.

Những enzym 2 cấu tử cấu tạo gồm trung tâm hoạt động có bản chất protit (agon) và chất mang protit (feron). Điển hình của enzym 2 cấu tử là α -cacboxylaza-xúc tác phân ly axit pyrovic thành CO_2 và aldehyt axetic.

Amylaza là enzym đơn cấu tử, các nhóm riêng biệt của protein kiêm vai trò của agon. Nghiên cứu amylaza của mầm đại mạch cho biết, α -amylaza có tính chất của globulin, còn β -amylaza mang tính albumin.

α -amylaza chỉ tác dụng lên nối α -1,4-glucosit ở vị trí bất kỳ nhưng tập trung vào giữa mạch amyloza và amylopectin, nhờ đó tinh bột nhanh chóng được phân cắt thành những dextrin có phân tử khác nhau, ít nhớt hơn. Do làm giảm nhanh độ nhớt của dịch tinh bột nên α -amylaza còn được gọi là enzym dịch hóa. Sản phẩm do α -amylaza tạo thành gồm các dextrin, đường maltoza và một ít glucoza.

β -amylaza cũng phân cách nối α -1,4-glucosit nhưng bắt đầu từ vòng không có nhóm khử và cắt theo hai gốc glucoza một trong

phân tử amyloza và amolopectin. Sản phẩm tạo thành là đường maltoza nên β -amylaza còn được gọi là enzym đường hóa. β -amylaza phân cắt hoàn toàn mạch amyloza thành maltoza, với mạch amylopectin chỉ cắt được 50-55%. Cả hai enzym α và β đều không cắt được nối α -1,6-glucosit trong phân tử tinh bột. Kết quả tác dụng của $\alpha + \beta$ ta thu được dịch đường gồm $78 \div 80\%$ maltoza + glucoza, $22 \div 20\%$ là dextrin chứa tất cả các nối α -1,6-glucosit.

Ngoài α và β -amylaza, mầm đại mạch còn chứa một lượng nhỏ maltoza, invertaza và photphorilaza - các enzym này cùng tham gia vào quá trình thủy phân tinh bột.

Khác với amylaza thu được từ thóc mầm, amylaza của nấm mốc còn chứa glucoamylaza izomaltaza, oligo-1,6-glucosidaza.

Glucoamylaza không chỉ có khả năng phân cắt nối α -1,4 mà còn phân cắt được cả nối α -1,6 glucosit và biến 100% tinh bột thành đường glucoza. Enzym này chứa nhiều trong một số nấm mốc như *A. usamii*, *A. niger*, *A. awamori*, *Rifopus delamar* và nấm men *Endomycopsis* v.v...

Izomaltaza chỉ tham gia phân cắt nối α -1,6 trong phân tử izomaltoza, còn oligo-1,6-glucosidaza chỉ cắt nối α -1,6 trong phân tử dextrin. Chú ý rằng α , β -amylaza và maltaza đều phân cắt nối α -1,4 glucosit nhưng maltaza không phân cắt được nối α -1,4 trong mạch tinh bột, còn α và β -amylaza lại không cắt được nối α -1,4 trong phân tử maltoza. Tương tự như trên, izomaltaza và oligo-1,6 glucosidaza đều có khả năng phân cắt nối α -1,6-glucosit nhưng izomaltaza không cắt được nối α -1,6 trong phân tử dextrin mà chỉ cắt được α -1,6-glucosit trong izomaltoza mà thôi. Sự khác biệt kể trên thể hiện tính đặc hiệu cao của các enzym.

7.2.1. Động thuyết của quá trình thủy phân tinh bột

7.2.1.1. Phản ứng và tốc độ thủy phân tinh bột

Phản ứng thủy phân tinh bột bằng enzym có thể biểu diễn như sau:

Tinh bột + nước $\xrightarrow{\text{amylaza}}$ sản phẩm đường

Như trên ta thấy, thủy phân tinh bột bằng amylaza là phản ứng lưỡng phân. Nhưng vì rằng lượng nước trong dịch rất lớn nên xem như nồng độ nước không thay đổi trong suốt thời gian phản ứng. Do đó tốc độ thủy phân chỉ phụ thuộc vào nồng độ cơ chất là tinh bột và thủy phân tinh bột là phản ứng đơn phân. Do vậy tốc độ phản ứng được biểu diễn như sau:

$$v = - \frac{d [TB]}{dt} = K [TB]^n$$

[TB] - nồng độ tinh bột;

K - hằng số phản ứng;

τ - thời gian phản ứng;

n - bậc của phản ứng.

Trong giai đoạn đầu, nồng độ của tinh bột còn lớn cho nên tốc độ phản ứng xem như không đổi. Ta có:

$$v = K [TB]^n = \text{const}$$

Suy ra $n=0$. Như vậy trong giai đoạn đầu của thủy phân tinh bột phản ứng là bậc 0. Theo nghiên cứu của Denxícốp với amylaza của *A. Oryzae* phản ứng bậc không sẽ xảy ra khi hàm lượng tinh bột trong dịch được thủy phân ít hơn 50%, nhưng với amylaza của *A. awamori* lại nhỏ hơn hoặc bằng 30% so với toàn bộ lượng có trong dịch tinh bột. Tính chất này được áp dụng để xác định lượng enzym và thời gian phản ứng khi xác định hoạt độ của enzym.

Càng về sau nồng độ cơ chất tinh bột giảm dần, đồng thời nồng độ sản phẩm tạo thành tăng, lúc đó tốc độ phản ứng không còn là hằng số nữa mà biến đổi theo thời gian. Bậc của phản ứng không còn là bậc "0" nữa mà có thể là bậc 1, bậc 2 hoặc hơn nữa.

Tốc độ phản ứng có thể biểu diễn theo lượng sản phẩm tạo thành và bằng:

$$v = \frac{d[M]}{dt}$$

M - lượng đường tạo thành trong thời gian τ , có thể tính theo maltoza hoặc glucoza.

Cũng có thể biểu diễn tốc độ phản ứng theo sự thay đổi tính chất hóa lý của dịch như góc quay mặt phẳng phân cực, độ nhớt hay màu với dung dịch iod v.v...

Dưới tác dụng của amylaza các phân tử amyloza và amylopectin đồng thời bị phân cắt ở nhiều vị trí nên ngay trong giai đoạn đầu trong dịch thủy phân đã xuất hiện cả sản phẩm cuối và các sản phẩm trung gian (dextrin có phân tử lượng khác nhau và đường oligo). Tiếp đó phân tử lượng của hỗn hợp sẽ giảm dần.

Giai đoạn đầu màu của dịch thủy phân với iod sẽ có màu xanh tím - đặc trưng cho amylopectin có phân tử lượng 10.000÷12.000 và góc quay riêng $[\alpha] = 196^\circ$, khả năng khử của dịch tính theo glucoza là 0,5%. Tiếp đó màu của dịch thủy phân với iod sẽ trở nên đỏ gạch nung, đặc trưng cho dung dịch chứa eritrodextrin, có phân tử lượng 4000÷7000, $[\alpha] = 194^\circ$ và $R = 2,5\%$. Tiếp theo màu của dịch thủy phân với iod sẽ chuyển sang màu cà phê nhạt, đặc trưng cho acrodextrin, có phân tử lượng khoảng 2900÷3700, $[\alpha] = 192^\circ\text{C}$ và $R = 5\%$. Cuối cùng là maltoza dextrin không làm thay đổi màu của dung dịch iod.

Chú ý rằng, sự biến đổi màu kể trên chỉ đúng với thủy phân tinh bột bằng amylaza của thóc mầm. Khi đường hóa bằng amylaza của nấm mốc, người ta không căn cứ vào thay đổi màu với dung dịch iod để xem xét đường hóa kết thúc hay chưa. Trong điều kiện sản xuất rượu, đường hóa được xem là đạt yêu cầu khi hàm lượng đường tính theo glucoza đạt trên 30 g/lít dịch thủy phân. Nếu thử với iod vẫn còn màu xanh tím.

Để nghiên cứu sự khác biệt giữa đường hóa bằng amylaza của

thóc mầm và nấm mốc, Dekenbrock làm thí nghiệm sau: Dùng hai dịch cháo lúa mì làm lạnh đến 55°C , dịch thứ nhất đường hóa bằng amylaza mầm đại mạch, dịch còn lại đường hóa bằng amylaza của nấm mốc *A.oryzae*. Sau 30 phút giữ ở 55°C , làm lạnh tới 28°C và để cho đường hóa 10 giờ nữa.

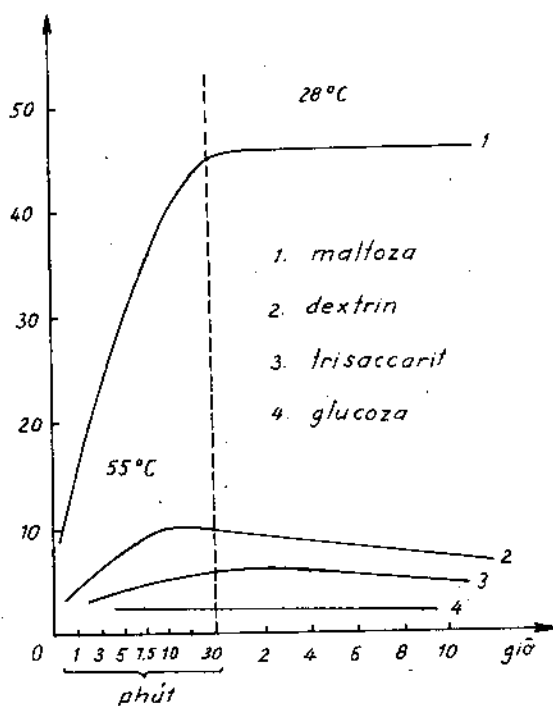
Kết quả thí nghiệm được xác định bằng sắc ký khí, các đường được tính theo glucoza và biểu diễn ở hình 7-6, 7-7.

Thành phần dịch đường sau 30 phút gồm 66% maltoza, 2,9% glucoza, 10,2% trisaccarit.

Tất cả chiếm 79,1% so với lượng glucit có trong dung dịch.

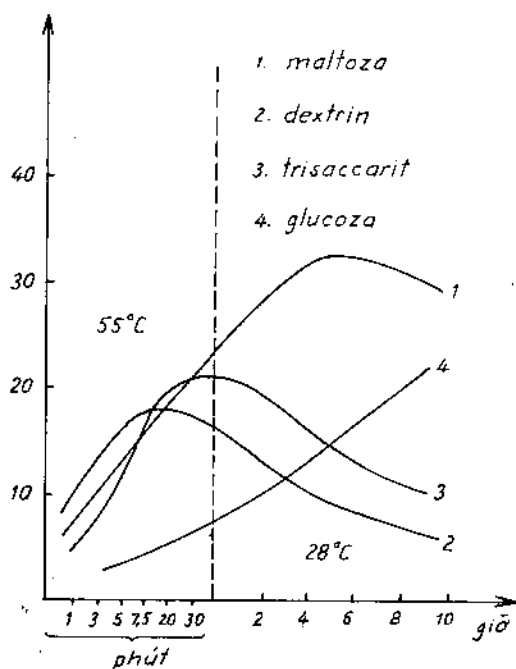
Hàm lượng maltoza ban đầu tăng nhanh nhưng sau 30 phút sự gia tăng không đáng kể. Hàm lượng glucoza suốt thời gian đường hóa hầu như không thay đổi và bằng hàm lượng có trong nguyên liệu ban đầu. Hàm lượng trisaccarit trong 60 phút có tăng đôi chút và sau đó giữ nguyên không thay đổi. Còn dextrin tăng ít rồi qua cực đại và sau cũng không thay đổi.

Thành phần dịch đường khi dùng amylaza của nấm mốc *A.*



Hình 7-6. Đường hóa bằng amylaza thóc mầm

oryzae có đặc tính khác hẳn so với dịch đường hóa bằng amylaza thóc mầm. Hàm lượng maltoza, dextrin và trisaccarit đều trải qua cực đại ở các thời điểm khác nhau, còn hàm lượng glucoza thì tăng liên tục. Sự khác biệt này hoàn toàn có thể giải thích bằng vai trò và hàm lượng các enzym, chứa trong hai hệ amylaza kể trên. Giới hạn thủy phân khi đường hóa bằng amylaza của thóc mầm là do chứa ít enzym có khả năng phân cắt nối α -1,6-glucozit, do đó sự thủy phân không hoàn toàn.



Hình 7-7. Đường hóa bằng amylaza *A. oryzae*

Bằng thí nghiệm của mình, Pronin và Manchencô cho biết, nếu thêm dịch chiết enzym thóc mầm vào dịch đường hóa thì hiệu suất thủy phân sẽ tăng và đạt tới 96% khi kéo dài thời gian.

Nếu quan sát sự gia tăng lượng chất khử chung và tính theo glucoza chẳng hạn thì giai đoạn mà ở đó mức thủy phân còn ít hơn 50%, ta có thể viết:

$$\frac{dG}{dt} = K(a - G)$$

G - hàm lượng glucoza ở thời điểm t

t - thời gian

a - hàm lượng tinh bột ban đầu tính theo glucoza

k - hằng số tốc độ của phản ứng.

Sau khi tích phân phương trình trên ta thu được:

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - G}; \quad G = (1 - e^{-Kt})$$

Khi mức độ thủy phân đạt trên 50% đối với amylaza của *A.oryzae* và 30% đối với amylaza của *A.awamori* thì hằng số tốc độ sẽ giảm dần. Điều này do nhiều nguyên nhân:

- Do cấu trúc của tinh bột, lúc đầu amylopectin được thủy phân nhanh hơn amyloza, về sau các nối ở mạch nhánh sẽ cản trở tác dụng của enzym.

- Không phải tất cả nối α -1,4-glucozit trong phân tử amyloza và amylopectin đều bền vững như nhau. Nối glucozit ở đầu mạch được phân cắt dễ hơn so với các nối bên trong. Hơn nữa các nối α -1,6-glucozit bền hơn 1,6 lần so với nối α -1,4-glucozit và chỉ được phân cắt về sau.

- Trong giai đoạn đầu nối α -1,4-glucozit được phân cắt bởi nhiều enzym, về sau mỗi enzym chỉ cắt được nối đặc hiệu của mình.

- Các enzym đều có độ bền khác nhau khi chịu tác động của nhiệt độ, pH và thời gian, do đó khi đường hóa mỗi enzym ít nhiều đều bị giảm hoạt độ với mức khác nhau.

7.2.1.2. Ảnh hưởng của các yếu tố tới thủy phân tinh bột

Như đã biết, tốc độ thủy phân tinh bột phụ thuộc sự tạo thành liên kết "enzym-tinh bột". Sự tạo liên kết này là do hấp thụ lẫn nhau giữa các nhóm háo nước có trên bề mặt của các hạt tinh bột và enzym như -COOH, -OH, -CHO, -CO, -NH₂, -SH. Các nhóm này khi tác dụng lẫn nhau sẽ làm giảm năng lượng bề mặt, làm

biến dạng các phần riêng biệt của phân tử amyloza và amylopectin, cuối cùng dẫn đến làm đứt các nối glucosit để tạo ra sản phẩm và giải phóng enzym. Enzym được giải phóng lại tiếp tục tạo liên kết mới và thực hiện nhiều chu trình tiếp theo.

Mỗi enzym chỉ có thể hoạt động tốt khi ở trạng thái nhất định. Trạng thái này phụ thuộc nhiệt độ, pH và sản phẩm của môi trường phản ứng.

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Tốc độ phản ứng enzym cũng như các phản ứng hóa học khác đều tăng giảm theo nhiệt độ. Nhưng với phản ứng enzym, sự gia tăng nhiệt độ chỉ trong giới hạn nhất định, thường trong khoảng 55÷60°C. Sự phụ thuộc này tuân theo phương trình Arrhenius:

$$\frac{d\ln K}{dT} = \frac{E}{RT^2}$$

T - nhiệt độ tuyệt đối, °K

R - hằng số khí

E - năng lượng hoạt hóa

K - hằng số tốc độ phản ứng.

Sau khi tích phân phương trình trên trong giới hạn T_1 và T_2 , ta có:

$$E = \frac{(\ln K_1 - \ln K_2)RT_1T_2}{T_1 - T_2}$$

Khi biết T_1 , T_2 và K_1 , K_2 tương ứng ta sẽ tính được năng lượng hoạt hóa đối với thủy phân tinh bột và vào khoảng từ 13000÷16000 kcal/phân tử.

Ảnh hưởng của nhiệt độ tới tốc độ phản ứng nói chung còn được đặc trưng bằng hệ số Q_{10} . Hệ số này là tỉ số tốc độ ở nhiệt độ t nào đó và $(t+10)^\circ\text{C}$:

$$Q_{10} = \frac{K_{t+10}}{K_t}$$

Theo số liệu của Zabrótski và Vitcopskia, đối với dịch đường malt đại mạch và dịch chiết enzym Q_{10} sẽ như ở bảng 7-3.

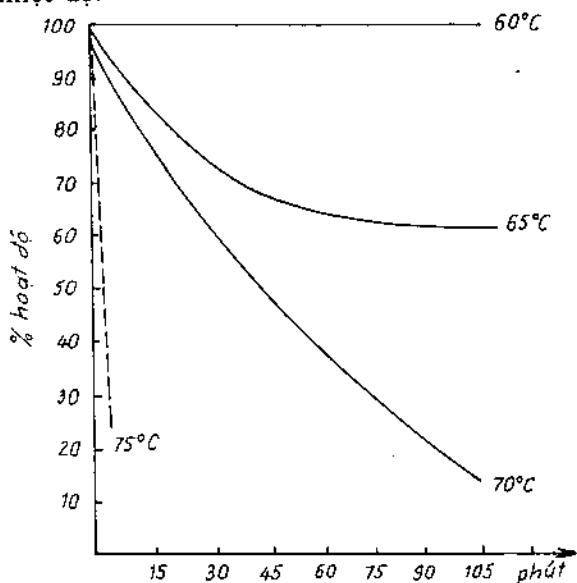
Bảng 7-3. Giá trị của Q_{10} theo nhiệt độ

Nhiệt độ, °C	Dịch chiết enzym	Dịch malt
25÷35	1,82	2,00
35÷45	1,35	1,34
40÷50	1,29	1,30
45÷55	0,86	0,95
50÷60	0,53	0,63

Nếu $Q_{10} > 1$, tốc độ phản ứng tăng cùng nhiệt độ. $Q_{10} = 1$ thì tốc độ phản ứng không thay đổi. Khi $Q_{10} < 1$ thì tốc độ phản ứng sẽ giảm theo sự tăng nhiệt độ.

Nhiệt độ mà ở đó tốc độ phản ứng đạt cao nhất được gọi là nhiệt độ tối ưu hay tối thích. Nhiệt độ tối ưu lại phụ thuộc vào nhiều yếu tố:

Trước hết nhiệt độ tối ưu phụ thuộc nguồn gốc hệ amylaza. Ví dụ α -amylaza của vi khuẩn chịu nhiệt có nhiệt độ tối ưu cao



Hình 7-8. Sự vô hoạt của amylaza malt đại mạch

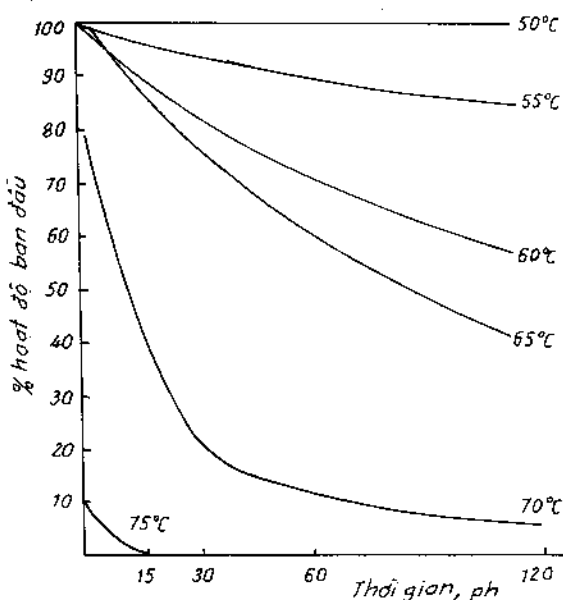
và đạt $95\div 100^{\circ}\text{C}$; nhưng α -amylaza của thóc mầm nhiệt độ tối ưu chỉ $73\div 76^{\circ}\text{C}$, còn α -amylaza của *A.oryzae* lại có nhiệt độ tối ưu $50\div 55^{\circ}\text{C}$.

- Nhiệt độ tối ưu phụ thuộc vào nồng độ cơ chất trong dung dịch. Ví dụ, với dung dịch 1% tinh bột, nhiệt độ tối ưu cho hoạt động của amylaza *A.oryzae* là 50°C , của amylaza *A.awamorii*

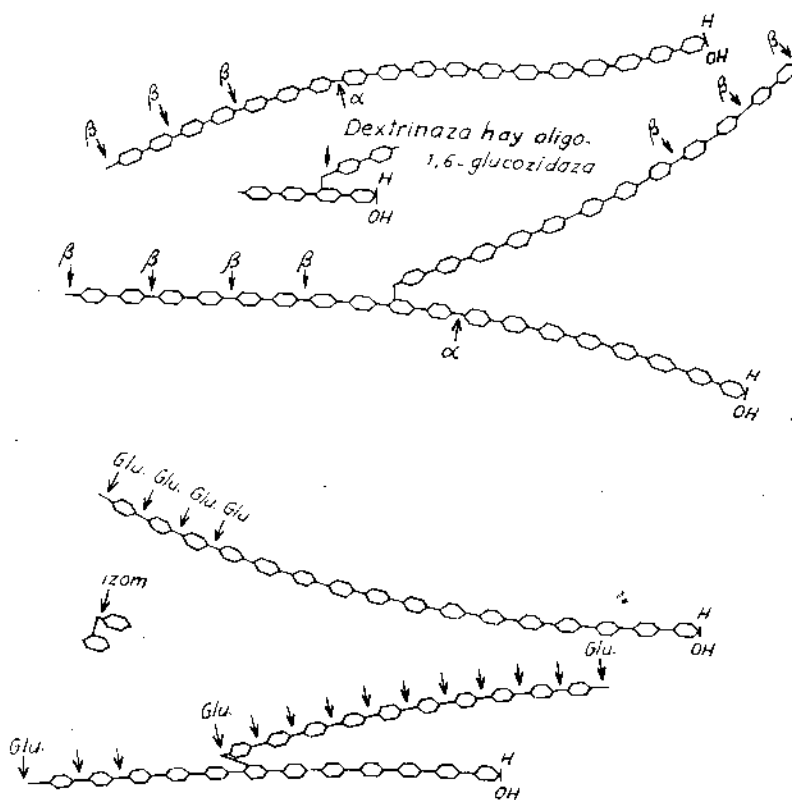
là 55°C . Trong dung dịch 5% tinh bột nhiệt độ tối ưu của *A.oryzae* sẽ là 55°C và của *A. awamorii* là 60°C . Khi tăng nồng độ tinh bột, đến 10% thì nhiệt độ tối ưu của amylaza *A.oryzae* và *A. awamorii* vẫn chỉ là 55°C và 60°C . Như vậy hoạt độ của enzym sẽ được bảo vệ khi tăng nồng độ cơ chất trong dung dịch nhưng chỉ trong giới hạn nhiệt độ xác định đối với mỗi enzym.

- Nhiệt độ tối ưu còn phụ thuộc vào thời gian tác dụng. Thời gian tác dụng lâu sẽ làm giảm khả năng chịu nhiệt của enzym. Vì thế trong thực tế sản xuất rượu người ta luôn tìm cách rút ngắn thời gian đường hóa hoặc tiến hành ở nhiệt độ thấp hơn $2\div 3^{\circ}\text{C}$ so với tối ưu. Biện pháp này nhằm giảm sự mất hoạt tính của enzym - bảo đảm cho đường hóa tiếp trong thời gian lên men.

- Nhiệt độ tối ưu cũng phụ thuộc vào pH của môi trường phản ứng và tăng cùng với pH trong giới hạn nhất định.



Hình 7-9. Sự phụ thuộc hoạt độ glucoamylaza vào nhiệt độ và pH tối ưu



Hình 7-10. Vị trí tác động của các enzym lên mạch tinh bột

Ảnh hưởng của pH và độ chua

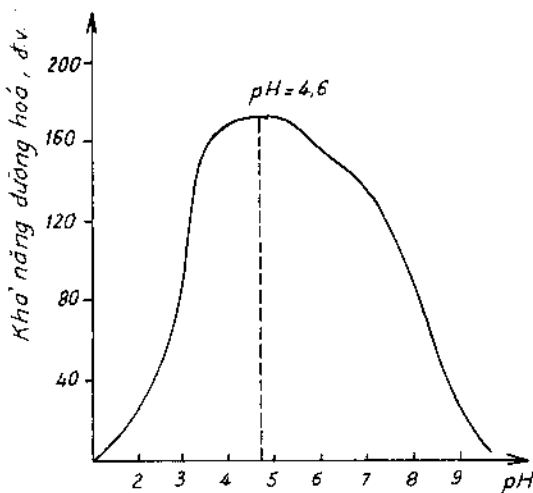
Như đã biết, tất cả các protit đều là lưỡng tính. Tính chất này phụ thuộc vào pH của môi trường. Các nhóm axit hoặc kiềm của enzym đều có khả năng ion hóa. Khi thay đổi pH của môi trường sẽ xảy ra liên kết nào đó với H^+ hoặc OH^- . Do đó mức độ ion hóa của nhóm này hoặc nhóm khác trong phân tử enzym sẽ bị giảm. Nếu nhóm đó lại đóng vai trò trung tâm hoạt động của enzym thì sự tạo liên kết giữa enzym - cơ chất sẽ bị ức chế và do đó sẽ ảnh hưởng tới quá trình thủy phân.

Theo Zerenxen, pH tối ưu của amylaza dịch chiết malt là 4,6.

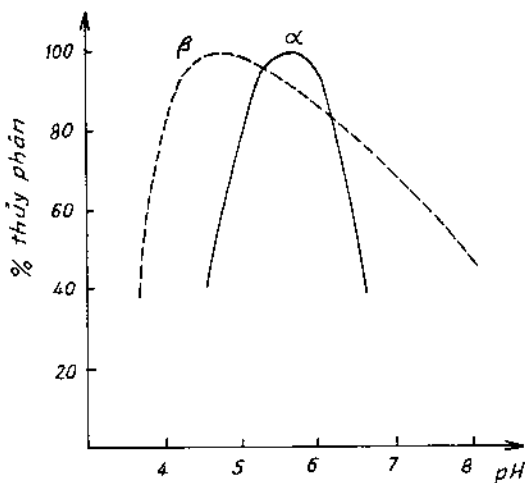
Nếu tăng hoặc giảm pH sẽ làm giảm tác dụng thủy phân tinh bột của amylaza. Trong đó sự giảm sẽ ảnh hưởng nhiều hơn so với tăng pH. Ở pH = 2,3 và 9,7, amylaza bị ngừng chỉ hoàn toàn. Theo ông, pH tối ưu nằm trong giới hạn 4,4÷5,0.

Theo số liệu của Klinkenber thì pH tối ưu của α -amylaza thóc mầm là 5,7, còn với β -amylaza là 4,8. Như vậy số liệu của Zerenxen và của Klinkenber có sai lệch đôi chút nhưng có thể giải thích là do các ông tiến hành thí nghiệm ở các nhiệt độ khác nhau.

Khi tăng nhiệt độ phản ứng thì pH tối ưu sẽ chuyển dịch về phía pH lớn hơn. Theo Konduen và Endem, sự phụ thuộc đó như ở bảng dưới đây:



Hình 7-11. Ảnh hưởng của pH đến khả năng đường hóa của malt đại mạch



Hình 7-12. Ảnh hưởng của pH đến tác dụng của α và β -amylaza.

Nhiệt độ, °C	pH tối ưu
30÷40	4,5÷5,0
50	4,6÷5,0
60	5,2÷5,5
70	5,3÷5,8

α -amylaza của nấm mốc có pH tối ưu trong khoảng 4,5÷5,0, còn glucoamylaza trong khoảng 4,5÷4,6.

Chú ý rằng nhiệt độ và pH tối ưu cho thủy phân tinh bột không trùng hợp với độ bền của enzym khi bảo quản. Khi bảo quản thường giữ ở nhiệt độ thấp và pH cao hơn so với khi đường hóa.

Trong thực tế sản xuất không phải ở đâu và lúc nào cũng xác định được pH của dịch phản ứng. Đối với một nguyên liệu ổn định thì giữa pH và độ chua luôn có liên hệ chặt chẽ với nhau. Lượng axit gây nên độ chua của dịch đường hóa được đưa vào từ nguyên liệu nấu và chế phẩm enzym. Với dịch đường hóa từ nguyên liệu hạt thường có độ chua 0,2 đến 0,3°, tương đương pH = 4,9÷5,6. Với dịch cháo sản thường có độ chua 0,3 đến 0,4°, tương đương 0,75÷1,0 g H₂SO₄/l. Sản bảo quản lâu có độ chua cao hơn và đạt tới 1,0÷1,2 g H₂SO₄/l. Tuy nhiên đa số pH của cháo đều trong khoảng 4,8÷5,2 rất phù hợp với hoạt động của amylaza.

Điều cần lưu ý là sản mới thu hoạch nếu đưa vào sản xuất ngay thì pH của dịch cháo thường cao hơn so với pH tối ưu của amylaza, phải chú ý để điều chỉnh về pH thích hợp. Dịch cháo từ ngô có độ chua cao gần 2 lần: 1,6÷2 g H₂SO₄/l nhưng pH cũng chỉ 4,8÷5,0.

Ảnh hưởng của nồng độ enzym

Sự thủy phân tinh bột là tổng các tác dụng của một số enzym chứa trong thóc mầm, nấm mốc hoặc vi khuẩn - Mỗi hệ amylaza đều có số lượng và hoạt độ khác nhau của từng enzym - Thực tế sản xuất chỉ cần biết hoặc là khả năng đường hóa chung của chế phẩm hay cần xác định cả hoạt độ α -amylaza và glucoamylaza. Khi tăng hoạt độ enzym thì tốc độ thủy phân tinh bột sẽ tăng và tỉ lệ thuận với lượng enzym đưa vào nhưng chỉ trong giai đoạn đầu khi

phản ứng còn là bậc 0.

Trong thực tế sản xuất, lượng chế phẩm đưa vào khi đường hóa được tính theo % so với lượng tinh bột chứa trong cháo nấu. Tùy theo chất lượng của chế phẩm amylaza, tỉ lệ này có thể rất khác nhau và dao động trong giới hạn khá lớn. Tỉ lệ này cũng không cố định mà giảm dần theo trình độ công nghệ đạt được trong sản xuất chế phẩm amylaza.

Ở các nhà máy rượu thuộc Liên Xô (cũ) trước 1965, tỉ lệ chế phẩm amylaza đưa vào khi đường hóa chiếm 8÷10%. Sau 1972, tỉ lệ giảm và chỉ cần 5 đến 6% do chất lượng chế phẩm được nâng cao. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, nhờ hoạt độ của chế phẩm được nâng cao, tỉ lệ trên chỉ chiếm 3%, tương đương với các hoạt độ sau:

$$\left. \begin{array}{l} AC=2,4 \\ DC=7,0 \\ Glu-11,2 \end{array} \right\} \text{ đv/gam tinh bột}$$

Ở các nhà máy rượu của ta trước 1985, lượng chế phẩm amylaza từ năm mốc được qui định là 15% so với tinh bột trong cháo nấu với điều kiện hệ số đường hóa $L_{\text{đh}} = 18$. Trên cơ sở đó, tùy thuộc hệ số $L_{\text{đh}}$ cao hay thấp, lượng chế phẩm đưa vào khi đường hóa được tính theo công thức:

$$M = 0,15G \times \frac{18}{L_{\text{đh}}}, \text{ kg}$$

M - lượng chế phẩm cần cho đường hóa, kg

G - lượng tinh bột chứa trong cháo nấu, kg

$L_{\text{đh}}$ - hệ số đường hóa đạt được trong chế phẩm.

Nếu hệ số $L_{\text{đh}}$ bằng 18 đơn vị thì lượng chế phẩm cần đưa vào để đường hóa hết G kg tinh bột sẽ là:

$$M = 0,15G, \text{ kg}$$

Nếu hệ số $L_{\text{đh}}$ khác 18 thì cần nhân với hệ số $\frac{18}{L_{\text{đh}}}$.

Căn cứ vào cách xác định hệ số $L_{\text{đh}}$ và qui định trên ta tính

được đơn vị Lincơ cần để đường hóa 1 gam tinh bột là 27 đơn vị.

Bằng nghiên cứu tối ưu môi trường nuôi và điều kiện độ ẩm, nhiệt độ, thời gian, chúng tôi thu được chế phẩm thô từ *Asp. awamori* - 22 có hệ số Lincơ bằng 30 đơn vị.

Lượng chế phẩm đưa vào đường hóa chỉ chiếm $4,3 \div 4,8\%$ so với tinh bột và đơn vị Lincơ cần cho 1 gam tinh bột sản chỉ khoảng $14 \div 15$ đv/gam. Đối với chế phẩm San Super của hãng Novo Đan Mạch - $13 \div 16$ đv Lincơ/gam.

7.2.2. Sự biến đổi của các chất khác trong quá trình đường hóa

Ngoài biến đổi chủ yếu của tinh bột thành đường, khi đường hóa còn xảy ra một số biến đổi của các chất khác. Mức độ biến đổi không nhiều và phụ thuộc nguồn amylaza sử dụng. Trong chế phẩm amylaza thu nhận từ nấm mốc luôn chiếm một lượng pectinaza và hemixenluloza. Do đó khi đường hóa sẽ có một lượng pectin được phân huỷ để tạo ra axit pectic và alcol metylic. Một lượng nhỏ hemixenluloza được thủy phân thành dextrin và đường pentoza, glucoza. Dextrin sau này sẽ biến thành maltoza và lên men được, còn pentoza không tham gia vào phản ứng tạo rượu.

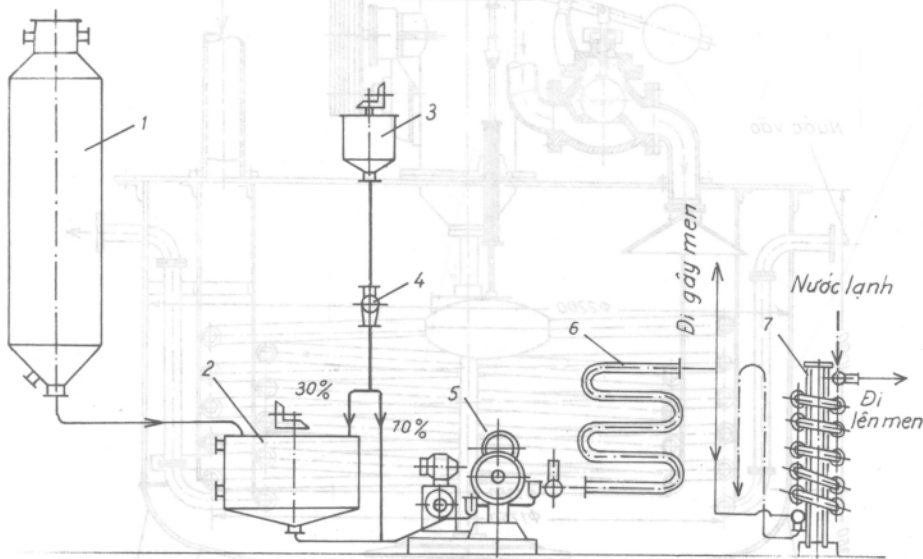
Trong thóc mầm, ngoài amylaza còn chứa một lượng proteaza, enzym này gồm proteinaza và peptidaza, chúng có pH tối ưu rất khác nhau. Hoạt độ tối ưu của proteinaza là pH $4,5 \div 5,0$ và nhiệt độ $58 \div 62^{\circ}\text{C}$, còn điều kiện tối ưu của peptidaza là pH $= 7,3 \div 7,9$ và nhiệt độ $45 \div 47^{\circ}\text{C}$. Trong sản xuất rượu, đường hóa thường tiến hành ở pH $= 4,8 \div 5,2$ và nhiệt độ $58 \div 60^{\circ}$. Tuy điều kiện này không tối ưu cho proteinaza và peptidaza nhưng lượng đạm amin vẫn tăng $2,5 \div 3$ lần so với trước khi đường hóa, đủ bảo đảm nguồn nitơ cho dinh dưỡng của nấm men.

Ở các nhà máy rượu của ta, nguyên liệu sản xuất còn chủ yếu là sắn và ri đường, hai nguyên liệu này đều chứa ít protit và nitơ hòa tan; do đó nguồn dinh dưỡng nitơ không bảo đảm cho phát triển của nấm men. Khi chuẩn bị dịch lên men cần bổ sung nguồn nitơ thích hợp, có thể dùng sunfat amon, ure hay photphat amon.

7.3. Sơ đồ thiết bị và thao tác khi đường hóa

Đường hóa dịch cháo nấu có thể tiến hành theo phương pháp gián đoạn hoặc liên tục trên các sơ đồ thiết bị khác nhau. Nhưng dù theo phương pháp và sơ đồ nào thì quá trình đường hóa cũng bao gồm:

- Làm lạnh dịch cháo tới nhiệt độ đường hóa.
- Cho chế phẩm amylaza vào dịch cháo và giữ ở nhiệt độ trên trong thời gian xác định để amylaza chuyển hóa tinh bột thành đường.
- Làm lạnh dịch đường hóa tới nhiệt độ lên men.



Hình 7-13. Sơ đồ đường hóa liên tục hai lần

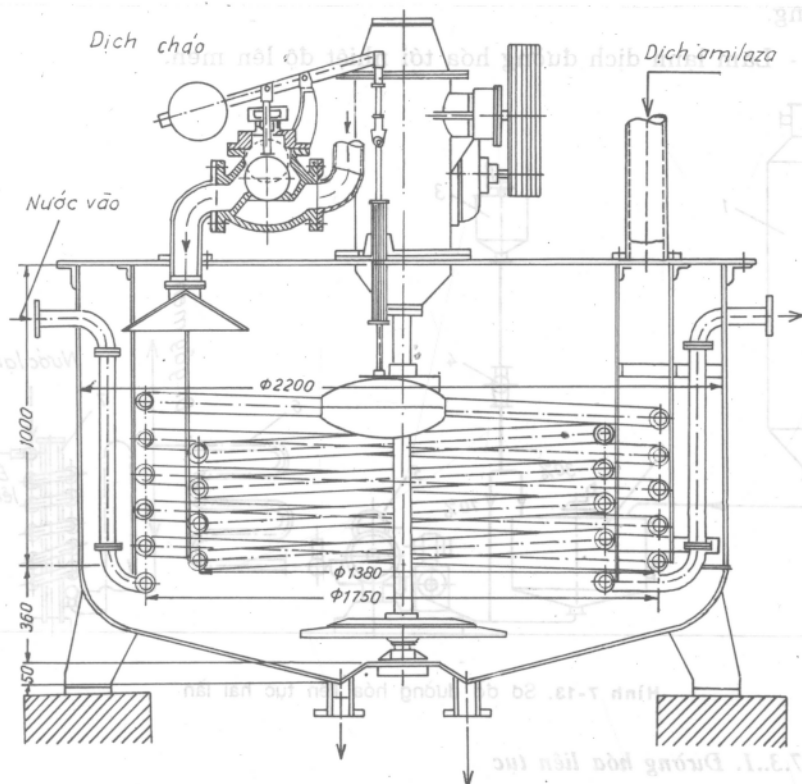
7.3..1. Đường hóa liên tục

Đường hóa liên tục được tiến hành trong các thiết bị khác nhau, dịch cháo và dịch amylaza liên tục đi vào hệ thống, dịch đường liên tục đi sang bộ phận lên men.

Phương pháp cơ ưu điểm so với đường hóa gián đoạn là dịch cháo ít bị lão hóa khi làm lạnh tới nhiệt độ đường hóa. Thời gian đường hóa ngắn, tăng được công suất thiết bị và do đó tiết kiệm được diện tích nhà xưởng. Hoạt tính amylaza ít bị vô hoạt do thời gian tiếp xúc với nhiệt độ cao được rút ngắn.

Sơ đồ làm việc theo trình tự sau:

Cháo nấu được chứa ở nồi nấu chín thêm 1 liên tục đi vào thùng đường hóa lần một 2; dịch amylaza từ thùng 3 qua bộ phân



Hình 7-14. Thùng đường hóa lần một

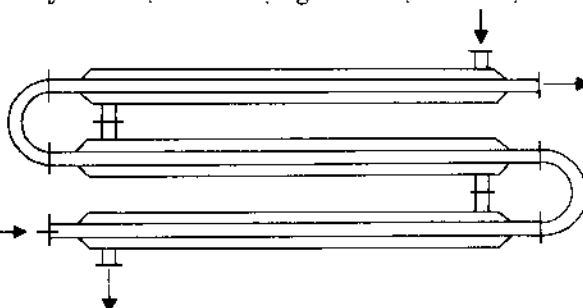
phân phối 4, sau đó khoảng 30% đi vào 2 phối hợp với dịch cháo có nhiệt độ 60°C . Thời gian đường hóa ở 2 kéo dài 15 đến 20 phút. Ra khỏi 2 dịch đường được bổ sung 70% chế phẩm amylaza còn lại, sau đó qua bơm 5 đi vào thiết bị đường hóa lần hai 6. Tổng cộng thời gian đường hóa ở cả hai thiết bị không quá 30 phút. Đường hóa xong một phần dịch đường đưa vào phân xưởng gây men, 90% còn lại qua thiết bị làm lạnh kiểu "ống lồng ống" tới nhiệt độ $28\div 30^{\circ}\text{C}$ rồi vào các thùng lên men.

Kích thước và dung tích thùng đường hóa được tính trên cơ sở lượng dịch cháo cần phải đường hóa trong 1 giờ. Sau đó đem chia cho thời gian lưu lại trong thùng.

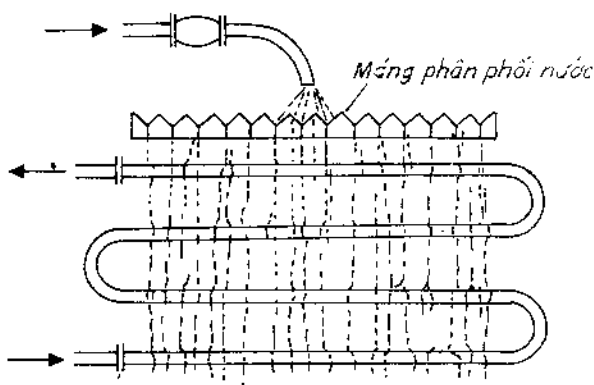
Để tính diện tích truyền nhiệt của ruột gà làm lạnh ta dựa vào lượng nhiệt cần lấy đi ở dịch cháo trong thời gian kể trên.

Đối với dịch cháo có nồng độ $14\div 18\%$, theo thực tế hệ số truyền nhiệt K có thể lấy từ 150 đến $250 \text{ kcal/m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{độ}$.

Thiết bị đường hóa lần hai có thể chỉ là một thùng chứa thông thường hoặc hệ thống ống dẫn, bảo đảm thời gian đường hóa nhằm đạt lượng đường



Hình 7-15a. Thiết bị truyền nhiệt "ống lồng ống"

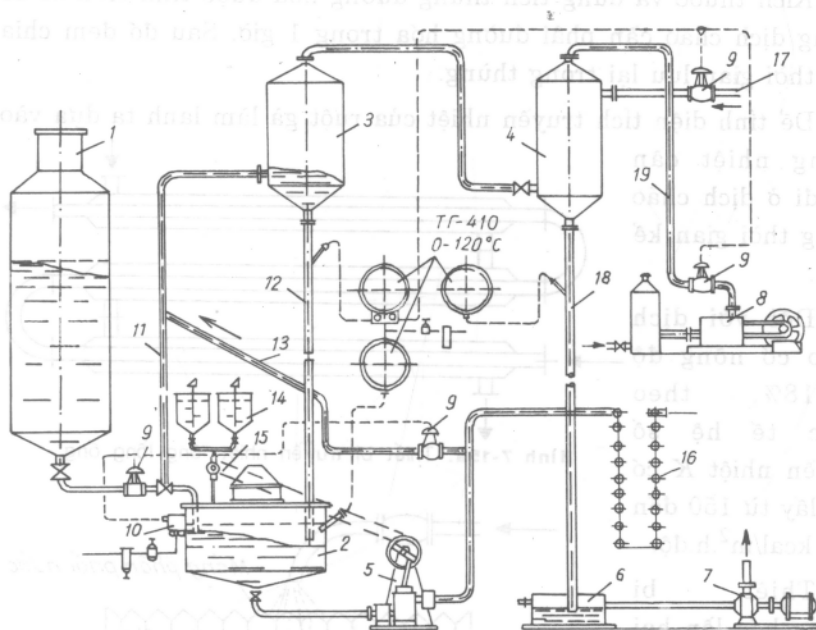


Hình 7-15b. Thiết bị truyền nhiệt kiểu tưới

cần thiết cho sinh trưởng và phát triển ban đầu của nấm men trên 30 g/lít dịch đường.

Các thiết bị làm lạnh dịch đường hóa đến nhiệt độ lên men có thể sử dụng nhiều kiểu thiết bị truyền nhiệt khác nhau theo như ở hình 7-15.

Đường hóa liên tục theo phương pháp làm lạnh bằng chân không (hình 7-16)



Hình 7-16. Sơ đồ đường hóa theo phương pháp làm lạnh dịch cháo bằng chân không

1. Thùng chứa dịch cháo nấu; 2. Thùng đường hóa ; 3. Thiết bị bốc hơi; 4. Thiết bị ngưng tụ; 5. Bơm dịch đường hóa; 6. Thùng chứa nước ngưng tụ; 7. Bơm nước; 8. Bơm chân không; 9. Các van điều chỉnh tự động; 10. Bộ phận tự động điều chỉnh mức dịch trong thùng đường hóa; 11, 12, 13 - Ống dẫn dịch cháo và đường hóa; 14. Thùng chứa dịch amylaza; 15. Bộ phận điều chỉnh phân phối dịch amylaza; 16. Thiết bị làm lạnh dịch đường hóa; 17, 18. Ống dẫn nước; 19. Ống dẫn khí không ngưng.

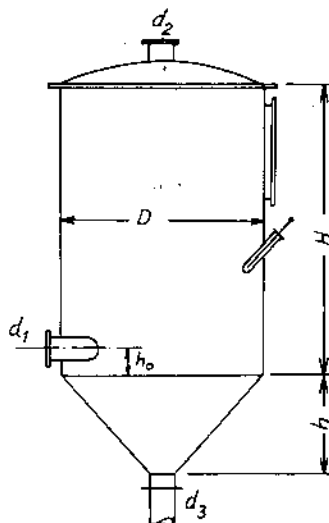
Như đã biết, giữa nhiệt độ sôi của dung dịch và áp suất có sự phụ thuộc nhất định. Ở áp suất $p = 1 \text{ kg/cm}^2$ nước sẽ sôi ở $99,09^\circ\text{C}$ nhưng ở áp suất chân không $p = 0,15 \text{ kg/cm}^2$ nước sẽ sôi ở $53,6^\circ\text{C}$ và nếu $p = 0,2 \text{ kg/cm}^2$ nhiệt độ sôi của nước sẽ là $59,67^\circ\text{C}$. Dựa vào tính chất này người ta áp dụng áp suất chân không để làm bay hơi nước và do đó làm nguội dịch cháo đến nhiệt độ đường hóa.

Nguyên tắc làm việc của sơ đồ như sau:

Dịch cháo nấu từ thùng 1 qua van điều chỉnh 9 và ống dẫn cháo 11 vào thiết bị bốc hơi 3. Ở đây dịch cháo chịu áp suất chân không $0,2 \text{ kg/cm}^2$ nên sôi và làm bay hơi nước, do bay hơi thu nhiệt nên nhiệt độ dịch cháo giảm từ $103 - 105^\circ\text{C}$ ở 1 còn $58 \div 59^\circ\text{C}$ ở 3. Ở nhiệt độ $58 \div 59^\circ\text{C}$, dịch cháo liên tục đi qua 12 vào thùng đường hóa 2 để hòa với dịch amylaza từ 14 qua 15 nối với 5. Cơ cấu nối 15 với 5 nhằm mục đích phân bố đều giữa dịch đường bơm đi và lượng dịch amylaza đưa vào. Thời gian dịch đường lưu lại ở 2 kéo dài khoảng 10 đến 15 phút, sau đó được làm lạnh đến nhiệt độ lên men ở 16. Khoảng $15 \div 20\%$ dịch đường qua van 9 và ống 13 hòa với dịch cháo ở 11 nhằm dịch hóa tạo điều kiện cho bốc hơi được dễ dàng, đồng thời hạn chế được hiện tượng lão hóa tinh bột khi làm lạnh.

Nước bay hơi ở 3 qua ngưng tụ 4 khí không ngưng qua 19 vào bơm chân không 8 và sau đó loại ra ngoài. Trên sơ đồ người ta còn lắp đặt các nhiệt kế tự ghi để kiểm tra nhiệt độ ở những vị trí cần thiết.

Qua thực tế người ta rút ra



Hình 7-17. Thiết bị bốc hơi

những ưu điểm của phương pháp làm lạnh bằng chân không như sau:

1. Dịch cháo được dịch hóa và làm nguội nhanh nên hạn chế được lão hóa tinh bột.

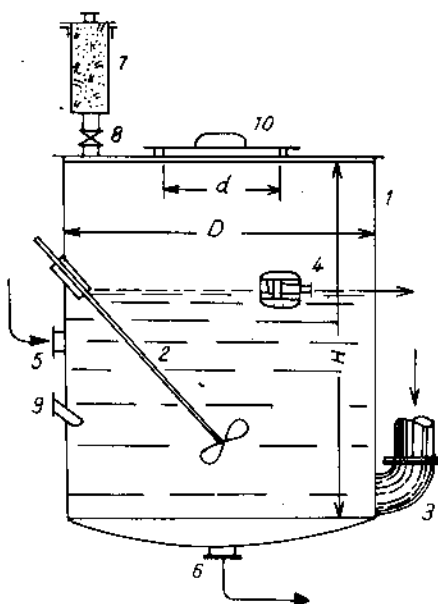
2. Do bay hơi ở áp suất chân không nên hơi nước sẽ kéo theo các chất như alcol metylic, furfurol, và các mùi lạ do nguyên liệu đưa vào, nhờ đó nâng cao được chất lượng sản phẩm.

3. Do thời gian đường hóa ngắn, 10÷15 phút nên giảm được kích thước thiết bị, diện tích nhà xưởng, đồng thời hạn chế được mất hoạt tính của amylaza. Theo số liệu của Dénxicóp tiết kiệm 3% chế phẩm amylaza.

4. Dễ cơ khí hóa và tự động hóa sản xuất, cho phép tăng năng suất lao động.

5. Áp dụng đường hóa bằng làm lạnh chân không còn cho phép tăng hiệu suất rượu từ 0,6 đến 1%, tiết kiệm điện từ 20 đến 30% so với các sơ đồ đường hóa khác.

Bên cạnh các ưu điểm kể trên, sơ đồ này cũng có nhược điểm là thiết bị bốc hơi và ngưng tụ phải đặt ở độ cao 11÷12 m. Ngoài ra đòi hỏi phải có đội ngũ công nhân, kỹ thuật lành nghề về lĩnh vực cơ khí và tự động hóa. Tuy nhiên, nhược điểm này sẽ nhanh



Hình 7-18. Thiết bị đường hóa.

1. Thân thùng; 2. Cánh khuấy; 3. Ống dẫn dịch cháo; 4. Phao định mức;
5. Ống dẫn dịch amylaza; 6. Dịch đường hóa ra; 7. Bình lọc bông; 8. Khớp nối;
9. Ống cảm nhiệt kế; 10. Nắp thùng.

chống được khắc phục khi đất nước đi vào thời kỳ cơ khí hóa và hiện đại hóa.

Bảng 7-4. Đặc tính kỹ thuật của một số thiết bị chính trong sơ đồ đường hóa dùng chân không

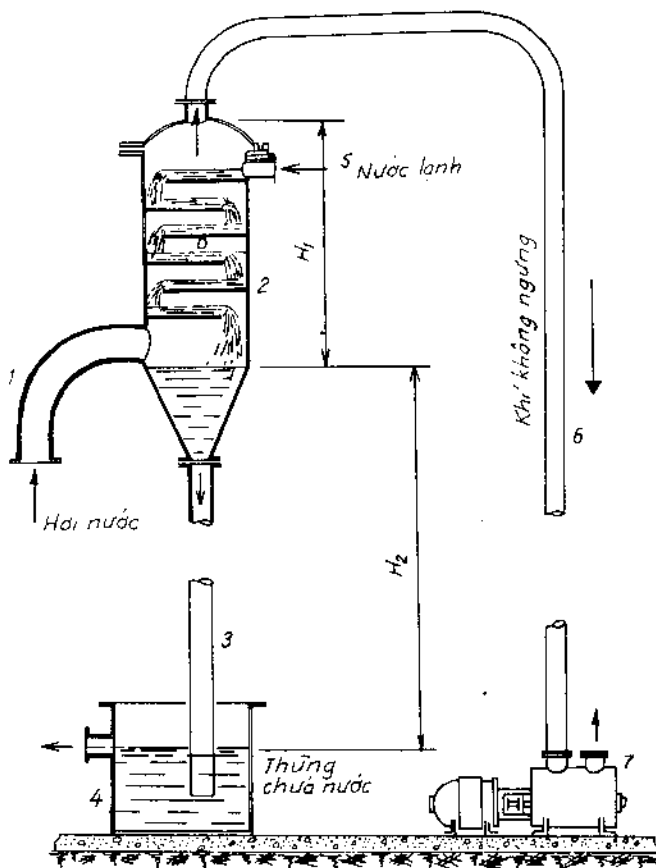
Tên thiết bị	Công suất sản xuất, lít cồn/ngày		
	500	1000	20000
<i>Thiết bị bốc hơi</i>			
Đường kính D, mm	700	1000	1500
Chiều cao phần trụ H-h, mm	1200	1600	2300
Chiều cao nón h, mm	350	500	750
Đường kính ống dẫn, mm			
d_1	100	125	175
d_2	125	150	200
d_3	150	200	300
<i>Thiết bị đường hóa</i>			
Đường kính D, mm	900	1050	1300
Chiều cao H, mm	1100	1200	1600
Công suất cánh khuấy, kW	0.6	1.0	1.9
<i>Thiết bị ngưng tụ</i>			
Đường kính D, mm	500	600	1000
Chiều cao H ₁ , mm	2000	2200	2400
Chiều cao H ₂ , mm	12000	12000	12000

7.3.2. Đường hóa gián đoạn

Khác với đường hóa liên tục, đường hóa gián đoạn được thực hiện trong một thiết bị gọi là thùng đường hóa.

Thùng đường hóa gián đoạn có cấu tạo tương tự thùng đường hóa liên tục lần một. Dung tích thùng được tính dựa vào thể tích của mẻ nấu và theo tỉ lệ $\frac{1,3 \text{ m}^3 \text{ thùng}}{1 \text{ m}^3 \text{ cháo}}$. Chiều cao thùng thường

vào khoảng $0,5 \div 0,6$ so với đường kính. Bên trong có cánh khuấy với tốc độ $50 \div 60$ vòng/phút nhằm giúp cho quá trình làm lạnh được nhanh. Diện tích truyền nhiệt cần lấy bằng 3 đến $5 \text{ m}^2/\text{m}^3$ cháo (dùng ống đồng đỏ).



Hình 7-19. Hệ thống ngưng tụ.

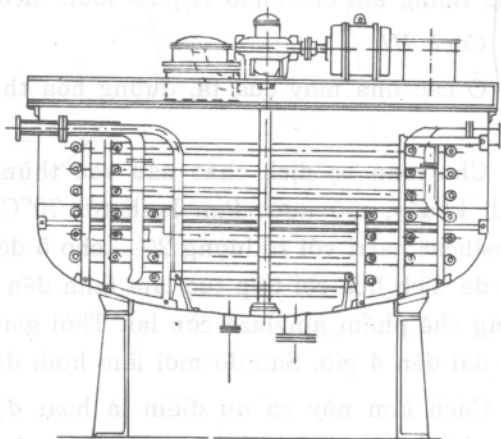
Bơm dịch đường phải chọn sao cho sau 10 đến 15 phút có thể bơm hết dịch chứa trong thùng và đặt bơm thấp hơn đáy thùng khoảng $0,6 \div 0,8 \text{ m}$.

Trước khi tiến hành, thùng phải được vệ sinh sạch sẽ, đóng các

van đáy, sau đó có thể thực hiện theo một trong các biện pháp sau:

Cách I.

Đầu tiên cho khoảng 13÷15% dịch amylaza của một mẻ đường hóa vào, khuấy đều, mở nước làm lạnh rồi từ từ cho cháo vào với tốc độ sao cho khi hết cháo thì nhiệt độ đạt 60°C. Tiếp đó cho hết dịch amylaza còn lại để nhiệt độ giảm còn 57÷58°C. Ngừng khuấy, đóng van nước làm lạnh rồi để yên 10 đến 15 phút cho amylaza chuyển hóa tinh bột thành đường. Sau đó cho cách khuấy làm việc, mở nước làm lạnh tới nhiệt độ 28÷30°C rồi bơm đi lên men.



Hình 7-20. Thùng đường hóa

Biện pháp này có ưu điểm là cháo được dịch hóa nhưng thời gian đồ cháo kéo dài; 13÷15% dịch amylaza khó tránh khỏi mất hoạt tính cục bộ. Mặt khác sẽ làm giảm năng suất của thiết bị.

Cách II.

Cho toàn bộ dịch amylaza vào thùng, bật cánh khuấy, mở nước làm lạnh rồi cho cháo vào với tốc độ nhanh hơn nhưng vẫn phải khống chế nhiệt độ dịch đường hóa là 57÷58°C. Khi hết cháo ta tắt cánh khuấy, mở van nước làm lạnh rồi để 10 đến 15 phút. Sau đó lại bật cánh khuấy, mở van nước làm lạnh dịch tới 28÷30°C rồi bơm đi lên men.

Phương pháp này có ưu điểm là dịch cháo được làm loãng tức thời, tránh được hiện tượng lão hóa tinh bột, thời gian đồ đầy nhanh nhưng hoạt tính amylaza dễ bị mất nhiều. Người vận hành bị

càng thẳng khi cho cháo vì phải luôn theo dõi nhiệt độ.

Cách III.

Ở các nhà máy của ta, đường hóa thường được tiến hành như sau:

Cho toàn bộ dịch cháo nấu vào thùng đường hóa, tiếp đó bật cánh khuấy, mở nước làm lạnh tới 70°C , cho tiếp chất sát trùng fluosilicat natri với số lượng 2‰, cho 5 đến 10% chế phẩm amylaza vào để dịch hóa rồi tiếp tục làm lạnh đến 60°C và cho nốt 90÷95% lượng chế phẩm amylaza còn lại. Thời gian đường hóa (trước 1972) kéo dài đến 4 giờ. Sau đó mới làm lạnh đến nhiệt độ lên men.

Cách làm này có ưu điểm là hoạt độ amylaza bị giảm không đáng kể do ít tiếp xúc với nhiệt độ cao nhưng lại có các nhược điểm sau:

- Làm nguội đến 70°C mới cho amylaza vào để dịch hóa, do đó tinh bột sẽ bị lão hóa nhiều, dịch đặc, độ nhớt cao ảnh hưởng đến làm việc của cánh khuấy.

- Do kéo dài thời gian ở nhiệt độ gần 60°C nên amylaza vẫn mất hoạt tính nhiều. Cơ sở do thiết bị đường hóa lớn nhưng diện tích truyền nhiệt nhỏ nên thời gian làm lạnh tới nhiệt độ lên men quá dài (10÷12 giờ); do đó amylaza mất nhiều hoạt tính.

- Trước 1992, chế phẩm amylaza của ta được nuôi cấy theo phương pháp bề mặt, sau đó vò tơi và cho thẳng vào nồi đường hóa, không qua sát trùng chế phẩm thô. Cách làm này dẫn đến nhiễm khuẩn dịch đường, làm tăng độ chua và giảm hiệu suất lên men.

Nên chăng chúng ta cần diệt hoặc làm yếu các tạp khuẩn trong chế phẩm bằng cách cho toàn bộ lượng chế phẩm của một mẻ đường hóa vào thùng có cánh khuấy, cộng thêm nước theo tỉ lệ 20÷25%. Sau đó cho tất cả lượng chất sát trùng, khuấy đều và để yên 1 giờ rồi mới cho vào dịch cháo cần đường hóa. Trong điều kiện kể trên sẽ cho phép tăng nồng độ chất sát trùng và do đó tăng khả năng diệt tạp khuẩn nhưng không ảnh hưởng tới hoạt

độ amylaza, còn nồng độ chất sát trùng trong dịch lên men vẫn không thay đổi (2‰).

7.3.3. Chỉ tiêu chất lượng dịch đường hóa

Các chỉ tiêu của dịch đường hóa chưa phản ánh đầy đủ hiệu quả của công đoạn này vì trong điều kiện sản xuất rượu, đường hóa không thể tách rời khâu lên men sau đó. Tuy nhiên người ta vẫn phải kiểm tra sơ bộ một số chỉ tiêu sau:

- Nồng độ chất hòa tan của dịch đường được biểu diễn theo % khối lượng. Chỉ số này cho biết trong 100 gam dung dịch lọc có chứa bao nhiêu gam chất hòa tan (gồm glucoza, maltoza, saccaroza, dextrin và protit, muối vô cơ, hữu cơ v.v...)

Dụng cụ đo có thể là đường kế (baling, bx, brix, độ plato), khúc xạ kế hoặc Bomè kế (xem Phụ lục).

Căn cứ vào lượng đường có khả năng lên men so với tổng lượng chất hòa tan trong dịch, người ta đưa ra khái niệm độ thuần khiết của dịch đường và biểu diễn theo % như sau:

$$D_{\text{tkh}} = \frac{p}{P} \cdot 100\%$$

p - hàm lượng đường có trong dịch;

P - hàm lượng chất hòa tan nói chung.

Tùy theo hàm lượng tinh bột trong nguyên liệu, độ thuần khiết có thể từ 82÷95%. Người ta còn chia ra độ thuần khiết biểu kiến và độ thuần khiết thực.

Độ thuần khiết biểu kiến được xác định khi đường được thủy phân bằng axit tới glucoza; còn độ thuần khiết thực xác định khi đường còn lẫn glucoza, maltoza, saccaroza và dextrin, do đó độ thuần khiết biểu kiến luôn lớn hơn độ thuần khiết thực vì khi thủy phân thì hàm lượng đường sẽ tăng do đường đôi và dextrin có cộng thêm nước.

Nồng độ dịch lọc thường vào khoảng 16÷18% khối lượng, nếu

đo bằng Bomé 8+9 Bé. Nồng độ chất khử tính theo glucoza chỉ cần lớn hơn 3%, đủ bảo đảm cho phát triển ban đầu của nấm men. Các dextrin và đường oligo sẽ được tiếp tục chuyển hóa thành glucoza trong thời gian lên men.

- Độ chua của dịch đường có thể biểu diễn theo lượng axit sunfuric chứa trong 1 lít - có thể từ 0,8 đến 1,2 g/l. Độ chua cũng có thể biểu diễn theo độ. Đó là số ml NaOH có nồng độ 1 N cần để trung hòa hết axit tự do chứa trong 20 ml (trong sản xuất bia qui định là 100 ml). 1° chua tương đương 2,45 g H_2SO_4 /l.

pH dịch đường hóa cháo sán thường vào khoảng 4,8÷5,2.

Lượng nitơ trong dịch đường từ sán thường không đảm bảo cho nhu cầu sinh trưởng của nấm men. Do vậy cần bổ sung nguồn nitơ từ ure với số lượng 0,5 g/l dịch đường hóa.

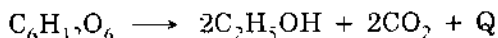
Chương VIII

LÊN MEN DỊCH ĐƯỜNG

Đường hóa xong, dịch đường được làm lạnh tới $28 \div 32^{\circ}\text{C}$ và bơm vào thùng lên men (còn gọi là thùng ủ). Ở đây dưới tác dụng của nấm men, đường sẽ biến thành rượu và khí cacbonic cùng với nhiều sản phẩm trung gian khác. Lên men xong ta thu được hỗn hợp gồm rượu - nước - bã gọi là giấm chín hay cơm hèm.

8.1. Đại cương về lên men rượu

Lý thuyết về lên men rượu đã được nhiều nhà sinh học nghiên cứu từ lâu. Năm 1769, Lavoisier phân tích sản phẩm lên men rượu và nhận thấy, khi lên men đường không chỉ biến thành rượu mà còn tạo ra axit axetic nữa. Năm 1810, Gaylussac nghiên cứu và thấy rằng, cứ 45 phần khối lượng đường glucoza khi lên men sẽ tạo ra 23 phần alcol etylic và 22 phần khí cacbonic. Trên cơ sở đó ông đưa ra phương trình tổng quát về lên men rượu như sau:



Năm 1857, Louis Pasteur tiếp tục nghiên cứu và thấy rằng, cứ 100 phần đường saccaroza khi lên men sẽ tạo ra 51,1 phần alcol etylic; 48,4 phần CO_2 ; 32 phần glyxerin 0,7 phần axit succinic và 2 phần các sản phẩm khác. Từ đó ông suy ra, cứ 45 phần khối lượng glucoza khi lên men sẽ cho 21,8 phần rượu chứ không phải 23 phần như Gaylussac đã tính. Tuy nhiên, phương trình lên men do Gaylussac đưa ra vẫn đúng và được dùng làm cơ sở để tính hiệu suất lên men và hiệu suất thu hồi rượu theo lý thuyết.

Pasteur cho rằng, sự lên men chỉ xảy ra khi có mặt của vi sinh vật. Nếu ngăn ngừa không cho vi sinh vật tiếp xúc với dịch đường

thì hiện tượng lên men sẽ không xảy ra. Ông kết luận, "sự lên men rượu là một quá trình sinh học có liên hệ mật thiết tới hoạt động của tế bào men".

Vào khoảng 1871 - 1872, Manaxeni đem nghiền tế bào men với cát thạch anh rồi mới cho vào dịch đường thì hiện tượng lên men vẫn xảy ra. Đến năm 1897, Buchuer đem nghiền nát tế bào men rồi chiết lấy dịch trong không chứa xác men, tiếp đó dùng dịch này cho vào dịch đường ông thấy dịch chiết này vẫn có khả năng biến đường thành rượu và khí cacbonic. Từ đó người ta gọi các chất chứa trong dịch các tế bào men là zymaza. Đây chính là tập hợp của nhiều enzym cùng tham gia chuyển hóa đường thành rượu và CO_2 .

Dịch men gồm rất nhiều tế bào men riêng biệt, 1 gam men ướt có độ ẩm khoảng 70÷75% chứa tới 14 tỉ tế bào. Bề mặt của mỗi tế bào chiếm 5.10^{-5} mm^2 . Như vậy 1 gam men ép có bề mặt tổng cộng khoảng 7.000 cm^2 . Nhờ có bề mặt lớn này nên nấm men hấp thụ đường và các chất dinh dưỡng rất nhanh. Cơ chế lên men rượu xảy ra như sau:

Đường và các chất dinh dưỡng được hấp thụ qua bề mặt tế bào rồi thẩm thấu vào bên trong. Ở đó các enzym sẽ tác dụng qua nhiều giai đoạn trung gian để cuối cùng tạo ra sản phẩm chính là rượu và khí cacbonic. Hai chất này đều khuếch tán và tan vào môi trường xung quanh. Rượu do rất linh động nên hòa tan nhanh trong dịch lên men, còn khí cacbonic hòa tan kém và khuếch tán chậm. Lúc đầu hòa tan hoàn toàn, dần dần tạo thành các bọt khí bám quanh tế bào men và lớn dần tới mức lực đẩy Archimèdes lớn hơn khối lượng tế bào men cộng bọt khí, lúc đó tế bào cùng bọt khí nổi dần lên, khi tới bề mặt các bọt khí sẽ tan vỡ và hợp thành tiếng rào rào (ta quen gọi là men ăn). Bọt khí tan, tế bào men lại chìm dần, tiếp xúc với dịch đường để hấp thụ và lên men rồi lại sản ra rượu và khí cacbonic. Như vậy tế bào nấm men từ chỗ là vi sinh vật không chuyển động đã biến thành tế bào luôn chuyển động trong quá trình lên men. Nhờ đó mà tăng nhanh tốc độ hấp thụ và chuyển hóa

đường thành rượu. Khi đường và các chất dinh dưỡng trong canh trường còn ít, một lượng lớn tế bào men sẽ lắng xuống đáy thùng, dịch lên men sẽ trong dần.

Nấm men có thể lên men trong dịch đường có nồng độ 25 đến 30%, nhưng chậm. Nồng độ thích hợp cho đa số nấm men dùng trong sản xuất rượu là 15 đến 18%. Nồng độ cao thì áp suất thẩm thấu sẽ lớn, do đó ảnh hưởng xấu tới hiệu quả lên men, lên men sẽ kéo dài, đường sót lại trong giấm chín sẽ tăng. Nếu lên men ở nồng độ đường thấp cũng không có lợi vì tổn thất do tạo men sẽ tăng. Ví dụ khi lên men dịch đường có nồng độ 16,9%, tổn thất đường do tạo men chiếm 6% so với lượng đường có trong dung dịch; nếu nồng độ đường là 8,6% thì tổn thất do tạo men chiếm tới 9,84%. Mặt khác, lên men ở nồng độ thấp sẽ làm giảm năng suất của thiết bị, tốn nhiều hơi khi chưng cất và làm tăng tỉ lệ tổn thất rượu trong bã hèm và nước thải.

Khi lên men có khoảng 95% đường biến thành rượu và CO_2 , còn 5% là tạo các sản phẩm khác và đường sót.

Lên men được tiến hành ở nhiệt độ $28\div 32^\circ\text{C}$ và $\text{pH} = 4,5\div 5,2$. Nhiệt độ cao thì tổn thất sẽ lớn do tạp khuẩn dễ phát triển, tạo nhiều este aldehyt. Khi lên men ở $29,5^\circ\text{C}$, tổn thất do tạo men là 7,37%, ở $17,5^\circ\text{C}$ tổn thất do tạo men là 5,32% và nếu lên men dịch đường ở 10°C thì tổn thất do tạo men chỉ chiếm 4,42% lượng đường có trong dung dịch. Xét về ảnh hưởng của pH thì tổn thất sẽ ít nhất khi lên men ở $\text{pH} = 4,4$. Nếu tăng pH thì tổn thất sẽ tăng nhanh và nhiều hơn so với giảm pH. Giảm pH từ 5,6 xuống 4,42 hiệu suất lên men tăng 2,3%.

Trên đây ta mới nói tới một vài yếu tố có ảnh hưởng nhiều tới kết quả lên men nhưng còn xét ở các trường hợp riêng rẽ. Trong thực tế sản xuất, các yếu tố ảnh hưởng có liên quan mật thiết và chi phối lẫn nhau. Vì vậy khi xem xét một trường hợp cụ thể ta cần đặt chúng trong một thể thống nhất, phải căn cứ vào điều kiện cụ thể, trang thiết bị ở từng cơ sở sản xuất để định ra chế độ kỹ thuật phù hợp nhằm đạt hiệu quả sản xuất cao nhất.

8.2. Cấu tạo, thành phần hóa học và dinh dưỡng của nấm men

8.2.1. Cấu tạo của tế bào men

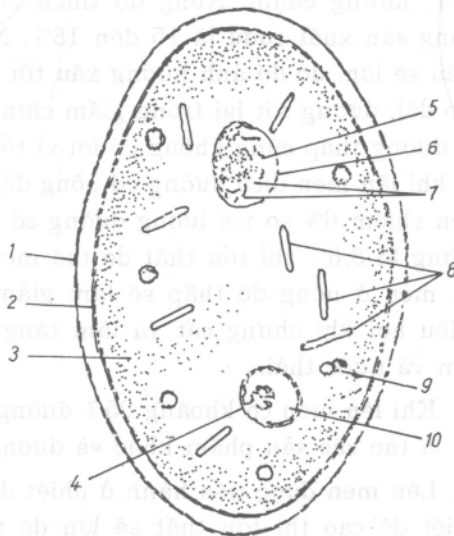
Tế bào nấm men có cấu tạo rất phức tạp (hình 8-1).

Tuy là có cấu tạo phức tạp nhưng người ta chia thành hai phần chính: vỏ tế bào và phần trong nội tế bào (vỏ và protoplasma).

Vỏ tế bào là một thành mỏng, trong suốt và có tính đàn hồi, có nhiệm vụ bảo vệ tế bào khỏi tác động bên ngoài; đồng thời điều chỉnh mức độ thẩm thấu chất dinh dưỡng và thải ra ngoài các sản phẩm trao đổi chất.

- Vỏ này được cấu tạo

chủ yếu từ polysaccarit kiểu hemixenluloza gồm glucan và manan. Ngoài ra thành vỏ tế bào còn chứa một lượng rất nhỏ chất béo, protit, chất khoáng và xitin. Thực ra thành tế bào gồm ba lớp: Lớp ngoài là màng nhẵn dày 10 đến 30 nm gồm chủ yếu lypoprotein ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Lớp tiếp theo chứa phức hợp manan protein dày 100 nm. Lớp trong cùng có thể là chất keo hoặc sợi li ti dày từ 10 đến 250 nm, cấu tạo từ những gốc glucan gồm 94% glucoza và khoáng 6% hexoamin.



Hình 8-1. Cấu tạo tế bào men.

1. Vỏ ngoài tế bào; 2. Vỏ trong tế bào; 3. Xitoplasma; 4. Valutin; 5. Nhân tế bào; 6. Vỏ nhân tế bào; 7. Cromoxom; 8. Mitokhondrin; 9. Riboxom; 10. Không bào

Ở vỏ này người ta phát hiện có hai vùng mang tính thấm thấu có chọn lọc đối với các chất khác nhau. Vỏ này chứa các lỗ có đường kính đến 3,6 nm, qua đó nước và các chất dinh dưỡng cần thiết cho tế bào được đi vào bên trong.

Các enzym được tách ra từ tế bào tập trung ở các lớp này, chúng phân ly các đường có phân tử lớn (maltoza, saccaroza) không có khả năng thấm thấu vào trong được. Nhờ đó các đường maltoza, saccaroza được đồng hóa.

- Vỏ trong của tế bào là màng plasma rất mỏng, dày khoảng 8 nm và cũng gồm ba lớp, được cấu tạo từ phức hợp lypoproteit, canxi và ribonucleoproteit. Chức năng chủ yếu của màng là điều chỉnh vận chuyển chất dinh dưỡng vào tế bào.

- Xitoplasma là hệ thống keo, độ nhớt của nó phụ thuộc vào thời kỳ sinh trưởng và các yếu tố sinh lý. Ở các tế bào non trẻ, độ nhớt của xitoplasma nhỏ hơn ở tế bào già, bảo đảm cho việc vận chuyển sản phẩm trao đổi chất được tốt hơn.

Chú ý rằng xitoplasma còn có tên chung là protoplasma. Protoplasma của nhân tế bào có tên riêng là nucleoplasma, còn nếu ở ngoài nhân thì gọi là xitoplasma.

- Valutin gồm các chất chứa nitơ, dẫn xuất của axit nucleic. Nó có quan hệ tới sinh trưởng của nấm men và xuất hiện trong thời kỳ sinh trưởng, nảy chồi hay tạo nang bào. Valutin nằm bên trong không bào, ở dạng hạt to (valutin nằm yên) hoặc nhiều hạt nhỏ phân bố xung quanh mặt bên trong của không bào (valutin hoạt động). Khi tiếp xúc với metylen xanh, valutin ở tế bào sống sẽ biến thành màu đỏ, còn ở tế bào chết sẽ biến thành màu xanh nhưng bản thân nấm men - không đổi màu.

- Nhân tế bào được bao bọc bởi màng 6. Bên trong chứa đầy nucleoplasma trong suốt và những sợi chỉ nhỏ dài gọi là cromoxom 7. Cromoxom cấu tạo từ protit và axit dezoxynucleic. Ngoài hai chất vừa kể, cromoxom còn chứa axit ribonucleic và các enzym. Cromoxom đóng vai trò quan trọng trong tế bào, thực hiện chức

năng di truyền và trao đổi chất, kiểm soát sự phân hóa tế bào và tổng hợp protit, lypoproteit và các quá trình khác, kể cả sự sinh sản. Quá trình này trôi xảy ra cùng với việc tách nhân làm hai, khi tạo nang bào nhân sẽ tách thành nhiều phần, tùy theo số nang bào tạo thành.

Nhân tế bào có hình tròn, đường kính từ 1 đến 2 μm . Nó bị ngăn cách với xitoplasma bởi hai lớp màng. Các màng này thông với nhau qua các lỗ có đường kính từ 30 đến 100 nm. Qua đó sự liên hệ giữa nucleoplasma và xitoplasma được thực hiện. Người ta cho rằng sự liên hệ này mang tính chọn lọc rất cao.

- Mitokhondrin 8 là những phần rất bé nhỏ ở xitoplasma, tựa các sợi có chiều rộng như nhau, 0,2 đến 0,5 μm nhưng khác nhau về chiều dài và có thể từ 0,4 - 1,0 μm . Mitokhondrin được cấu thành từ protit, axit ribonucleic và các hợp chất photpho. Chúng còn chứa các enzym thủy phân protit chất béo và glucit. Chức năng chủ yếu của mitokhondrin là ghép nối sự tổng hợp ATP và ADP với axit photphoric để tạo ra nguồn năng lượng cung cấp cho hoạt động sống của tế bào. Với ý nghĩa đó, mitokhondrin được gọi là "nhà máy điện" của tế bào.

- Riboxom 9 là xitoplasma có dạng túi nhỏ, cấu tạo từ lypoit, protit và axit ribonucleic. Đây là cấu tử nhỏ nhất ở tế bào, trong đó chứa phần chủ yếu của dịch axit ribonucleic và phức hệ của enzym. Phức hệ enzym này bảo đảm sinh tổng hợp các hợp chất quan trọng nhất của tế bào - trước hết là protit. Vì thế riboxom còn được gọi là "phân xưởng sản xuất protein".

- Không bào là một túi chứa đầy dịch tế bào. Tùy theo giai đoạn sinh trưởng, trong đó có thể có 1 hoặc 2 túi bé hơn. Ở các tế bào trẻ không bào ít xuất hiện, ở các tế bào già không bào trở nên lớn, có khi chiếm gần hết tế bào. Điều này là do trong quá trình trao đổi chất, không bào là chỗ tạm chứa các sản phẩm trung gian và sau đó thải vào protoplasma để chịu những biến đổi tiếp theo. Nhưng khi trao đổi chất kết thúc các chất không bị biến đổi sẽ tích

tụ trong không bào - đẩy protoplasma về phía thành tế bào.

Ở không bào là chỗ xảy ra các quá trình enzym sôi động để tạo ra các sản phẩm trung gian. Không bào cách biệt với xitoplasma bởi những màng lypoproteit.

Chú ý là tất cả các cơ quan chức năng của xitoplasma đều được đặt ở vị trí xác định. Vì thế bên trong tế bào có rất nhiều vách ngăn, hệ thống màng và kênh dẫn. Nhờ đó các phản ứng sinh học trong tế bào đều xảy ra theo trật tự nghiêm ngặt.

8.2.2. Thành phần hóa học và dinh dưỡng của nấm men

Thành phần hóa học và dinh dưỡng của nấm men phụ thuộc chủng giống, môi trường, trạng thái sinh lý cũng như điều kiện nuôi cấy. Men ép chứa trung bình 75% nước và 25% chất khô. Các chất khô của nấm men bao gồm các thành phần sau:

Protit $30 \div 50\%$, trung bình 40%

Gluxit $24 \div 40\%$, trung bình 30%

Chất béo $2 \div 5\%$, trung bình 4%

Chất khoáng $5 \div 11\%$, trung bình 9%.

Gluxit của nấm men chủ yếu là glucogen $(C_6H_{10}O_5)_n$, đây là chất dự trữ của tế bào. Theo thành phần cấu tạo thì glucogen giống như amylopectin nhưng khác là khối lượng phân tử lớn hơn. Hàm lượng của nó trong tế bào men có thể từ 0 đến 40% và tùy thuộc trước hết vào môi trường dinh dưỡng. Trong môi trường dư đường, lượng glucogen tăng đáng kể. Trong giai đoạn đầu của lên men nồng độ đường còn cao, nên nấm men chứa nhiều glucogen. Khi lượng đường giảm, nấm men sẽ sử dụng glucogen để duy trì sự sống. Dưới tác dụng của α -amylaza, glucogen sẽ biến thành maltoza và dextrin.

Protit chứa trong nấm men rượu thường vào khoảng 35 đến 40% và có đủ các axit amin không thay thế được. Về giá trị dinh dưỡng thì protit nấm men tương đương protit động vật nhưng giá

trị hơn protit thực vật. Ở nhiệt độ cao và bình thường, dưới tác dụng của proteaza có sẵn trong nấm men, protit sẽ biến thành pepton, peptit và axit amin. Chất béo là thức ăn dự trữ của nấm men và chứa chủ yếu trong nguyên sinh chất, hàm lượng khoảng 2 đến 5% khối lượng chất khô. Ở nấm men gia súc, hàm lượng chất béo có thể đạt 10 đến 20%. Trong nấm men còn chứa các chất tương tự chất béo như loxitin và sterin. Trong số đó quan trọng hơn cả là ecgosterin, chất này dễ biến thành vitamin D dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời và còn gọi là tiền vitamin D. Hàm lượng vào khoảng từ 0,3 đến 1,4% chất khô của nấm men.

Chất khoáng chiếm từ 5 đến 11%. Tuy với số lượng ít nhưng đóng vai trò vô cùng quan trọng trong hoạt động của tế bào men, đặc biệt là photpho. Photpho thường ở dạng liên kết hữu cơ và có trong thành phần của photphatit, nucleoproteit cũng như axit nucleic. Trong tế bào nấm men còn chứa các ion kali, canxi, magie, sắt, lưu huỳnh và axit silicic. Lưu huỳnh có trong thành phần protit ở dạng -SH hoặc -S-S-. Lưu huỳnh và sắt đều tham gia phản ứng oxy hóa khử. Sắt cùng với các chất vô cơ khác như Zn, Mn, Cu, Mg... là những chất không thể thiếu đối với nhiều enzym oxy hóa (oxydaza, katalaza peroxydaza). Magie cũng như lưu huỳnh và photpho còn có tác dụng làm hoạt hóa photphataza trong quá trình lên men. Canxi giúp và loại bỏ các chất độc thải ra khi lên men, đồng thời giúp cho tổng hợp protit, làm tăng quá trình oxy hóa và có tác dụng tạo thành một số vitamin.

Để đảm bảo cho sự sống, nấm men cần các vitamin B1 có trong thành phần của coenzym cacboxylaza. B2 có ở dạng este photphoric, axit nicotin có trong cozymaza v.v... Biotin và axit paraaminobenzoic là những chất kích thích cho sinh trưởng của nấm men. Trong tế bào nấm men chứa nhiều loại vitamin và với hàm lượng khá lớn nên hiện nay nấm men được xem là nguồn nguyên liệu quý trong sản xuất một số vitamin.

Trong điều kiện sản xuất rượu, nguồn thức ăn của nấm men

như glucit và chất khoáng thường có sẵn và đủ trong môi trường. Vitamin với số lượng rất ít thường được cung cấp từ chế phẩm amylaza đưa vào khi đường hóa. Riêng nguồn nitơ thường không đủ, phải được bổ sung từ ure hoặc amon sunphat. Theo nghiên cứu của Cônôvalốp, lượng nitơ hòa tan cần có trong canh trường lên men rượu phải vào khoảng 0,35 đến 0,4 g/l. Trong sản xuất rượu từ sắn khô hoặc ri đường, lượng nitơ thường không bảo đảm cho sinh trưởng của nấm men. Muốn lên men tốt và bình thường cần cho thêm vào dịch lên men một lượng nitơ từ 0,15 đến 0,2 g/l. Nếu thiếu nitơ nấm men sẽ phát triển chậm, thời gian lên men kéo dài, hiệu suất lên men giảm.

8.3. Nấm men dùng trong sản xuất cồn etylic

Trong sản xuất cồn, rượu vang và bia người ta hay dùng chủng *saccharomyces* và chia thành:

Lên men nổi mà đặc điểm của nó là trong giai đoạn lên men chính chúng tạo trên bề mặt một lớp bọt tương đối dày, trạng thái này được duy trì cho tới khi lên men gần kết thúc. Sau đó nấm men sẽ lắng dần nhưng chậm và không tạo thành lớp men xít, bám chắc ở đáy thùng.

Theo cấu trúc thì nấm men nổi thuộc dạng hạt, chúng ít liên kết nhau thành chuỗi, dạng bóng như nấm men chìm. Nấm men chìm chỉ phát triển trong môi trường lên men, chúng không tạo thành bọt dày trên bề mặt, lắng nhanh khi lên men kết thúc và tạo thành lớp men xít, bám chắc ở đáy thùng.

Đặc điểm nổi bật của nấm men chìm là một số chủng có chứa enzym α -galactozidaza nên lên men hoàn toàn đường rafinoza, còn đối với nấm men nổi thì chỉ một số ít chủng có khả năng chuyển hóa đường rafinoza thành rượu và cacbonic và chỉ 1/3.

Đa số nấm men bia, rượu vang đều thuộc nấm men chìm. Còn men rượu, men bánh mì và số ít men bia thuộc nấm men nổi. Thoạt

dầu loài người chỉ biết có nấm men nổi vì ràng lên men tất cả các dịch quả đều xảy ra ở nhiệt độ thường. Về sau do con người mong muốn trong nước uống cần chứa nhiều cacbonic nên mới tìm kiếm lên men ở nhiệt độ thấp.

Ngoài tính chất chung là nấm men có khả năng biến đường thành rượu và khí cacbonic, trong mỗi ngành sản xuất đều có những đòi hỏi đặc thù. Ví dụ nấm men dùng trong sản xuất cồn phải có khả năng lên men các đường nhanh và cặn triệt để cặn tốt; đồng thời tạo ít các sản phẩm trung gian và phụ. Nấm men dùng trong sản xuất bia và rượu vang phải cho sản phẩm mùi đặc trưng thơm ngon; đồng thời phải lắng tốt và giúp cho dịch lên men nhanh trong. Nấm men dùng trong sản xuất nấm men bánh mì phải có khả năng sinh khối lớn, khi lên men làm nở, xốp bánh và tạo hương vị thơm ngon. Nấm men dùng trong chăn nuôi gia súc phải có khả năng sinh khối lớn, đồng hóa được nhiều chất đường, axit hữu cơ, glycerin và phải chứa nhiều protein v.v...

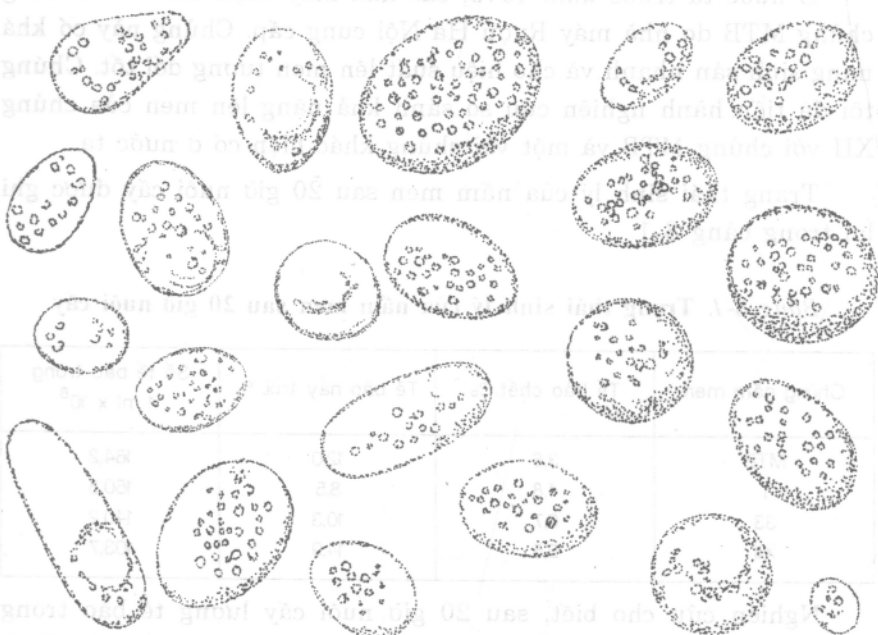
Do tính chất đa dạng cũng như truyền thống của sản xuất, nên trong mỗi ngành và ở mỗi nước người ta thường dùng một số chủng mang ký hiệu khác nhau nhưng cùng có những tính chất cơ bản giống nhau, thỏa mãn được yêu cầu của sản xuất.

Yêu cầu chung của nấm men dùng trong sản xuất cồn etylic là phải có năng lực lên men mạnh, biến đường thành rượu nhanh và hoàn toàn. Đồng thời phải ổn định và chịu được những biến đổi của canh trường.

Ở nước ta từ nhiều năm các nhà máy rượu ở các tỉnh phía Bắc hay dùng chủng MTB để lên men dịch đường từ tinh bột và chủng Rỉ để lên men từ rỉ đường. Các cơ sở sản xuất cồn ở các tỉnh phía Nam hay dùng nấm men khô bánh mì để lên men dịch rỉ đường.

Ở các nước thuộc Liên Xô cũ người ta có thể dùng một trong các chủng sau đây để lên men dịch đường từ nguyên liệu chứa tinh bột: II, XII, XV. M, R, S; còn lên men rỉ đường các nhà máy hay dùng các chủng IA, (Я), B, L, G-67, G-73.

Chủng XII phân lập được từ nấm men bánh mì, tế bào của chúng có hình ovan hoặc tròn (hình 8-2), kích thước khoảng 5 đến 8 μm , chúng sinh trưởng và phát triển khá nhanh. Chu kỳ sinh trưởng của một thế hệ là 1 giờ 39 phút.



Hình 8-2. Chủng XII sau 10 ngày nuôi trên môi trường nước malt - thạch.

Chủng XII có thể lên men được các đường glucoza, fructoza, saccaroza, maltoza, galactoza và 1/3 rafinoza. Chủng này không lên men được các đường lactoza, ksiloza, arabinoza và inulin. Nồng độ rượu trong dịch lên men có thể đạt tới 13% V.

Chủng M thu được vào 1905, do Ghenebec phân lập từ hỗn hợp của bốn chủng nấm men nổi. Chủng này dùng để lên men môi trường chứa hỗn hợp của các đường khác nhau. Chúng rất bền và ổn định, thích nghi được những điều kiện không bình thường trong

thực tế sản xuất. Chủng XV có tính chất tương tự chủng XII và hay dùng để lên men dịch đường hỗn hợp gồm tinh bột và rỉ đường.

Theo giáo sư Manxep thì chủng XII được xem là tốt nhất khi lên men dịch đường từ tinh bột ở các nhà máy rượu của Liên Xô cũ.

Ở nước ta trước năm 1975, các nhà máy rượu của ta chỉ dùng chủng MTB do nhà máy Rượu Hà Nội cung cấp. Chủng này có khả năng sinh sản nhanh và cho hiệu suất lên men tương đối tốt. Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu so sánh khả năng lên men của chủng XII với chủng MTB và một vài chủng khác hiện có ở nước ta.

Trạng thái sinh lý của nấm men sau 20 giờ nuôi cấy được ghi lại trong bảng 8-1.

Bảng 8-1. Trạng thái sinh lý của nấm men sau 20 giờ nuôi cấy

Chủng nấm men	Tế bào chết. %	Tế bào nảy trồi. %	Số tế bào trong 1 ml x 10^6
MTB	3,6	12,0	164,2
T	4,8	8,5	160,8
33	6,7	10,3	140,2
XII	2,5	14,9	103,7

Nghiên cứu cho biết, sau 20 giờ nuôi cấy lượng tế bào trong 1 ml đạt vào khoảng 100 đến 160 triệu/ml. Trong đó chủng MTB và T nhiều hơn chủng 33 và XII từ 1,1 đến 1,6 lần. Xét về hình thái thì cả bốn chủng đều có hình ôvan nhưng chủng XII có kích thước lớn và mập hơn so với các chủng khác.

Số lượng tế bào trong 1 ml là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng men giống. Tuy nhiên, khi dùng các chủng men khác nhau để lên men dịch đường, chúng ta không nên chỉ dừng lại ở số tế bào trong 1 ml mà phải căn cứ thêm vào các chỉ số của dịch lên men cuối cùng như độ cồn, hàm lượng đường và tinh bột sót trong giấm chín v.v...

Để xét xem chủng nào có khả năng cho hiệu suất lên men cao,

chúng tôi tiến hành thí nghiệm tiếp bằng cách nuôi cấy bốn chủng men giống trong những điều kiện như nhau, sau 20 giờ đem làm men giống với số lượng 10% so với dịch đường lên men. Sau 72 giờ lên men, chúng tôi đem phân tích các chỉ tiêu của giấm chín và tính lượng CO_2 thoát ra trong quá trình lên men.

Kết quả trung bình của đợt thí nghiệm được ghi lại trong bảng 8-2.

Bảng 8-2. Kết quả nghiên cứu một số chủng nấm men

Các chỉ tiêu	Chủng nấm men			
	XII	MTB	T	33
Nồng độ dịch đường hóa, % khối lượng	14,0	14,0	14,0	14,0
Chất khử tính theo glucoza, g/l	30,3	30,3	30,3	30,3
Độ chua, g H_2SO_4 /l	1,06	1,06	1,06	1,06
pH dịch đường hóa	4,95	4,95	4,95	4,95
Lượng CO_2 thoát ra sau 72 giờ g/200 ml	12,69	11,85	11,21	10,89
Độ chua giấm chín, g H_2SO_4 /l	1,51	1,67	1,85	1,92
pH giấm chín	4,66	4,50	4,55	4,42
Chất khử sót trong giấm chín, g/l	9,21	10,6	11,27	11,55
Nồng độ rượu, % V	7,12	6,73	6,45	6,30

Theo dõi quá trình lên men và căn cứ vào số liệu thu được, chúng tôi thấy chủng XII cho hiệu suất lên men cao hơn so với các chủng đem so sánh. Kết quả này đặt ra cho chúng tôi câu hỏi - Tại sao chủng MTB và T có số tế bào trong 1 ml nhiều hơn so với chủng XII nhưng lại cho hiệu suất lên men thấp? Điều này có thể do nhiều nguyên nhân và cần được nghiên cứu tiếp. Trước mắt chúng tôi đồng ý với tác giả Cudrasep là chủng XII có khả năng lên men dextrin nên làm tăng độ cồn trong giấm chín. Mặt khác do số tế bào nhiều nên lượng đường tiêu hao vào sinh khối tăng, do đó chủng MTB và T làm giảm độ cồn.

Chủng nấm men XII đã được áp dụng vào sản xuất ở một số nhà máy rượu, đã và đang đem lại hiệu quả cho sản xuất.

Trong sản xuất rượu từ rỉ đường ta quen dùng chủng IA(Я). Chủng này do Iacubopski phân lập từ thùng lên men rỉ đường. Chúng có khả năng chịu được áp suất thẩm thấu cao. Lên men được các đường glucoza, maltoza, fructoza, saccaroza, galactoza và 1/3 rafinoza. Chủng IA(Я) không có khả năng lên men dextrin và lactoza cũng như đường 5 cacbon.

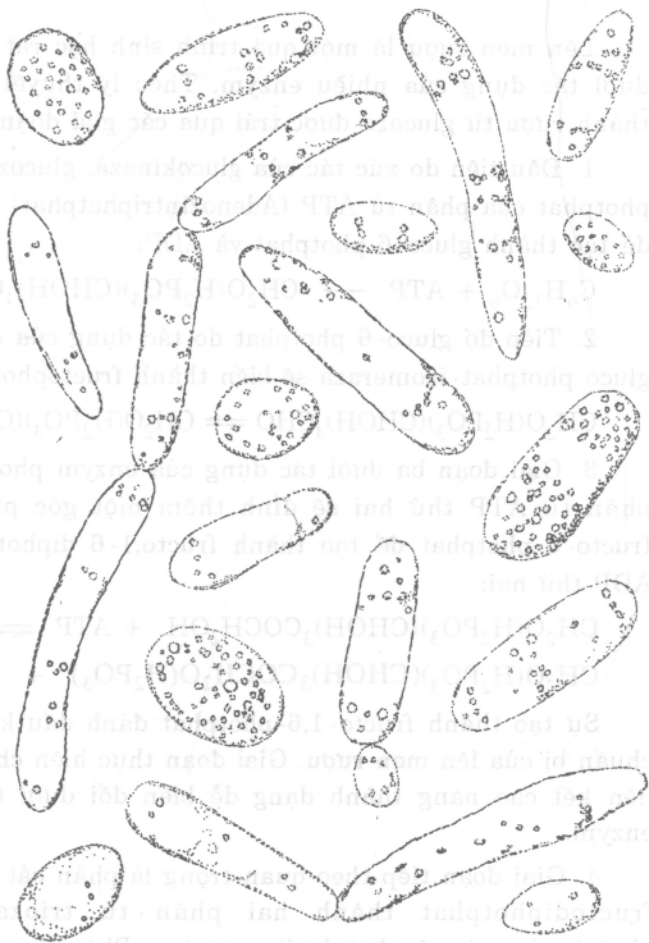
Chủng B có nguồn gốc thu được từ Hungari, chúng có khả năng lên men glucoza, fructoza, saccaroza, maltoza và 1/3 đường rafinoza.

Một số lớn nấm men dùng trong sản xuất rượu đều chỉ lên men được 1/3 rafinoza, vì rằng rafinoza được cấu tạo từ ba đường đơn là galactoza, glucoza và fructoza. Dưới tác dụng của enzym β -fructozidaza, đường rafinoza bị thủy phân thành fructoza và đường đôi melibioza. Trong nấm men rượu không chứa enzym melibiaza nên đường đôi không thể thủy phân thành galactoza và glucoza, do đó bị tổn thất.

Trên đây là một số chủng mà chúng tôi biết và có ít nhiều nghiên cứu, xin giới thiệu để bạn đọc tham khảo. Chúng ta đều biết rằng trong nhiều ngành sản xuất (chăn nuôi, trồng trọt, công nghiệp, vi sinh vật) năng suất và hiệu suất cao hay thấp phần lớn do chủng giống quyết định. Trong lĩnh vực sản xuất cồn etylic, muốn đạt hiệu suất cao trước hết phải tuyển chọn chủng nấm men có hoạt lực lên men mạnh. Trong điều kiện nước ta hiện nay, theo chúng tôi có thể dùng chủng XII để lên men dịch đường tinh bột và chủng IA để lên men rỉ đường. Mặt khác, cần tiếp tục giao lưu quốc tế để có được nhiều chủng tốt đang dùng trong sản xuất, đem về nghiên cứu và so sánh để tìm ra các chủng tốt hơn. Song song với công việc trên, chúng ta cần phải phân lập từ các dạng nguyên liệu của nước ta (cỏ, đất, bột và các loại quả), đồng thời nhanh chóng sử dụng những thành quả của sinh học phân tử để di truyền, tách gen và lai tạo ra các chủng mới vừa có hoạt lực cao, vừa thích nghi với điều kiện tự nhiên ở nước ta.

Cũng cần chú ý rằng, vì sinh vật nổi chung và nấm men nói riêng luôn tìm cách thích nghi với môi trường và điều kiện mới. Một chủng tốt ở nơi này chưa hẳn đã thích nghi ngay với môi trường khác, vì vậy trước khi áp dụng cần nghiên cứu kỹ đặc tính sinh lý và khả năng sinh sản cũng như lượng sản phẩm tạo thành.

Trong sản xuất có những trường hợp ngẫu nhiên người ta tìm được chủng tốt hơn bằng cách phân lập từ các thùng lên men. Chủng XII và IA đã nhận được bằng con đường kể trên. Rất mong các nhà theo dõi sản xuất đừng bỏ qua các cơ may có thể đến.



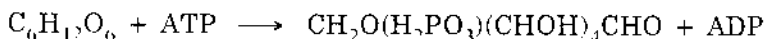
Hình 8-3. Chủng *saccharomyces cerevisiae* của Mỹ sau 10 ngày nuôi trên canh trường nước malt và thạch.

Chủng này lúc đầu dùng lên men rí đường, sau áp dụng vào lên men đường tinh bột.

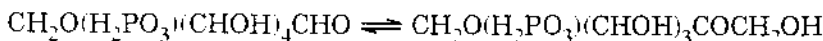
8.4. Cơ chế hóa sinh học của lên men rượu

Lên men rượu là một quá trình sinh học rất phức tạp, xảy ra dưới tác dụng của nhiều enzym. Theo lý thuyết hiện đại, sự tạo thành rượu từ glucoza được trải qua các giai đoạn sau đây:

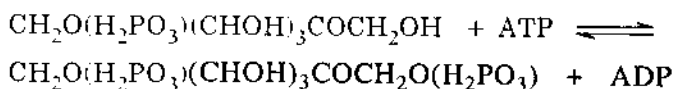
1. Đầu tiên do xúc tác của glucokinaza, glucoza kết hợp với gốc photphat của phân tử ATP (Adenozintriphotphat) trong tế bào men để tạo thành gluco-6 photphat và ADP:



2. Tiếp đó gluco-6 photphat do tác dụng của enzym đồng phân gluco photphat-izomeraza sẽ biến thành fructophotphat:

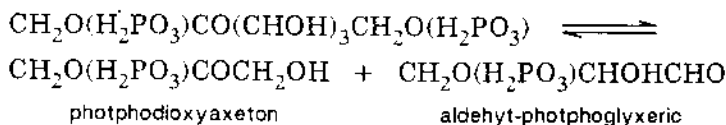


3. Giai đoạn ba dưới tác dụng của enzym photphofructokinaza, phân tử ATP thứ hai sẽ đính thêm một gốc photphat nữa vào fructo-6-photphat để tạo thành fructo,1-6 diphotphat và phân tử ADP thứ hai:



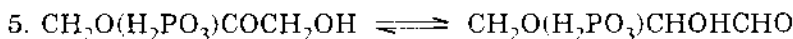
Sự tạo thành fructo-1,6-photphat đánh dấu kết thúc giai đoạn chuẩn bị của lên men rượu. Giai đoạn thực hiện chuyển hóa các nối liên kết cao năng thành dạng dễ biến đổi dưới tác dụng của các enzym.

4. Giai đoạn tiếp theo quan trọng là phân cắt mạch cacbon của fructodiphotphat thành hai phân tử trioza: gồm aldehyt photphoglyxeric và photphodioxyaxeton. Phản ứng này được xúc tác bởi aldolaza:



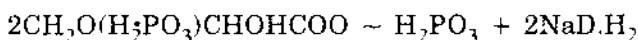
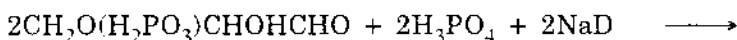
Vai trò chủ yếu trong các biến đổi tiếp theo của quá trình lên men rượu là aldehyt, photpho glyxeric, nhưng trong dịch đang lên

men chúng chứa rất ít. Điều này được giải thích bằng hiện tượng đồng phân dưới tác dụng của enzym triphotphat-izomeraza:



Như vậy là trong quá trình lên men aldehytriphosphoglyxeric luôn được tạo thành từ photphôxyaxeton.

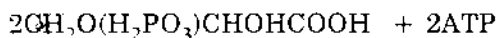
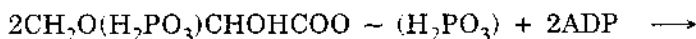
6. Giai đoạn tiếp theo là hai phân tử aldehyt photphoglyxeric bị oxy hóa. Phản ứng này có sự tham gia của axit photphoric trong canh trường nhờ xúc tác của enzym triphotphatdehydrônaza-coenzym của nó là NAD (Nicotinamit-Adenin-Dinucleotit).



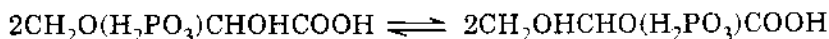
1-3 diphosphoglyxeric axit.

Phân tử 3-phosphoglyxero aldehyt kết hợp với photphat, còn hydro chuyển sang coenzym NAD. Năng lượng được giải phóng do oxy hóa 3-phosphoglyxero aldehyt sẽ tích tụ trong liên kết cao năng của axit 1,3-diphosphoglyxeric mới tạo thành.

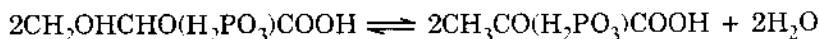
7. Tiếp theo với sự tham gia của photphoglyxeratkinaza, gốc photphat chứa cao năng của axit 1,3-diphosphoglyxeric sẽ chuyển vào phân tử ADP. Kết quả 3-phosphoglyxeric được tạo thành, còn ADP nhận thêm năng lượng và biến thành ATP:



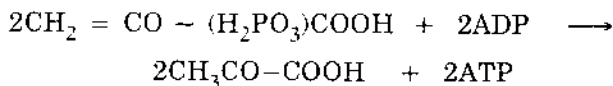
8. Dưới tác dụng của enzym photphoglyxeromutaza, gốc axit photphoric sẽ chuyển từ vị trí cacbon thứ ba sang cacbon thứ hai. Kết quả là 3-phosphoglyxeric biến thành axit 2-phosphoglyxeric theo phản ứng:



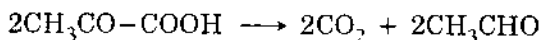
9. Dưới tác dụng của enolaza, axit 2-phosphoglyxeric sẽ mất nước và biến thành axit photphopyrovic:



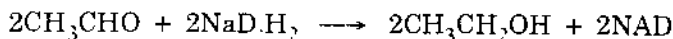
10. Axit photphopyrovic rất không bền nên dễ bị mất gốc axit photphoric do enzym pyrovatkinaza và do đó axit pyrovic được tạo thành:



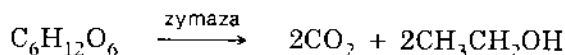
11. Tới đây axit pyrovic bị decacboxyl để tạo thành aldehyt axetic:



12. Giai đoạn cuối cùng của lên men rượu là aldehyt axetic bị khử bởi NAD.H_2 .



Phương trình tổng quát của lên men rượu như sau:



Trong quá trình lên men rượu, mỗi phân tử gam glucoza sẽ giải phóng ra khoảng 50 kcal. Năng lượng này được nấm men sử dụng chừng 20 kcal. Số còn lại sẽ thải ra canh trường do đó làm tăng nhiệt độ dịch lên men. Theo Euler, nhiệt này chiếm 28 kcal/phân tử glucoza.

8.5. Sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian của quá trình lên men rượu

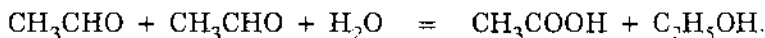
Trong quá trình lên men, ngoài sản phẩm chính là rượu và CO_2 , còn tạo ra nhiều chất khác. Bằng phân tích sắc ký khí người ta phát hiện trên 50 chất khác nhau, nhưng có thể xếp thành 4 nhóm chính: axit, este, aldehyt và alcol có số cacbon lớn hơn 2 (alcol cao phân tử).

8.5.1. Sự tạo thành axit

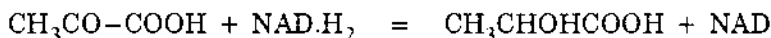
Trong quá trình lên men rượu luôn tạo các axit hữu cơ bao gồm

axetic, lactic, xitric, pyrovic và succinic nhưng nhiều hơn cả là axetic và lactic.

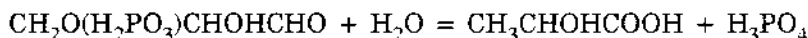
- Axit axetic có thể được tạo thành từ phản ứng oxy hóa khử giữa hai aldehyt axetic - một phân tử bị oxy hóa, phân tử thứ hai sẽ bị khử:



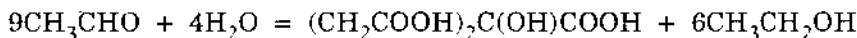
- Axit lactic được tạo bởi pyrovat dehydronaza theo phản ứng:



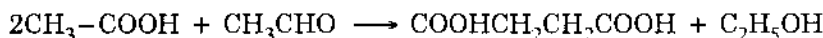
hoặc:



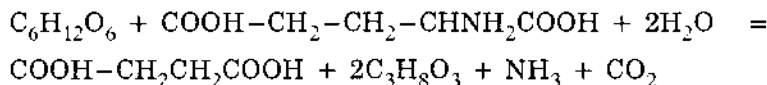
- Axit xitric theo Laphon được tạo từ aldehyt axetic. Phản ứng được biểu diễn tổng quát như sau:



- Axit succinic được tạo thành có thể theo hai con đường: dehydro và trùng hợp hai phân tử axit axetic với một phân tử aldehyt axetic:



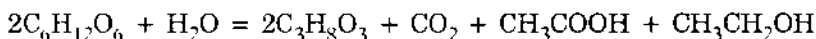
(Theo Gvalaze và Genevua). Hoặc được tạo thành do deamin axit glutamic. Trường hợp này aldehyt glyxeric tiếp nhận hydro và tạo ra cả glyxerin. Phương trình tổng quát tạo axit succinic cùng với glyxerin từ axit glutamic được biểu diễn như sau:



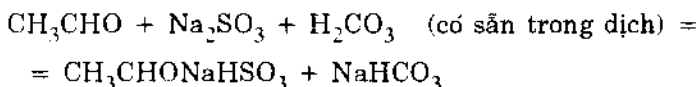
Glyxerin và aldehyt đều là sản phẩm trung gian của lên men rượu. Trong điều kiện lên men nhằm mục đích chỉ thu alcol etylic, người ta khống chế pH dịch lên men trong giới hạn 4,5 ÷ 5,2. Với điều kiện ấy lượng glyxerin tạo thành chỉ chiếm 0,3 ÷ 0,45% dịch giấm chín, tương ứng tiêu tốn đường 2 ÷ 3% so với lượng đưa vào. Nếu tăng pH tới kiềm thì lượng đường tham gia tạo glyxerin tăng tới 23,4% và đường tạo aldehyt nhưng chưa chuyển thành rượu đạt

11,9%. Tinh chất này lần đầu được áp dụng để sản xuất glycerin trong Đại chiến Thứ II nhằm làm nguyên liệu cho thuốc súng.

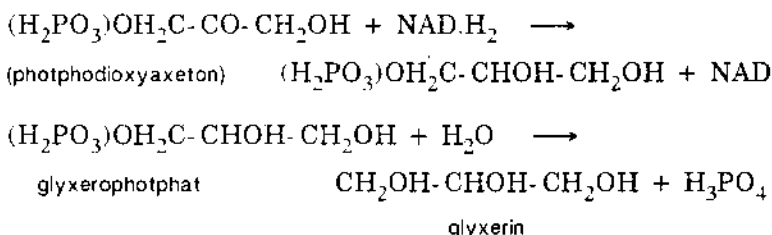
Lên men đường xảy ra theo phương trình:



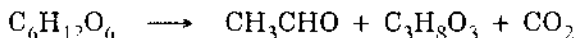
Người ta còn dùng sunfit natri cho vào canh trường lên men nhằm điều chỉnh sản phẩm tạo thành. Khi cho sunfit natri thì:



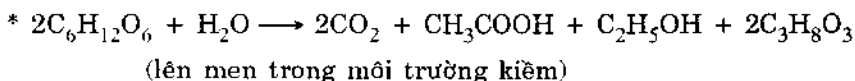
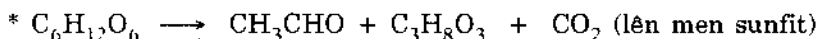
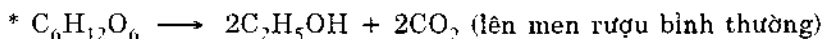
Do kết hợp với Na_2SO_3 nên aldehyt axetic không thể nhận hydro từ $NAD.H_2$ nữa, thay vào đó là photphodioxyaxeton sẽ nhận H_2 từ $NAD.H_2$ để tạo ra glyxerophotphat. Tiếp theo do xúc tác của photphataza glyxerophotphat sẽ giải phóng axit photphoric và tạo ra glycerin theo các phản ứng sau:



Như vậy khi canh trường chứa sunfit natri, sự lên men sẽ xảy ra theo phản ứng:



Nghĩa là tùy theo điều kiện của môi trường, sự lên men có thể xảy ra theo ba kiểu khác nhau:

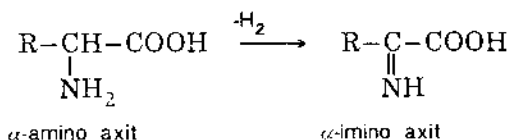


8.5.2. Sự tạo thành alcol cao phân tử

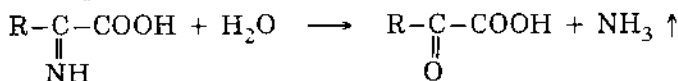
Một trong những sản phẩm phụ quan trọng được tạo thành trong quá trình lên men rượu, là các rượu có số nguyên tử cacbon lớn hơn hai (quen gọi chung là alcol cao phân tử). Các alcol này tuy ít nhưng nếu lẫn vào cồn etylic sẽ gây ảnh hưởng xấu tới chất lượng sản phẩm. Đó là các alcol propylic, izobutylic, izoamyllic, amylic v.v... Hàm lượng của chúng chỉ vào khoảng $0,4 \div 0,5\%$ so với cồn etylic nhưng gây cho sản phẩm mùi hôi khó chịu. Các alcol này có tên chung là dầu fusel và vì có mùi hôi khó chịu nên còn gọi là dầu khét.

Nguyên nhân hình thành dầu fusel là do nấm men sử dụng nitơ của các axit amin. Cơ chế tạo thành theo Erlix gồm các phản ứng sau:

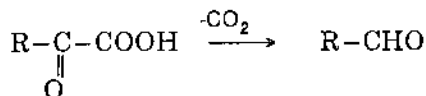
Đầu tiên các axit amin bị khử mất H_2 và tạo imino axit:



Tiếp theo imino axit kết hợp với nước để tạo thành xeto axit và giải phóng NH_3 :



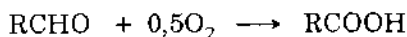
Sau đó dưới tác dụng của cacboxylaza xeto axit bị mất CO_2 và tạo thành aldehyt:



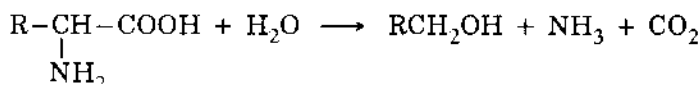
Tiếp theo aldehyt có thể bị khử để tạo ra alcol:



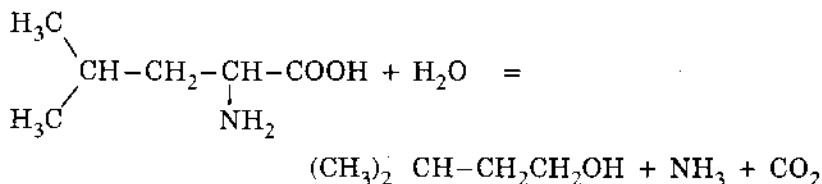
hoặc bị oxy hóa để tạo ra các axit tương ứng:



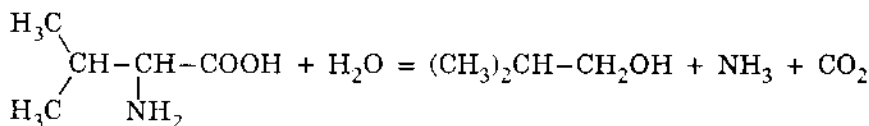
Phương trình tổng quát quá trình tạo thành alcol có phân tử cao được đơn giản theo phản ứng:



Dầu fusel là hỗn hợp của nhiều alcol khác nhau nhưng chủ yếu là izoamylic và izobutylic. Izoamylic được tạo thành từ izoloxin:



Còn izobutylic được tạo thành từ izovalin:

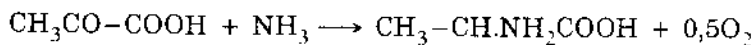


Nhiều nhà nghiên cứu cho rằng, sự tạo thành alcol cao phân tử chỉ phụ thuộc vào cấu trúc và hàm lượng axit amin có trong dịch lên men. Theo giáo sư Vexelop, việc tạo thành alcol cao phân tử xuất hiện chủ yếu trong giai đoạn sinh trưởng của nấm men. Ông cho biết nếu tăng hoặc giảm nhiệt độ lên men so với bình thường thì alcol cao phân tử được tạo thành sẽ ít đi. Trong giới hạn pH từ 3 đến 5, alcol cao phân tử tích tụ nhiều hơn, nhưng nếu tiếp tục tăng pH thì hàm lượng dầu fusel sẽ giảm. Sục khí vào canh trường sẽ làm tăng sự tạo thành alcol cao phân tử. Bổ sung axit amin vào môi trường chứa saccaroza cũng làm tăng lượng alcol cao phân tử. Sự tạo thành dầu fusel sẽ tăng cùng với tăng sinh khối nấm men và bằng cách hạn chế sinh trưởng của nấm men chúng ta có thể giảm được lượng fusel tạo thành.

Thực tiễn cho biết còn thô từ nguyên liệu tinh bột luôn chứa dầu fusel nhiều hơn so với còn thô từ rỉ đường. Điều này được giải thích là do nguyên liệu tinh bột chứa protit và axit amin nhiều hơn.

Như vậy rõ ràng là sự tạo thành alcol cao phân tử có liên quan mật thiết đến sự có mặt của axit amin.

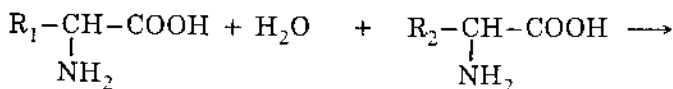
Tuy nhiên, các nhà nghiên cứu sau này bổ sung và giải thích cơ chế tạo thành alcol cao phân tử khác so với giả thuyết của Erlix. Như đã trình bày ở trên, theo sơ đồ Erlix, sự tạo thành alcol cao khi lên men là do axit amin bị mất NH_3 , sau đó mất CO_2 và cuối cùng aldehyt bị khử để tạo ra alcol. Theo sơ đồ này việc tạo thành alcol được xem là tự nó, không phụ thuộc vào lên men rượu. Không có một trong các phản ứng trung gian nào ngoài việc biến xeto axit thành alcol và CO_2 . Như vậy không phù hợp với nhiệt động học. Sự thực quá trình trên là nội năng, nó đòi hỏi nguồn năng lượng nào đó của quá trình khác. Hơn nữa trong canh trường không phát hiện NH_3 . Giả sử rằng NH_3 thoát ra từ axit amin sẽ kết hợp với sản phẩm lên men rượu là axit pyrovic để tạo thành alanin theo phản ứng:

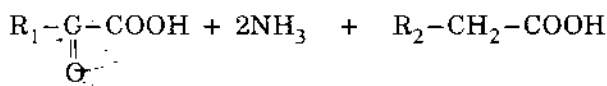


Nhưng phản ứng này cũng không thể xảy ra và xem như một quá trình nội năng tự nó.

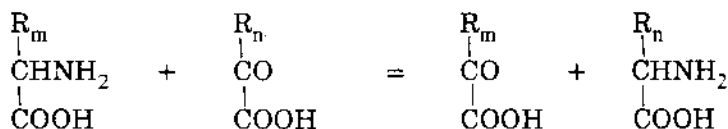
Do đó theo sơ đồ Erlix không thể giải thích việc tạo thành alcol cao phân tử từ axit amin và tổng hợp axit amin trong nấm men là quá trình tự nó được.

Cũng theo sơ đồ Erlix, nguồn nitơ làm dinh dưỡng cho nấm men chỉ duy nhất là amoniac, nhưng theo Toren, axit amin là nguồn nitơ tốt hơn so với amoniac, trong đó chúng được nấm men đồng hóa trực tiếp mà không qua sự phân hủy. Theo ông, 50% nitơ cần thiết cho nấm men được nhận trực tiếp từ axit amin, 40% nhận từ deamin theo sơ đồ Erlix và chỉ có 10% nhận được từ amoniac được tạo ra do quá trình oxy hóa khử lẫn nhau giữa các axit amin. Theo Sticlet, quá trình này xảy ra theo phản ứng sau:

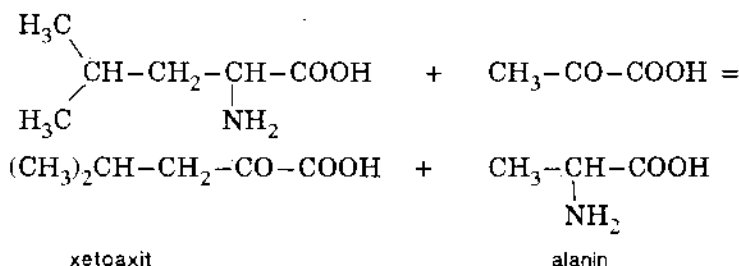




Braunstein và Crisman còn cho rằng, trong quá trình lên men còn có sự hoán vị giữa nhóm $-CHNH_2$ của axit amin và nhóm $-CO$ của xeto axit để tạo ra axit amin và xeto axit mới, nhờ đó làm tăng hoạt động của các enzym amin hóa:



Cụ thể cho kiểu phản ứng này là sự tạo thành alanin từ loxin và axit pyrovic:

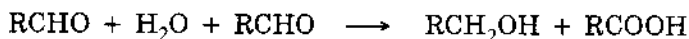
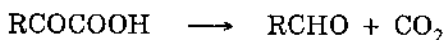


Xeto axit mới tạo thành sẽ đóng vai trò tương tự axit pyrovic trong chu trình lên men rượu để tạo alcol cao phân tử và CO_2 . Tất cả các biến đổi tiếp theo như decarboxy xeto axit để tạo aldehyt cao phân tử và sau đó bị khử để tạo thành alcol đều là kết quả của sự oxy hóa diphotphoglyxeroaldehyt thành axit photphoglyxeric. Mọi phản ứng đều được thực hiện do xúc tác của hệ enzym như trong quá trình lên men đường.

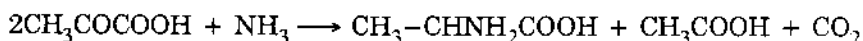
Như vậy việc tạo thành alcol cao phân tử gắn liền với sự biến đổi của axit amin xảy ra trong điều kiện yếm khí chỉ có thể đồng thời với lên men rượu.

Giáo sư Vexelop nghiên cứu cường độ tạo dầu fusel trong điều kiện lên men bia đã đi tới kết luận, sự tạo thành dầu fusel không

thể tách rời sự có mặt của axit pyrovic và xeto axit. Theo ông, sự tạo thành alcol cao phân tử trong sự có mặt của axit pyrovic xảy ra theo phản ứng Kanixiarô:



Theo giáo sư Vexelop, alcol cao phân tử không phải là sản phẩm được tổng hợp từ sản phẩm trung gian của quá trình lên men rượu, cũng không phải là sản phẩm "lên men axit amin", mà là sản phẩm trao đổi chất của nấm men, trong đó axit pyrovic đóng vai trò cầu nối. Kết hợp trao đổi glucit và nitơ trong tế bào men, nhờ đó bảo đảm cho sự sống bình thường của chúng trong điều kiện yếm khí không có oxy tự do trong canh trường. Trong giai đoạn tạo sinh khối xảy ra nhiều quá trình sinh tổng hợp khác nhau, trong đó "xương sống cacbon" của các axit amin có thể được kiến tạo dựa trên các sản phẩm biến đổi glucit. Bằng nghiên cứu của mình và cộng sự, Crêtôvit đã tổng hợp trực tiếp được alanin từ axit pyrovic:



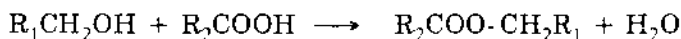
Bằng con đường tương tự, nhiều axit amin cũng được tạo thành như valin và izoloxin v.v.. chúng là tiền đề để tạo ra các alcol bậc cao sau này. Thực ra quá trình amin hóa axit pyrovic xảy ra rất phức tạp, qua nhiều giai đoạn có liên hệ chặt chẽ với nhau. Axit axetic mới tạo thành có hoạt tính cao lại là động năng cho các quá trình khác tiếp theo.

Trên đây chúng tôi giới thiệu những ý kiến và quan điểm khác nhau về cơ chế tạo thành dầu fusel trong quá trình lên men rượu để bạn đọc cùng tham khảo. Rất mong nhận được những thông tin mới từ bạn đọc.

8.5.3. Sự tạo thành este

Song song với việc tạo ra axit và alcol, dưới tác dụng của enzym esteraza của nấm men, các axit và alcol sẽ tác dụng lẫn nhau để tạo

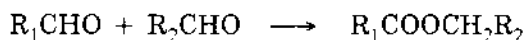
ra những este tương ứng. Có thể viết dưới dạng tổng quát sau:



Ví dụ khi alcol etylic kết hợp với axit axetic ta sẽ nhận được este etylic hay axetat etyl:

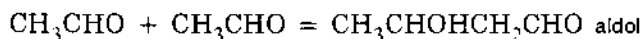


Sự tạo thành este xảy ra sẽ dễ hơn khi các cấu tử tham gia phản ứng là các aldehyt:

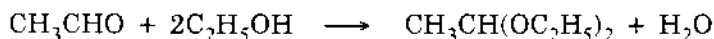


Khi đó tất cả những biến đổi của aldehyt sẽ được thực hiện mà không cần tiêu tốn năng lượng.

Các aldehyt cũng có thể ngưng tụ với nhau để tạo ra chất mới, vừa chứa nhóm $-CHO$ vừa chứa nhóm $-OH$:



Khi tác dụng với alcol etylic, aldehyt axetic sẽ biến thành diethyl axetal:



Dựa vào những kết quả thu được trong các phòng thí nghiệm cũng như trên thực tế sản xuất, người ta nhận thấy rằng, lượng sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian tạo thành trong quá trình lên men, phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố. Chúng thay đổi theo nhiệt độ, pH, mức độ sục khí cũng như chủng giống nấm men và cả nguồn nguyên liệu

8.6. Các vi khuẩn có hại cho nấm men

Dịch đường lên men không chỉ là môi trường dinh dưỡng tốt cho nấm men mà còn cho các vi sinh vật khác. Trong nước, trong không khí cũng như trong các nguyên liệu tham gia vào thành phần môi trường luôn chứa một lượng vi sinh vật có hại cho lên men rượu. Các vi sinh vật nếu lẫn vào dịch đường, chúng sẽ biến đường thành các sản phẩm khác và do đó làm giảm hiệu suất lên men

rượu.

Trong điều kiện lên men rượu, thường gặp nhất là các vi khuẩn sau đây:

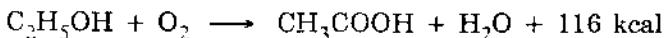
Vi khuẩn lactic: Đây là loại vi khuẩn yếm khí. Chúng gồm hai loại: lactic điển hình và không điển hình. Lactic điển hình sẽ biến đường thành sản phẩm duy nhất là axit lactic:



Vi khuẩn lactic không điển hình sẽ sử dụng đường và tạo ra axit lactic, ngoài ra còn tạo ra một lượng đáng kể các chất khác như alcol, axit axetic, cacbonic, diaxetyl và axetoin. Các sản phẩm được tạo ra phụ thuộc rất nhiều vào nhiệt độ, độ pH, mức độ yếm khí v.v... Vì vậy các sản phẩm tạo thành không ổn định.

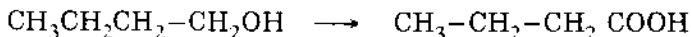
Lactic điển hình có nhiệt độ tối ưu trong khoảng $49 \div 51^\circ\text{C}$, còn lactic không điển hình có nhiệt độ tối ưu trong khoảng $37 \div 38^\circ\text{C}$.

Vi khuẩn axetic: Vi khuẩn axetic là vi khuẩn hiếu khí cũng không tạo thành bào tử, có nhiệt độ tối ưu trong khoảng $20 \div 35^\circ\text{C}$, tối đa 42°C . Chúng phát triển tốt trong canh trường có nồng độ alcol thấp, oxy hóa alcol thành axit axetic:

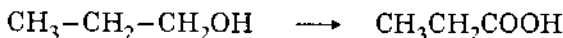


Trong môi trường không có alcol, vi khuẩn axetic sẽ oxy hóa đường thành axit gluconic.

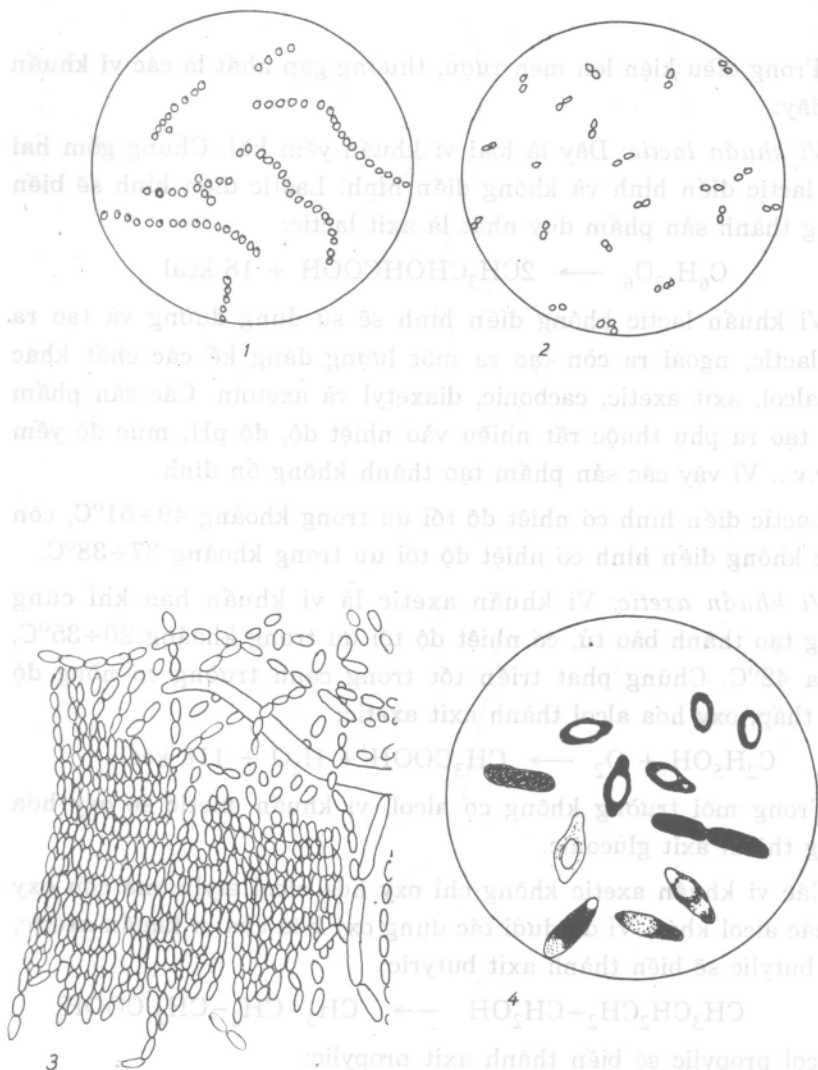
Các vi khuẩn axetic không chỉ oxy hóa alcol etylic mà còn oxy hóa các alcol khác. Ví dụ dưới tác dụng oxy hóa của vi khuẩn axetic, alcol butylic sẽ biến thành axit butyric:



và alcol propylic sẽ biến thành axit propylic:



Vi khuẩn axetic thường phát triển trên bề mặt dịch lên men để lâu ngày, trong điều kiện lên men rượu chúng ít có khả năng phát triển vì vi khuẩn này rất hiếu khí.



Hình 8-4. Các vi khuẩn có hại cho nấm men

1. Streptococcus thermophilus lactis;
2. Streptococcus lactis;
3. Màng vi khuẩn axetic;
4. Vi khuẩn butyric.

Vi khuẩn butyric và các vi sinh vật khác. Nếu lấy dịch chưa lên men đem cấy trên hộp Petri trong môi trường thích hợp ta sẽ phát hiện nhiều vi khuẩn có khả năng tạo bào tử. Chúng gồm vi khuẩn butylic, axeton butylic, subtilis v.v... Nhưng trong điều kiện lên men rượu, tất cả các vi khuẩn này không thể phát triển vì pH tối thích của chúng đều nằm trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu. Vì vậy nhiễm khuẩn trong điều kiện lên men rượu chủ yếu là vi khuẩn lactic. Vi khuẩn này không có khả năng tạo nang bào vì vậy khi thanh trùng dịch đường gây men giống chỉ cần tiến hành ở nhiệt độ 85°C và giữ khoảng một giờ. Với điều kiện kể trên vi khuẩn không nang bào đã bị diệt nhưng giữ được nhiều vitamin trong môi trường. Còn thanh trùng ở 100°C vi khuẩn có nang bào vẫn không bị diệt mà vitamin lại bị phá hủy nhiều hơn.

8.7. Nuôi cấy nấm men giống

Nấm men giống thường được chuẩn bị theo hai giai đoạn: giai đoạn trong phòng thí nghiệm tới 10 lít và giai đoạn trong sản xuất - nhân giống tới số lượng đủ 10% so với thùng lên men.

8.7.1. Nhân giống trong phòng thí nghiệm

Nhân giống này gọi là nuôi cấy nấm men thuần khiết. Môi trường nuôi cấy phải chứa đầy đủ chất dinh dưỡng và được tiệt trùng. Nếu có điều kiện thì môi trường từ 10 ml đến 1 lít nên chuẩn bị từ hỗn hợp nhiều nguyên liệu khác nhau: khoai tây, bột ngô, gạo nếp... Để đơn giản và trong điều kiện hiện nay, môi trường có thể chỉ dùng malt đại mạch.

Malt đại mạch đem nghiền nhỏ sau đó dùng tỉ lệ nước/malt là 5/1, khuấy đều rồi tăng dần nhiệt độ tới 48 ÷ 53°C, giữ 20 đến 30 phút tạo điều kiện cho proteaza trong malt thủy phân protit thành axit amin. Tiếp đó tăng nhiệt độ lên 60 ÷ 62°C và giữ 30 phút để amylaza biến tinh bột thành đường. Trường hợp nhà máy có chế phẩm *San Super* thì nên cho vào dịch đường hóa một ít để glucoza

được tạo thành nhiều hơn. Tiếp đó tăng nhiệt độ dịch đường hóa tới $70\div 72^{\circ}\text{C}$ và duy trì cho tới khi đường hóa hoàn toàn.

Đường hóa xong đem lọc qua giấy hoặc vải, đồng thời dùng nước và axit sunfuric điều chỉnh tới nồng độ $13\div 16\%$ khối lượng và tới $\text{pH} = 4,5\div 5,0$. Dịch đường trong đã có nồng độ và pH kể trên được phân phối vào ống nghiệm, mỗi ống 10 ml, bình tam giác 250, mỗi bình 90 ml, và bình cầu 900 ml. Nút bình bằng bông không thấm nước và đem tiệt trùng ở áp suất $0,5\div 0,7 \text{ kg/cm}^2$ trong thời gian 30 phút. Trường hợp nhà máy không có nồi chịu áp suất thì có thể thanh trùng bằng hơi nước khoảng 1 giờ, sau đó để nguội, 24 giờ sau đem thanh trùng lần thứ hai.

Đối với môi trường 10 lít, chúng ta có thể lấy trực tiếp ở thùng đường hóa trong sản xuất, lọc qua bỏ bớt các bã thô rồi cũng đem tiệt trùng như trên. Chú ý, nếu nồng độ đường trong dịch lên hơn 60 g/lít thì dịch đường hóa cần thêm giờ để bảo đảm nồng độ đường cho nấm men phát triển.

Chế độ nhân giống có thể thực hiện theo bảng 8-3.

Bảng 8-3. Chế độ nhân giống

Lượng dịch trong bình	Nồng độ, %	pH	Nhiệt độ, $^{\circ}\text{C}$	Thời gian, giờ
trong ống nghiệm 10 ml	$13 \div 14$	$4,5 \div 5,0$	30 ± 1	24
90 ml trong bình 250 ml	$13 \div 14$	$4,5 \div 5,0$	30 ± 1	$18 \div 24$
900 ml trong bình 2 lít	$13 \div 16$	$4,5 \div 5,0$	30 ± 1	$18 \div 24$
9 lít trong thùng 15 lít	$15 \div 18$	$4,8 \div 5,2$	$30 - 32$	$15 \div 18$

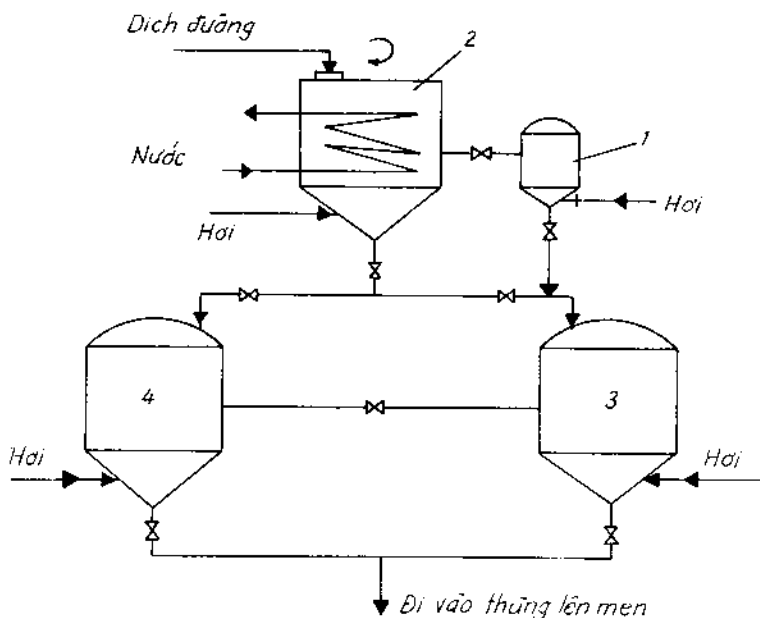
Chú ý: Khi chuyển giống từ bình nọ sang bình kia cần tuân thủ nghiêm các điều kiện kỹ thuật vi sinh vật. Mặt khác, cách nhân giống 1:10 là để dễ nhớ dễ làm, khi có kinh nghiệm ta có thể thay đổi tỉ lệ nhân giống giữa các giai đoạn.

8.7.2. Nhân giống trong sản xuất

Môi trường dùng để gây men trong sản xuất không có gì đặc

biệt, thường lấy trực tiếp ở thùng đường hóa, nhưng cần đường hóa thêm để bảo đảm hàm lượng đường 60 g/l trở lên. Nhân giống có thể tiến hành gián đoạn, bán liên tục hoặc liên tục.

Sau đây là sơ đồ và cách tiến hành gây men bán liên tục ở Công ty Rượu Đồng Xuân Phú Thọ.



Hình 8-5. Sơ đồ nuôi cấy men giống bán liên tục

1. Thùng gây men 150 l cấp I chứa 100 l dịch.

2-Thùng đường hóa thêm và xử lý dịch đường.

3 và 4. Hai thùng gây men cấp II có dung tích bằng dung tích thùng đường hóa thêm và đều bằng 10% so với thùng lên men.

Dịch đường hóa được cho vào thùng đường hóa thêm 1 và duy trì đường hóa tiếp theo khoảng 1,5 đến 2 giờ. Sau đó dùng dung dịch axit sunfuric điều chỉnh tới pH $\approx 4,0 \div 3,8$, rồi dùng hơi tăng đến nhiệt độ $85 \div 86^\circ\text{C}$ để thanh trùng 1 giờ. Tiếp theo dùng nước làm lạnh tới nhiệt độ 30°C , tháo xuống thùng 3 hoặc 4 cũng với men giống ở thùng 2. Ở 3 hoặc 4 nấm men sẽ phát triển gián đoạn

và kéo dài khoảng 15 đến 18 giờ. Nhiệt độ được điều chỉnh bằng dội nước lạnh bên ngoài thùng.

Song song với phát triển nấm men ở 3 hoặc 4, ở thùng 1 tiếp tục lấy dịch đường hóa vào và cũng tiến hành đường hóa thêm và xử lý như trên. Sau 15÷18 giờ phát triển, người ta chia dịch men giống chứa đều ở 3 và 4 rồi cũng chia dịch đường ở 1 vào 3 và 4 và để cho nấm men phát triển thêm 5 đến 8 giờ. Vì lúc này lượng men giống ở 3 và 4 chiếm tới 50%. Sau 5 đến 8 giờ men giống ở 3 và 4 đã chuẩn bị xong, tháo 50% lượng men ở 3 và 4 vào thùng lên men rồi lại cho tiếp dịch đường đã chuẩn bị ở 1 vào, và cứ thế tiếp tục. Chất lượng men giống được xem là bình thường nếu thỏa mãn các điều kiện sau:

- Số tế bào trong 1 ml chiếm 100÷120 triệu.
- Số tế bào nảy chồi chiếm 10÷15%
- Số tế bào chết không quá 5%.
- Độ chua dịch men giống tăng không quá 0,1°, tương đương 0,25 g H₂SO₄/lít so với độ chua dịch đường trước khi gây men (pH ≈ 4,0).
- Mức 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 từ bình 10 lít vào thùng 2. Thời gian phát triển giống ở 2 là gián đoạn và cũng kéo dài 15÷18 giờ, còn phát triển men giống ở 3 và 4 là liên tục. Vì vậy sơ đồ trên được gọi là gây men giống bán liên tục.

Sau mỗi chu kỳ, thiết bị, van, đường ống phải được vệ sinh sạch và thanh trùng rồi mới tiếp tục chu kỳ sau.

Trường hợp men giống bị nhiễm ít nhưng do chưa chuẩn bị kịp giống của giai đoạn trước ta có thể xử lý như sau:

Dùng axit sunfuric đã pha loãng 8÷10 lần cho vào dịch men đang khuấy cho tới khi pH của dịch đạt 2,8÷3,0, giữ khoảng 1÷2

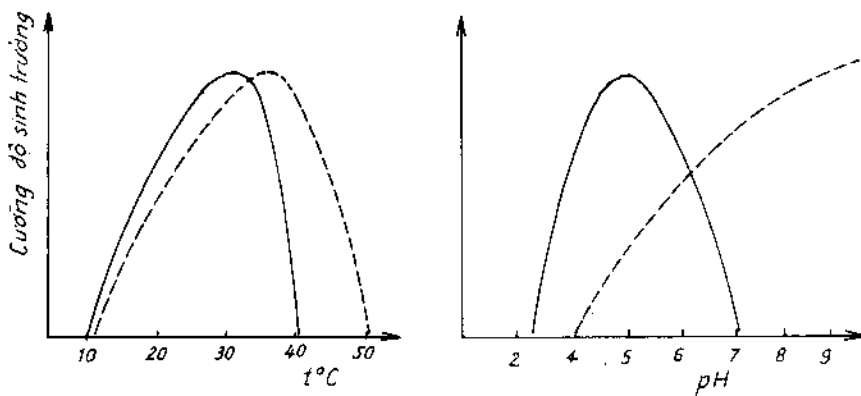
giờ. Trong điều kiện đó tạp khuẩn và các tế bào men yếu sẽ bị diệt. Tiếp đó dùng bicacbonat natri điều chỉnh pH về 4,5÷5,0 rồi đem làm giống cho các thùng lên men, nhưng phải tăng số lượng 15÷20% so với bình thường.

Chúng ta cũng có thể dùng nấm men đang phát triển ở thùng lên men tốt nào đó và đem xử lý như trên để làm giống cho thùng lên men tiếp theo.

8.8. Các yếu tố hóa học và lý học ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển và lên men

8.8.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Mỗi vi sinh vật đều có nhiệt độ tối ưu cho phát triển của chúng. Đối với nấm men *saccharomyces*, nhiệt độ tối ưu nằm trong giới hạn 28÷32°C. Tuy nhiên, nếu bắt đầu lên men ở nhiệt độ thấp thì khả năng lên men sẽ cao và kéo dài hơn. Mặt khác, nếu có điều kiện làm lạnh dịch đường tới 20÷22°C sẽ hạn chế được phát triển của tạp khuẩn. Sau 8 đến 10 giờ nhiệt độ lên men sẽ tăng đến 28 ÷ 30°C, tiếp đó cần làm lạnh để ổn định nhiệt độ trong giới hạn tối



Hình 8-6. Ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến phát triển của nấm men ——— và tạp khuẩn - - - - -

ưu. Ở nhiệt độ cao, hoạt tính của nấm men sẽ giảm nhanh nhưng chủ yếu là dễ bị nhiễm lactic và nấm men hoang dại. Ở nhiệt độ 30°C, men hoang dại phát triển nhanh hơn *sacchazomyces* 2 đến 3 lần, còn ở nhiệt độ 35÷38°C chúng phát triển nhanh gấp 6 đến 8 lần. Mặt khác, khi lên men ở nhiệt độ cao sẽ tạo nhiều este aldehyt và tổn thất rượu theo CO₂ sẽ tăng.

8.8.2. Ảnh hưởng của pH

Nồng độ ion H⁺ trong canh trường có ảnh hưởng lớn đến hoạt động của nấm men. Chúng có khả năng làm thay đổi điện tích các chất của vỏ tế bào, làm tăng hoặc giảm mức độ thẩm thấu các chất dinh dưỡng cũng như chiều hướng của quá trình lên men. Mỗi vi sinh vật chỉ có thể hoạt động tốt trong trạng thái ion nhất định - trạng thái này lại phụ thuộc vào pH của canh trường.

Trong điều kiện lên men rượu, pH tối ưu để tạo alcol etylic là 4,5÷5,0. Đối với dịch đường từ nguyên liệu tinh bột thường không chế ở pH = 4,8÷5,2, nhằm kết hợp giữ cho amylaza tiếp tục chuyển hóa tinh bột và dextrin thành đường lên men được. Nếu tăng pH thì dễ bị nhiễm khuẩn, glycerin sẽ tạo nhiều hơn và do đó làm giảm hiệu suất lên men. Chính vì vậy khi gây men giống trong điều kiện sản xuất, người ta điều chỉnh pH tới 3,8÷4,0 để hạn chế phát triển của vi khuẩn lactic và nấm men hoang dại.

Hình 8-6 cho biết, ở pH ≤ 4,2 nấm men phát triển tuy chậm hơn so với ở pH = 4,5÷5,0 nhưng tạp khuẩn hầu như không phát triển. Tới lúc nào đó nấm men đã phát triển được nhiều và đủ mạnh ta tăng pH đến tối ưu cho nấm men phát triển nhanh hơn. Lúc này điều kiện cũng tốt hơn cho các tạp khuẩn nhưng vì nấm men đã nhiều và đủ mạnh để lấn át nên tạp khuẩn cũng khó gây tác hại cho lên men.

Phương pháp này được áp dụng để gây men trong điều kiện sản xuất và gọi là nuôi cấy nấm men thuần khiết tự nhiên.

Chú ý rằng, khi cho axit sunfuric vào dịch đường nhưng chúng

không ở dạng tự do mà liên kết hóa học với các muối, đồng thời giải phóng axit hữu cơ và photphoric tự do mà chủ yếu ở dạng KH_2SO_4 và NaH_2PO_4 .

Như đã biết, ảnh hưởng tới hoạt động của nấm men là do ion H^+ gây nên nhưng giữa ion H^+ (pH) và lượng axit đều có tương quan nhất định đối với một dung dịch nào đó, ví dụ cùng một pH nhưng độ chua của dịch đường hóa từ ngô bao giờ cũng lớn hơn từ sắn. Trong thực tế sản xuất không phải cơ sở nào cũng có điều kiện đo pH, mà thường chỉ xác định độ chua. Đối với một dung dịch nào đó thì pH có thể xem như gần ổn định còn độ chua lại thay đổi nhiều - phụ thuộc vào mức độ nhiễm khuẩn của nguyên liệu và dịch lên men. Khi nhiễm khuẩn sẽ tạo axit hữu cơ có độ phân ly thấp nên ít làm thay đổi pH. Vì vậy trong sản xuất rượu không chỉ xác định pH mà luôn kèm theo xác định độ chua.

Độ chua có thể biểu diễn theo độ hoặc theo gam axit/lít.

Một độ chua được biểu diễn bằng 1 ml dung dịch NaOH có nồng độ 1 N vừa đủ để trung hòa axit tự do chứa trong 20 ml dịch.

Còn nhiều nhà máy của ta thường biểu diễn độ chua bằng gam H_2SO_4 /lít dịch. Tính ra ta thấy 1° chua $\approx 2,45$ g/l.

8.8.3. Ảnh hưởng của nồng độ dịch lên men

Nồng độ dịch đường quá cao sẽ dẫn đến làm tăng áp suất và làm mất cân bằng trạng thái sinh lý của nấm men. Kết quả là rượu nhiều sẽ ức chế không những các tạp khuẩn mà cả nấm men. Mặt khác đường nhiều sẽ dẫn đến tổn thất hoặc phải kéo dài thời gian lên men. Ngược lại nếu nồng độ dịch đường thấp sẽ không kinh tế vì sẽ làm giảm năng suất thiết bị lên men, mặt khác sẽ tổn hơi khi chưng cất và tăng tổn thất rượu trong bã rượu và nước thải.

Bình thường người ta khống chế nồng độ chất khô của dịch đường từ 16 đến 18% (tùy theo mức độ thuần khiết), tương đương 13+15% đường, để sau khi lên men sẽ nhận được nồng độ rượu trong giấm chín là 8,5 đến 9,5% V.

Ở các nhà máy rượu của ta nhiều nơi chỉ khống chế nồng độ

dịch đường 13÷14% chất khô, độ rượu trong giấm chín chỉ đạt 6,5÷7,5% V.

Bằng nghiên cứu của mình, chúng tôi đã tăng được nồng độ tinh bột trong dịch cháo sắn tới 14,7 g/100 ml, tương đương 16,5% chất khô. Sau lên men nồng độ rượu trong giấm chín đạt 9,5÷10% V.

Nghiên cứu đã được áp dụng ở Công ty Rượu Đồng Xuân Phú Thọ. Hiện nay độ rượu bình quân trong giấm chín đạt 9% V.

8.8.4. Ảnh hưởng của một số hóa chất và chất sát trùng

Trong điều kiện sản xuất dù có vệ sinh sạch đến mấy cũng khó bảo đảm vô trùng tuyệt đối, vì vậy cần phải dùng chất sát trùng để ngăn ngừa và hạn chế tạp khuẩn. Có thể dùng nhiều hóa chất khác nhau như clorua vôi, formalin hay fluosilicat natri. Tùy theo chất lượng của hóa chất mà dùng nhiều hay ít, cốt sao hạn chế được phát triển của tạp khuẩn nhưng không làm ảnh hưởng xấu tới hoạt động của nấm men.

Khi dùng formalin hay fluosilicat natri, nồng độ không vượt quá 0,02% so với dịch lên men.

Ảnh hưởng của một số axit tới nấm men có thể xem trong bảng 8-4.

Bảng 8-4. Ảnh hưởng của một số axit tới nấm men

Axit	Nồng độ				Thời gian làm tiêu diệt, giờ
	làm ngừng sinh trưởng		tiêu diệt men		
	%	mol/l	%	mol/l	
Clohydric	0,14	0,038	0,72	0,195	0,46
Sunfuric	0,39	0,039	1,30	0,132	2,04
Photphoric	0,30	0,031	2,00	0,204	1,28
Axetic	0,75	0,125	3,00	0,500	1,25
Lactic	0,90	0,100	3,00	0,333	1,27

Tùy theo tính chất và mức độ phân ly của mỗi axit mà tác hại của chúng lên nấm men sẽ không giống nhau.

Ngoài các hóa chất kể trên, trong dịch đường lên men luôn chứa một lượng furfural, melanoidin, đều ít nhiều ảnh hưởng tới nấm men.

Sự có mặt của furfural có thể dẫn đến hạn chế khả năng nảy chồi và kích thích tế bào, gây tạo các hạt trong không bào. Furfural chứa nhiều trong mật rỉ có thể làm giảm khả năng tạo rượu và làm tăng các tạp chất, đồng thời làm giảm hoạt độ maltaza và zymaza của nấm men.

Với nồng độ 0,002% thể tích dịch, furfural ảnh hưởng xấu tới sinh trưởng và trạng thái sinh lý của dịch lên men khi chứa 4 đến 6 triệu tế bào trong ml, nhưng khi dịch lên men chứa 90 triệu/ml - nồng độ furfural 0,006% mới ảnh hưởng tới sinh lý nấm men.

Hàm lượng furfural trong mật rỉ thường vào khoảng 6 đến 8 mg/100 g chất khô. Nếu mật rỉ pha loãng tới 20÷22% thì nồng độ sẽ khoảng 15÷2 mg/100 ml (0,0015 ÷ 0,002%). Trong điều kiện lên men với tỉ lệ men giống lớn hơn 10%, ảnh hưởng của furfural xem như không đáng kể.

Melanoidin có ảnh hưởng không giống nhau đối với các chủng men. Nó ảnh hưởng xấu đến sinh sản của chủng B và IA chỉ trong 12 giờ đầu, nhưng với chủng Γ -176 và Γ -202, melanoidin ảnh hưởng suốt trong thời gian nhân giống 24 giờ, số tế bào ít hơn 1,3 đến 2 lần so với môi trường chứa 0,005÷0,3 g/100 ml.

Caramelan không bị hấp thụ trên bề mặt nấm men nhưng với nồng độ 0,005% sẽ làm nhiều tế bào bị chết.

8.8.5. Ảnh hưởng của sục khí

Biết rằng sục khí để hòa tan oxy vào dịch đường sẽ giúp cho nấm men phát triển nhanh hơn. Tuy nhiên theo một số nhà nghiên cứu, sục khí không cần thiết đối với dịch đường từ nguyên liệu tinh bột. Sục khí sẽ làm tăng lượng rượu bay hơi. Mặt khác nếu dư sẽ

dẫn đến tạo nhiều sinh khối và aldehyt, do đó làm giảm hiệu suất lên men rượu. Thực tiễn sản xuất ở Công ty Rượu Đồng Xuân cho biết, không cần sục khí vào dịch đường. Một lượng nhỏ oxy sẽ được hòa tan trong thời gian khuấy và làm lạnh, đủ bảo đảm cho sinh trưởng phát triển và lên men. Với tỉ lệ men giống 10%, sau 50 giờ lên men nồng độ biểu kiến của dịch đã giảm tới số không đối với hầu hết thùng lên men. Sau 70÷72 giờ nồng độ rượu trong giấm chín đạt trung bình 9% V, đường sót chỉ vào khoảng 0,3÷0,5%.

8.8.6. Ảnh hưởng của nguồn nitơ bổ sung

Ở nước ta còn được sản xuất chủ yếu từ nguyên liệu sắn. Do trong sắn chứa ít protit nên lượng nitơ trong dịch đường hóa không bảo đảm cho phát triển của nấm men.

Các kết quả nghiên cứu việc bổ sung nitơ vào dịch lên men của chúng tôi được trình bày trong bảng 16.

Bảng 8-5. Kết quả nghiên cứu việc bổ sung nitơ vào dịch lên men

Các chỉ tiêu	Mẫu kiểm chứng không bổ sung N	Nguồn nitơ từ	
		(NH ₄) ₂ SO ₄	(NH ₂) ₂ CO
Nồng độ chất khô dịch đường, %	16,5	16,5	16,5
Đường khử tính theo maltoza g/100 ml	4,09	4,09	4,09
pH dịch đường hóa	5,26	5,26	5,26
pH giấm chín	4,55	4,00	4,93
Tăng độ chua - "0"	0,31	0,42	0,12
Độ khô biểu kiến giấm chín	-0,35	-0,40	-0,77
Chất khử sót, %	0,43	0,34	0,14
Tinh bột sót, %	0,05	0,046	0,042
Nồng độ rượu trong giấm chín, % V	9,66	9,78	10,04
Hiệu suất rượu so với lý thuyết, %	91,21	92,35	94,80

Kết quả thu được cho biết, protit của sắn không bảo đảm cho phát triển và lên men được bình thường. Việc bổ sung nitơ với số lượng 30 mg/100 ml cho phép rút ngắn thời gian từ 84 xuống 60 giờ, đồng thời lên men cũng tốt và đạt hiệu quả cao hơn mẫu đối chứng. Trong đó nguồn nitơ từ ure cho kết quả tốt hơn.

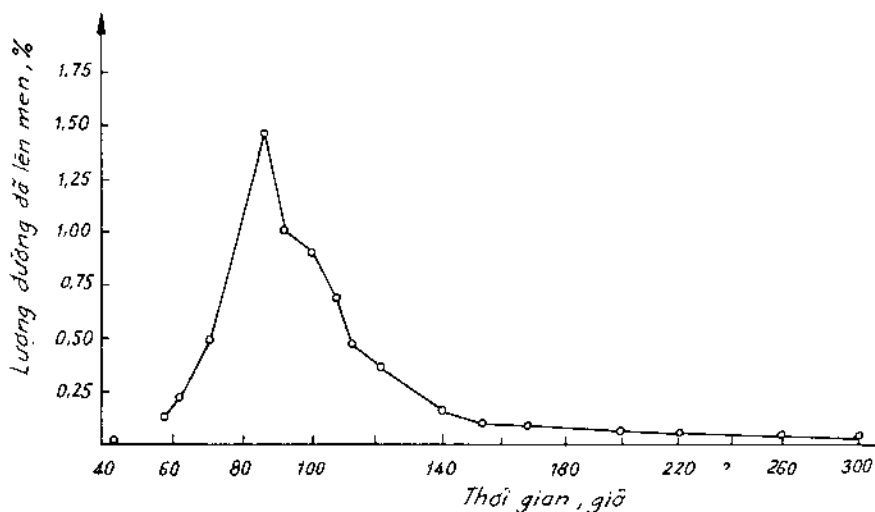
8.9. Tiến hành lên men rượu

Đường hóa xong, dịch đường được làm lạnh tới nhiệt độ lên men và bơm vào thùng cùng với 10% men giống. Ở đây nấm men sẽ phát triển, chuyển hóa đường thành rượu và CO_2 ; đồng thời dưới tác dụng của amylaza, dextrin tiếp tục biến thành đường lên men được - glucoza và maltoza.

8.9.1. Động học của quá trình lên men

Tốc độ của quá trình lên men có thể xác định trực tiếp bằng lượng đường được lên men, hoặc gián tiếp xác định lượng rượu tạo thành và lượng CO_2 thoát ra trong một đơn vị thời gian. Cũng có thể xác định nhanh tốc độ lên men bằng cách đo nồng độ biểu kiến của dịch lên men.

Để theo dõi quá trình lên men được rõ ràng, Lêbêdép đã dùng tỉ lệ men giống rất ít, theo dõi lượng đường giảm trong từng giờ và biểu diễn theo % so với tổng lượng đường có trong dịch thí nghiệm.



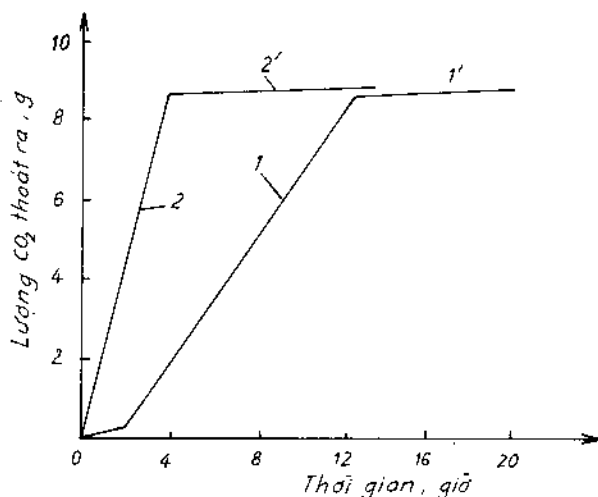
Hình 8-7. Đường biểu diễn lên men (theo Lêbêdép)

Theo hình 8-7 ta nhận thấy lên men được chia thành 3 giai đoạn: lên men sơ bộ, lên men chính và lên men phụ.

Trong giai đoạn đầu, thời gian kéo dài gần 60 giờ đặc trưng cho thời kỳ tiềm phát, lượng đường được lên men rất ít. Giai đoạn hai kéo dài khoảng từ giờ thứ 60 đến giờ thứ 120, sinh trưởng của nấm men và lên men tăng nhanh, đạt tới cực đại - đặc trưng cho thời kỳ lên men chính. Giai đoạn ba đặc trưng cho lên men phụ kéo dài, tốc độ lên men rất chậm vì lượng đường trong dịch còn rất ít, các dextrin chưa kịp biến thành đường.

Trong điều kiện sản xuất, lượng men giống đưa vào nhiều (8+10%) nên tốc độ lên men xảy ra rất nhanh. Trung bình mỗi giờ ở giai đoạn lên men chính nồng độ đường giảm 1%. Thời gian tiềm phát phụ thuộc tỉ lệ men giống đưa vào, thường chỉ 5+8 giờ. Tiếp đó chuyển sang lên men chính, cuối cùng là lên men phụ. Thời gian lên men phụ dài hay ngắn phụ thuộc chủ yếu lượng enzym có khả năng phân cắt nối α -1,6 glucosit. Vì rằng dextrin chỉ có thể lên men sau khi đã thủy phân thành glucoza hoặc maltoza. Điều này không xảy ra đối với lên men ri đường.

Tốc độ lên men chính phụ thuộc vào lượng men giống, còn tốc độ lên men phụ chỉ phụ thuộc số α -1,6 glucosit và hoạt độ enzym thủy phân nó. Điều này được thể hiện ở hình 8-8.

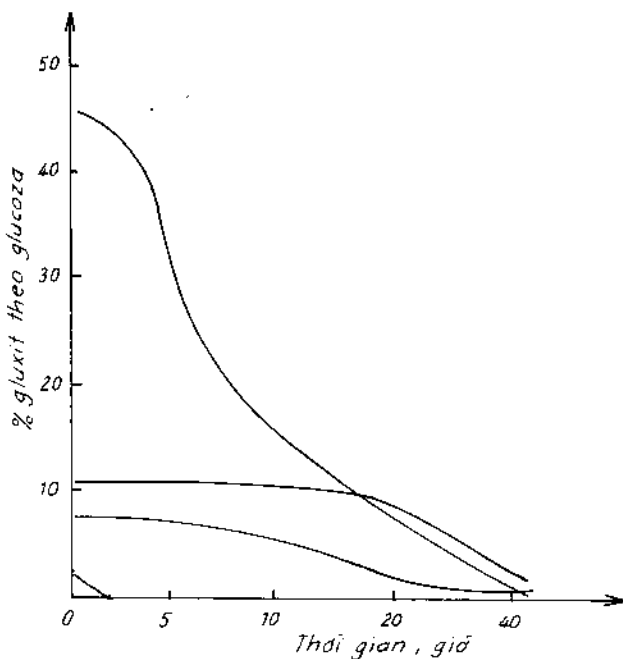


Hình 8-8. Sự phụ thuộc lượng men giống khi lên men
 1. Lên men với 2 gam men trong 200 ml
 2. Lên men với 20 gam men trong 200 ml dịch đường

Đường cong 1 cho biết thời kỳ tiềm phát kéo dài khoảng 2 giờ, sau đó lên men đều đều cho tới khi 92% đường được biến thành rượu và CO_2 . Tiếp đó tốc độ lên men giảm rõ rệt. Thời gian lên men chính kéo dài khoảng 9 giờ. Thời gian lên men phụ kéo dài 8 giờ. Lên men với số lượng lớn men giống được biểu diễn ở đường cong 2, giai đoạn tiềm phát không xảy ra, lên men chính xảy ra rất nhanh và kéo dài 4 giờ, sau đó tốc độ lên men giảm và chuyển sang lên men phụ. Thời gian cũng kéo dài 8 giờ và bằng so với trường hợp dùng ít men giống. Như vậy khi tăng số lượng men giống sẽ rút ngắn được thời gian lên men sơ bộ và lên men chính. Còn muốn rút ngắn thời gian lên men phụ thì cần tăng lượng glucoamylaza. Theo Phênixôva, tăng glucoamylaza trong dịch thủy phân cho phép giảm thời gian lên men chỉ còn 24 giờ.

Sự lên men dịch đường hóa bằng amylaza của thóc mầm có những khác biệt so với dịch đường hóa bằng amylaza của nấm mốc. Sự khác biệt đó được thể hiện ở hình 8-9 và 8-10.

Hình 8-9 cho biết, khi đường hóa bằng amylaza của mầm đại mạch, glucoza được lên men nhanh



Hình 8-9. Sự lên men khi đường hóa bằng amylaza của mầm đại mạch (Theo Dekenbrock)

và chỉ sau 2 giờ trong dịch không còn.

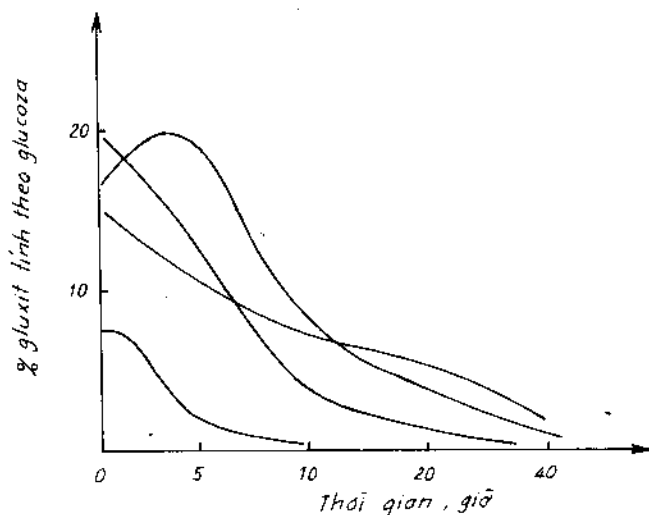
Tiếp đó lên men một lượng lớn maltoza, còn dextrin và trisaccarit được lên men chậm và ít.

Khác với dịch đường hóa bằng *amylaza*

nấm mốc *A. oryzae*, đầu tiên glucoza được lên men nhưng 10 giờ sau mới hết. Trisaccarit được lên men nhiều hơn so với lượng mới tạo thành, còn maltoza lúc bắt đầu lên men có tăng đôi chút, sau đó giảm nhanh.

Lúc đầu sự lên men xảy ra nhanh hơn trong dịch đường hóa bằng thóc mầm nhưng sau một thời gian ngắn, khoảng 10 giờ, tốc độ lên men lại xảy ra ngược lại và kết quả cuối cùng bao giờ cũng đạt cao hơn ở dịch đường hóa bằng *amylaza* của nấm mốc *A. oryzae*.

Đối với dịch đường hóa bằng *amylaza* của vi sinh vật nói chung và nấm mốc nói riêng, hiệu quả cũng tương tự *A. oryzae*, tuy thời gian lên men có dài ngắn khác nhau và phụ thuộc hoạt độ glucoamylaza chứa trong chế phẩm. Điều này được thể hiện trong bảng 8-6.



Hình 8-10. Sự lên men khi đường hóa bằng *amylaza* của *A. oryzae*

Bảng 8-6. Kết quả lên men với hỗn hợp chế phẩm *A.oryzae* và *A.awamori*

Các chỉ tiêu	Tỉ lệ oryzae: awamori		
	4 : 0	3 : 1	1 : 3
	Hoạt độ: đv/gam tinh bột		
	Hd α = 6,93 Glu = 4,0	Hd α = 5,84 Glu = 7,50	Hd α = 3,12 Glu = 14,5
Nồng độ chất khô, %	16,50	16,54	16,60
Chất khử theo maltoza, g/l	47,3	41,6	35,5
pH dịch đường hóa	5,29	5,27	5,25
Độ chua sau lên men tăng so trước đó, g/l	0,75	0,76	0,76
Đường sót trong giấm chín, %	0,75	0,53	0,46
Nồng độ rượu, % V	9,14	9,56	9,62

Số liệu trong bảng 8-6 là kết quả lên men dịch cháo sắn khi đường hóa bằng hỗn hợp chế phẩm thô của *A. oryzae* và *A. awamori* với số lượng 4% so với lượng tinh bột trong dịch.

Số liệu thu được hoàn toàn khẳng định vai trò quyết định của glucoamylaza trong đường hóa và lên men.

8.9.2. Các thiết bị và sơ đồ công nghệ lên men

Lên men có thể tiến hành theo sơ đồ gián đoạn, bán liên tục hoặc liên tục.

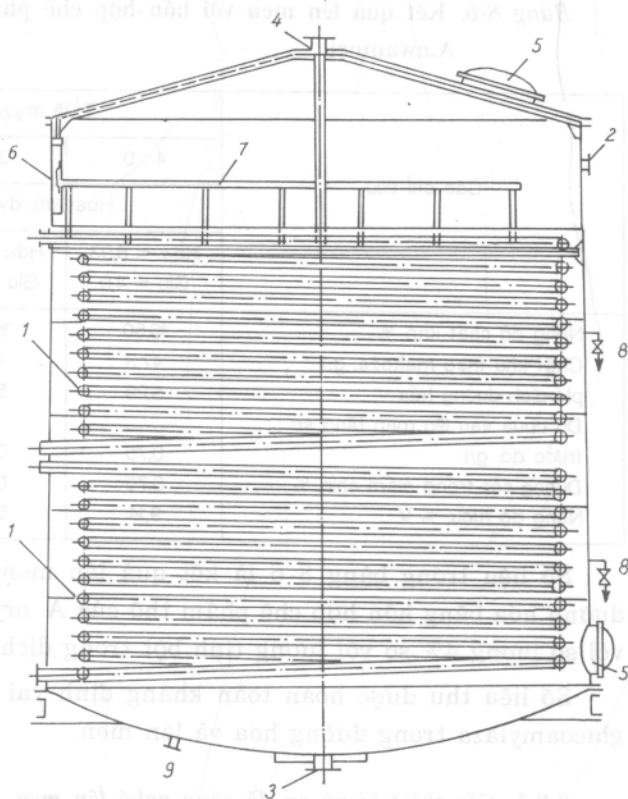
8.9.2.1. Lên men gián đoạn

Thùng lên men hay còn gọi là thùng ủ thường chế tạo bằng tôn đen, chiều dày tôn phụ thuộc kích thước thùng lớn hay bé, có thể từ 3 đến 10 ly. Tùy theo công suất yêu cầu, dung tích thùng có thể tới 200 m³. Số lượng thùng lên men đối với dịch đường tinh bột nên là 10 hoặc 20 để dễ bố trí sản xuất và thuận lợi cho làm việc của công nhân. Cấu tạo thùng như ở hình 8-11.

Đối với cơ sở sản xuất có công suất vừa và nhỏ, thùng lên men có thể chỉ cần một ruột gà làm lạnh. Ngoài các chi tiết kể trên, thân thùng phải có các ống cảm nhiệt để đặt ở vị trí phù hợp để đo được nhiệt độ ở các vùng khác nhau.

Lên men gián đoạn được tiến hành như sau:

Trước tiên thùng phải được vệ sinh sạch sẽ, các đường ống và van phải được sát trùng thường xuyên. Sau đó toàn bộ được thanh trùng bằng hơi nước. Thời gian giữ ở $95 \div 100^\circ\text{C}$



Hình 8-11. Thùng lên men gián đoạn

1. Ruột gà làm lạnh cần $0,5 - 0,4 \text{ m}^2/\text{m}^3$ thùng;
2. Ống dẫn dịch đường và men giống;
3. Ống tháo giấm chín và nước vệ sinh;
4. Ống thoát CO_2 ;
5. Cửa quan sát và vệ sinh;
6. Đầu ống nối hệ thống vệ sinh với phía trong thùng;
8. Van lấy mẫu;
9. Đầu ống nối hệ thống sức khí hoặc CO_2 và hơi thanh trùng

kéo dài 50 đến 60 phút. Thanh trùng xong thùng được làm lạnh tới 30°C , tháo hết nước ngưng rồi đóng van đáy. Men giống và dịch đường ban đầu có thể bơm song song để nấm men được hòa đều ngay từ đầu. Lượng men giống thường chiếm 10% so với thể tích thùng lên men, nhưng dịch đường không bơm đầy thùng ngay mà

thời gian đổ đầy một thùng lên men kéo dài từ 6 đến 8 giờ. Nhờ đó tỉ lệ men giống lúc đầu tăng và hạn chế được phát triển của tạp khuẩn. Số thùng lên men cần đổ đầy trong ca được thiết kế là 1, với 3 ca sẽ có 3 thùng. Thời gian lên men đối với dịch đường tinh bột là 3 ngày, do đó số thùng sẽ là $3 \times 3 + 1$ thùng luân phiên = 10 thùng. Với dịch rỉ đường, thời gian lên men 2 ngày, do đó số thùng sẽ là $2 \times 3 + 1 = 7$ thùng. Thực tế có thể chỉ 6 thùng vì thời gian lên men rỉ đường chỉ 40 giờ.

Sau khi đổ đầy thùng ta để cho lên men, và cứ 8 giờ lấy dịch đường lên men đem lọc để xác định độ chua và đo Bx. Đồng thời theo dõi nhiệt độ và luôn khống chế thấp hơn 33°C . Về cuối nhiệt độ có thể giảm đến 28°C . Về mùa đông, nếu có thể thì làm lạnh dịch đường tới $20+22^{\circ}\text{C}$ để sau 8 đến 10 giờ nhiệt độ sẽ tăng tới $28+30^{\circ}\text{C}$ và hơn nữa, nhưng trong mọi trường hợp không nên để nhiệt độ tăng quá 35°C . Ở nước ta về mùa hè nước làm lạnh thường không đạt yêu cầu, có nơi nhiệt độ nước khá cao, do đó tác dụng làm lạnh dịch lên men kém, dẫn đến tổn thất nhiều. Vì vậy khi thiết kế cần chú ý đặc điểm này và nếu cần thì nên bố trí hệ thống lạnh làm mát nước.

Lên men được xem là bình thường nếu sau 50 giờ, độ đường biểu kiến của dịch lên men đã xuống 0 (với rỉ đường sẽ khác), còn độ chua không tăng quá $0,8 \text{ g H}_2\text{SO}_4/\text{l}$ so với độ chua của dịch đường trước khi lên men.

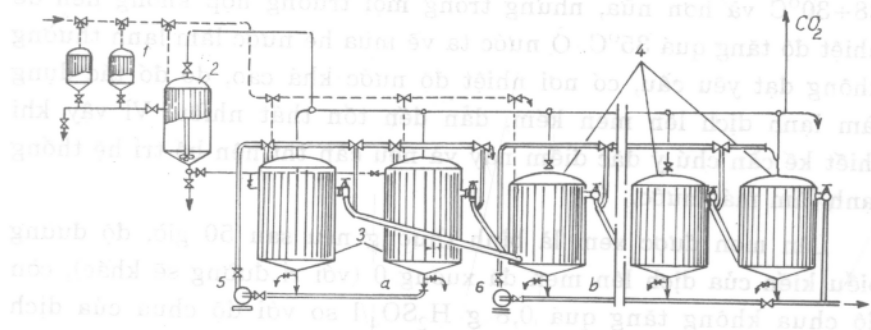
Trường hợp độ chua khi lên men tăng nhanh, độ đường biểu kiến giảm chậm thì phải nghĩ ngay tới nhiễm khuẩn. Cần kiểm tra vi sinh vật và xử lý kịp thời. Tùy theo mức độ nhiễm để có biện pháp xử lý cho phù hợp. Nếu nhiễm ít thì có thể chia dịch bị nhiễm sang các thùng đang lên men tốt. Nếu nhiễm nhiều thì dùng axit điều chỉnh về $\text{pH} = 4,0+4,2$ để 1 đến 2 giờ rồi mới chia bớt sang các thùng đang lên men mạnh.

Lên men được xem là kết thúc nếu sau 8 giờ độ đường biểu kiến không giảm hoặc chỉ giảm $0,1+0,2\%$.

Lên men gián đoạn ở các thùng riêng biệt có ưu điểm là dễ làm, khi nhiễm dễ xử lý nhưng năng suất thu được từ 1 m³ thiết bị thấp. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn đang được áp dụng chủ yếu ở nước ta và cũng cho hiệu suất khá.

8.9.2.2. Lên men liên tục

Đặc điểm của lên men liên tục là dịch đường và men giống được cho vào thùng đầu - gọi là thùng lên men chính, luôn chứa một lượng lớn tế bào trong 1 ml dịch. Khi đầy thùng đầu thì dịch lên men sẽ chảy tiếp sang các thùng bên cạnh và cuối cùng là thùng chứa giấm chín. Sơ đồ bố trí lên men liên tục được trình bày ở hình 8-12.



Hình 8-12. Sơ đồ gây và lên men liên tục

Sơ đồ gồm hai thùng gây men cấp I (1) có dung tích bằng 25÷30% so với thùng gây men cấp II (2). Thùng cấp II có dung tích bằng 30÷60% thùng lên men chính (3). Các thùng lên men tiếp theo gồm 8÷10 thùng (4). Thùng gây giống cấp I được đặt phía trên thùng cấp II để dễ dàng tự chảy. Vị trí của thùng cấp II đặt cao hơn hai thùng lên men chính (3). Phần trụ của hai thùng này phải cao hơn 1 m so với phần trụ của các thùng (4) còn lại, vì rằng lên men chính xảy ra mạnh, lượng bọt sẽ nhiều.

Ống dẫn dịch ra từ các thùng lên men chính chảy sang các

thùng (4) đặt cách mép trên phần trụ 1 m, còn ống dẫn dịch ra từ các thùng (4) tiếp theo chỉ cách mép trên phần trụ 0,1 m. Đối với hai thùng cuối cùng khoảng cách này sẽ là 0,5 m. Cách bố trí này sẽ giúp cho dịch chảy được nhanh hơn. Đường kính của ống chảy truyền phụ thuộc vào công suất của nhà máy. Với công suất 10000 lít cồn/ngày cần đường kính ống bằng 200 mm.

Khi bắt đầu sản xuất ta chuẩn bị men giống ở hai thùng cấp I lệch nhau khoảng 3÷4 giờ. Khi giống đạt yêu cầu ta tháo xuống thùng cấp II. Thùng vừa được giải phóng cần vệ sinh, thanh trùng và đổ đầy dịch đường mới. Tiếp đó thanh trùng dịch ở 75°C rồi axit hóa tới độ chua 1,8÷2,4 g H_2SO_4 /l. Sau đó làm lạnh tới nhiệt độ gây men rồi cho 25 đến 30% lượng men giống ở thùng cấp I còn lại vào và để cho lên men tới độ biểu kiến 5 đến 6%. Lượng men giống còn lại ở thùng cấp I tháo hết xuống thùng cấp II. Sau khi vệ sinh và thanh trùng lại tiếp tục chu kỳ gây men giống cấp I khác.

Ở thùng gây giống cấp II ta tiếp tục cho dịch đường tới đầy và axit hóa tới độ chua 1÷1,25 g H_2SO_4 /l rồi để cho lên men tiếp tới khi độ lên men biểu kiến còn 5 đến 6%.

Cho toàn bộ dịch ở thùng cấp II vào một trong hai thùng lên men chính 3 rồi liên tục cho dịch đường vào. Dịch lên men sẽ tiếp tục chảy từ 3 sang các thùng 4 tiếp theo cho tới thùng cuối cùng thì lên men kết thúc, ta thu được giấm chín.

Lên men chính xảy ra chủ yếu ở thùng 3, các thùng tiếp theo là lên men phụ. Vấn đề chủ yếu của lên men liên tục là phải luôn khống chế số tế bào ở thùng 3 luôn vào khoảng 100 đến 120 triệu/ml. Để đảm bảo vô trùng, thùng 3 phải thay phiên nhau làm việc và sau 24 đến 30 giờ cần giải phóng thùng để vệ sinh thanh trùng, các thùng 4 cũng luân phiên, thay nhau vệ sinh thanh trùng sau 65÷75 giờ.

Ưu điểm nổi bật của sơ đồ lên men liên tục kể trên là dùng một lượng lớn men giống ở thùng 3 nên lên men xảy ra nhanh, hạn chế được phát triển của tạp khuẩn. Khác với lên men gián đoạn là

lượng giống ban đầu chỉ 12÷15 triệu tế bào/ml nên lên men xảy ra chậm. Điều này có thể thấy rõ ở bảng 8-7.

Bảng 8-7. So sánh lên men gián đoạn và lên men liên tục

Thời gian lên men, giờ	Lên men gián đoạn		Lên men liên tục	
	Lượng đường đã lên men, % ở giám chín	Lượng đường được lên men sau chu kỳ 12 giờ so với toàn bộ, %	Lượng đường đã lên men % ở giám chín	Lượng đường được lên men sau chu kỳ 12 giờ so với toàn bộ, %
12	1,26	8,41	10,4	58
24	6,21	33,71	13,9	20
36	13,81	50,08	16,6	15
48	14,61	5,35	17,2	3
72	14,98	2,47	17,9	4

Nhiều men giống không những áp đảo được tạp khuẩn mà còn tạo rượu nhanh, hạn chế phát triển của chúng. Mặt khác do độ chua của dịch đường cao, pH thấp cũng là yếu tố không thuận lợi cho vi khuẩn và nấm men hoang dại. Sau 24 giờ đã có 78% đường được lên men, trong khi đó ở lên men gián đoạn mới chỉ đạt 42%.

Lên men liên tục là phương pháp tiến bộ và cho hiệu quả cao. Tuy nhiên, khi áp dụng cần tính toán cẩn thận và có biện pháp công nghệ phù hợp, nếu không sẽ phản tác dụng, dễ nhiễm khuẩn hàng loạt dẫn đến giảm hiệu suất lên men.

Nhiệt độ lên men ở các thùng nên khống chế như sau: Đối với thùng lên men chính nên giữ ở 25÷27°C, hai thùng tiếp theo từ 27 đến 30°C, các thùng còn lại 27÷28°C.

Trong điều kiện kể trên, lên men sẽ kết thúc sau 60÷62 giờ, còn lên men gián đoạn vẫn phải kéo dài tới 72 giờ và hơn nữa.

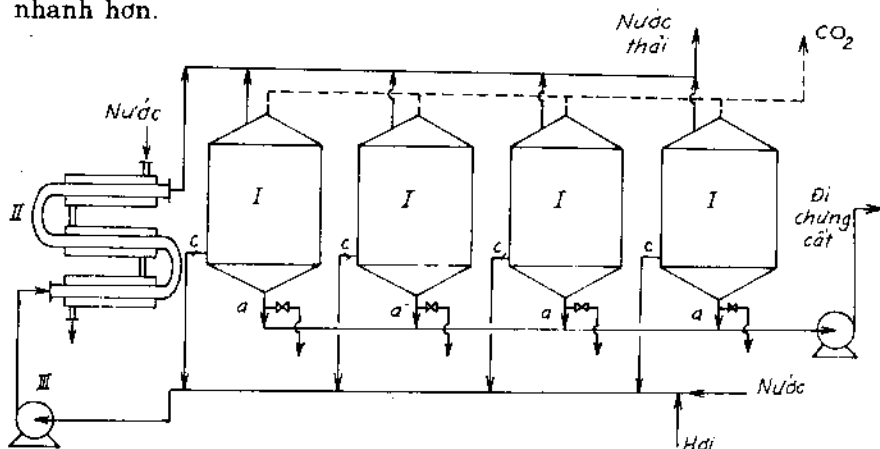
8.9.2.3. Lên men cải tiến - bán liên tục

Hiện nay lên men gián đoạn vẫn chiếm chủ yếu ở các nhà máy rượu ở nước ta. Việc bố trí các thiết bị thường chấp vá nên tồn tại

nhiều nhược điểm. Nhiều nhà máy, phân xưởng lại chỉ có công suất thấp hoặc trung bình. Thực tiễn sản xuất lại chưa tìm được đầu ra. Do đó việc thiết kế cải tạo chưa phải là nhu cầu cần thiết. Chúng ta thường phải lên men ở nhiệt độ cao $35 \div 37^\circ$, có khi tới $38 \div 40^\circ\text{C}$ về mùa hè. Vì hầu hết các thùng lên men đều chỉ tưới nước lạnh bên ngoài. Nhiệt độ lên men đầu đã cao, tỉ lệ men giống thường chỉ 10% nên tạp khuẩn dễ phát triển, dẫn đến làm giảm hiệu suất lên men.

Để giảm bớt tác hại do tạp khuẩn và tăng hiệu suất lên men, theo chúng tôi có thể và nên thực hiện như sau:

Hệ thống các thùng lên men vẫn giữ nguyên như hiện có. Đặt thêm một thiết bị truyền nhiệt kiểu ống lồng ống (II) nối với các thùng lên men như hình 8-13. Lên men được tiến hành như thường lệ, nhưng trong giai đoạn lên men chính nhiệt tỏa nhiều ta mở các van c rồi bơm dịch đang lên men qua thiết bị II để làm lạnh và cho chạy trở lại thùng. Thao tác được kéo dài cho tới khi nhiệt độ thùng đạt yêu cầu công nghệ. Cách làm này không chỉ tạo điều kiện giữ nhiệt độ mà còn tăng cường được tốc độ lên men nhờ CO_2 thoát nhanh hơn.



Hình 8-13. Sơ đồ thiết bị lên men cải tiến.

Để tăng cường tỉ lệ men giống mà không cần thêm thiết bị gây men, ta thực hiện dùng ngay lượng men ở các thùng đang lên men

mạnh ở giai đoạn lên men chính, bằng cách dùng axit sunfuric đưa pH về 4,0÷4,2, kết hợp với bơm tuần hoàn và làm lạnh. Sau 1÷2 giờ ta bơm 1/2 dịch lên men sang thùng khác để làm men giống. Tiếp đó từ từ thêm dịch đường vào cả hai thùng cho tới đầy và để cho lên men tiếp. Số lần xử lý và san men tùy thuộc tình hình và mức độ nhiễm tạp ở mỗi thùng I. Sau mỗi lần làm việc của bơm III, đường ống và bơm cần vệ sinh và thanh trùng ngay. Khi lắp đặt đường ống và các van trên đường ống, cần chú ý để nước không đọng lại sau mỗi lần vệ sinh.

8.9.3. Chế độ vệ sinh và thanh trùng thiết bị

Vệ sinh và thanh trùng các thiết bị là khâu cực kỳ quan trọng trong công nghệ vi sinh vật nói chung và sản xuất rượu nói riêng.

Trong điều kiện sản xuất rất khó thực hiện vô trùng như trong phòng thí nghiệm với lượng nhỏ dung dịch. Ở các góc, cạnh thiết bị, van cũng như bơm luôn tồn tại những vị trí mà ở đó rất khó sạch khi vệ sinh. Ở các chỗ này nấm men hoang dại và tạp khuẩn thường đọng lại và chờ cơ hội để phát triển. Muốn rửa sạch ta cần bơm nước tạo thành tia mạnh qua vòi phun, đồng thời không nên quá tiết kiệm nước, thường chiếm 5% so với thể tích các thiết bị. Lượng nước rửa sàn và nền nhà thường vào khoảng 3 l/m².

Ngoài vệ sinh bằng nước (nước nóng 40÷50°C càng tốt), cần định kỳ vệ sinh thiết bị bằng hóa chất, dùng dung dịch formalin, clorua vôi hoặc fluosilicat natri, nồng độ tùy theo có thể 1÷2%. Để tiết kiệm cần bố trí thu hồi dịch sát trùng.

Nhưng dù có rửa sạch đến mấy thì sau đó cũng cần thanh trùng bằng hơi nước. Thanh trùng ở nhiệt độ 100°C phải kéo dài ít nhất 30 phút. Hơi tiêu tốn khoảng 10÷12 kg/m³/thùng.

Trường hợp không hoặc chưa bố trí đường cấp hơi thanh trùng các thiết bị lên men, ta có thể dùng lưu huỳnh với số lượng 10 g/m³/thùng. Khi đốt lưu huỳnh cần đậy kín thiết bị.

8.9.4. Các chỉ tiêu của giấm chín

Hoạt động của bộ phận lên men dẫn đến kết quả chung của tất cả giai đoạn công nghệ từ đầu đến lên men kết thúc. Những sai lầm, thiếu sót ở các công đoạn trước đó sẽ được phát hiện khi phân tích đầy đủ các chỉ tiêu của giấm chín mà quan trọng hơn cả là: độ lên men, hàm lượng đường sót có khả năng lên men, độ chua và nồng độ rượu.

8.9.4.1. Độ lên men

Đó là nồng độ chất hòa tan trong dịch lọc giấm chín được biểu diễn theo độ saccharometre. Dụng cụ này được thiết lập dựa vào dung dịch saccaroza tinh khiết - mỗi độ ứng với 1% khối lượng. Do đó độ lên men khi đo bằng saccharometre chỉ là gần đúng và qui ước để so sánh.

Người ta lại chia độ lên men thành: biểu kiến và thực. Độ lên men biểu kiến khi đo nồng độ dịch lọc ở 20°C trong điều kiện giấm chín còn chứa rượu và CO₂. Còn độ lên men thực đo được khi ta đuổi hết rượu và CO₂ ra khỏi giấm chín rồi thêm nước cất tới khối lượng ban đầu. Độ lên men biểu kiến đại diện chung cho các chất khô còn lại trong giấm chín.

Các chất khô hòa tan này phụ thuộc vào nhiều yếu tố: dạng nguyên liệu và chất lượng của nó, thời gian, nhiệt độ và phương pháp nấu cũng như chế phẩm amylaza dùng khi đường hóa v.v... Vì thế ngay cả khi lên men hoàn toàn đường trong giấm chín thì độ lên men cũng có thể rất khác nhau.

Trước hết độ lên men phụ thuộc độ thuần khiết của dịch đường hóa. Độ thuần khiết càng cao thì độ lên men càng thấp và có thể âm. Độ thuần khiết - đó là tỉ số chất đường lên men được chia cho tổng số chất hòa tan chứa trong dịch đường hóa và biểu diễn theo %.

$$D_{\text{tkh}} = \frac{\text{chất đường lên men}}{\text{nồng độ dịch đường}}, \quad \%$$

Ví dụ khi lên men dịch đường từ đại mạch có độ thuần khiết

80%, độ lên men còn 1,1%. Đối với dịch đường hóa từ ngô có độ thuần khiết 85%, độ lên men còn lại 0,3%. Đối với dịch đường từ sắn có độ thuần khiết 88÷90%, độ lên men còn lại có thể là số âm. Vì rằng hàm lượng tinh bột trong sắn cao, các chất khác từ sắn hòa tan vào ít. Thực tế sản xuất cho biết, khi độ thuần khiết chênh lệch 1% thì độ lên men có thể tăng hoặc giảm 0,2%. Độ lên men còn phụ thuộc nồng độ dịch đường, khi tăng nồng độ dịch đường 1% thì độ lên men sẽ giảm 0,1%.

Mặc dù phụ thuộc nhiều yếu tố nhưng với một nguyên liệu và chế độ công nghệ ổn định thì độ lên men rất ít biến đổi. Vì vậy nó là một trong chỉ tiêu quan trọng để đánh giá sơ bộ hoạt động của nhà máy.

Để đánh giá hoạt động của riêng bộ phận lên men, ta có thể dựa vào định mức sau đây:

Nguyên liệu	Nếu gián đoạn	Nếu liên tục
Khoai tây	+0,4	+0,2
Ngô	-0,2	-0,4
Lúa mì	+0,7	+0,2
Kê	0,0	-0,2

Đối với nguyên liệu sắn, độ lên men biểu kiến của dịch lọc giảm chín có thể đạt tới -0,5.

Chú ý rằng độ lên men sau khi đo cần qui về nhiệt độ 20°C. Trường hợp chung, với dịch đường hóa có nồng độ 17%, sau khi lên men nếu độ lên men biểu kiến tăng 1% so với định mức thì điều đó có nghĩa là lên men đã làm tổn thất khoảng từ 35 đến 40 lít cồn trên 1000 kg tinh bột.

Khi đường hóa bằng amylaza của nấm mốc bề mặt, độ lên men biểu kiến tăng 0,15÷0,25%, nếu đường hóa bằng dịch mốc lỏng - tăng đến 1÷1,2% so với khi đường hóa bằng amylaza của thóc mầm đại mạch. Hiện nay một số nhà máy rượu của ta đường hóa dịch cháo bằng chế phẩm amylaza (tương đối tinh khiết) của hãng Novo

Dan Mạch với lượng $0,15 \div 0,2\%$ so với tinh bột. Do đó không ảnh hưởng đến độ lên men cuối cùng.

8.9.4.2. Đường sót sau lên men

Hiện nay các nhà máy của ta thường xác định đường sót bằng cách chuẩn trực tiếp dịch lọc giấm chín rồi từ đó suy ra lượng sót chứa trong 100 ml giấm chín. Cách làm này đơn giản và cho phép so sánh một cách tương đối hiệu quả lên men giữa các thùng trong những điều kiện như nhau.

Tuy vậy, phương pháp trên không đánh giá được thực chất lượng đường có khả năng biến thành rượu nhưng còn sót lại sau lên men. Vì phương pháp trên là xác định tổng lượng chất khử tính theo glucoza/100 ml giấm chín, nhưng giấm chín lại chứa glucoza, maltoza, dextrin có phân tử lượng khác nhau, các đường pentoza và một lượng nhỏ các chất khử khác. Phương pháp đúng nhất là xác định glucit lên men được theo phương pháp antron hoặc phải đem thủy phân dịch lọc bằng HCl 2% để biến maltoza và dextrin thành đường đơn. Tiếp đó mới xác định tổng lượng đường đơn rồi trừ đi lượng pentoza có trong mẫu thí nghiệm. Phương pháp thủy phân phức tạp, mất nhiều thời gian nhưng vẫn không chính xác bằng phương pháp antron vì không loại được một lượng nhỏ chất khử phi đường.

8.9.4.3. Độ chua giấm chín

Trong điều kiện lên men rượu, bình thường độ chua chỉ tăng $0,2^\circ$ so với trước lên men, tương đương 0,49 g axit sunfuric trong 1 lít giấm. Sự tăng này là do hoạt động sinh lý tất yếu của nấm men. Nếu tăng nhiều là biểu hiện của nhiễm khuẩn mà chủ yếu là vi khuẩn lactic. Độ chua tăng không chỉ mất đường do tạo axit mà còn ảnh hưởng tới hoạt độ amylaza. Thực tế cho biết, nếu độ chua tăng 1° thì tổn thất sẽ vào khoảng 20 đến 23 lít cồn/tấn tinh bột.

8.9.4.4. Nồng độ rượu trong giấm chín

Nồng độ rượu trong giấm cao hay thấp phụ thuộc dịch cháo nấu

đặc hay loãng và kết quả của các giai đoạn công nghệ nấu, đường hóa và lên men. Tùy theo điều kiện công nghệ và thiết bị, bình thường hiệu suất lên men phải đạt $90 \div 94\%$ so với lượng tinh bột đưa vào nấu. Các nhà máy rượu của ta đạt hiệu suất lên men $80 \div 85\%$, nơi cao nhất 90% . Nồng độ rượu trong giấm dao động trong giới hạn khá lớn, từ 6 đến $9,5\%$ V. Đa số các nhà máy (kể cả ri đường) chỉ đạt $6 \div 7,5\%$. Một số nhà máy đạt độ rượu trung bình 9% nhưng rất khác nhau về hiệu suất lên men cũng như tổng thu hồi.

8.10. Chuẩn bị và lên men dịch đường từ nguyên liệu mật ri

Sản xuất cồn etylic từ mật ri hoặc các phế liệu chứa đường về cơ bản cũng tương tự như sản xuất cồn từ nguyên liệu tinh bột. Nghĩa là cũng bao gồm các công đoạn: chuẩn bị dịch đường lên men, nuôi men giống và lên men dịch đường, cuối cùng là xử lý dịch lên men, cụ thể là tiến hành chưng luyện giấm chín để thu được cồn tinh chế.

Nếu như chuẩn bị dịch lên men từ nguyên liệu tinh bột gồm nghiền, nấu nguyên liệu và đường hóa dịch cháo nấu thì việc chuẩn bị dịch lên men từ ri đường ít nhiều mang tính chất đặc thù riêng và gồm: pha loãng sơ bộ, xử lý dịch pha loãng và bổ sung nguồn dinh dưỡng rồi sau đó pha tới nồng độ gây men và lên men.

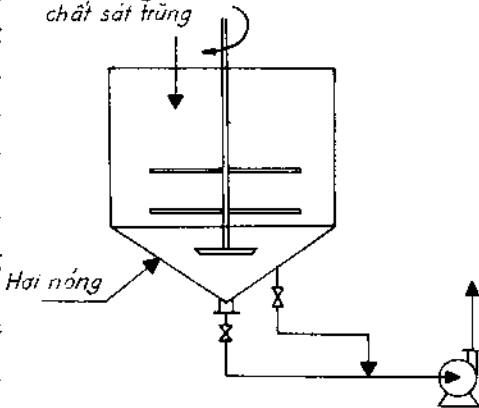
8.10.1. Pha loãng và xử lý dịch mật ri

Trong mật ri thường chứa từ 100.000 đến 500.000/g các tạp khuẩn không nha bào và khoảng từ 15.000 đến 50.000/g tạp nhiễm có nha bào. Trong điều kiện nồng độ chất khô trong mật ri lớn hơn 75% chúng không sinh trưởng và phát triển nhưng vẫn bảo vệ được sự sống của mình. Khi pha loãng tới nồng độ thấp, chúng sẽ bắt đầu phát triển và tiêu hao đường của mật ri. Vì vậy cần xử lý nhằm diệt hết hoặc giảm bớt các tạp khuẩn, đồng thời phá hủy các chất keo và

loại bớt các tạp chất. Trước khi xử lý người ta thường pha loãng sơ bộ mật rỉ tới 45÷50% chất khô. Nếu để ở nồng độ cao thì độ nhớt sẽ lớn, khả năng diệt tạp khuẩn và loại tạp chất sẽ kém. Nhưng nếu pha loãng tới nồng độ thấp thì sẽ tổn thất bị, tổn hơi nhưng diệt được nhiều tạp khuẩn, tạp chất tách khỏi dịch dễ dàng hơn. Trong điều kiện sản xuất rượu, trước khi xử lý mật rỉ thường được pha loãng khoảng 2 lần.

Nghiên cứu cho biết ở nồng độ dịch pha loãng tới 60% chất khô, khi tiến hành xử lý ở 85÷90°C trong 45 phút, hầu hết vi khuẩn chịu nhiệt vẫn tồn tại, một số vi khuẩn lactic vẫn phát triển trong dịch lên men. Khi xử lý ở nhiệt độ 120÷130°C thì phản ứng tạo melanoidin và đường sẽ bị phân hủy thành oxymetyl furfurol sẽ nhiều. Theo các tác giả [15] trong điều kiện xử lý nên pha loãng tới 40÷50%, giữ ở nhiệt độ 110°C, trong 30 phút hoặc 120°C, chỉ 10 phút. Trong điều kiện không có thùng pha loãng chịu áp lực, chúng ta có thể gia nhiệt đến 85÷90°C và giữ khoảng 45 đến 50 phút. Ở điều kiện này hầu hết các tạp khuẩn không nha bào đều bị diệt. Ở nhiều nhà máy của ta thường xử lý ở nhiệt độ thường và làm như sau:

Mật rỉ, nước, H_2SO_4 ,
dinh dưỡng,
chất sát trùng



Hình 8-14.

Mật rỉ và nước cho vào thùng theo tỉ lệ 1:1, sau đó cho axit sunfuric với tỉ lệ từ 0,4 đến 0,6% so với mật rỉ (tùy theo độ chua mật rỉ), khuấy đều rồi cho chất sát trùng là fluosilicat natri (tính trước để nồng độ trong dịch lên men bảo đảm 2‰). Nguồn nitơ bổ sung có thể từ $(NH_4)_2SO_4$ hoặc $(NH_2)_2CO$ với số lượng 1 g sunfat amon hoặc 0,4 đến 0,5 g ure đối với 1 lít dịch lên men.

Sau khi cho đầy đủ các chất kể trên, khuấy đều và để yên khoảng 1 đến 4 giờ (tùy theo mức độ cần tách cặn). Tiếp theo bơm dịch trong lên thùng chứa, cặn bơm qua bộ phận lọc để loại các tạp chất, chủ yếu là CaSO_4 và các kết tủa keo. Tốt nhất là nên gia nhiệt đến $85\div 90^\circ\text{C}$ và giữ 1 giờ. Vì ở nhiệt độ trên tạp khuẩn sẽ bị diệt nhiều, cho phép tăng hiệu suất lên men 1%. Mặt khác ở nhiệt độ $85\div 90^\circ\text{C}$, CaSO_4 sẽ kết tủa nhiều hơn, không cần kéo dài thời gian lắng.

Trường hợp axit hóa bằng HCl , thiết bị sẽ bị ăn mòn nhiều hơn nhưng CaCl_2 tạo thành sẽ hòa tan, sau này không ảnh hưởng đến thiết bị chưng cất. Tùy theo điều kiện cụ thể của từng nhà máy, dùng axit nào cũng cần khống chế dịch lên men ở $\text{pH} = 4,5\div 5,0$, tương đương độ chua từ 1,0 đến 1,5 g $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{l}$.

Mật rỉ sau pha loãng sơ bộ và xử lý được bơm lên chứa ở thùng cao vị hoặc trực tiếp pha luôn tới nồng độ gây men và lên men.

8.10.2. Pha loãng tới nồng độ gây men và lên men

Pha loãng tới nồng độ nào là tùy theo phương pháp lên men, theo sơ đồ lên men một nồng độ hay hai nồng độ.

Trường hợp lên men theo sơ đồ một nồng độ thì chỉ tiêu của dịch đi lên men vào khoảng sau:

- Nồng độ chất khô $20\div 22\%$, tương đương $15\div 16\%$ đường.
- pH dịch đường $4,5\div 5,0$ - tương đương độ chua $1,0\div 1,5$ g $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{l}$.

- Ure cần bổ sung là 0,5 g/l.

- Nồng độ fluosilicat natri: 2‰

Đối với lên men hai nồng độ thì dịch gây men cũng được pha loãng bằng nước sạch đạt chỉ tiêu sau:

- Nồng độ chất khô: $12\div 14\%$.

- pH: $4,5\div 5,0$.

- Ure cần bổ sung là 0,5 g/l.

- Nồng độ fluosilicat natri: 2‰.

Dịch lên men cũng có các chỉ tiêu tương tự chỉ khác là nồng độ chất khô từ 32 đến 30%

Chú ý: Nồng độ chất khô của dịch đường cao hay thấp là tùy thuộc độ thuần khiết của mật rỉ và nồng độ rượu định thu được trong giấm chín. Với rỉ đường thủ công ta nên pha nồng độ thấp hơn khoảng 3 đến 4% so với mật rỉ thu được ở nhà máy đường hiện đại, vì rằng độ thuần khiết của rỉ đường thủ công cao hơn.

Lượng nước và mật rỉ (hoặc dịch đường) đem pha loãng được tính trên cơ sở sau:

$$P.C = V.d.c$$

P - lượng mật rỉ, kg

C - nồng độ chất khô trong rỉ, %

V - thể tích dịch pha loãng, l

d - khối lượng riêng của dịch pha loãng, kg/l

c - nồng độ dịch pha loãng, %

Lượng nước cần:

$$W = (V.d - P), \text{ kg hoặc l}$$

Đối với lên men theo sơ đồ hai nồng độ, cân bằng vật chất (chất khô) được tính theo công thức sau:

$$V_1 C_1 d_1 = V_2 C_2 d_2 + V_3 C_3 d_3$$

V_1 - thể tích dịch đường chung;

V_2 - thể tích dịch đường gây men;

V_3 - thể tích dịch đường lên men;

C_1, C_2, C_3 - nồng độ chất khô phù hợp với dịch đường;

d_1, d_2, d_3 - khối lượng riêng của mỗi dịch đường.

8.10.3. Gây men giống và lên men dịch đường

Qui trình và điều kiện gây men giống về cơ bản không khác

mấy so với gây men giống trong lên men dịch đường từ nguyên liệu tinh bột và cũng gồm hai giai đoạn nhân giống - trong phòng thí nghiệm và ngoài sản xuất.

Dịch đường gây giống trong phòng thí nghiệm phải được tiệt trùng và không cần sục khí trong thời gian nuôi, còn dịch đường nhân giống ngoài sản xuất có thể không tiệt trùng nhưng phải có độ chua cao hơn và $pH \approx 4,0$. Gây men giống có thể thực hiện theo các số liệu như trong bảng 8-8.

Bảng 8-8. Các số liệu về gây men giống

Giai đoạn	Dung tích gây men	Nồng độ, %	Nhiệt độ, °C	Thời gian, giờ	Sục khí
1	Ống nghiệm 10 ml	12 ÷ 14	30	6 ÷ 8	không
2	Bình tam giác 200 ml	14 ÷ 15	30	24	không
3	Bình cầu 2 lít	14 ÷ 15	30	24	không
4	Thùng 15 ÷ 20 lít	15 ÷ 16	30	24	không
5	Thùng 200 ÷ 300 l	15 ÷ 16	28 ÷ 30	15 ÷ 18	sục nhẹ
6	Thùng 2000 ÷ 3000 l	17 ÷ 18	28 ÷ 30	12 ÷ 15	sục mạnh
7	Thùng 10000 l (khi lên men liên tục)	17 ÷ 18		8 ÷ 10	sục mạnh 3 - 4 m ³ không khí/m ³ môi trường giờ

Với điều kiện nhiệt độ và thời gian kể trên, nồng độ dịch gây men giảm khoảng 5% so với ban đầu. Hàm lượng rượu trong dịch giống đạt 3,5 đến 4%.

Nếu lên men gián đoạn và thùng lên men có dung tích 20 m³ thì nhân giống chỉ đến giai đoạn 6. Khi lên men liên tục cần chuẩn bị đến giai đoạn 7, vì lượng giống lúc đó sẽ chiếm 50% thùng lên men.

8.10.3.1. Lên men gián đoạn theo sơ đồ một nồng độ

Sau khi vệ sinh và thanh trùng thùng lên men, ta cho 10% men giống vào và từ từ cho dịch đường có nồng độ 20÷22% với tốc độ sao cho sau 5 đến 6 giờ thì đầy. Tiếp đó để cho lên men khoảng

40+48 giờ. Trong thời gian lên men mỗi ca sản xuất cần kiểm tra nồng độ dịch đang lên men, độ chua và vi sinh vật. Đồng thời kiểm tra nhiệt độ và mở nước làm lạnh để giữ ở $30\div 32^{\circ}\text{C}$. Tùy theo độ thuần khiết của dịch đường, nồng độ biểu kiến cuối lên men có thể từ 0 (với rỉ đường thủ công) đến 4,5÷6% đối với rỉ đường theo phương pháp sản xuất đường tiên tiến.

8.10.3.2. Lên men gián đoạn theo sơ đồ hai nồng độ (pha dần)

Toàn bộ men giống 10% được cho vào thùng, sau đó từ từ cho rỉ loãng 12÷14%, với tốc độ sao cho sau khoảng 3 giờ thì đầy tới 50% thùng lên men. Tiếp đó lại từ từ cho rỉ đường đặc 30÷32% với tốc độ sao cho sau 3 đến 4 giờ nữa thì đầy thùng. Theo dõi và kiểm tra cũng tiến hành tương tự như lên men gián đoạn một nồng độ.

Lên men liên tục cũng tiến hành tương tự như khi lên men dịch đường tinh bột. Điều khác ở đây là dịch đường có nồng độ 50% sau xử lý, liên tục được pha loãng tới 12÷14% và 30÷32% ở hai thiết bị khác nhau và cùng đi vào thùng lên men chính ban đầu. (hình 8-16). Thời gian lên men chỉ khoảng 32÷40 giờ, ít hơn khoảng 8 giờ so với lên men gián đoạn.

Xét về hiệu suất thu hồi rượu thì lên men theo sơ đồ hai nồng độ luôn đạt hiệu quả cao hơn từ 0,5 đến 1% so với sơ đồ một nồng độ. Nhưng sơ đồ một nồng độ đơn giản hơn, mặt khác nếu sau lên men đem tách nấm men để dùng vào lên men bánh mì thì nấm men có hoạt độ cao hơn, làm nở bánh nhiều hơn. Vì vậy, chọn phương pháp sản xuất phải luôn xuất phát từ điều kiện thực tế và mục đích của sản xuất, đồng thời và phải hướng tới hiệu quả kinh tế cao nhất trong điều kiện của nhà máy.

Độ rượu trong giấm chín từ rỉ đường có thể đạt tới 9÷10%, cao hơn so với dịch đường từ tinh bột, đường sót 0,3÷0,6 g/100 ml.

Hiện nay ở nhiều nước khi lên men rượu rỉ đường người ta luôn kết hợp với sinh khối nấm men và dùng để làm nở bánh mì. Cách làm này luôn cho hiệu quả cao hơn so với sản xuất rượu hoặc nấm men riêng rẽ. Tùy theo mục đích của từng nhà máy, người ta có thể

chọn tỉ lệ thu hồi men khác nhau nhưng nồng độ rượu trong giấm chín không thấp hơn 8%.

8.10.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến lên men ri đường

Ảnh hưởng của các yếu tố như nhiệt độ, pH, nồng độ dịch đường và hóa chất về cơ bản không sai khác so với khi lên men rượu từ dịch đường tinh bột. Điều khác nhau là dịch ri đường khi lên men thường sục khí từ 2 đến 3 m³/m³ canh trường giờ. Vậy sục khí có ảnh hưởng như thế nào tới hiệu quả lên men. Chúng ta hãy xem và phân tích các số liệu thu được của Iaxinski.

Bảng 8-9. Ảnh hưởng của sục khí trong quá trình lên men

Men giống %	Số tế bào men, triệu/ml		Thời gian lên men, giờ	Còn thu được từ m ³ thùng, lít/ngày	Tổn thất lên men, %	Còn thu được từ tấn tinh bột, l (qui ước)
	Ban đầu	Cuối				
Không sục khí						
30	33	83	44	43.6	6.64	660.0
		123	33	57.1	9.84	645
40	44	94	36	53.5	7.52	655
		134	27	67.1	10.72	641
50	55	105	29	63.7	8.4	651
		145	23	77.4	11.6	644
60	66	116	24	74.6	9.28	647
		156	20	88.4	12.48	633
Có sục khí						
30	72	122	26	69.2	6.88	658.0
		162	22	81.2	10.03	644
40	96	146	20	86.9	7.84	654
		186	17	98.7	11.04	639
50	120	170	16	105.0	8.80	650
		210	14	116.7	12.00	635
60	144	194	13	123.5	9.76	645
		234	12	134.5	12.96	629

Từ các số liệu ở bảng 8-9 cho phép ta rút ra các nhận xét sau:

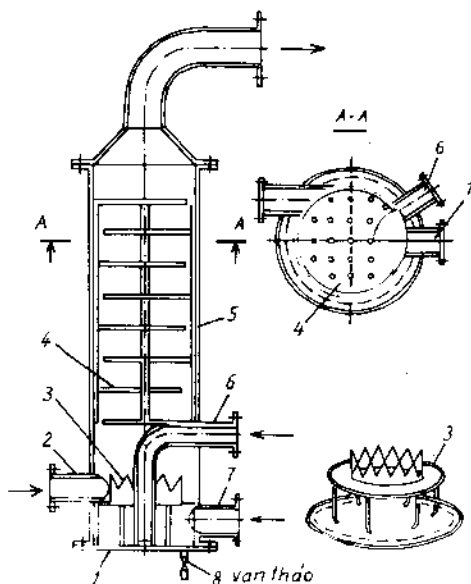
- Cùng số lượng số tế bào men ban đầu có thể không cùng số

tế bào khi kết thúc lên men. Vì rằng sinh trưởng của nấm men phụ thuộc nhiều yếu tố.

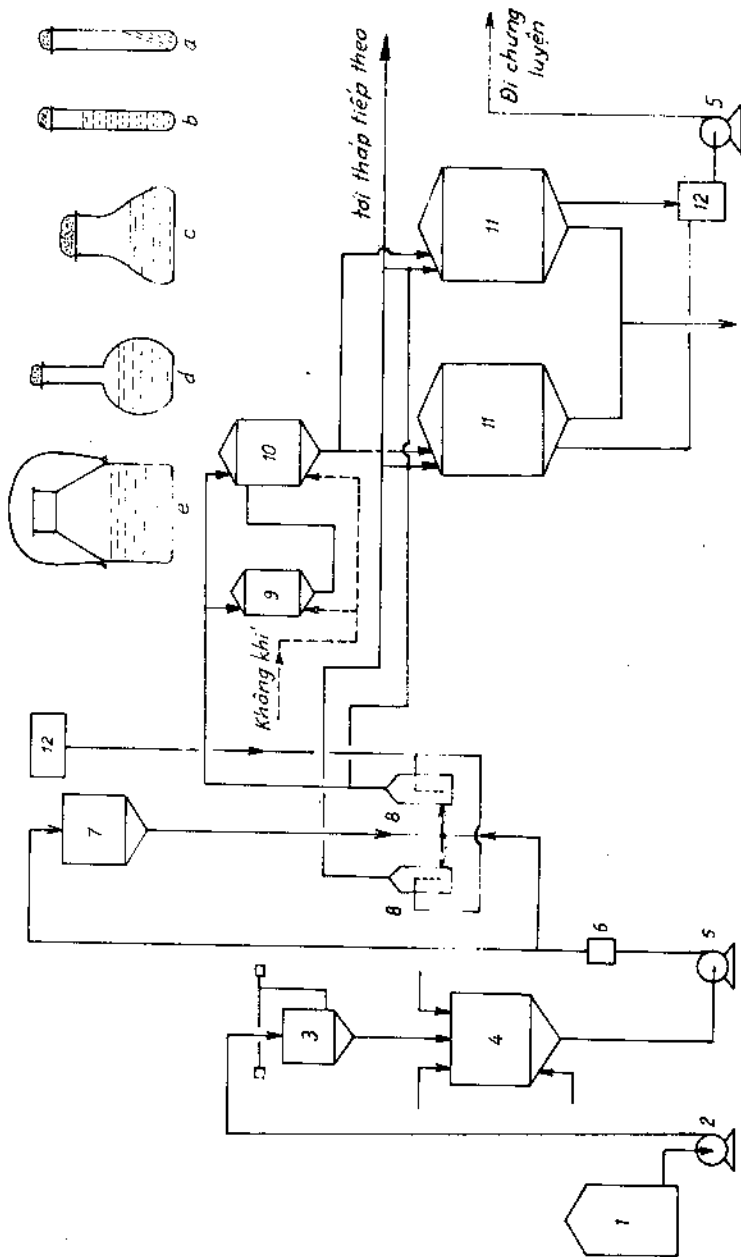
- Số tế bào men cuối càng nhiều thì lượng rượu thu được sẽ ít và ngược lại.

- Hiệu suất thu được sẽ cao hơn khi số tế bào đưa vào ít. Tuy nhiên khi nồng độ tế bào men ban đầu như nhau thì hiệu suất rượu lại cao hơn đối với thùng lên men mà trong đó men giống được nuôi có sục khí. Như vậy nuôi men giống có sục khí không những cho phép rút ngắn thời gian lên men mà còn cho hiệu suất rượu cao hơn. Tuy nhiên, khi tỉ lệ men giống cùng 30÷60% thì hiệu suất rượu sẽ thấp hơn khi có sục khí.

- Thời gian lên men tỉ lệ thuận với lượng men giống. Tăng lượng men giống từ 30 lên 60% thời gian lên men giảm từ 44 xuống 20 giờ. Lượng cồn thu được từ 1 m³ thùng trong ngày tăng gần 2 lần. Chính vì vậy trong sản xuất người ta luôn hướng tới tăng lượng men giống, mặc dù hiệu suất thấp hơn. Trong thực tế sản xuất, điều kiện vô trùng không thể đạt được như trong phòng thí nghiệm, nên tăng men giống còn có tác dụng hạn chế phát triển của tạp khuẩn. Lợi này sẽ bù đắp lượng đường tổn thất do hoạt động sống của bản thân nhiều men giống.



Hình 8-15. Cấu tạo của thiết bị pha loãng
 1. Dây phẳng dưới của thiết bị; 2. Đường dẫn nước lạnh; 3. Bộ phận răng cưa; 4. Các tấm lưới lỗ $d = 15 - 20$ mm; 5. Thân chính của thiết bị; 6. Đường dẫn nước nóng; 7. Đường dẫn mật rỉ vào.



Hình 8-16. Sơ đồ pha loãng, xử lý và lên men dịch đường từ mật rỉ

1. Bể chứa mật rỉ; 2. Bơm mật rỉ; 3. Thùng cân mật rỉ; 4. Thùng pha loãng số bộ và xử lý; 5. Bơm ly tâm; 6. Bình lọc tâm; 7. Thùng chứa rỉ loãng; 8. Thiết bị pha loãng; 9, 10. Thiết bị gây men t và β ; 11. Thùng lên men; 12. Thùng lắng định mức giấm.

Chương IX

CHUNG CẤT VÀ TÍNH CHẾ CỒN ETYLIC (XỬ LÝ DỊCH LÊN MEN)

Chung cất là quá trình tách rượu và các tạp chất dễ bay hơi khỏi giấm chín. Kết quả ta nhận được rượu thô hoặc cồn thô. Tính chế hay tinh luyện là quá trình tách các tạp chất khỏi cồn thô và nâng cao nồng độ cồn. Sản phẩm thu được gọi là cồn tinh chế hay cồn thực phẩm có nồng độ trong khoảng 95,5+96,5% V. Cồn thực phẩm chứa rất ít các tạp chất. Tùy theo nồng độ rượu và mức độ làm sạch tạp chất, người ta chia cồn thành các loại như ở bảng 9-1.

Bảng 9-1. Phân loại cồn

Chỉ tiêu chất lượng	Cồn đặc biệt	Cồn sạch	Cồn loại I
Nồng độ, % V	$\geq 96,5$	96,2	96,0
Hàm lượng aldehyt tính theo aldehyt axetic, mg/l	3	4	15
Hàm lượng este tính theo axetat etyl, mg/l	≤ 25	30	50
Hàm lượng dầu fusei tính theo alcol izoamylic và izobutylic. Hỗn hợp 3 : 1, mg/l	3	4	15
Hàm lượng alcol metylic, % V	$\leq 0,03$	0,05	0,05
Hàm lượng axit theo axetic, mg/l	≤ 12	15	20
Thời gian oxy hóa, phút	≥ 20	15	10
Hàm lượng furfural	không được có ở cả 3 loại		

Xét về cảm quan, cả ba loại cồn đều phải trong suốt, không màu, có mùi vị đặc trưng cho từng loại nguyên liệu, không được có

mùi vị lạ.

Bảng 9-1 là tiêu chuẩn của Liên Xô cũ, chúng tôi giới thiệu để bạn đọc tham khảo.

Ở nước ta theo TCVN-71, cồn được xếp thành hai loại với các chỉ tiêu chất lượng như ở bảng 9-2.

Bảng 9-2. TCVN.1.051 - 71

Chỉ tiêu chất lượng	Cồn loại I	Cồn loại II
- Nồng độ rượu etylic, % V	$\geq 96^{\circ}$	95
- Hàm lượng aldehyt tính theo aldehyt axetic, mg/l	8	20
- Hàm lượng este tính theo axetat etyl, mg/l	≤ 30	50
- Hàm lượng dầu fusel tính theo alcol izoamylic và izobutylic, hỗn hợp 3 : 1, mg/l	30	60
- Hàm lượng alcol metylic, % V	≤ 0.06	0.1
- Hàm lượng axit tính theo axit axetic, mg/l	≤ 9	18
- Hàm lượng furfural	không được có	
- Thời gian oxy hóa, phút	≥ 25	20
- Màu sắc	trong suốt và không màu	

9.1. Cơ sở lý thuyết về chưng cất và tinh chế

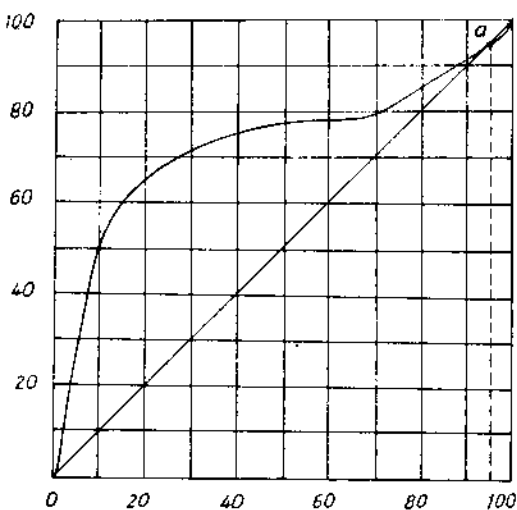
9.1.1. Lý thuyết về chưng cất rượu

Giấm chín bao gồm các chất dễ bay hơi như: rượu, este, aldehyt và một số alcol có số cacbon lớn hơn hai, các alcol này ta quen gọi là alcol cao phân tử hay còn gọi là dầu fusel hay dầu khét.

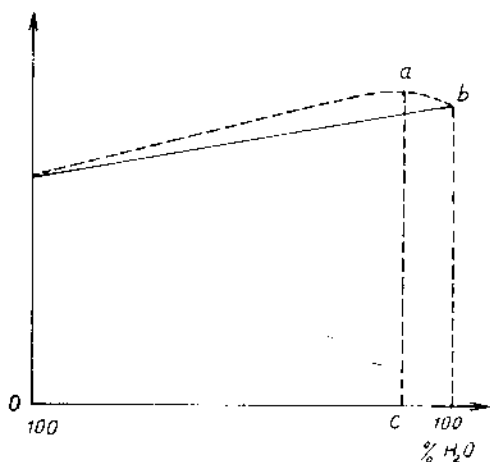
Ngoài các chất kể trên, trong giấm chín còn chứa tinh bột, dextrin, protit, axit hữu cơ và chất khoáng. Tuy là hỗn hợp nhiều cấu tử nhưng trong thành phần của giấm chín chứa chủ yếu là rượu etylic và nước, vì thế khi nghiên cứu người ta xem giấm chín như hỗn hợp hai cấu tử.

Khi nghiên cứu về chưng cất hỗn hợp rượu - nước, Cơnôvalốp và Vrepiski đưa ra các định luật sau:

Định luật I, 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 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 từ 0% đến $C\%$. Trong khoảng từ $C\%$ đến 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 - điểm này ứng với nồng độ rượu:



Hình 9-1. Cân bằng hệ thống rượu - nước ở áp suất khí quyển.



Hình 9-2. Độ bay hơi đẳng nhiệt của dung dịch rượu - nước.

- 95,57 % khối lượng; • 97,2 % thể tích; • 89,41% phân tử

Định luật II

Trên đường cong áp suất hơi bão hòa, α 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 ở áp suất thường ($p = 760$ mmHg) hỗn hợp này có nhiệt độ sôi $78,15^{\circ}\text{C}$. Nồng độ rượu bằng 97,2% V. Như vậy khi chưng cất và tinh chế ở áp suất khí quyển, ta có thể chỉ nhận được cồn có nồng độ $\leq 97,2\%$ V.

Khi nghiên cứu hỗn hợp rượu - nước, Vrepski cho biết, thành phần hơi được thoát ra từ dung dịch nào đó đều phụ thuộc vào áp suất bên ngoài. Khi tăng áp suất của hệ thống hai cấu tử, cấu tử nào khi bay hơi đòi hỏi nhiều năng lượng thì hàm lượng tương đối của nó sẽ tăng trong hỗn hợp đẳng phí. Đối với hỗn hợp rượu - nước, nếu tiến hành chưng cất ở áp suất cao hơn áp suất khí quyển thì % nước trong hỗn hợp đẳng phí sẽ nhiều hơn, còn nồng độ rượu trong hỗn hợp sẽ thấp hơn 97,2% V. Ngược lại nếu chưng cất trong điều kiện chân không thì nồng độ rượu trong hỗn hợp đẳng phí sẽ cao hơn 97,2% V và phụ thuộc độ chân không. Sự phụ thuộc này có thể thấy ở bảng 9-3.

Bảng 9-3. Quan hệ áp suất, nhiệt độ và nồng độ rượu

Áp suất, mmHg	Nhiệt độ sôi, $^{\circ}\text{C}$	Nồng độ rượu, % khối lượng
70	27,97	100
100	33,35	99,56
129,7	39,2	98,70
198,4	47,6	97,30
404,6	63,04	96,25
760,0	78,15	95,57
1175,4	87,12	95,35
1451,3	95,35	95,25

9.1.2. Lý thuyết về tính chế cồn

Cồn thô nhận được sau khi chưng cất còn chứa rất nhiều tạp chất (trên 50 chất), có cấu tạo và tính chất khác nhau. Trong đó gồm các nhóm chất như: aldehyt, este, alcol cao phân tử và các axit hữu cơ. Hàm lượng chung của các tạp chất không vượt quá 0,5% so với khối lượng cồn etylic.

Theo số liệu của viện nghiên cứu các sản phẩm lên men thuộc Liên Xô cũ, thành phần tạp chất thay đổi và phụ thuộc vào nguyên liệu.

Bảng 9-4. Thành phần tạp chất thay đổi và theo nguyên liệu

Dạng nguyên liệu	Số mẫu đem phân tích	Este, mg/l còn khan	Aldehyt	Dầu fusel	Axit mg/l rượu khan
			% so với rượu		
Khoai tây	18	416,6	0,0047	0,28	78,8
Khoai tây + hạt	30	306,7	0,011	0,21	32,1
Hạt	36	242,5	0,040	0,41	86,4
Tử mật ri	34	376,7	0,116	0,32	113,9

Theo số liệu của Viện nghiên cứu Ucrain, hàm lượng tạp chất trong cồn thô nhận từ mật ri dao động trong giới hạn khá lớn. Axit từ 20 đến 200 mg/l, este từ 150 đến 550 mg/l, aldehyt từ 90 đến 900 mg/l, alcol cao phân tử từ 0,2 đến 0,5% khối lượng và hợp chất chứa nitơ tính theo amoniac chiếm từ 8 đến 18 mg/l.

Bằng phân tích sắc ký khí người ta thấy rằng, trong thành phần của axit gồm: axit axetic 75÷85%, axit butyric 5÷10% và còn lại 10÷15% là các axit khác. Trong số các aldehyt thì aldehyt axetic chiếm 75÷90%, còn lại 5÷10% aldehyt propylic, 2÷8% butyric. Trong số các este thì 75÷85% là este của axit axetic, 5÷10% gồm este của axit propylic, valeric v.v...

Hàm lượng các alcol cao phân tử cũng rất khác nhau nhưng chứa chủ yếu là alcol amylic và alcol izobutylic.

Một số các tạp chất mang tính đặc thù của từng nguyên liệu. Ví dụ cồn nhận được từ mật ri ít chứa furfurol nhưng lại chứa các tạp

chất gây mùi mía, nhất là còn nhận được từ mật rỉ mới sản xuất. Người ta cho rằng mùi này là do các hợp chất nitơ hoặc este của axit butyric. Còn tinh bột thường chứa furfurol và các tạp chất gây vị đắng, đó là các tecpen. Chất này rất khó phát hiện bằng các phân tích thông thường nhưng lại cảm nhận bằng vị giác. Đôi khi còn thô còn lẫn những tạp chất có mùi khó chịu được tạo thành do phản ứng giữa axit hữu cơ với vật liệu chế tạo tháp hoặc được đưa vào từ hơi nước lò hơi...

Bảng 9-5.

Các cấu tử	Thành phần dầu fusel, %					
	Theo Vindis		Theo Komibaxi		Theo Suclo	
	Khoai tây	Tiểu mạch	Ngô	Lúa	Ngô	Mật rỉ
Alcol propylic	6,8	0,4	5,0÷6,4	Vết	4,4	0,2÷3,4
Alcol izopropylic	-	-	-	-	-	18,8÷19,3
Alcol butylic	-	-	-	-	9,2	0,4÷5,3
Alcol izobutylic	24,3	16,3	19,6÷17	29,8	15,3	0,2÷1,9
Alcol amylic	68,7	82,6	50÷52	60,4	70,5	66,2÷72,0
Các alcol khác	-	vết	-	-	1,5	0,4÷1,0
Axit béo tự do	0,01	0,16	0,045÷0,052	0,076	vết	-
Este phức tạp	0,08	0,31	0,21÷0,66	0,48	0,4	0,2÷3,7

Phân loại tạp chất

Theo quan điểm tinh chế cồn, người ta chia tạp chất thành ba loại: tạp chất đầu, tạp chất trung gian và tạp chất cuối. Chia như vậy chỉ là tương đối và qui ước, vì tính chất của tạp chất có thể thay đổi tùy theo nồng độ cồn trong tháp.

Tạp chất đầu gồm các chất dễ bay hơi hơn alcol etylic ở nồng độ bất kỳ, nghĩa là hệ số bay hơi lớn hơn hệ số bay hơi của rượu. Các chất có nhiệt độ sôi thấp hơn nhiệt độ sôi của alcol etylic gồm: aldehyt axetic, axetat etyl, axetat metyl, formiat etyl, aldehyt butyric.

Tạp chất cuối gồm các alcol cao phân tử như alcol amylic, alcol izoamylic, izobutylic, propylic, izopropylic. Ở khu vực nồng độ cao

của alcol etylic, các tạp chất cuối có độ bay hơi kém hơn so với độ bay hơi của alcol etylic. Ở khu vực nồng độ etylic thấp, độ bay hơi của tạp chất cuối có thể nhiều hơn so với alcol etylic. Tạp chất cuối điển hình nhất là axit axetic, vì rằng độ bay hơi của nó kém hơn alcol etylic ở tất cả mọi nồng độ.

Bảng 9-6. Tính chất các tạp chất trong cồn thô

Các tạp chất trong cồn thô	Công thức hóa học	Phân tử lượng	Nhiệt độ sôi, °C
Aldehyt			
- axetic	C_2H_4O	44.05	20.2
- acroleic	C_3H_4O	56.08	52.5
- furfural	$C_5H_4O_2$	96.08	161.7
Este			
- formiat etyl	$C_3H_6O_2$	74.08	54.4
- axetat etyl	$C_4H_8O_2$	88.10	77.1
- axetat metyl	$C_3H_6O_2$	74.08	56.0
- izobutyrat etyl	$C_6H_{12}O_2$	116.16	110.1
- butyrat etyl	$C_6H_{12}O_2$	116.16	121.0
- axetat izoamyl	$C_7H_{14}O_2$	130.18	142.0
- izovalđrat etyl	$C_7H_{14}O_2$	130.18	134.8
- izovalđrat izoamyl	$C_{10}H_{20}O_2$	172.26	194.0
- axetal	$C_6H_{14}O_2$	118.17	102.4
Alcol			
- izopropyllic	C_3H_8O	60.09	82.4
- propyllic	C_3H_8O	60.09	97.2
- izobutyllic	$C_4H_{10}O$	74.12	108.1
- butyllic	$C_4H_{10}O$	74.12	117.9
- izoamyllic	$C_5H_{12}O$	88.15	132.1
- amyllic	$C_5H_{12}O$	88.15	137.8
- metyllic	CH_4O	32.04	64.7
- hexilovic	$C_6H_{14}O$	102.17	155.7
Axit			
- formic	CH_2O_2	46.03	100.8
- axetic	$C_2H_4O_2$	66.05	118.1
- butyric	$C_4H_8O_2$	88.10	163.6
Hợp chất khác			
- tecpen	$C_{10}H_{16}$	136.23	167 - 170
- hydrat tecpen	$C_{10}H_{18}O$	154.24	206 - 210

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 alcol etylic nó là tạp chất cuối. Ở nồng độ alcol thấp chúng có thể trở thành tạp chất đầu. Đó là các chất izobutytrat etyl, izovalerat etyl, izovalerat izoamyl và axetat izoamyl.

Độ bay hơi của các tạp chất phụ thuộc vào nồng độ alcol etylic trong dung dịch. Nếu hàm lượng tạp chất không lớn thì có thể xem như độ bay hơi của từng tạp chất riêng biệt không phụ thuộc vào hàm lượng của các tạp chất khác trong dung dịch.

Gọi $A\%$ của rượu trong pha hơi, $a\%$ là trọng lượng của rượu trong pha lỏng thì $\frac{A}{a} = K_r$ gọi là hệ số bay hơi của rượu. Tương tự nếu gọi B là % khối lượng của tạp chất trong pha hơi, b là % khối lượng của tạp chất trong pha lỏng thì $\frac{B}{b} = K_{tc}$ gọi là hệ số bay hơi của tạp chất.

Thực nghiệm cho biết khi tăng nồng độ alcol etylic thì hệ số bay hơi của tất cả các tạp chất đều giảm và trong khoảng nồng độ alcol nhỏ hơn 55%, hệ số bay hơi của tất cả các tạp chất đều lớn hơn 1; trong đó có một số tạp chất luôn có hệ số bay hơi lớn hơn 1 ở nồng độ rượu bất kỳ. Đó là những tạp chất điển hình thuộc tạp chất đầu như aldehyt axetic, axetat etyl, axetat metyl (bảng 9-7).

Khác với tạp chất đầu, tạp chất cuối mà điển hình là alcol amylic có hệ số bay hơi luôn nhỏ hơn 1 khi nồng độ alcol lớn hơn 55%; hệ số bay hơi của amylic bằng 1 khi nồng độ alcol bằng 55% và ở nồng độ nhỏ hơn 55% hệ số bay hơi của alcol amylic lớn hơn 1. Người ta dựa vào tính chất này để lấy dầu fusel khỏi tháp ở dạng lỏng hoặc hơi.

Tạp chất đầu và cuối tương đối dễ tách, còn tạp chất trung gian rất khó tách. Ví dụ izobutytrat etyl có hệ số bay hơi gần bằng 1 ở nồng độ 90÷95%, do đó theo chiều cao của tháp và trong khoảng nồng độ kể trên izobutytrat etyl có thể là tạp chất đầu hoặc cuối.

Bảng 9-7. Hệ số bay hơi của rượu và các tạp chất trong rượu

Nồng độ rượu, % V	Hệ số bay hơi của rượu và các tạp chất									
	Rượu		Este							aldehyt axetic
	etylíc	izoamylíc	izovalerat izoamyl	axetat izoamyl	izovalerat etyl	izobutyrat etyl	axetat etyl	axetat metyl	formiat etyl	
10	5,1	-	-	-	-	-	29,0	-	-	-
20	3,31	-	-	-	-	-	18,0	-	-	-
30	2,31	3,00	-	-	-	-	12,6	-	-	-
40	1,80	1,92	-	-	-	-	8,6	10,5	-	-
50	1,50	1,20	-	2,8	-	-	5,8	9,0	-	4,3
55	1,39	0,98	-	2,2	-	-	4,9	7,9	12,0	4,15
60	1,30	0,80	1,30	1,7	2,3	4,2	4,3	7,0	10,4	4,0
65	1,23	0,65	1,05	1,4	1,9	2,9	3,9	6,4	9,4	3,9
70	1,17	0,54	0,82	1,1	1,7	2,3	3,6	5,9	8,5	3,8
75	1,12	0,44	0,65	0,9	1,5	1,8	3,2	5,4	7,8	3,7
80	1,08	0,34	0,50	0,8	1,3	1,4	2,9	5,0	7,2	3,6
85	1,05	0,32	0,40	0,7	1,1	1,2	2,7	4,6	6,5	3,5
90	1,02	0,30	0,35	0,6	0,9	1,1	2,4	4,3	5,8	3,4
95	1,004	0,23	0,30	0,55	0,8	0,95	2,1	4,1	5,1	3,3

Hệ số tinh chế

Hệ số bay hơi của rượu (K_r) và hệ số bay hơi của tạp chất (K_{tc}) cho ta biết trong thể hơi chứa bao lần rượu hoặc tạp chất nhiều hơn so với ở thể lỏng. Để đánh giá độ bay hơi tương đối của tạp chất so với rượu ở cả hai pha lỏng và hơi, người ta đưa khái niệm hệ số tinh chế K và biểu diễn bằng tỷ số:

$$K = \frac{K_{tc}}{K_r} = \frac{B}{b} : \frac{A}{a} = \frac{B \times a}{A \times b}$$

Nếu $K > 1 \rightarrow$ trong hơi chứa nhiều tạp chất (tạp chất đầu);

$K = 1 \rightarrow$ tạp chất trung gian;

$K < 1 \rightarrow$ tạp chất cuối.

Hệ số tinh chế cho ta dự đoán sơ bộ khoảng không gian chứa nhiều tạp chất trong tháp nhưng không xác định vị trí lấy tạp chất một cách cụ thể. Vì vị trí chứa tạp chất trong tháp còn phụ thuộc tỉ số hồi lưu và lực hút phân tử tác động lẫn nhau giữa các tạp chất. Do đó trên thực tế sản xuất, phải biết kết hợp giữa lý thuyết với tình hình cụ thể của thiết bị và kinh nghiệm của người vận hành.

9.2. Sơ đồ thiết bị và tiến hành chưng cất, tinh chế

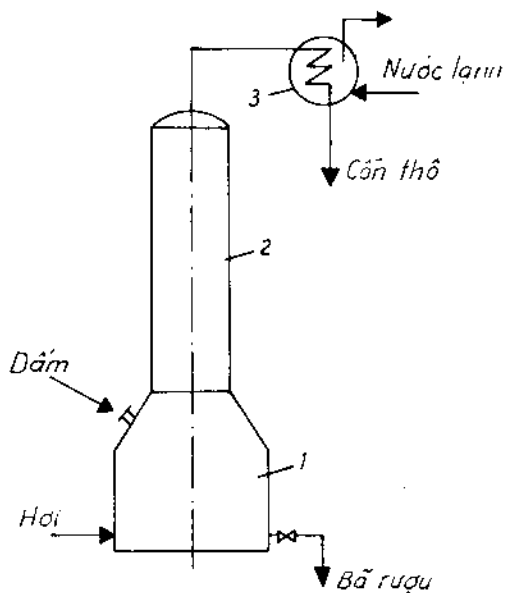
Muốn tách cồn thô khỏi giấm chín và sau đó tinh chế nó để nhận được cồn có chất lượng cao, người ta có thể thực hiện theo phương pháp gián đoạn, bán liên tục hoặc liên tục trên các sơ đồ thiết bị khác nhau, từ đơn giản đến phức tạp, tùy theo điều kiện vốn đầu tư và yêu cầu chất lượng đề ra của cơ sở sản xuất.

9.2.1. Chưng luyện gián đoạn

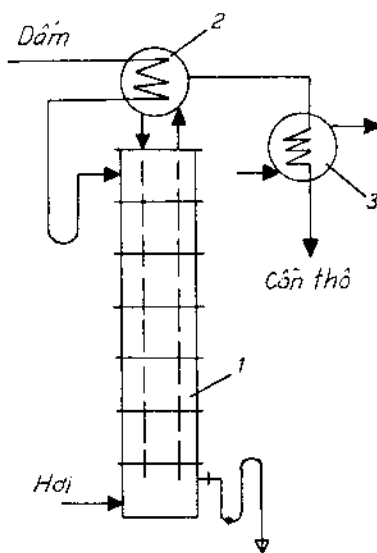
Theo sơ đồ ở hình 9-3, giấm chín được bơm vào thùng chưng cất 1, sau đó mở hơi đun cho tới sôi. Hơi rượu bay lên theo chiều cao tháp 2 được nâng cao nồng độ ra khỏi tháp vào thiết bị ngưng tụ và làm lạnh 3 rồi vào thùng chứa.

Chưng gián đoạn có ưu điểm là đơn giản, dễ thao tác nhưng bộc

lộ nhiều nhược điểm. Do thời gian cất phải mất 6 đến 8 giờ nên thùng chứa lớn, tổn vật liệu chế tạo mà năng suất lại thấp. Mặt khác giấm chín đưa vào không được đun nóng bằng nhiệt ngưng tụ của cồn thô nên tổn hơi. Nồng độ cồn không ổn định và giảm dần theo thời gian. Lúc đầu có thể đạt 75 đến 80% V, cuối chỉ còn 5 đến 6% V. Nồng độ trung bình khoảng 20 đến 30%. Tổn thất rượu theo bã nhiều gấp 3 đến 4 lần so với chưng liên tục.



Hình 9-3. Chưng gián đoạn
1. Thùng chứa giấm; 2. Thân tháp;
3. Bình ngưng tụ và làm lạnh cồn



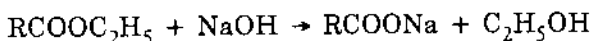
Hình 9-4. Chưng liên tục
1. Thân tháp thô; 2. Bình hâm giấm và
ngưng tụ cồn; 3. Bình ngưng lạnh

Chưng liên tục theo sơ đồ hình 9-4 cho phép khắc phục các nhược điểm kể trên và bảo đảm hiệu quả kinh tế cao hơn. Hiện nay ở các nước tiên tiến không tồn tại sơ đồ chưng gián đoạn. Ở nước ta nhiều xí nghiệp nhỏ và các xưởng tư nhân cũng đang bỏ dần kiểu chưng lác hậu và kém hiệu quả kinh tế này.

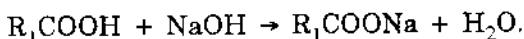
Tinh chế cồn

Cồn thô nhận được sau khi chưng cất còn chứa nhiều tạp chất. Do đó cần tinh chế nhằm tách các tạp chất để nâng cao chất lượng và bảo đảm an toàn cho người tiêu dùng.

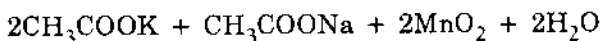
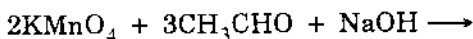
Đối với cồn thô nhận được sau chưng cất, nếu đem tinh chế gián đoạn thì cần xử lý bằng hóa chất và dựa trên phản ứng sau:



Ngoài ra các axit tự do trong cồn thô cũng phản ứng với NaOH để tạo thành các muối không bay hơi và nước:



Để giảm bớt aldehyt và các hợp chất không no khác người ta dùng KMnO_4 làm chất oxy hóa. Phản ứng này có thể xảy ra trong môi trường kiềm yếu có $\text{pH} = 8 + 9$. Trong điều kiện đó hai phân tử KMnO_4 sẽ giải phóng ra ba nguyên tử oxy, sau đó oxy sẽ tham gia vào phản ứng oxy hóa:

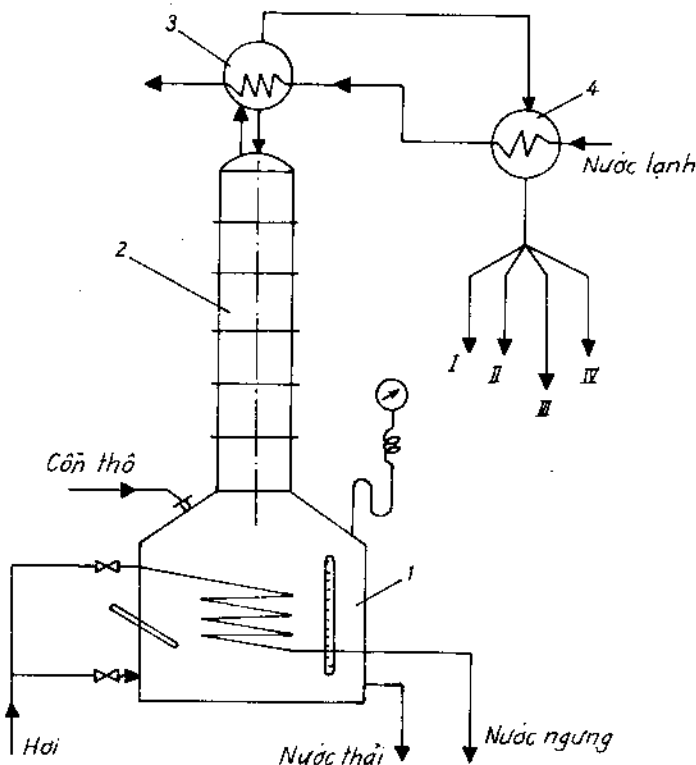


Lượng NaOH và KMnO_4 chỉ nên đủ, vì nếu thừa thì dễ dẫn đến alcol etylic bị oxy hóa thành axit và gây tổn thất. Muốn tránh cần xác định lượng tạp chất và tính toán cụ thể lượng hóa chất đưa vào. Trong thực tế ở các nơi không có điều kiện phân tích, có thể làm đơn giản như sau:

Pha loãng cồn thô tới nồng độ khoảng 50% V, sau đó dùng dung dịch NaOH 10% cho vào rồi khuấy đều, điều chỉnh tới $\text{pH} = 8,5 + 9,0$; tiếp theo dùng dung dịch KMnO_4 2% cho vào cồn thô và khuấy đều cho tới khi xuất hiện màu hồng đậm.

Để tinh chế ta cho cồn thô vừa xử lý vào thùng 1, dùng hơi trực tiếp và gián tiếp đun tới $80 + 90^\circ\text{C}$. Đóng van hơi và để cho phản ứng 1+2 giờ, đồng thời mở nhỏ nước đủ ngưng tụ phần hơi rượu bay lên. Sau đó mở van hơi gián tiếp đun tới sôi, đồng thời mở nước đủ ngưng tụ toàn bộ hơi rượu đi vào 3, phần khí không ngưng qua

4 ra ngoài, nếu có rượu cần thu lại. Sau 30 đến 60 phút sôi và hồi lưu, với thời gian này các tạp chất dễ bay hơi được đẩy lên đỉnh tháp. Ta điều chỉnh hơi và nước làm lạnh lấy ra khoảng 3÷5% còn đầu. Lượng này còn chứa nhiều tạp chất đầu để riêng. Tiếp theo lấy ra khoảng 6÷12% còn 2a, cũng vẫn lẫn tạp chất đầu. Sau khi lấy còn 2a ta điều chỉnh chỉ số hồi lưu và lấy sản phẩm chính III. Tùy theo chất lượng còn thô ban đầu và mức chất lượng định ra của nhà máy, lượng sản phẩm chính có thể từ 60÷80% so với tổng lượng còn đưa vào tháp. Lấy xong sản phẩm chính ta lấy đến còn 2b cũng với số lượng 6÷12%, sau cùng ta lấy rượu fusel với số lượng 3÷5%.

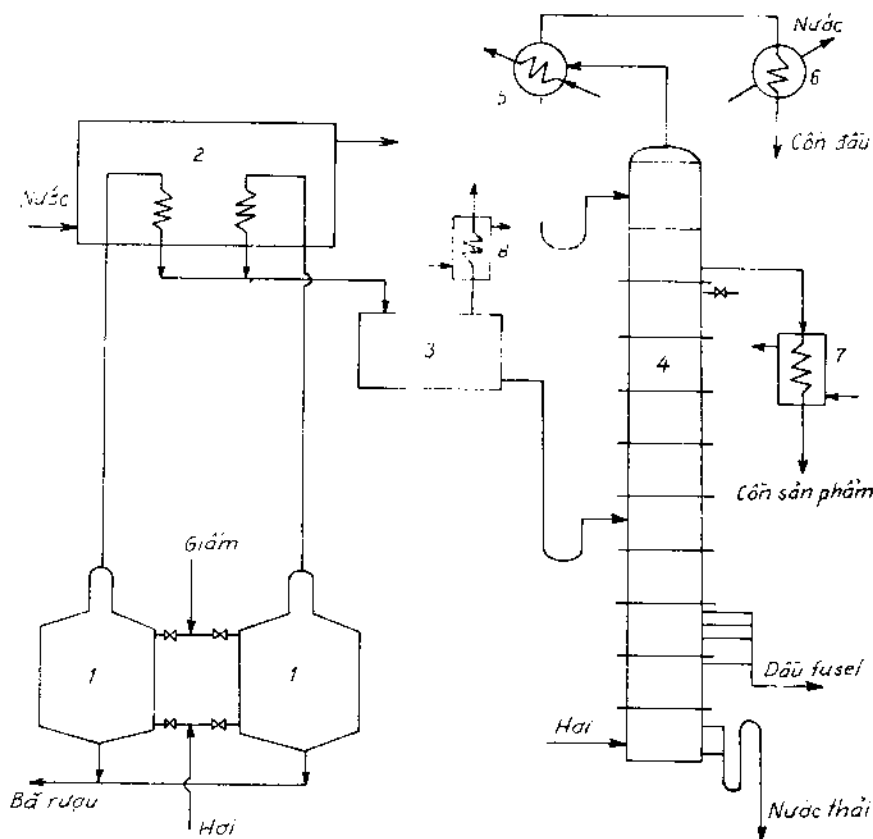


Hình 9-5. Sơ đồ tinh chế gián đoạn

1. Thùng cất; 2. Thân tháp; 3. Bình ngưng tụ hồi lưu;
4. Bình ngưng tụ làm lạnh
- I. Còn đầu; II. Còn 2a + 2b; III. Sản phẩm chính; IV. fusel

Chú ý: Có thể không lấy rượu fusel qua từng mẻ tinh chế mà qua 2÷3 lần mới lấy ra. Muốn vậy mở hơi trực tiếp, đẩy hết hơi rượu lên tháp và khi nhiệt độ đáy đạt 103°C, tháo hết nước thải ở đáy tháp. Sau đó tiếp tục tinh chế mẻ sau.

Sơ đồ trình chế gián đoạn tuy cho phép nhận được cồn có chất lượng nhưng hiệu suất thu hồi thấp, tổn hơi và công sức lao động do phải cất lại, do đó hiện nay ít dùng. Ở ta nhiều xí nghiệp tư nhân vẫn còn sử dụng các sơ đồ chưng luyện gián đoạn.



Hình 9-6. Sơ đồ chưng luyện bán liên tục

1. Thùng cất thô; 2. Thùng ngưng tụ cồn thô; 3. Thùng tạm chứa cồn thô;
4. Tháp tinh chế; 5. Bình ngưng tụ; 6. Bình ngưng tụ; 7. Bình làm lạnh;
8. Bình làm lạnh

Để khắc phục các nhược điểm của chưng cất và tinh luyện gián đoạn, chúng ta có thể thực hiện theo sơ đồ bán liên tục (chưng gián

đoạn, luyện liên tục) sau đây:

Lên men xong giấm chín được bơm vào thùng chứa 1. Vì làm việc gián đoạn nên phải bố trí hai thùng song song nhưng làm việc so le để ổn định phần nào nồng độ cồn thô trước khi vào tháp tinh. Thùng cất thô được đun trực tiếp bằng hơi có áp suất $0,8 \div 1 \text{ kg/cm}^2$. Hơi rượu bay lên được ngưng tụ ở 2 rồi vào thùng chứa 3, tiếp đó liên tục đi vào tháp tinh chế 4. Ở 4 cũng được đun bằng hơi trực tiếp, từ đĩa tiếp liệu ($16 \div 18$ tính từ dưới lên) xuống đáy nồng độ cồn giảm dần đến đáy tháp còn $0,015 \div 0,03\%$ rồi ra ngoài. Nhiệt độ đáy tháp phải $103 \div 105^\circ\text{C}$. Hơi rượu bay lên được tăng dần nồng độ, phần lớn được ngưng tụ ở 5 rồi hồi lưu trở lại tháp. Một phần nhỏ chưa ngưng kịp còn chứa nhiều tạp chất đầu được đưa sang ngưng tụ tiếp ở 6 và lấy ra ở dạng cồn đầu. Cồn đầu chỉ dùng pha vecni, làm cồn đốt, sát trùng hoặc đem xử lý và cất lại.

Cồn sản phẩm lấy ra ở dạng lỏng cách đĩa hồi lưu (từ trên xuống) khoảng 3 đến 6 đĩa, được làm lạnh ở 7, rồi vào thùng chứa và vào kho. Cồn lấy ra ở đây tuy có nồng độ thấp hơn ($0,3 \div 0,5\% \text{ V}$) so với hơi ở đỉnh nhưng chứa ít este và aldehyt.

Chất lượng cồn thu được tùy thuộc vào chiều cao tháp và cách vận hành của từng xí nghiệp, nhưng về nguyên tắc hoàn toàn có thể thỏa mãn tiêu chuẩn Việt Nam TCVN-1971.

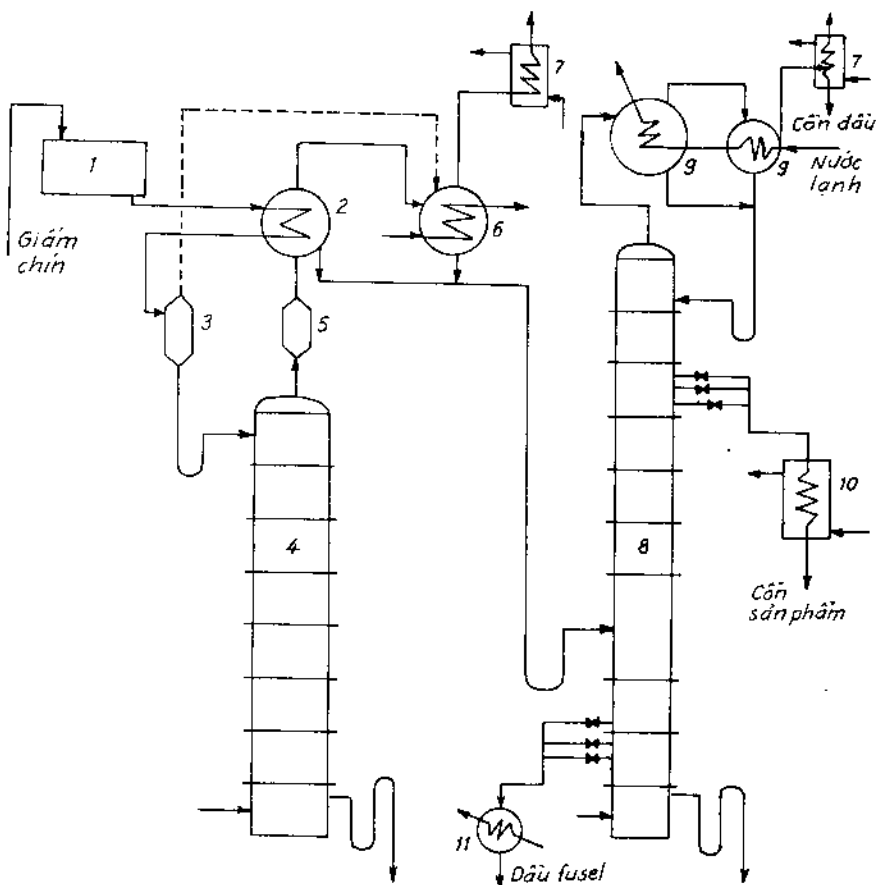
9.2.2. Chứng luyện liên tục

Chứng luyện liên tục có thể thực hiện theo nhiều sơ đồ khác nhau: 2 tháp, 3 tháp hoặc 4 tháp. Trên các sơ đồ này người ta lại chia thành chứng luyện theo hệ thống một dòng (gián tiếp) hoặc hai dòng (vừa gián tiếp vừa trực tiếp). Sau đây chúng tôi xin giới thiệu một số sơ đồ nguyên tắc để bạn đọc tham khảo.

a. Sơ đồ hai tháp gián tiếp - 1 dòng

Giấm chín được bơm lên thùng cao vị 1 sau đó đi vào bình hâm giấm 2. Ở đây giấm chín được hâm nóng tới $70 \div 80^\circ\text{C}$ bằng ẩn nhiệt của hơi cồn thô, sau đó qua bình tách CO_2 3 rồi vào tháp 4. Hơi cồn

bay lên ngưng tụ ở 2, phần chưa ngưng tiếp tục sang ngưng ở 6. Toàn bộ cồn thô ngưng ở 2, 6 và 7 đi vào tháp tinh chế ở đĩa thứ 16÷18 tính từ dưới lên. Tháp tinh cũng được cấp nhiệt bằng hơi nước có áp suất $p = 0,8+1 \text{ kg/cm}^2$. Hơi rượu bay lên được nâng cao dần nồng độ ra khỏi tháp đi vào 9. Tại đây ta điều chỉnh lượng



Hình 9-7. Sơ đồ liên tục 2 tháp

1. Thùng cao vị chứa giấm chín; 2. Bình hâm giấm; 3. Bình tách CO_2 và khí không ngưng; 4. Tháp cất khô; 5. Bình chống phụt giấm; 6. Bình ngưng tụ cồn; 7. Bình làm lạnh ruột gà; 8. Tháp tinh chế; 9. Bình ngưng tụ hồi lưu; 10. Bình làm lạnh cồn sản phẩm; 11. Bình ngưng và làm lạnh dầu fusel.

nước làm lạnh để lấy cồn đầu ra ở 7, khoảng 3÷5% so với toàn bộ lượng cồn đưa vào hệ thống tháp. Số ngưng ở 9 được hồi lưu trở lại tháp.

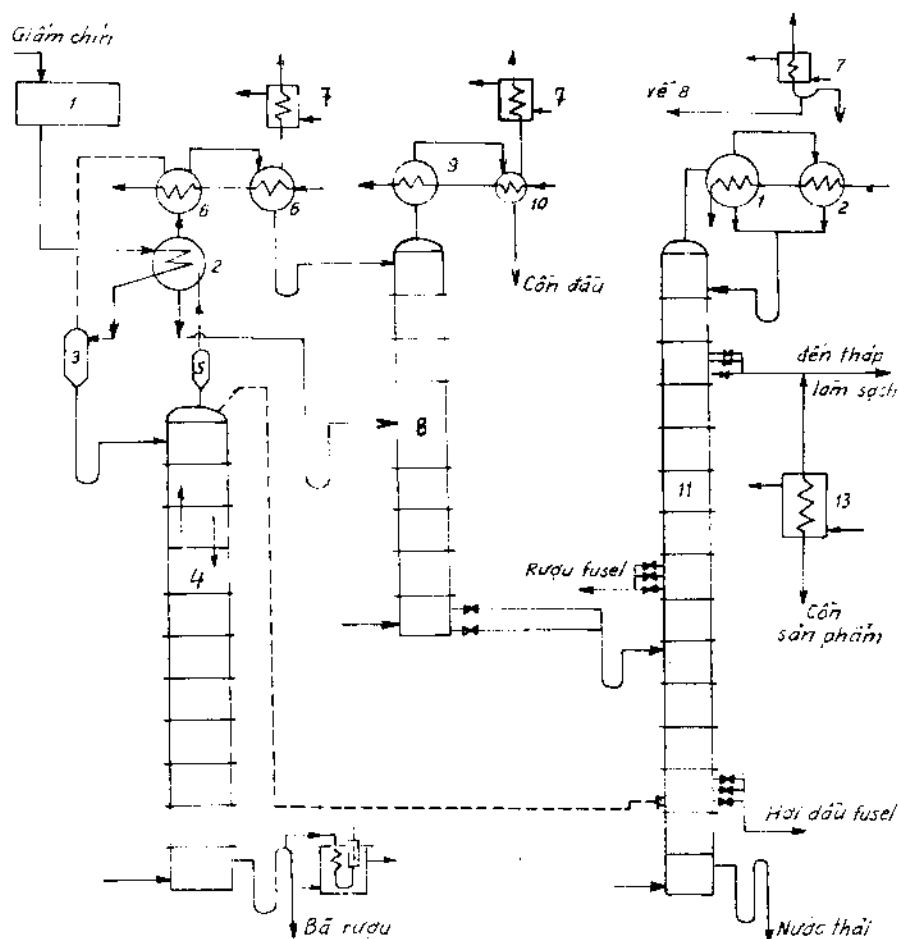
Cồn thành phẩm được lấy ra ở dạng lỏng cách đĩa hồi lưu 3 đến 6 đĩa và đoạn làm lạnh ở 10. Nhiệt độ đáy của hai tháp luôn bảo đảm 103÷105°C. Nhiệt độ đỉnh tháp 4 phụ thuộc nồng độ cồn trong giấm và thường vào khoảng 93÷97°C. Nhiệt độ đỉnh tháp tinh 8 vào khoảng 78,3÷78,5°C. Nhiệt độ thân tháp tinh ở vị trí cách đĩa tiếp liệu về phía trên 3÷4 đĩa không chế ở 82÷83°C. Dầu fusel lấy ra ở dạng hơi từ đĩa thứ 6 đến 11 (tính từ dưới lên) được ngưng và làm lạnh ở 11; sau đó đi vào thiết bị phân ly dầu hoặc cho vào giấm chín cất lại, loại ra ở đáy tháp thô.

Hệ thống chưng luyện hai tháp tuy có tiên tiến hơn so với chưng luyện gián đoạn và bán liên tục nhưng chất lượng cồn vẫn chưa cao, hoặc muốn thu nhận được cồn tốt phải lấy tăng lượng cồn đầu.

b. Hệ thống ba tháp làm việc gián tiếp

Sau đây giới thiệu hệ thống ba tháp làm việc gián tiếp cho phép khắc phục nhược điểm trên. Sơ đồ (hình 9-8) đang được thực hiện ở công ty Rượu Đồng Xuân Phú Thọ. Hệ thống cho phép nhận 70÷80% cồn loại I theo TCVN-71, 30÷20% cồn loại II và 3÷5% cồn đầu.

Sơ đồ được thực hiện như sau: Giấm chín được bơm lên thùng cao vị 1, sau đó tự chảy vào bình hâm giấm 2. Ở đây giấm chín được hâm nóng bằng hơi rượu ngưng tụ đến nhiệt độ 70÷80°C rồi chảy qua bình tách CO₂ số 3 rồi vào tháp 4. Khí CO₂ và hơi rượu bay lên được ngưng tụ ở 6 qua 7 rồi ra ngoài. Tháp thô được đun bằng hơi trực tiếp, hơi rượu đi từ dưới lên, giấm chảy từ trên xuống nhờ đó quá trình chuyển khối được thực hiện, sau đó hơi rượu ra khỏi tháp và được ngưng tụ ở 2 và 6 rồi qua 7 ra ngoài. Chảy xuống tới đáy nồng độ rượu trong giấm còn khoảng 0,015÷0,030% V được thải ra ngoài gọi là bã rượu. Muốn kiểm tra rượu sót trong bã ta



Hình 9-8. Sơ đồ chưng ba tháp gián tiếp một dòng

1. Thùng chứa giấm; 2. Bình hâm giấm; 3. Bình tách CO₂; 4. Tháp thô;
5. Bình chống phụt giấm; 6. Bình ngưng tụ cồn thô; 7. Bình làm lạnh ruột gà;
8. Tháp aldehyt; 9. 10. Bình ngưng tụ; 11. Tháp tinh chế; 12. Bình ngưng tụ hồi lưu; 13. Bình làm lạnh sản phẩm

phải ngưng tụ dạng hơi cân bằng với pha lỏng. Hơi ngưng tụ có nồng độ $0,4 \div 0,6\%$ là đạt yêu cầu (khoảng $10 \div 15$ lần lớn hơn so với thể lỏng). Nhiệt độ đáy $103 \div 105^{\circ}\text{C}$.

Phần lớn rượu thô ($90 \div 95\%$) liên tục đi vào tháp aldehyt số 8. Tháp này cũng dùng hơi trực tiếp, hơi rượu bay lên được ngưng tụ và hồi lưu đến 95% , chỉ điều chỉnh lượng nước làm lạnh và lấy ra khoảng $3 \div 5\%$ gọi là cồn đầu (tùy theo chất lượng nguyên liệu). Một phần rượu thô ($5 \div 10\%$) ở 6 hồi lưu vào đỉnh tháp aldehyt vì chứa nhiều tạp chất.

Sau khi tách bớt tạp chất, rượu thô từ đáy tháp aldehyt số 8 liên tục đi vào tháp tinh 11 với nồng độ $35 \div 45\%$ V. Tháp tinh chế 11 cũng được cấp nhiệt bằng hơi trực tiếp (có thể gián tiếp), hơi bay lên được nâng dần nồng độ sau đó ngưng tụ ở 12 rồi hồi lưu lại tháp. Bằng cách điều chỉnh lượng nước làm lạnh ta lấy ra $1,5 \div 2\%$ cồn đầu rồi cho hồi lưu về đỉnh 8. Cồn sản phẩm lấy ra ở dạng lỏng tương tự như sơ đồ liên tục hai tháp.

Nhiệt độ đáy và đỉnh tháp thô, tháp tinh không chế tương tự như sơ đồ hai tháp. Nhiệt độ đáy tháp aldehyt duy trì ở $80 \div 85^{\circ}\text{C}$, nhiệt độ đỉnh ở $78 \div 79^{\circ}\text{C}$.

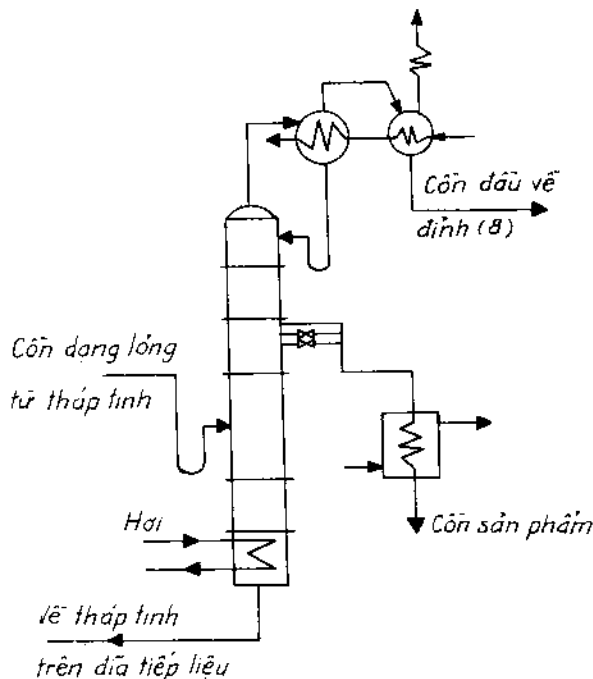
Sơ đồ trên được gọi là gián tiếp một dòng vì sản phẩm đi vào các tháp chỉ có một dòng chất lỏng duy nhất. Còn gọi là gián tiếp vì bản thân dòng chất lỏng không chứa ẩn nhiệt bay hơi.

Nếu sơ đồ trên có lấy một phần hơi rượu thô ở đỉnh 4 (theo đường nét đứt) để cấp nhiệt cho đáy tháp tinh 11 thì sẽ biến thành sơ đồ liên tục ba tháp vừa gián tiếp vừa trực tiếp hai dòng.

Sơ đồ gián tiếp một dòng có ưu điểm là dễ thao tác, chất lượng cồn tốt và ổn định, nhưng tốn hơi. Còn sơ đồ vừa gián tiếp vừa trực tiếp, hai dòng có ưu điểm là tiết kiệm được hơi nhưng đòi hỏi tự động hóa tốt và chính xác, nếu không có thể hơi ở đáy tháp tinh 11 sẽ đẩy ngược lên đỉnh tháp 4 làm cho tháp mất ổn định và chất lượng cồn kém đồng đều.

Trường hợp muốn nâng cao chất lượng cồn hơn nữa thì nên

tiến hành chưng luyện theo sơ đồ bốn tháp (có thêm tháp làm sạch). Sự khác biệt giữa sơ đồ ba tháp và bốn tháp là ở chỗ, cồn tinh chế lấy ra ở dạng lỏng không đưa làm lạnh mà đi vào tháp làm sạch (có cấu tạo và chiều cao như tháp aldehyt) để tinh chế tiếp nhằm loại



Hình 9-9. Sơ đồ ba tháp + tháp làm sạch = bốn tháp

bỏ tạp chất đầu và tạp chất cuối. Cồn đầu cho quay lại tháp aldehyt, cồn cuối ở đáy tháp làm sạch đi vào trên đĩa tiếp liệu của tháp tinh.

Chú ý: Cấp nhiệt cho tháp làm sạch phải thực hiện bằng truyền nhiệt gián tiếp.

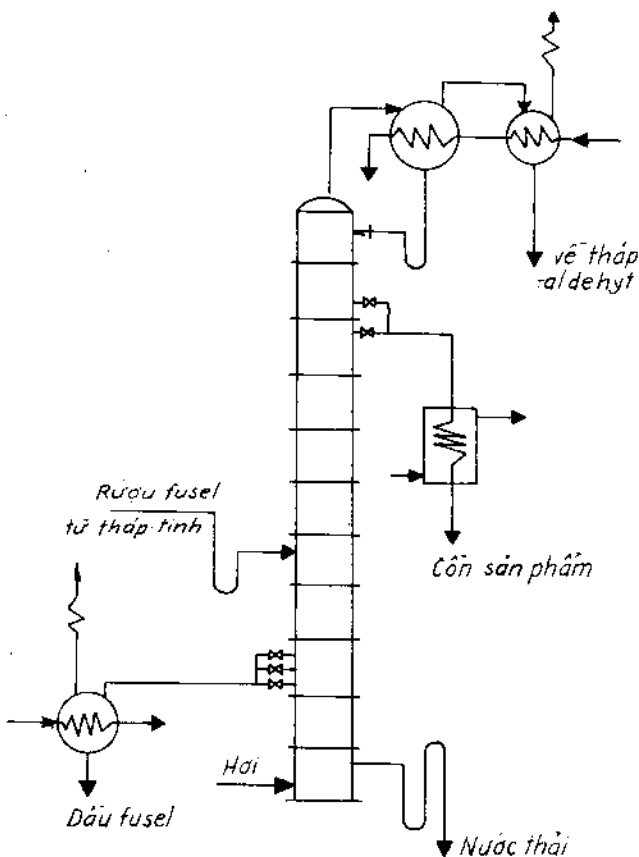
Sơ đồ chưng luyện ba tháp + một tháp fusel = bốn

Sơ đồ này đã từng được áp dụng ở nhà máy rượu Hà Nội. Khi dùng sơ đồ ba tháp và cộng thêm tháp fusel, vận hành thiết bị cũng tương tự sơ đồ ba tháp, điều khác là rượu fusel lấy ra nhiều (khoảng 10%) rồi đưa vào tháp riêng gọi là tháp fusel.

Về cấu tạo tháp tương tự tháp aldehyt nhưng có số đĩa tương tự tháp tinh.

Hỗn hợp dầu fusel có thể lấy ra ở dạng lỏng hoặc hơi tùy theo

thiết kế và kinh nghiệm vận hành khi đặt tháp fusel. Trước đây thường người ta thiết kế lấy ra ở dạng lỏng, hiện nay phần lớn lấy ở dạng hơi. Trong thành phần của hỗn hợp chứa nhiều cấu tử (nước, alcol etylic, alcol cao phân tử, este, aldehyt, axit hữu cơ và các chất khác) nhưng nhiều nhất là nước, alcol etylic và alcol cao phân tử. Thành phần của hỗn hợp có



Hình 9-10. Tháp fusel

thể biến đổi trong giới hạn khá lớn và phụ thuộc vào nhiều yếu tố như mức độ tích tụ hỗn hợp, chỉ số hồi lưu, nồng độ rượu vào đĩa tiếp liệu, số lượng và vị trí lấy ra ...

Theo số liệu của Mêchusốp, sự tích tụ alcol izoamylic sẽ đạt tối đa trong vùng có nồng độ alcol etylic từ 10 đến 30% khối lượng, izobutylic 30÷35% và với alcol propylic 40%. Bằng phân tích sắc ký khí, Viện nghiên cứu Rượu của nước Cộng hòa Ucraina cho biết, trong hỗn hợp rượu fusel ngoài nước còn chứa 17,72÷21,26% V alcol etylic và 26, 11÷25,88% alcol cao phân tử. Theo Pôlixúc khi lấy hỗn hợp fusel ở vùng tích tụ tối đa của tháp fusel, trong thành

phần của nó chứa 13,3% alcol etylic nhưng nếu lấy ở thấp tinh thì trong thành phần của hỗn hợp chứa tới 83,5% alcol etylic.

Trong tất cả các trường hợp, hỗn hợp fusel lấy ở vùng tích tụ tối đa đều chứa alcol etylic với số lượng đáng kể. Thực tế cho biết, nếu lượng alcol etylic trong hỗn hợp nhiều gấp hai lần alcol cao phân tử thì việc rửa và tách dầu gặp khó khăn.

Để giảm lượng alcol etylic trong hỗn hợp fusel, thực tế hiện nay người ta không lấy ở vùng tích tụ tối đa, mà lấy ở các đĩa phía dưới. Kinh nghiệm cho biết, ở các đĩa phía dưới vùng tích tụ tối đa hàm lượng alcol etylic giảm rất nhanh và gần như không đáng kể ở các đĩa dưới cùng. Hỗn hợp lúc đó hầu như chỉ có hai cấu tử: nước và alcol bậc cao. Mặt khác ở các đĩa phía dưới vùng tích tụ tối đa, tuy hàm lượng alcol bậc cao thấp nhưng hệ số bay hơi của tất cả các alcol cao đều lớn. Hỗn hợp fusel lấy ra ở dạng hơi chứa rất ít alcol etylic nên tốn ít nước rửa. Nước rửa chứa ít rượu nên có thể cho quay lại đáy tháp. Thông thường dầu fusel lấy ở dạng hơi trên các đĩa từ 6 đến 11 ứng với khoảng nhiệt độ $98 \div 100^{\circ}\text{C}$. Đối với hệ thống không có tháp fusel riêng thì nên lấy ở vùng nhiệt độ thấp hơn $94 \div 100^{\circ}\text{C}$ (khi áp suất đáy tháp khoảng $2,5 \div 2,8$ m cột nước).

Nếu lấy hỗn hợp fusel ở dạng lỏng thì nên lấy ở các đĩa có nhiệt độ $86 \div 87^{\circ}\text{C}$, nồng độ hỗn hợp lúc đó trong khoảng $65 \div 75\%$. Hỗn hợp này thường gọi là alcol fusel, nồng độ alcol etylic sẽ tăng cao nhưng hàm lượng các alcol cao không được ít hơn 0,5% so với lượng alcol etylic. Hiệu suất tách dầu của hỗn hợp lấy ra ở dạng lỏng luôn thấp hơn so với hỗn hợp lấy ra ở dạng hơi, tốn nhiều nước, tổn thất rượu do đó cũng cao hơn. Hiện nay ít dùng phương pháp lấy dầu ở dạng lỏng.

Lượng dầu fusel lấy được chỉ chiếm 0,3 đến 0,5% tổng lượng cồn đưa vào tháp. Đối với các cơ sở có công suất thấp, 2000 l cồn/ngày, lượng dầu tối đa chỉ thu được 10 lít/ngày. Vì vậy ở các cơ sở nhỏ người ta không chế sao cho dầu không làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm chính.

Để nâng cao chất lượng cồn tinh chế, khoảng 1970 về trước, ở một số nước người ta thiết kế hệ thống chưng luyện gồm 5 hoặc 6 tháp. Hệ thống có ưu điểm là tách được nhiều tạp chất và nhận được cồn có chất lượng cao và ổn định hơn. Tuy nhiên, sơ đồ nhiều tháp gây nhiều tổn kém không đáng có: tổn vật liệu chế tạo thiết bị, tổn hơi, tổn thất rượu nhiều. Nhờ phát triển của kỹ thuật và qua thực tiễn người ta nhận ra rằng, trong điều kiện sản xuất cồn từ nguyên liệu tinh bột, hệ thống ba tháp đã cho phép nhận cồn có chất lượng cao. Để ổn định chất lượng khi phải dùng nguyên liệu xấu hoặc mặt rỉ, chỉ cần thêm tháp làm sạch ghép vào sơ đồ ba tháp thành sơ đồ bốn tháp.

Để đánh giá hiệu quả làm việc của hệ thống chưng luyện người ta dựa vào các chỉ tiêu sau:

- Hiệu suất thu hồi khí chưng luyện cao hay thấp;
- Tỷ lệ thu hồi từng loại sản phẩm: % cồn hảo hạng, loại I, II, cồn đầu và đầu fusel;
- Chất lượng sản phẩm chính;
- Tiêu hao hơi cho một đơn vị sản phẩm khi cất, kg/l.

Hiệu suất được xem là tổng số các sản phẩm thu được chia cho lượng alcol etylic chứa trong giấm chín đem chưng luyện và biểu diễn theo %. Hiệu suất này phụ thuộc độ kín của thiết bị, các biện pháp công nghệ nhằm hạn chế rượu bay hơi và theo bã rượu, nước thải. Hiệu suất chưng cất ở các cơ sở sản xuất của ta mới đạt 90÷95%, ở một số nước tiên tiến đạt 98÷99%.

Tỷ lệ thu hồi từng loại sản phẩm là tỷ số giữa lượng sản phẩm từng loại chia cho tổng sản phẩm thu được và cũng biểu diễn theo %. Tỷ lệ này phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố như chất lượng nguyên liệu đưa vào sản xuất, mức độ tiến tiến của hệ thống chưng luyện, mức độ vô trùng và điều kiện lên men cũng như yêu cầu về chất lượng cồn sản phẩm. Các nước thuộc Liên Xô cũ đạt mức: cồn tinh chế các loại đạt 95,6%, cồn đầu chiếm 4% và đầu fusel 0,4%. Ở ta chưa có định mức cụ thể.

Tiêu hao hơi phụ thuộc trước hết vào nồng độ rượu trong giấm chín, mức độ chất lượng của cồn sản phẩm, số tháp và mức độ tiên tiến của hệ thống cũng như vật liệu cách nhiệt. Tùy theo các yếu tố kể trên, tiêu hao hơi cho 1 lít cồn 96° có thể từ 5 đến 7 kg. Tiêu hao nước cho hệ thống vào khoảng 50+80 l/l cồn.

Sơ đồ tinh luyện để nhận cồn tuyệt đối

Cồn tuyệt đối hay cồn gọi là cồn khan hoặc cồn không nước được dùng nhiều trong tổng hợp hữu cơ, thuốc súng không khói hoặc trong các phòng thí nghiệm. Ở một số nước cồn khan còn dùng làm nhiên liệu trong giao thông vận tải, làm chất đốt v.v... Yêu cầu cồn tuyệt đối phải đạt: nồng độ alcol etylic lớn hơn hoặc bằng 99,8%, hàm lượng aldehyt nhỏ hơn hoặc bằng 5 mg/l, hàm lượng axit hữu cơ nhỏ hơn hoặc bằng 10 mg/l. Cồn không được chứa cặn, các axit vô cơ, kiềm và furfurol. Có độ trong suốt không màu và không mùi vị lạ.

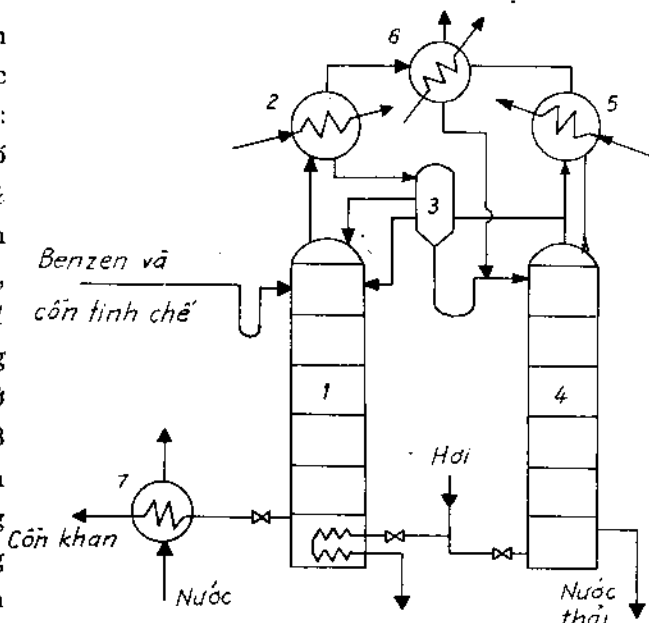
Cồn khan có thể nhận trực tiếp từ giấm chín hoặc từ cồn tinh chế; cũng có thể nhận cồn khan trong điều kiện tinh chế dưới áp suất chân không cao. Trong sản xuất công nghiệp thường dùng hỗn hợp 3 cấu tử và dựa trên cơ sở sau: đưa một chất mới vào cồn tinh chế (ví dụ benzen) để tạo ra hỗn hợp đẳng phí 3 cấu tử gồm nước alcol và benzen có nhiệt độ sôi 64,85°C. Trong tháp hỗn hợp 3 cấu tử này đóng vai trò của tạp chất đầu - chứa 18,5% khối lượng alcol, 7,4% nước và 74,1% benzen. Hỗn hợp này khi ngưng tụ và làm lạnh sẽ phân lớp, lớp trên là benzen, lớp dưới là nước và alcol etylic.

Các chất có thể dùng để tạo hỗn hợp đẳng phí và tính chất của chúng xem ở bảng 9-8.

Bảng 9-8. Các hỗn hợp đẳng phí

Chất có trong hỗn hợp đẳng phí			Nhiệt độ sôi, °C				% khối lượng trong hỗn hợp đẳng phí		
A	B	C	A	B	C	Hỗn hợp	A	B	C
Rượu	Nước	Benzen	78,3	100	80,2	64,85	18,5	7,4	74,1
Rượu	Nước	Axetat etyl	78,3	100	77,15	70,23	8,4	9,0	82,6
Rượu	Nước	Cloroform	78,3	100	61,15	55,5	4,0	3,5	92,5

Tinh chế cồn khan được thực hiện như sau: Cồn tinh chế có nồng độ 95÷96% cùng với benzen được tính trước, đi vào tháp 1 được đun bằng hơi gián tiếp ở đáy. Hỗn hợp 3 cấu tử bay lên kéo theo lượng nước chứa trong cồn và benzen đưa vào, sau khi ngưng tụ và làm lạnh ở 2, hỗn hợp đi vào bình



Hình 9-11. Sơ đồ nhận cồn khan từ cồn tinh chế
1. Thủy tinh chế cồn khan; 2. Bình ngưng tụ hỗn hợp đẳng phí; 3. Bình phân ly; 4. Tháp chưng;
5, 6, 7. Bình ngưng tụ và làm sạch.

phân ly 3. Ở đây benzen được phân lớp và quay trở lại tháp 1, còn alcol và nước đi vào tháp tinh chế 4. Khác với ở tháp 1, ở tháp 4 được cấp hơi trực tiếp, hơi rượu bay lên sau khi ngưng tụ ở 5, một phần đi vào tháp 1, phần còn lại hồi lưu vào 4 và chảy dần xuống đáy thành nước thải ra ngoài, tương tự các sơ đồ chưng luyện thông thường.

Cồn ở tháp 1 chảy xuống tới đáy không còn nước và benzen được làm lạnh ở 7, ta thu được cồn khan - không nước.

Tiêu hao hơi cho 1 lít cồn khan vào khoảng 1,5÷2 kg, tiêu hao nước khoảng 25÷30 l, còn tiêu hao benzen do bay hơi khoảng 0,001÷0,002 kg/l.

9.3. Tính cân bằng vật chất các thiết bị chủ yếu của hệ thống chưng luyện

Tính toán nhằm mục đích xác định các thông số kỹ thuật và kích thước cơ bản theo công suất đã cho, lựa chọn cấu tạo tối ưu trong điều kiện và khả năng cho phép để vừa bảo đảm công suất, chất lượng sản phẩm, đồng thời tiết kiệm được vật tư tiền vốn khi xây dựng.

Các thông số kỹ thuật bao gồm: thành phần của sản phẩm vào và ra khỏi tháp, nhiệt độ, lượng chất hồi lưu và hơi đi trong tháp. Kích thước của tháp được xác định trên cơ sở lượng hơi và số đĩa trong tháp.

Tất cả các tính toán được chia thành tính công nghệ và tính thủy động học. Dựa vào tính công nghệ ta xác định chế độ làm việc của tháp nhằm bảo đảm chất lượng tách sản phẩm. Dựa vào tính động lực học ta xác định kích thước và cấu tạo bên trong của tháp sao cho đủ bảo đảm công suất đã định trước.

Tính công nghệ bao gồm: chọn sơ đồ công nghệ, phương pháp cấp nhiệt và hồi lưu, cân bằng vật chất, xác định chỉ số hồi lưu và lượng hơi, cân bằng nhiệt cũng như số đĩa và kiểu đĩa hoặc mâm.

9.3.1. Hồi lưu và tỷ số hồi lưu

Hồi lưu là lượng chất lỏng cần thiết đưa vào tháp khi chưng luyện. Ở tháp thô lượng hồi lưu chính là giấm chín đưa vào tháp ở đĩa trên cùng. Ở tháp tinh hoặc tháp aldehyt, lượng hồi lưu vừa đi vào giữa tháp (phần chưng) vừa đi vào đỉnh tháp (phần luyện). Trong thực tế sản xuất khi nói tới lượng hồi lưu ta chỉ tính đến lượng chất lỏng đi vào đỉnh tháp. Lượng này do hơi bay ra ở đỉnh tháp, sau khi ngưng tụ phần lớn quay lại tháp, phần còn lại được lấy ra có thể trực tiếp từ hơi ngưng tụ lại (cồn đầu lấy ra ở tháp aldehyt) hoặc từ chất lỏng ở đĩa gần đỉnh (tháp tinh) gọi là cồn tinh chế. Tỷ số hồi lưu: $v = \frac{L}{D} = \frac{G-D}{D}$

L - lượng hơi còn ra khỏi đỉnh được ngưng tụ và quay trở lại tháp;

G - lượng hơi còn bay ra khỏi đỉnh được ngưng tụ lại;

D - lượng còn đầu hoặc còn tinh chế lấy ra.

Tỷ số hồi lưu có thể từ 0 đến vô cực. Nếu $v = 0$ thì $L = 0$, tức là không có lượng hồi lưu đi vào đỉnh tháp. Dòng hơi từ dưới lên sẽ không gặp để sục qua chất lỏng. Do đó quá trình luyện để nâng cao nồng độ không xảy ra. Nếu v bằng vô cực có nghĩa là toàn bộ lượng hơi ra khỏi tháp sau khi ngưng tụ đều hồi lưu trở lại tháp, không có lấy sản phẩm. Quá trình luyện luôn xảy ra nhưng sản phẩm để bay hơi không có lối thoát, nồng độ rượu ở phần dưới tăng dần. Thực tế sản xuất người ta không chế $0 < v < \infty$. Đối với tháp aldehyt v rất lớn, có thể tới hàng trăm, còn đối với tháp tinh v vào khoảng 2 đến 6. Trong thời gian chưng luyện có lúc $v = \infty$.

Hồi lưu có thể thực hiện bằng tự chảy khi bình ngưng tụ cao hơn tháp hoặc dùng bơm khi bình ngưng tụ đặt thấp hơn vị trí hồi lưu. Trường hợp này tuy tiết kiệm được chiều cao nhà xưởng nhưng tốn điện và khó khống chế nên ít dùng.

9.3.2. Cân bằng vật chất và nhiệt lượng

Tùy theo sơ đồ chưng luyện để tính cân bằng cho phù hợp. Dưới đây chúng tôi chỉ giới thiệu cách tính cân bằng của hệ thống ba tháp với phương pháp cấp nhiệt trực tiếp và tính cho 100 kg giấm.

Cân bằng vật chất của tháp thô

$$100 + H_1 = B + G_1 \quad (1)$$

H_1 - lượng hơi cần để chưng hết 100 kg giấm, kg

B - lượng bã rượu thải ra từ 100 kg giấm, kg

G_1 - lượng hơi rượu ra khỏi tháp thô, kg

Vì rằng lượng bã rượu B bằng lượng H_1 ngưng tụ cộng với lượng giấm thừa còn lại R :

$$B = H_1 + R \quad (2)$$

Thay giá trị của B vào (1) ta có:

$$100 = R + G_1 \quad (3)$$

và
$$R = 100 - G_1 \quad (4)$$

Phương trình cân bằng rượu ở tháp thô khi bỏ qua tổn thất rượu theo bã:

$$100.X = G.Y$$

X - nồng độ rượu trong giấm, % khối lượng;

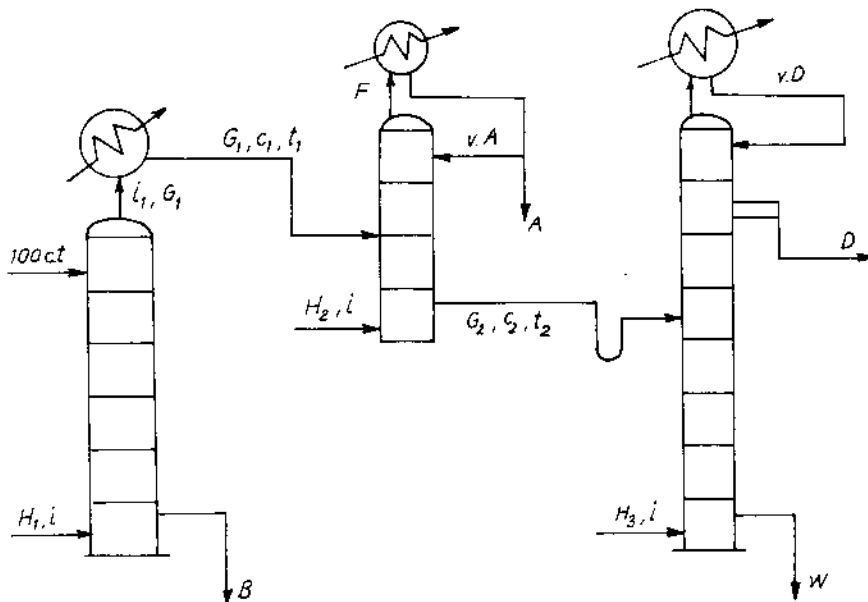
Y - nồng độ rượu trong hơi bay ra, %.

$$G_1 = 100 \frac{X}{Y} \quad (5)$$

Phương trình cân bằng nhiệt của tháp thô:

$$100.c.t + H_1 i = (R + H_1)c_b t_b + G_1 i_1 + Q_1$$

Ta rút ra:



Hình 9-12. Sơ đồ cân bằng vật chất và cân bằng nhiệt

$$H_1 = \frac{Rc_b t_b + G_1 i_1 - 100c.t + Q_1}{i - C_b t_b} \quad (6)$$

c, c_b - tỉ nhiệt của giấm và bã rượu, kcal/ kg.độ

t, t_b - nhiệt độ của giấm và bã rượu, độ

i, i_1 - nhiệt hàm của hơi nước và hơi rượu, kcal/kg

Q_1 - tổn thất nhiệt quanh tháp thường khoảng 500 kcal/100 kg giấm.

Đối với tháp aldehyt

Tiêu hao hơi cho tháp aldehyt phụ thuộc vào sơ đồ công nghệ, hàm lượng este và aldehyt cũng như mức độ làm sạch sản phẩm. Theo nghiên cứu của Xungancốp, lượng hơi tiêu hao cho tháp aldehyt có thể từ 0,4 đến 1,5 kg/kg cồn khan. Đối với sơ đồ gián tiếp chúng ta lấy 1,0 kg/kg. Do đó tiêu hao hơi H_2 cho tháp aldehyt có thể tính:

$$H_2 = 1. G_1. Y_1 = G_1 X_1, \text{ kg} \quad (7)$$

Y_1 - nồng độ rượu trong hơi ra khỏi tháp thô cũng bằng nồng độ X_1 trong chất lỏng ngưng tụ đi vào tháp aldehyt theo % khối lượng.

Cân bằng vật chất:

$$G_1 + H_2 = A + G_2$$

Cồn đầu lấy ra ít, có thể xem $A = 0$. Do đó:

$$G_2 = G_1 + H_2 \quad (8)$$

Dựa vào (7) và (8) ta suy ra, lượng rượu đi vào tháp $G_1 X_1$ và ra khỏi tháp $G_2 X_2$ gần bằng nhau:

$$G_1 X_1 = G_2 X_2 \longrightarrow X_2 = \frac{G_1 X_1}{G_2} \% \quad (9)$$

Trong thực tế lượng cồn đầu có lấy ra khoảng 3+5% nhưng lại có lượng hơi H_2 ngưng tụ lại tháp nên xét về khối lượng dịch vào và ra khỏi tháp có thể xem gần bằng nhau. Tuy nhiên, vì nồng độ cồn

đầu lấy ra cao hơn nên nồng độ rượu đi vào tháp tinh thấp hơn so với nồng độ cồn thô vào tháp $X_2 < X_1$.

Cân bằng nhiệt

$$G_1.c_1.t_1 + H_2.i + v.A.c_a.t_a = G_2.c_2.t_2 + v.A.i_a + A.i_a + Q_2$$

Thay $G_2 = G_1 + H_2$ và $A.i_a = 0$ rồi chuyển vế ta có:

$$v.A(i_a - c_a.t_a) = G_1(c_1.t_1 - c_2.t_2) + H_2(i - c_2.t_2) - Q_2$$

Biết rằng $v.A(i_a - c_a.t_a) = F.r$

$$F = \frac{G_1(c_1.t_1 - c_2.t_2) + H_2(i - c_2.t_2) - Q_2}{r} \quad (10)$$

$$\text{Mặt khác: } F = v.A \longrightarrow v = \frac{F}{A} \quad (11)$$

G_1 - khối lượng hỗn hợp rượu đi vào tháp aldehyt, kg

G_2 - khối lượng hỗn hợp vào tháp tinh, kg

c_1, c_2, c_a - tỉ nhiệt, kcal/kg

t_1, t_2, t_a - nhiệt độ, °C

A - lượng cồn đầu lấy ra, kg

v - tỉ số hồi lưu

i_a - nhiệt hàm của hơi rượu ra khỏi đỉnh tháp, kcal/kg

X_1, X_2 - nồng độ rượu, % khối lượng

Q_2 - tổn thất nhiệt, lấy bằng 500 kcal.

Đối với tháp tinh chế

Cân bằng vật chất:

$$G_2 + H_3 = D + W, \text{ kg} \quad (12)$$

Lượng nước thải ra ở đáy tháp:

$$W = G_2 + H_3 - D \quad (13)$$

Để tiện cho việc tính, ta xem rằng tổn thất rượu theo bã rượu và nước thải trong quá trình cất là không đáng kể thì cân bằng rượu ở tháp tinh có thể viết:

$$100X = D.X_d \longrightarrow D = \frac{X}{X_d} 100, \text{ kg} \quad (14)$$

Cân bằng nhiệt:

$$G_2.c_2.t_2 + H_3.i + v.D.c_d.t_d = v.D.t_d + D.c_d.t_d + W.c_w.t_w + Q_3$$

$$\text{Biết } v.D.i_d - v.D.c_d.t_d = v(i_d - c_d.t_d) = F_1.r_1$$

Thay và chuyển về ta có:

$$H_3.i + G_2.c_2.t_2 = F_1.r_1 + D.c_d.t_d + W.c_w.t_w + Q_3 \quad (15)$$

Thay giá trị của $W = G_2 + H_3 - D$ vào (15) và thực hiện phép tính ta có:

$$H_3 = \frac{F_1.r_1 - D(c_w.t_w - c_d.t_d) + G_2(c_w.t_w - c_2.t_2) + Q_3}{i - c_w.t_w} \quad (16)$$

Đối với còi tiêu chuẩn 96%V, ta có:

$$c_d = 0,898, t_d = 78,3^{\circ}; r_1 = 2315, \text{ lấy } c_w = 1, t_w = 103^{\circ}\text{C và } i = 642 \text{ kcal/kg}$$

Thay các giá trị trên vào (16) ta có:

$$H_3 = \frac{231,5F_1 - 32,5D + G_2(103 - c_2.t_2) + Q_3}{539} \quad (17)$$

Nhiệt cần lấy đi ở bình ngưng tụ hồi lưu của tháp tinh:

$$Q = v.D.r_i.$$

9.4. Tính và chọn một số chỉ tiết thiết bị của hệ thống chưng luyên

9.4.1. Số mâm, khoảng cách và tốc độ hơi trong tháp

Số mâm lý thuyết của tháp có thể tính theo phương pháp dùng giản đồ hoặc xác định theo công thức:

$$n = \frac{\lg \left[\frac{X}{X_b} \left(K \frac{H_1}{G} - 1 \right) + 1 \right]}{\lg \left(K \frac{H_1}{G} \right)} - 1$$

n - số mâm lý thuyết;

X - hàm lượng rượu trong dấm chín đi vào mâm trên cùng của tháp thò hoặc nồng độ rượu đi vào mâm tiếp liệu của tháp tinh, % khối lượng.

X_b - nồng độ rượu sót trong bã rượu hoặc trong nước thải, % khối lượng.

G - lượng chất lỏng chảy theo các mâm:

$$G = 100 - X$$

H_1 - lượng hơi tiêu hao cho 100 kg giấm

K - hệ số bay hơi tùy thuộc nồng độ trung bình của giấm lấy theo Phụ lục I

Còn nồng độ trung bình tính theo:

$$X_{t,b} = \frac{X - X_b}{2,3 \lg \frac{X}{X_b}}, \text{ \% khối lượng}$$

Số mâm thực tế hoặc là lấy theo kinh nghiệm hay khi đã biết hiệu quả tác dụng của loại mâm thì xác định theo công thức:

$$n_1 = \frac{\lg \left[\frac{X}{X_b} \left(K \frac{H}{G} \eta - 1 \right) + 1 \right]}{\lg \left(K \frac{H}{G} \eta \right)} - 1$$

Hiệu quả tác dụng của các loại mâm tốt nhất là lấy theo thực tế. Tùy theo loại mâm (dĩa) η có thể từ 0,3 đến 0,8.

Chú ý rằng khi xác định số mâm lý thuyết theo giản đồ thì nồng độ rượu phải tính theo % phân tử chứ không tính theo % khối lượng (xem Phụ lục II).

Tốc độ hơi và khoảng cách giữa các mâm

Tốc độ hơi trên mâm tháp tính theo công thức của giáo sư Stapnhicốp:

$$\omega = \frac{0,305.h}{60 + 0,05.h} - 0,012.z, \text{ m/s.}$$

h - khoảng cách giữa các mâm, mm

z - chiều cao chất lỏng trên mâm tức là chiều cao cổ ống chảy tràn, mm.

Đối với mâm kiểu chóp của tháp thô, chiều cao z khoảng 50÷60 mm; khoảng cách $h = 250\div300$ mm.

Đối với tháp tinh và tháp aldehyt thì $h = 160\div170$ mm, $z = 30\div50$ mm.

Tốc độ hơi nói chung $\omega \approx 0,2\div0,6$ m/sec.

Tốc độ hơi trong ống chui từ mâm dưới lên mâm trên khoảng 10 đến 12 lần lớn hơn.

Đường kính tháp

Muốn tính đường kính tháp để bảo đảm công suất dự kiến thì trước hết phải biết lượng hơi rượu - nước ra khỏi tháp và tỷ số hồi lưu (nếu là tháp tinh):

$$V = \frac{\pi \Phi^2}{4} \omega, \text{ m}^3/\text{s} \rightarrow \Phi = \sqrt{\frac{4V}{\pi.\omega}}$$

Φ - Đường kính tháp

V - lượng hơi rượu nước ra khỏi tháp, m^3/s .

$$V = \frac{D(1 + v)V_p}{3600}$$

D - lượng sản phẩm lấy ra trong giờ, l/h

v - tỷ số hồi lưu

γ - khối lượng riêng của sản phẩm ở nồng độ đã định, kg/l

V_p - thể tích riêng của hỗn hợp rượu nước, m^3/kg .

$$V_p = \frac{R_{t,b}T}{p}$$

p - áp suất khí quyển, $p = 1,0333 \text{ kg/m}^2$.

T - nhiệt độ tuyệt đối của hỗn hợp hơi rượu - nước ra khỏi tháp
($T = 273 + t$), °K

$R_{t,h}$ - hằng số khí của hỗn hợp hơi rượu nước:

$$R_{t,h} = \frac{18,4X_d + 47W}{100}$$

X_d - nồng độ rượu trong sản phẩm, % khối lượng.

W - lượng nước trong sản phẩm, % khối lượng:

$$W = 100 - X_d$$

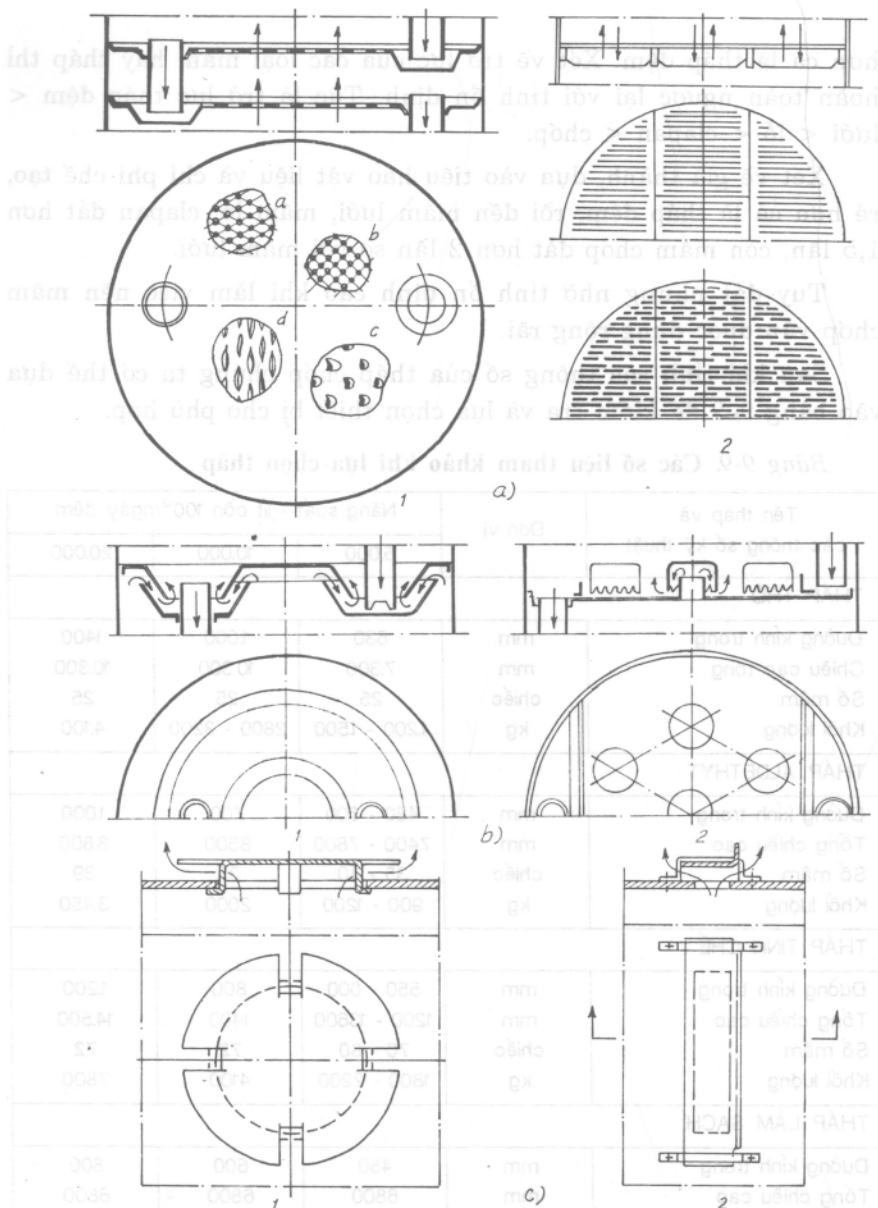
9.4.2. Cấu tạo các loại mâm (đĩa) và cơ sở để lựa chọn

Các mâm của tháp có nhiều loại, cấu tạo của chúng có thể xem ở hình 9-13.

Trong sản xuất còn thường dùng nhất là đĩa chóp, với tháp thô có năng suất vừa và nhỏ người ta hay dùng mâm kiểu chóp (1 hoặc 2 chóp). Đối với năng suất lớn, tháp thô hay dùng mâm lỗ, mâm lưới. Đối với các tháp aldehyt, tháp tinh, tháp làm sạch hoặc tháp dầu fusel, đa số dùng mâm nhiều chóp, đôi khi dùng mâm clapan (xúp-páp).

Mâm lưới và mâm lỗ có ưu điểm là hệ số tác dụng cao hơn mâm chóp nhưng đòi hỏi ổn định về điện nước, nếu không sẽ gây khó khăn và ảnh hưởng tới sản xuất. Trong điều kiện hiện nay ở nước ta chưa nên dùng đĩa lỗ hoặc lưới vì khi mất điện, mất nước phải dừng tháp, toàn bộ chất lỏng ở các mâm sẽ tụt xuống đáy. Khi có điện, nước trở lại phải mất thời gian lâu mới ổn định được làm việc của tháp, gây nhiều tổn thất. Ngay khi có điện nước ổn định nhưng nếu áp suất trong tháp không được tự động điều chỉnh thì tháp làm việc cũng ít ổn định.

Khi lựa chọn loại mâm, điều quan tâm trước hết là tính ổn định khi làm việc. Ổn định ngay khi thay đổi lượng dịch vào mà vẫn bảo đảm hiệu quả như đã có. Thực tế cho thấy, tính ổn định của mâm chóp cao hơn mâm clapan, tính ổn định của mâm clapan cao hơn mâm lỗ. Còn tính ổn định của mâm lỗ lại cao hơn mâm lưới. Kém



Hình 9-13. Các loại mầm - đĩa khác nhau.

- a. Đĩa lưới: 1- có ống chảy chuyên; 2- không có ống chảy chuyên;
 b. Đĩa chóp (1 chóp và nhiều chóp); c. Đĩa clapan (tròn và chữ nhật).

hơn cả là tháp đệm. Xét về trở lực của các loại mâm hay tháp thì hoàn toàn ngược lại với tính ổn định. Tức là trở lực tháp đệm < lưới < lỗ < clapan < chớp.

Xét về giá thành, dựa vào tiêu hao vật liệu và chi phí chế tạo, rẻ hơn cả là tháp đệm, rồi đến mâm lưới, mâm lỗ; clapan đắt hơn 1,5 lần, còn mâm chớp đắt hơn 2 lần so với mâm lưới.

Tuy đắt nhưng nhờ tính ổn định cao khi làm việc nên mâm chớp vẫn được dùng rộng rãi.

Sau khi tính các thông số của tháp chớp chúng ta có thể dựa vào bảng 9-9 để kiểm tra và lựa chọn thiết bị cho phù hợp.

Bảng 9-9. Các số liệu tham khảo khi lựa chọn tháp

Tên tháp và các thông số kỹ thuật	Đơn vị	Năng suất - lít còn 100 ⁰ /ngày đêm		
		5.000	10.000	20.000
THÁP THÔ				
Đường kính trong	mm	630	1000	1400
Chiều cao tổng	mm	7.300	10.300	10.300
Số mâm	chiếc	25	25	25
Khối lượng	kg	1.200 - 1.500	2800 - 3.200	4.100
THÁP ALDETHYT				
Đường kính trong	mm	480 - 500	700	1.000
Tổng chiều cao	mm	7400 - 7800	8500	8.800
Số mâm	chiếc	35 - 40	39	39
Khối lượng	kg	900 - 1.200	2000	3.450
THÁP TINH CHẾ				
Đường kính trong	mm	550 - 600	800	1.200
Tổng chiều cao	mm	1200 - 13600	1400	14.500
Số mâm	chiếc	70 - 80	72	72
Khối lượng	kg	1800 - 2.200	4100	7800
THÁP LÀM SẠCH				
Đường kính trong	mm	450	600	800
Tổng chiều cao	mm	6800	6800	6800
Số mâm	chiếc	30	30	30
Khối lượng	kg	1000	1.500	2.400

Chương X

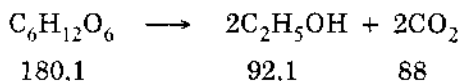
HIỆU SUẤT, TỶ LỆ TỐN THẤT VÀ KHẮC PHỤC CÁC HIỆN TƯỢNG BẤT THƯỜNG TRONG SẢN XUẤT

10.1. Hiệu suất và tổn thất

Để đánh giá hiệu quả làm việc của toàn bộ các công đoạn trong dây chuyền sản xuất, người ta dùng khái niệm hiệu suất tổng thu hồi. Đó là toàn bộ lượng cồn nhận được trong sản xuất từ một lượng nguyên liệu xác định (thường tính theo 100 kg đường hoặc tinh bột) chia cho lượng cồn nhận được theo phương trình lý thuyết và biểu thị theo %. Tỷ số này còn gọi là hiệu suất thực tế và ký hiệu η_t . Hiệu suất này gồm hiệu suất nấu đường hóa và lên men (kể cả nghiền nguyên liệu), ký hiệu η_m và hiệu suất chưng cất η_c :

$$\eta_t = \eta_m \cdot \eta_c$$

Lượng cồn nhận được theo lý thuyết tính theo phương trình Gaylussac:



Từ phương trình này suy ra, cứ 100 kg đường đơn giản (glucoza, fructoza...) khi lên men sẽ cho ta 51,14 kg cồn etylic và 48,66 kg CO_2 . Dem chia cho khối lượng riêng của cồn ở 20°C , $d_4^{20} = 0,78927$, ta có:

$$\frac{51,14}{0,78927} = 64,794 \text{ l } 100\%$$

Nếu tính cho 100 kg đường đôi (maltoza, saccaroza) thì cần nhân với hệ số 1,0526, với tinh bột thì nhân 1,11104. Kết quả có

thể xem trong bảng 10-1.

Thực tế lượng cồn thu được luôn ít hơn so với lý thuyết. Tùy theo nguyên liệu cũng như sơ đồ công nghệ, hiệu suất thực tế có thể rất khác nhau, từ 75 đến 93%. Với sự phát triển của khoa học và công nghệ, hiệu suất thực tế ngày càng tiệm cận với lý thuyết nhưng không bao giờ đạt tới 100%.

Bảng 10-1.

Nguồn gluxit	Lượng cồn thu được từ 100 kg	
	theo lít	theo kg
Tinh bột	71,998	58,818
Đường đôi	68,20	53,83
Đường đơn	64,794	51,14

Để nâng cao trách nhiệm của người vận hành và để kiểm tra sản xuất, người ta chia ra hiệu suất lên men và hiệu suất chưng cất. Căn cứ vào số lượng nguyên liệu và hàm lượng đường hoặc tinh bột đưa vào sản xuất cũng như lượng giấm chín và nồng độ cồn sau lên men, người ta tính hiệu suất thu được sau lên men rồi giao cho phân xưởng chưng luyện.

Ví dụ sau một ca đưa vào sản xuất 10 tấn nguyên liệu có hàm lượng tinh bột trung bình 65%. Lượng giấm thu được tương ứng 48 m³ với nồng độ cồn 8.8% V. Hiệu suất sau lên men là:

$$\frac{48.000 \times 8,8 = 4224}{\underbrace{10.000 \text{ kg} \times 0,65 \times 71,99 \text{ lít}}_{46.793}} \% \approx 90,27\%$$

Từ 4224 lít cồn chứa trong 48000 lít giấm, sau khi cất chỉ thu được 126 lít cồn đầu với nồng độ 90% và 4050 lít cồn tinh chế với nồng độ 96%. Hiệu suất cất chưng cất sẽ là:

$$\eta_c = \frac{126 \times 0,9 + 4050 \times 0,96}{4224} \% = 94,73\%$$

Hiệu suất tổng thu hồi thực tế sẽ là:

$$\eta_t = \eta_m \times \eta_c = 90,27\% \times 94,73\% = 85,24\%$$

Trong sản xuất nhiều nơi không tính hiệu suất thực tế so với lý thuyết mà tính tiêu hao nguyên liệu cho 1 lít cồn. Cách tính này đơn giản nhưng kém chính xác. Vì chất lượng nguyên liệu nhiều khi không đồng nhất theo thời gian và giữa các nhà máy. Khi tính tiêu hao kg nguyên liệu cho 1 lít cồn cần kèm theo: % tinh bột trong nguyên liệu (nếu đường cũng nên qui theo tinh bột hoặc ngược lại). Nồng độ cồn cũng cần thống nhất qui về 100%.

Ví dụ cơ sở sản xuất A tiêu tốn 4 kg mật rỉ có hàm lượng đường tính theo glucoza là 50%; cơ sở sản xuất B tiêu tốn 3,8 kg mật rỉ với hàm lượng đường 54%. Lượng đường tiêu tốn cho 1 lít cồn 100% V ở cơ sở A là $4 \text{ kg} \times 0,5 = 2 \text{ kg}$. Hiệu suất tổng thu hồi thực tế:

$$\frac{1}{2 \times 0,6478} \% = 77,16 \%$$

Tiêu tốn đường cho 1 lít cồn ở cơ sở B:

$$3,8 \times 0,54 = 2,052 \text{ kg}$$

Hiệu suất tổng thu hồi:

$$\frac{1}{2,052 \times 0,6457} \% = 75,21\%$$

Như vậy mới nhìn ta tưởng cơ sở sản xuất B làm ăn có hiệu quả nhưng thực chất hiệu suất tổng thu hồi lại kém so với cơ sở sản xuất A.

Hiệu suất tổng thu hồi cồn từ sắn ở nơi làm ăn có hiệu quả nhất ở nước ta vào khoảng 82 đến 85%. Tiêu hao sắn có hàm lượng tinh bột 62÷65%, vào khoảng 2,6 đến 2,8 kg/l qui 100%.

Trong quá trình sản xuất có các dạng tổn thất sau:

- 1 - Tổn thất do nghiền, vận chuyển nội bộ khoảng 0,2 đến 0,3%;
- 2 - Tổn thất do nấu, đường hóa và lên men 6 đến 12% (tinh bột sót, đường sót, tạo men);

3 - Tổn thất không xác định, đổ ra ngoài, đọng lại ở thiết bị, đường ống và bay theo CO₂ từ 1 đến 2%;

4 - Tổn thất do chưng cất, do bay hơi, còn lại trong bã rượu, nước thải ... có thể xác định theo công thức sau:

$$B = \frac{100 \times n \times A.m \times V}{M} \%$$

B - tổn thất còn theo bã rượu và nước thải, %

A - hàm lượng cồn trong bã và nước thải, kg/m³, thường 0,015÷0,03%.

n - hệ số chuyển % khối lượng rượu thành tinh bột (*n* = 1,852).

V - thể tích giấm đem cất trong ca hoặc trong ngày, m³

m - hệ số pha loãng cho hơi nước ngưng tụ, thường 1; 1,15; 1,2.

M - lượng tinh bột ứng với *V* m³ giấm cất, kg.

Lượng cồn tổn thất do chưng luyện ở các nước tiên tiến chỉ vào khoảng 1 đến 2%, ở ta tổn thất này còn khá lớn, từ 5 đến 10% và có nơi còn cao hơn.

5 - Ở trên đã kể tổn thất chung do lên men có thể từ 6 đến 12%. Riêng tổn thất do nhiễm khuẩn làm tăng độ chua so với bình thường có thể xác định theo công thức sau:

$$D = \frac{4,5 \times N \times V \times 100}{M} \%$$

4,5 - lượng đường mất do tăng 1° chua (1° chua tương đương 2,45 g H₂SO₄/lít, kg/m³).

N - số độ chua tăng quá mức qui định.

Ví dụ, độ chua trước lên men là 0,3°, theo qui định sau lên men độ chua chỉ được tăng 0,2, tức tới 0,5° (tương đương 1,23 g/l); nhưng do dịch lên men bị nhiễm khuẩn nên sau lên men độ chua tăng tới 0,8. Do đó lượng đường mất do bị nhiễm bằng:

$$D = \frac{4,5(0,8 - 0,5) \times 48.000 \times 100}{6500 \text{ (theo ví dụ trên)}} = 1\%.$$

Tổng cộng lượng tinh bột hoặc đường tổn thất trong dây chuyền sản xuất ở các nước tiên tiến vào khoảng 10%; ở nước ta hiện nay vào khoảng 15÷40%.

Giảm tổn thất vô hình và hữu hình nhằm nâng cao dần hiệu suất tổng thu hồi là việc làm có ý nghĩa kinh tế kỹ thuật quan trọng. Đây là việc phải làm thường xuyên liên tục đối với mọi cơ sở sản xuất. Chỉ có trên cơ sở đi sâu để nắm bắt kỹ thuật công nghệ, chúng ta mới nâng dần hiệu suất thu hồi cũng như chất lượng sản phẩm, rút ngắn khoảng cách về các mặt giữa các xí nghiệp của nước ta với các nước tiên tiến.

Dưới đây chúng tôi xin nêu ví dụ để bạn đọc quan tâm hơn đến hiệu quả kinh tế do tăng hiệu suất tổng thu hồi. Nếu chỉ nâng cao hiệu suất thực tế 2% so với hiện tại ở một cơ sở sản xuất nào đó thì ứng với cơ sở có năng suất 5.000 lít cồn ngày, mỗi ngày cơ sở sẽ thu thêm khoảng 100 lít cồn. Một năm sẽ thu thêm 30.000 lít mà không tốn kém gì thêm. Với giá bán cồn tinh bột hiện nay 15.000 đ/l hàng năm nhà máy sẽ thu thêm khoảng 450 triệu đồng. Với các cơ sở sản xuất lớn như Rượu Hà Nội và Bình Tây thì hiệu quả kinh tế còn lớn hơn nhiều.

10.2. Những hiện tượng bất thường, nguyên nhân và cách khắc phục nhằm bảo đảm chất lượng cồn tinh chế

Khi tiến hành chưng luyện theo sơ đồ liên tục gián tiếp hệ ba hoặc bốn tháp, bình thường thì chất lượng cồn tinh chế luôn bảo đảm và thỏa mãn các yêu cầu hoặc vượt (4 tháp) tiêu chuẩn Việt Nam TCVN-71. Tuy nhiên, trên thực tế sản xuất đôi khi còn nhận được không đạt một vài chỉ tiêu nào đó. Điều này có thể do một hoặc nhiều nguyên nhân gây ra. Dưới đây chúng tôi xin giới thiệu để bạn đọc tham khảo, xem xét và tìm cách giải quyết đúng, nhằm ngăn ngừa hiện tượng giảm chất lượng trong sản xuất.

Chất lượng cồn, năng suất và hiệu suất thu hồi cũng như tỷ lệ

Bảng 10-2. Hiện tượng bất thường, nguyên nhân và cách khắc phục

TT	Chỉ tiêu chất lượng không đạt	Yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng sản phẩm
1	Nồng độ cồn thấp, bị đục hoặc có màu xanh da trời	Nước bị lẫn vào cồn do ngưng tụ hơi, màu xanh là do đồng bị hòa tan
2	Thời gian oxy hóa nhanh	Sự có mặt của các hợp chất không no và hợp chất chứa lưu huỳnh, acrolein, H_2S , SO_2 $CH_2 = CH - CHO$ và $CH_3CH = CH CHO$
3	Hàm lượng este và aldehyt tăng	Sự có mặt của các este phức tạp mà nguồn gốc là các tạp chất trung gian và tạp chất dầu.
4	Tăng hàm lượng alcohol metylic	Hàm lượng alcohol metylic tăng quá cho phép, không thỏa mãn yêu cầu chất lượng
5	Mùi và vị không đặc trưng cho cồn làm từ nguyên liệu thực phẩm	Tăng hàm lượng este có nguồn gốc từ tạp chất trung gian (axit valeric và butyric), các hợp chất hữu cơ khác glucit dạng chất béo.
6	Cồn có mùi vị lạ, khó chịu	Cồn chứa các chất bay hơi của hợp chất amin, các muối của axit butyric và valeric, sản phẩm dầu hỏa, chứa nhiều aldehyt butyric và aldehyt có phân tử lớn
7	Cồn có vị đắng	Trong cồn chứa tecpen và các hợp chất của nó

Nguyên nhân	Biện pháp khắc phục
- Do bình ngưng tụ hoặc bình làm lạnh bị dò, bởi nước có lẫn amoniac	Kiểm tra và sửa chữa ngay thiết bị, cần xử lý nước dùng cho nồi hơi
Nguyên liệu quá xấu, lấy sản phẩm trung gian chưa phù hợp (ít). Nguyên liệu phụ như thuốc sát trùng, phân đạm không bảo đảm	Xả nhiều hơi thừa khi nấu. Tăng tiêu hao hơi và chỉ số hồi lưu ở tháp tinh. Tăng lấy cồn đầu và dầu fusel. Kiểm tra chất lượng nước nấu, dùng vật liệu phụ có chất lượng bảo đảm.
Tháp aldehyt làm việc kém. Do nguyên liệu quá xấu, sản phẩm bị bốc nóng, bị沫. Mật rỉ bị quá chua hoặc do lên men bị nhiễm	Tăng hơi ở tháp aldehyt và tháp tinh, tăng cồn đầu và dầu fusel lấy ra. Khi nấu cần xả hơi thừa nhiều hơn. Gia nhiệt để thanh trùng mật rỉ, pha lẫn mật rỉ tốt để sản xuất. Ngăn ngừa bị nhiễm khuẩn.
Do nguyên liệu chứa nhiều pectin, hồi lưu ở tháp aldehyt ít	Xả hơi thừa khi nấu. Tăng chỉ số hồi lưu của tháp, giảm lượng sản phẩm lấy ra.
Nguyên liệu xấu, lấy ít cồn đầu, lẫn dầu hỏa, nước nấu và nước nồi hơi không được sạch	Tăng hơi thừa khi nấu, gia nhiệt mật rỉ để giảm axit dễ bay hơi. Tăng cường kiểm tra nguồn nước. Chú ý tách dầu và chất béo trên đường ống hơi. Tăng lấy cồn đầu và dầu fusel. Khi cần phải để riêng để tinh chế lại.
Nguyên liệu quá bẩn hoặc mật rỉ bị nhiễm khuẩn nặng. Vật liệu phụ xấu: chú ý bộ phận tách dầu trên đường ống hơi. Không tuân thủ chế độ làm việc của tháp	Không nên đưa các nguyên liệu quá xấu vào sản xuất. Nếu cần phải sản xuất riêng và kèm theo chế độ công nghệ phù hợp. Tăng cồn đầu và dầu fusel. Thường xuyên kiểm tra nguồn nước nấu cũng như nước dùng cho nồi hơi.
Do nguyên liệu chứa nhiều tecpen hoặc do bị沫	Thực hiện đúng chế độ làm việc của hệ tháp. Chưa có biện pháp hữu hiệu đối với vị đắng ngoài phương pháp dùng hệ thống 4 tháp, có tháp làm sạch. Tất cả các trường hợp nêu trên đều có thể xử lý tốt thông qua tháp làm sạch.

giữa các sản phẩm luôn gắn bó và quan hệ lẫn nhau. Trong điều kiện sản xuất bình thường, lượng sản phẩm chính chiếm 95÷96%, cồn đầu chiếm 3÷4%, dầu fusel 0,4÷0,5%, rượu fusel chỉ khoảng 1% (hoặc không lấy).

Đối với các nguyên liệu xấu hoặc do thùng lên men bị nhiễm thì bộ môn kỹ thuật cần xem xét, kịp thời thay đổi và điều chỉnh chế độ chưng luyện nhằm bảo đảm chất lượng sản phẩm. Trường hợp chất lượng không tốt (tăng este, aldehyt hoặc dầu fusel...), biện pháp tốt và dễ hơn cả là lấy tăng lượng cồn đầu, dầu fusel; đồng thời giảm tỷ lệ sản phẩm chính.

Thực tế sản xuất rất phong phú và đa dạng, khó có thể mô tả đầy đủ được. Bảng 10-2 đưa ra những gợi ý để bạn đọc tham khảo. Tuy là cần thiết nhưng không nên hiểu và áp dụng một cách máy móc mà phải căn cứ vào thực tế ở cơ sở sản xuất để phán đoán, suy xét tìm biện pháp xử lý phù hợp nhằm ổn định và nâng cao hiệu quả trong sản xuất.

PHẦN THỨ TƯ

KIỂM TRA SẢN XUẤT

Chương XI

KIỂM TRA NGUYÊN LIỆU

Trong công nghệ lên men nói chung và sản xuất rượu nói riêng, việc kiểm tra hay xác định hàm ẩm, % tinh bột và đường có ý nghĩa rất quan trọng, vì nó liên quan tới số lượng và chất lượng nguyên liệu đưa vào sản xuất. Nếu xác định % tinh bột và đường hoặc hàm ẩm sai sẽ dẫn đến sai lầm trong tính toán sản phẩm và hiệu quả kinh tế. Ví dụ, với cơ sở sản xuất có năng suất 5.000 lít cồn/ngày, tiêu tốn khoảng 15 tấn sắn khô, nếu phân tích % tinh bột sai 0,5% thì sẽ dẫn đến tăng hoặc giảm 40 lít cồn/ngày.

11.1. Xác định độ ẩm

Thông thường độ ẩm trong nguyên liệu được xác định theo phương pháp sấy và chỉ cho kết quả gần đúng. Vì khi sấy ở nhiệt độ cao, một số chất hữu cơ của nguyên liệu sẽ bị phân hủy và bay hơi cùng với nước, khi đó lại có một lượng nhỏ nước liên kết không bay hơi hết. Để hạn chế sai số người ta chỉ sấy ở $100 \div 105^{\circ}\text{C}$ và kéo dài 3÷4 giờ. Đôi khi muốn rút ngắn thời gian sấy người ta thực hiện ở 130°C trong 40 phút.

Cân khoảng 5 gam bột đã nghiền nhỏ trong hộp nhôm đã biết trọng lượng. Sau đó đặt hộp nhôm vào tủ sấy có nhiệt độ 105°C , sau 3 giờ đẩy hộp nhôm và đem làm nguội trong bình hút ẩm, sau đó đem cân lại, ghi số cân rồi đặt lại hộp nhôm vào tủ, sấy tiếp 30÷60 phút. Sau đó đem làm nguội và cân lại lần 2. Nếu sai số

giữa hai lần không quá 0,001 gam thì xem như quá trình tách nước kết thúc. Phương pháp này được gọi là phương pháp sấy đến khối lượng không đổi.

Độ ẩm của nguyên liệu được tính theo công thức sau:

$$W = \frac{a - b}{a - c} \times 100\%$$

a - khối lượng hộp nhôm cộng nguyên liệu trước khi sấy, g

b - khối lượng hộp nhôm chứa nguyên liệu sau khi sấy, g

c - khối lượng hộp nhôm khô không chứa nguyên liệu, g.

11.2. Xác định hàm lượng tinh bột

Tinh bột là thành phần chủ yếu của nhiều loại củ và hạt. Việc xác định đúng sẽ giúp ta dự kiến chính xác lượng sản phẩm thu được cũng như tổn thất trong quá trình sản xuất.

Phương pháp xác định hàm lượng tinh bột có nhiều nhưng có thể chia thành ba nhóm:

1. Phương pháp quang học - dựa vào khả năng làm quay mặt phẳng ánh sáng phân cực của tinh bột.

2. Phương pháp hóa học - dựa trên cơ sở thủy phân tinh bột đến glucoza bằng axit, sau đó xác định khả năng khử của dung dịch.

3. Phương pháp sinh học - dựa trên cơ sở thủy phân tinh bột bằng amylaza, sau đó đem lên men dịch đường để biến thành rượu rồi xác định lượng rượu tạo thành.

Cả ba phương pháp đều có ưu và nhược điểm. Sau đây chúng ta sẽ làm quen với những phương pháp hay dùng nhất.

11.2.1. Xác định hàm lượng tinh bột bằng phương pháp hóa học

Đây là phương pháp được áp dụng nhiều nhất trong các nhà máy rượu ở nước ta. Phương pháp này chỉ chính xác khi xác định hàm lượng tinh bột trong dung dịch tinh khiết, còn đối với bột thô thì kết quả nhận được thường cao hơn so với thực tế. Vì trong điều

kiện thủy phân sẽ có một phần pentoza và hemixeluloza biến thành đường pentoza, nhưng đường này lại không biến thành rượu khi lên men. Do đó trên thực tế đáng lẽ phải trừ bớt lượng pentoza có trong dịch thủy phân, nhưng các nhà máy của ta chưa làm điều này. Một phần do xác định đường pentoza mất khá nhiều thời gian (4÷5 giờ). Mặt khác do nhiều người chưa hiểu đúng, chưa quan tâm đúng mức đến công tác phân tích tinh bột. Do đó chưa tích cực và mạnh dạn cải tiến hoặc áp dụng phương pháp tiên tiến hơn, vừa nhanh lại bảo đảm chính xác hơn (phương pháp Evec). Sau đây chúng ta làm quen với phương pháp hiện đang áp dụng ở các nhà máy rượu.

Cân khoảng 2 gam bột trên cân phân tích sau đó chuyển toàn bộ vào bình tam giác hoặc bình cầu có dung tích 250 ml. Tiếp theo cho thêm 100 ml HCl 2% (100 ml nước cất cộng 6 ml HCl 35%), đậy nút cao su và nối với ống sinh hàn khí. Lắc nhẹ rồi đặt bình vào nồi đun cách thủy, đun tới sôi và cho sôi 2 giờ. Mức nước ở nồi cách thủy phải luôn cao hơn mức nước trong bình thủy phân. Muốn vậy phải chuẩn bị nước sôi để bổ sung vào. Sau 2 giờ thủy phân, toàn bộ lượng tinh bột đã biến thành glucoza, làm nguội đến nhiệt độ phòng rồi thêm vào 4÷5 giọt metyl da cam, dùng NaOH 10% để trung hòa axit tới đổi màu. Chú ý chỉ trung hòa khi đã làm lạnh đến 30°C, vì ở nhiệt độ cao và kiềm cục bộ thì glucoza sẽ bị phân hủy, dẫn đến kém chính xác. Trung hòa xong ta chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 250 ml, tráng bình rồi thêm nước cất tới gần bình và đem lọc.

Dịch đường thu được có thể xác định theo các phương pháp khác nhau, trong đó phương pháp Bectran chính xác hơn cả, phương pháp Lainaynon kém chính xác, còn phương pháp Graxianốp có độ chính xác trung bình.

Hàm lượng tinh bột trong nguyên liệu được tính theo công thức sau:

$$TB = \frac{a \times 250 \times 100}{b \times m} \times 0,9\%$$

a - số gam glucoza tương ứng với 20 ml ferixyanua kali;

b - số mililit dịch đường loãng tiêu hao khi định phân;

m - số gam bột ở mẫu thí nghiệm;

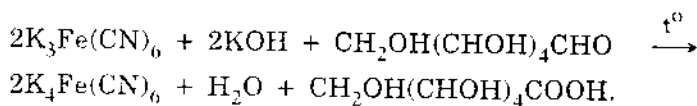
0,9 - hệ số chuyển glucoza thành tinh bột.

Ví dụ, khi xác định chỉ số của dung dịch ferixyanua kali ta tính được lượng glucoza tương đương 20 ml là 0,025 g, số bột trong dịch thủy phân là 2 g, số dịch đường loãng tiêu hao khi định phân là 4,5 ml. Do đó hàm lượng tinh bột (kể cả pentozan) trong nguyên liệu sẽ là:

$$\frac{0,025 \times 250 \times 100}{4,5 \times 2,00} \times 0,9 = 62,5\%$$

Chú ý: Xác định đường theo phương pháp Lainaynon và Graxianốp sẽ chính xác hơn khi dịch dùng để chuẩn chứa 0,3÷0,5% đường.

- Cơ sở của phương pháp Graxianốp như dưới đây:



- Hóa chất gồm:

Dung dịch ferixyanua kali 1,2%

Dung dịch KOH 2,5N

Dung dịch xanh metylen 0,5%

- Tiến hành:

Dùng pipet lấy đúng 20 ml dung dịch ferixyanua kali cho vào bình tam giác 250 ml, thêm vào đó 5 ml dung dịch KOH 2,5N và 3÷4 giọt xanh metylen (nếu nồng độ dịch đường thấp hơn 0,25% thì lấy 10 ml ferixyanua kali và 2,5 ml dung dịch KOH). Lắc nhẹ và đặt trên bếp điện hoặc bếp ga, đun sao cho sau 1÷2 phút thì sôi. Tiếp đó dùng dung dịch đường loãng để chuẩn tới mất màu của xanh metylen. Chú ý màu của hỗn hợp phản ứng sẽ thay đổi từ

xanh sang phớt hồng và cuối cùng là vàng da cam thì kết thúc. Nếu để nguội màu của hỗn hợp sẽ trở lại tím hồng do bị oxy hóa.

Khi trong hỗn hợp phản ứng còn ferixyanua thì khi nhỏ dịch đường vào, đường sẽ khử ferixyanua kali, khi vừa hết ferixyanua thì ngay lập tức 1 giọt đường dư sẽ khử và làm mất màu của xanh metylen - chất chỉ thị của phản ứng.

Muốn xác định chỉ số α của 20 ml (hoặc 10 ml) ferixyanua kali ta phải chuẩn bị dung dịch glucoza tinh khiết. Cân 0,5 g glucoza tinh khiết đã sấy đến khối lượng không đổi, hòa tan trong nước cất rồi cho vào bình định mức 100 ml, tráng sạch bằng nước cất rồi thêm đến gần bình. Cân chính xác và thao tác cẩn thận ta sẽ có dung dịch glucoza chuẩn chứa 5 mg/ml.

Muốn xác định xem 20 ml ferixyanua kali tương ứng với bao nhiêu mg glucoza, ta làm thí nghiệm như trên nhưng dung dịch chuẩn là dung dịch glucoza đã biết trước nồng độ.

Giả sử 20 ml ferixyanua 1,2% cộng với 5 ml KOH 2,5N cộng 3÷4 giọt xanh metylen khi đun sôi và chuẩn hết 5 ml dung dịch glucoza 0,5 g/100 ml. Như vậy 20 ml ferixyanua 1,2% tương đương với $5 \times 5 \text{ mg} = 25 \text{ mg}$ hay 0,025 g.

11.2.2. Xác định hàm lượng tinh bột theo phương pháp quang học Evec

Phương pháp Evec dựa trên cơ sở chuyển tinh bột thành dạng hòa tan nhờ đun nóng trong dung dịch HCl 1,124% trong 15 phút. Sau khi chuyển tinh bột thành dạng hòa tan ta đem kết tủa protit và lọc trong. Tiếp theo đo khả năng làm quay mặt phẳng phân cực của dung dịch rồi từ đó suy ra nồng độ tinh bột.

Nếu cho ánh sáng phân cực đi qua chất hoạt động quang học thì nó sẽ làm quay mặt phẳng phân cực. Mặt phẳng này quay lệch đi nhiều hay ít là tùy thuộc vào nồng độ chất hoạt quang. Một số chất làm cho mặt phẳng quay theo chiều kim đồng hồ như saccaroza, tinh bột, rafinoza v.v... được gọi là chất quay phải. Ngược lại đường fructoza và đường hoàn nguyên làm mặt phẳng quay ngược chiều kim đồng hồ, gọi là chất quay trái.

Để so sánh độ hoạt quang của các chất khác nhau và ứng dụng vào thực tế phân tích, người ta đưa ra khái niệm "góc quay riêng". Đó là góc quay của mặt phẳng phân cực (biểu diễn theo độ tròn) do tác dụng của dung dịch chứa 100 g chất hoạt quang trong 100 ml khi ánh sáng đi qua lớp dung dịch có chiều dày 1 dm.

Theo qui ước, "góc quay riêng" được đo ở 20°C với ánh sáng phát ra từ đèn natri và ký hiệu $[\alpha]_D^{20}$. Đại lượng $[\alpha]_D^{20}$ của các chất hoạt quang rất khác nhau nhưng đều có thể xác định theo công thức:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100 \times \alpha}{l \times C}$$

α - góc lệch quan sát được - độ tròn

l - chiều dày lớp dung dịch ánh sáng phân cực đi qua, dm.

C - nồng độ dung dịch - tức hàm lượng chất hoạt quang, g/100 ml.

Từ phương trình trên ta suy ra:

$$C = \frac{100 \times \alpha}{[\alpha]_D^{20} \times l}$$

Biết $[\alpha]_D^{20}$ của các chất, căn cứ vào độ lệch α quan sát được ta suy ra nồng độ của dung dịch và hàm lượng tinh bột.

Để xác định hàm lượng tinh bột theo phương pháp Evec chúng ta cần:

- Dung dịch HCl 1,124%: Lấy 26,6 ml HCl đậm đặc ($d = 1,19$) pha với nước cất thành 1 lít.
- Dung dịch 2,5% molipdat amon $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$
- Bình định mức 100 ml cổ rộng miệng loe.
- Phân cực kế hoặc đường kế.

Tiến hành:

Cân đúng 5 g bột nghiền mịn rồi cho vào bình định mức 100 ml miệng loe, sau đó cho thêm 50 ml dung dịch HCl 1,124%. Đặt bình vào nồi nước đang sôi, 3 phút đầu lắc nhẹ để bột không dính vào thành bình hoặc vón cục. Lượng nước trong nồi phải luôn cao hơn

mức dung dịch trong bình. Sau 15 phút đem làm nguội nhanh bằng cách thêm vào bình 30 ÷ 35 ml nước cất và làm lạnh tới 20°C. Tiếp theo cho thêm 5 ml dung dịch molipdat amon để kết tủa protit, thêm nước cất tới gần bình và đem lọc. Dung dịch trong nhận được cho vào ống phân cực kế có độ quay tròn. Hàm lượng tinh bột trong nguyên liệu được tính theo công thức sau:

$$C = \frac{100 \cdot \alpha}{[\alpha]_D^{20} \times l} \times \frac{100}{5} \%$$

α - chỉ số đọc được trên thang chia độ tròn. Nếu đo trên phân cực kế kiểu đường kế thì α cần nhân với 0,3468;

l - chiều dày của ống phân cực khi đo, dm

$[\alpha]_D^{20}$ - góc quay riêng của tinh bột.

Theo số liệu của Evcec, góc quay riêng của các loại tinh bột sẽ như sau:

Loại tinh bột	$[\alpha]_D^{20}$
Khoai tây	194.5
Gạo	185.9
Ngô	184.6
Lúa mì	182.7
Đại mạch	181.5
Sắn	187.0*

* Sắn là số liệu của chúng tôi.

Khi đo nếu nhiệt độ dung dịch khác 20°C thì cần hiệu chỉnh về 20°C, theo công thức thực nghiệm sau:

$$\alpha^{20} = \frac{\alpha_t}{1 + 0,000143(t - 20)}$$

11.3. Xác định hàm lượng đường trong mật rỉ

Cân 5 g mật rỉ trong chén sứ sau đó dùng 50 ml nước cất nóng 40°C, để hòa loãng và chuyển toàn bộ vào bình định mức 250 ml.

Tiếp theo cho 5 + 6 ml axetat chì axit tính, lắc đều rồi thêm nước cất tới gần bình và đem lọc. Lấy 100 ml dịch trong cho vào bình định mức 250 ml, thêm 5 ml Na_2HPO_4 10%, 5 ml oxalat kali 5%. Lắc đều rồi thêm nước cất tới gần bình và đem lọc nữa.

Phản ứng xảy ra như sau:

$\text{Protein} + \text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \longrightarrow$ kết tủa do protein bị biến tính.

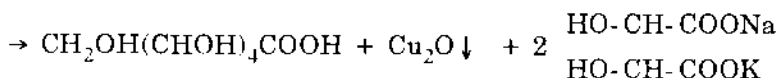
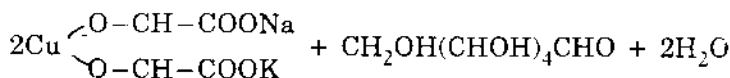
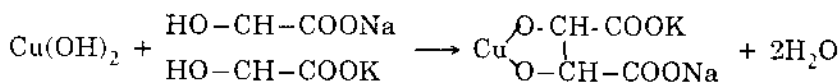
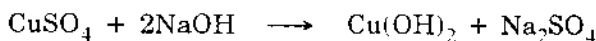
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \text{ dư} \longrightarrow \text{PbHPO}_4 + 2\text{CH}_3\text{COONa}$



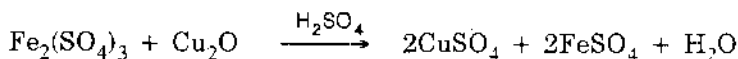
Sau khi kết tủa protein và loại canxi, ta lấy 100 ml dịch lọc lần 2 cho vào bình định mức 250 ml rồi dùng xylanh lấy 10 ml HCl đậm đặc ($d = 1,19$) cho vào bình, lắc đều rồi đặt vào nồi cách thủy 70°C để thủy phân saccaroza. Sau 5 phút đem làm lạnh tới nhiệt độ phòng rồi dùng metyl da cam làm chỉ thị và dùng NaOH 5÷10 N trung hòa tới đổi màu. Tiếp theo thêm nước cất tới gần bình, lắc đều rồi đem xác định hàm lượng đường trong dịch pha loãng bằng phương pháp Bectran hoặc Graxianốp.

Giả sử xác định theo phương pháp Bectran. Đây là phương pháp được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm và cho tới nay vẫn được xem là chính xác hơn so với các phương pháp khác.

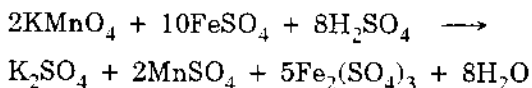
- Cơ sở của phương pháp:



Kết tủa oxyt đồng màu đỏ được hòa tan theo phản ứng sau:



Tiếp theo ta định phân lượng FeSO_4 mới tạo thành bằng dung dịch KMnO_4 :



Căn cứ vào KMnO_4 tiêu hao ta nhân với 6,36 sẽ nhận được số mg Cu. Sau đó tra bảng (Phụ lục III) Bectran, ta sẽ biết được lượng đường chứa trong mẫu thí nghiệm.

- Hóa chất:

+ Dung dịch Felling A: Cân 40 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ pha thành 1 lít sau đó đem lọc vào lọ nút nhám khô rồi đậy kín.

+ Dung dịch Felling B: Cân 200 g muối tacrat kép và 150 g NaOH vào hai cốc khác nhau, sau đó đem hòa tan lẫn và để nguội rồi định mức tới 1 lít. Dem lọc rồi bảo quản trong bình nâu nút kín.

+ Dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$: Cân 50 g Fe^{3+} sunfat hòa tan trong 500÷600 ml nước. Tiếp đó cho thêm 110 ml H_2SO_4 đậm đặc ($d = 1,84$) rồi đổ đầy tới 1 lít. Sau khi lọc ta thêm vài giọt KMnO_4 0,1N đến xuất hiện màu hồng nhạt rồi bảo quản trong bình kín.

+ Dung dịch KMnO_4 0,1N.

- Tiến hành:

Dùng ống đồng lấy 20 ml Felling A và 20 ml Felling B cho vào bình tam giác 250 ml. lắc đều rồi dùng pipet hút 20 ml dung dịch đường đã xử lý và pha loãng vào. Lắc đều rồi đặt bình tam giác lên bếp điện hoặc bếp ga, đun sao cho sau 3÷4 phút thì sôi và cho sôi tiếp đúng 3 phút nữa. Lấy bình ra khỏi bếp và để cho lắng, sau đó đem lọc qua phễu xốp rồi rửa nhiều lần bằng nước cất nóng 70÷80°C.

Chú ý: Khi lọc rửa phải luôn giữ nước trong phễu để tránh hiện tượng oxyt đồng bị oxy hóa do tiếp xúc với không khí. Rửa xong ta

dùng 25 ml dung dịch $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ để hòa tan oxyt đồng, rồi cũng rửa 2÷3 lần bằng nước nóng. Dung dịch nhận được sau khi hòa tan và rửa đem chuẩn bằng dung dịch KMnO_4 0,1N đến xuất hiện màu hồng và không mất đi sau 2 đến 3 giây.

Số ml KMnO_4 0,1N tiêu hao đem nhân với 6,36 ta sẽ được lượng mg đồng, sau đó tra bảng Bectran ta sẽ biết lượng đường chứa trong 20 ml dịch thí nghiệm và gọi là a .

Hàm lượng đường trong mật rỉ được tính theo a/m %.

Trong điều kiện thí nghiệm đã mô tả ở trên, m là số mật rỉ tham gia trong thí nghiệm:

$$m = \frac{5}{250} \times \frac{100}{250} \times \frac{100}{250} \times 20 = 0,064 \text{ g}$$

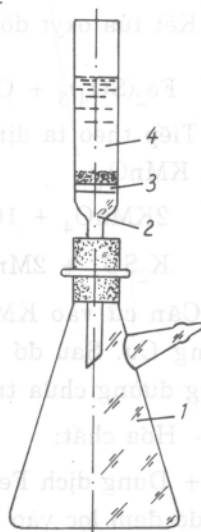
Ví dụ, khi định phân, lượng dung dịch KMnO_4 tiêu tốn là 10,2 ml, tương đương với lượng đồng là $10,2 \times 6,36 = 64,87$ mg. Tra bảng Bectran ta thấy ứng với 64,8 mg đồng ta có 33 mg đường invertaza hay 0,033 g.

Hàm lượng đường trong mật rỉ xác định bằng:

$$\frac{0,033}{0,064} \% = 51,56\%$$

Hàm lượng đường lên men được trong mật rỉ phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố, có thể từ 40 đến 60% khối lượng. Nhưng hàm lượng chất hòa tan trong mật rỉ có thể đạt 85÷90%, vì ngoài đường, mật rỉ còn chứa các chất hòa tan khác.

Để đánh giá chất lượng mật rỉ người ta đưa ra khái niệm độ thuần khiết và biểu diễn theo % như sau:



Hình 11-1. Dụng cụ dùng để lọc, rửa và hòa tan oxyt đồng.

1. Bình lọc chân không;
2. Ống lọc của phễu xấp;
3. Thủy tinh xấp - sứ xấp;
4. Chất lỏng

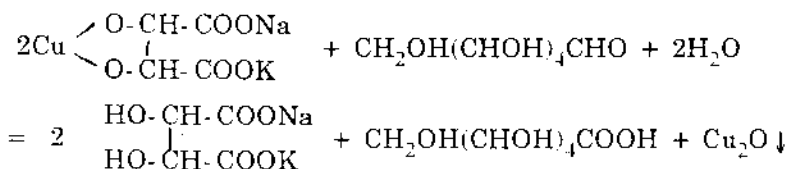
$$\text{Độ thuần khiết} = \frac{\text{Hàm lượng đường}}{\text{Hàm lượng chất hòa tan}} 100\%$$

Ví dụ mật rỉ đem phân tích có % đường là 51,56, nồng độ chất hòa tan là 85%. Do đó độ thuần khiết của mật rỉ sẽ là:

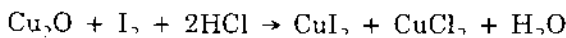
$$\frac{51,56}{85} 100 = 60\%$$

Độ thuần khiết của mật rỉ thủ công luôn cao hơn so với rỉ đường nhận được theo phương pháp sản xuất đường hiện đại.

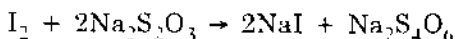
Hàm lượng đường trong mật rỉ có thể xác định theo phương pháp Ôpnhe. Phương pháp này có giai đoạn giống với phương pháp Bectran và dựa trên các phản ứng sau:



Tiếp theo:



Lượng I_2 dư được định phân bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$:



Hóa chất:

Dung dịch Ôpnhe: Cân 5 g CuSO_4 vào cốc, thêm vào đó 50 đến 60 ml nước. Đồng thời cân vào cốc khác 300 g tactrat NaK và 10 g Na_2CO_3 cộng 30 g Na_2HPO_4 . Tất cả chứa trong cốc 1 lít cùng 500 ml nước cất 50°C . Sau khi hòa tan ta rót cả hai cốc vào bình định mức 1 lít, lắc đều và làm lạnh đến 20°C rồi thêm nước cất tới gần bình và đem lọc. Dung dịch Ôpnhe nhận được phải trong suốt và bảo quản trong bình nâu đậy kín.

- Dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ N/30
- Dung dịch I_2 N/30

- Dung dịch HCl 1N
- Dung dịch tinh bột 0,5%

Tiến hành:

Lấy 10 ml dịch đường invertosa vừa xử lý ở trên cho vào bình tam giác 250 ml, sau đó cho vào 50 ml dung dịch Ôpnhe và một ít thủy tinh vỡ. Đặt bình vào nồi nước đang sôi và cho sôi 10 phút, làm nguội tới nhiệt độ phòng rồi cho thêm 15 ml HCl 1N. Tiếp đó cần nhanh chóng cho vào bình 25 ml dung dịch I_2 N/30. Đậy kín và để vào chỗ tối, sau 2 phút đem định phân I_2 dư bằng dung dịch $Na_2S_2O_3$ nồng độ N/30 với chỉ thị là dung dịch tinh bột 0,5%.

Song song với thí nghiệm chính, ta làm thí nghiệm kiểm chứng để biết lượng I_2 tiêu hao do tác dụng với chất khử khác. Thí nghiệm kiểm chứng cũng làm tương tự, chỉ khác không có giai đoạn đun sôi để tạo Cu_2O .

Hàm lượng đường invertosa trong mẫu thí nghiệm được xác định theo công thức:

$$(a - b) \times 1, \text{ mg.}$$

a - số ml $Na_2S_2O_3$ tiêu hao trong thí nghiệm trắng (kiểm chứng).

b - số ml $Na_2S_2O_3$ tiêu hao trong thí nghiệm thực

1 - số mg đường invertosa ứng với 1 ml $Na_2S_2O_3$ có nồng độ N/30.

Ví dụ $a = 20,2$; $b = 3,8$ ml. Như vậy lượng đường chứa trong 10 ml dịch phân tích sẽ là:

$$(20,2 - 3,8) \times 1 = 16,4 \text{ mg.}$$

Lượng mật rỉ chứa trong mẫu thí nghiệm:

$$\frac{5}{250} \times \frac{100}{250} \times \frac{100}{250} \times 10 = 0,032 \text{ g}$$

Hàm lượng đường trong mật rỉ:

$$\frac{0,0164}{0,032} = 51,2\%.$$

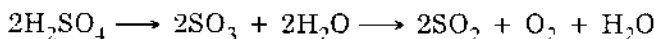
11.4. Xác định hàm lượng protein thô và nitơ hòa tan trong nguyên liệu

Các nguyên liệu và sản phẩm của ngành công nghiệp lên men nói riêng và thực phẩm nói chung luôn chứa một lượng protit và sản phẩm thủy phân từ nó. Đây là chất cung cấp nguồn nitơ cho phát triển của nấm men và các loài vi sinh vật. Nếu thiếu nitơ thì nấm men kém phát triển, thời gian lên men sẽ kéo dài và đạt hiệu quả thấp.

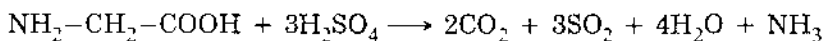
Xác định protein thô thường thực hiện theo phương pháp Kjeldal và dựa trên cơ sở sau:

Dun nóng các chất hữu cơ trong axit sunfuric đậm đặc, trong điều kiện đun nóng, axit sunfuric sẽ phân ly thành SO_3 và hơi nước. Tiếp theo SO_3 tách ra thành SO_2 và O_2 . Oxy vừa giải phóng ra sẽ oxy hóa các chất hữu cơ để tạo CO_2 và nước, còn NH_3 sẽ kết hợp với axit sunfuric tạo NH_4HSO_4 bền trong môi trường axit.

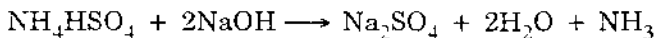
Phản ứng xảy ra theo phương trình sau:



Oxy sẽ oxy hóa các chất glucit, chất béo thành CO_2 và nước, còn axit amin sẽ tạo ra SO_2 , CO_2 và NH_3 . Ví dụ:



NH_4HSO_4 không bền trong môi trường kiềm nên sẽ bị phân hủy theo phản ứng:



NH_3 bay ra khi cất sẽ được thu vào trong bình chứa H_2SO_4 0,1N. Từ đây suy ra lượng nitơ chứa trong mẫu thí nghiệm, sau đó nhân với 6,25 ta được protein thô.

Để tăng nhanh quá trình đốt cháy các chất hữu cơ, người ta cho thêm chất xúc tác gồm CuSO_4 và K_2SO_4 .

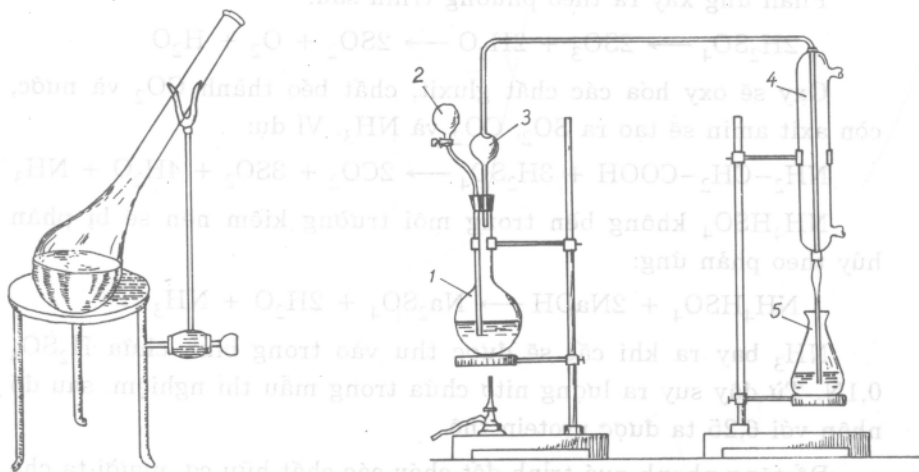
Tiến hành:

Tùy theo hàm lượng protein trong nguyên liệu, mẫu bột phân

tích có thể lấy từ 0,1 đến 2 g sao cho lượng nitơ trong mẫu chứa khoảng 15 - 40 mg nitơ (với nguyên liệu 7 đến 10% protein có thể lấy mẫu bằng 1,5 g. Với sản - 2 g. (Đối với mẫu chất lỏng, cũng tính sơ bộ để lượng nitơ của mẫu đem phân tích vào khoảng kể trên).

Cân chính xác mẫu thí nghiệm trên cân phân tích trong ống nghiệm, sau đó cho vào bình Kjeldal, cân lại ống nghiệm để biết rõ lượng bột của mẫu. Tiếp theo cho vào bình 20 ml H_2SO_4 đậm đặc ($d = 1,84$), 0,5 g $CuSO_4$ và 1,0 g K_2SO_4 (mục đích tăng nhiệt độ sôi). Lắc nhẹ 5 đến 7 phút sao cho bột không dính ở thành bình.

Đặt bình lên bếp điện hoặc bếp ga để trong tủ hút khí độc. Đun nhẹ lửa lúc ban đầu để tránh trào bọt, để hạn chế bọt, thỉnh thoảng nhỏ vào vài giọt cồn. Đun kéo dài cho tới xuất hiện màu xanh của $CuSO_4$ trong hỗn hợp. Thời gian đun thường kéo dài 4 đến 5 giờ.



Hình 11-2. Dụng cụ dùng để xác định nitơ toàn phần theo Bectran.

1. Bình cất; 2. Phễu; 3. Ống nitơ; 4. Sinh hàn; 5. Bình chứa axit và thu NH_3 .

Đun xong để nguội rồi chuyển toàn bộ vào bình cầu, tráng bình Kjeldal nhiều lần bằng nước cất, rồi đổ vào bình cầu và nổi sơ đồ cất như hình 11-2. Mặt khác lấy chính xác 25 ml H_2SO_4 hoặc HCl 0,1N vào bình 5, thêm 10÷15 ml nước cất và 3 giọt metyl da cam rồi đặt bình vào vị trí làm việc. Chuẩn bị xong ta lấy 15 ml NaOH 40%, đổ qua phễu chiết 2 vào bình 1 và bắt đầu đun. Nước ngưng bay ra cùng amoniac, được thu vào bình 5. Chú ý ống nước ngưng ra luôn nhúng trong dung dịch axit để tránh tổn thất NH_3 . Thời gian đun kéo dài 30 đến 60 phút, thường khi lượng chất lỏng ở bình 1 còn khoảng 1/3 là được. Thử nước ngưng với giấy quì thấy không có phản ứng kiềm, đun xem như kết thúc.

Trước khi thôi đun, cần nâng phần ống nhúng trong bình 5 và rửa bằng nước cất. Tránh thôi đun nhưng đầu ống vẫn nhúng trong dung dịch ở bình 5, vì như vậy dung dịch ở 5 sẽ bị đẩy trở lại làm sai kết quả của thí nghiệm.

Dung dịch ở 5 đem chuẩn lại bằng dung dịch NaOH 0,1N để suy ra lượng axit đã tác dụng với NH_3 .

Hàm lượng nitơ trong mẫu thí nghiệm được tính theo công thức:

$$\frac{(a - b) \times 0,0014}{m} \%$$

a - số ml H_2SO_4 0,1N cho vào bình 5.

b - số ml NaOH 0,1N định phân lượng axit dư.

0,0014 - lượng gam nitơ ứng với 1 ml dung dịch H_2SO_4 0,1N.

m - lượng bột đem đốt trong thí nghiệm.

Chú ý: Nếu nồng độ H_2SO_4 và NaOH sai khác thì cần qui về 0,1N.

Ví dụ, Khi lấy mẫu $m = 0,7$ g sắn.

$$\left. \begin{array}{l} a = 25 \\ b = 9 \end{array} \right\} a - b = 16 \text{ ml}$$

Lượng nitơ và % protein thô trong sản sẽ là:

$$\frac{16 \times 0,0014}{0,7} \times 6,25\% = 2\%$$

6,25 là hệ số chuyển nitơ thành protein ($\frac{100}{16} = 6,25$).

Chương XII

XÁC ĐỊNH HOẠT ĐỘ CỦA CHẾ PHẨM ENZYM DÙNG TRONG NẤU VÀ ĐƯỜNG HÓA TINH BỘT

Chất lượng của chế phẩm enzym dùng trong sản xuất rượu thường được đánh giá qua các hoạt độ: amylaza, dextrinaza, glucoamylaza và proteaza. Ở ta chủ yếu là đánh giá theo khả năng đường hóa và biểu diễn qua hệ số Lincơ.

12.1. Hoạt độ amylaza

Hoạt độ amylaza đặc trưng cho khả năng enzym xúc tác thủy phân tinh bột thành dextrin và một ít đường, chủ yếu là α -amylaza.

Đơn vị hoạt độ amylaza là lượng enzym có khả năng phân giải 1 gam tinh bột tan thành sản phẩm không làm thay đổi màu của dung dịch iod ở điều kiện: nhiệt độ 30°C , $\text{pH} = 4,7 \div 4,9$, thời gian 60 phút.

Hoạt độ amylaza có thể xác định theo phương pháp so màu bằng mắt thường hoặc dùng điện quang sắc kế.

Xác định hoạt độ amylaza theo phương pháp so màu bằng mắt thường

Hóa chất gồm:

- Dung dịch đệm axetat natri: Lấy 57,25 ml axit axetic tinh khiết pha thành 1 lít, ta sẽ có dung dịch axit axetic 1N. Mặt khác, cân 82,1 g axetat natri rồi cũng hòa tan thành 1 lít, ta sẽ có dung dịch axetat natri 1N. Muốn có dung dịch đệm $\text{pH} = 4,7 \div 4,9$ ta chỉ việc pha lẫn hai dung dịch trên theo tỷ lệ 1 : 1.

- Dung dịch iod cơ bản: Cân 1,4 g I_2 tinh thể và 4,4 g KI. Cho cả hai chất vừa cân được vào cốc, cộng thêm 20÷40 ml nước cất.

Khuấy cho tới khi tan hoàn toàn rồi chuyển toàn bộ vào bình định mức 100 ml, sau đó thêm nước cất tới gần bình. Dung dịch này được gọi là dung dịch iod cơ bản, cần được bảo quản trong bình màu nâu và đặt ở chỗ tối. Dung dịch có thể bảo quản và dùng trong 3 tháng.

- Dung dịch iod phân tích (so màu bằng mắt): Trước ngày định phân ta hút 20 ml dung dịch iod cơ bản cho vào cốc đã chứa 4 g KI, hòa tan hết rồi chuyển toàn bộ vào bình định mức 100 ml, tráng sạch cốc rồi thêm nước cất tới gần bình.

- Dung dịch tinh bột 1%: Cân 1,1 g tinh bột tan vào cốc, sau đó cho thêm 25 ml nước cất ở nhiệt độ phòng, cộng thêm khoảng 30 ml nước cất 50°C. Khuấy đều bằng đũa thủy tinh, đặt cốc vào nồi đun cách thủy cho tan hoàn toàn. Để nguội, chuyển toàn bộ dịch vào bình định mức 100 ml, thêm vào đó 10 ml dung dịch đệm có pH = 4,7÷4,9 rồi thêm nước cất tới gần bình. (Trường hợp xác định hoạt độ amylaza của vi khuẩn thì thêm 10 ml dung dịch đệm có pH = 6).

- Dung dịch enzym: Cân 5 g chế phẩm khô, nghiền nhỏ trong cối sứ hoặc thủy tinh với sự giúp đỡ của thủy tinh vụn. Sau đó cho vào 10 ml dung dịch đệm và 90 ml nước cất. Chuyển toàn bộ vào bình tam giác và giữ ở nhiệt độ 30°C trong 30 phút, thỉnh thoảng lắc cho enzym hòa tan vào nước. Tiếp đó đem lọc, dịch trong thu được được xem là dịch enzym chứa 5 g/100 ml và dùng để xác định hoạt độ.

Xác định hoạt độ amylaza được tiến hành như sau:

Cho 25 ml dung dịch tinh bột 1% vào bình tam giác 100 ml, sau đó cộng thêm 20 ml nước cất. Lắc đều và giữ ở nhiệt độ 30°C. Sau 10 phút cho tiếp 5 ml dung dịch enzym có $t = 30^{\circ}\text{C}$, lắc đều và bắt đầu tính thời gian. Lấy hộp sứ có nhiều lỗ, nhỏ vào các lỗ 3÷4 giọt dung dịch iod phân tích, sau 10 phút thủy phân tinh bột, ta dùng đũa thủy tinh nhỏ vào các lỗ chứa dịch iod 1÷2 giọt thủy phân tinh bột cho tới khi dịch thủy phân không làm đổi màu của iod. Đánh dấu thời gian kết thúc phản ứng τ . Thời gian τ phải nằm trong

khoảng từ 10 đến 20 phút. Nếu ngoài giới hạn trên thì cần làm lại thí nghiệm và thay đổi lượng dung dịch enzym và nước cất. Số lượng dịch enzym và nước cất phải luôn bằng 25 và tổng dịch thủy phân bằng 50 ml.

Hoạt độ amylaza được tính theo công thức sau:

$$H_{da} = \frac{0,25 \times 60}{a \cdot \tau} = \frac{15}{a \cdot \tau} \text{ đv.}$$

0,25 - lượng tinh bột chứa trong 25 ml, g

60 - hệ số chuyển thành giờ

τ - thời gian dịch thủy phân không làm đổi màu của dung dịch iod, phút

a - lượng chế phẩm enzym chứa trong 5 ml (hoặc khác 5) dịch enzym, g

Ví dụ, trong thí nghiệm lấy 25 ml dịch tinh bột, 20 ml nước cất và 5 ml dịch enzym. Thời gian thủy phân 15 phút. Như vậy hoạt độ amylaza sẽ bằng:

$$H_{da} = \frac{0,25 \times 60}{0,25 \times 15} = 4 \text{ đv/g}$$

$$a = \frac{5}{100} \times 5 = 0,25 \text{ g}$$

Nếu tính hoạt độ theo lượng enzym chứa trong gam chất khô của chế phẩm thì cần nhân với $\frac{100}{100 - W}$, trong đó W là % nước trong chế phẩm.

Trường hợp xác định hoạt độ của chế phẩm lỏng, a sẽ tính theo ml dịch nguyên. Với chế phẩm termamyl của hãng Novo Đan Mạch thì cần pha loãng khoảng 100 lần. Với San Super cần pha loãng 200 ÷ 250 lần.

Xác định hoạt độ amylaza theo phương pháp so màu bằng điện quang sắc kế

Theo phương pháp so màu bằng điện quang sắc kế thì 1 đơn vị

hoạt độ amylaza được biểu diễn bằng lượng enzym có khả năng xúc tác thủy phân 1 g tinh bột tan sau 1 giờ ở điều kiện $t = 30^{\circ}\text{C}$ và $\text{pH} = 4,7-4,9$. Đồng thời phải bảo đảm tỷ lệ enzym và đối chất sao cho sau 10 phút lượng tinh bột được thủy phân vào khoảng 20 đến 50% so với hàm lượng của nó có trong dịch thủy phân.

Hóa chất:

- Dung dịch amylaza

- Dung dịch iod cơ bản: Cân 0,25 g I_2 và 2,5 g KI hòa tan trong cốc bằng 5÷10 ml nước cất. Tiếp theo cho toàn bộ vào bình định mức 100 ml rồi thêm nước cất tới gần bình. Dung dịch cần bảo quản trong bình nâu và đặt trong chỗ tối.

Dung dịch phân tích được chuẩn bị từ dung dịch iod cơ bản bằng cách hút 2 ml dung dịch cơ bản cho vào bình định mức 100 ml rồi thêm nước cất tới gần bình. Dung dịch này khi đo trên máy so màu phải có mật độ quang học $D = 0,160 \pm 0,01$ với chiều dày lớp chất lỏng 1 cm, kính lọc sáng có bước sóng $\lambda = 453$ milimicron.

- Dung dịch HCl 1N.

Tiến hành:

Lấy hai ống nghiệm (cỡ 18 x 180) khô rồi cho vào mỗi ống 10 ml dịch tinh bột 1%. Đặt hai ống vào giá và đưa vào máy điều nhiệt 30°C . Sau 10 phút dùng pipét cho 5 ml nước cất vào ống nghiệm 1 (ống kiểm chứng), ống nghiệm 2 cho 5 ml dịch enzym. Khuấy lắc nhanh và sau đúng 10 phút lấy 1 ml của mẫu kiểm chứng cho vào ống nghiệm 3 chứa sẵn 10 ml HCl 0,1N. Tương tự ta lấy 1 ml mẫu thí nghiệm cho vào ống nghiệm 4 cũng chứa sẵn 10 ml HCl 0,1N với mục đích ngừng chỉ hoạt động của enzym và giữ thời gian xúc tác đúng 10 phút. Khuấy đều dung dịch ở ống nghiệm 3 và 4 rồi từ đó mỗi ống lấy ra 1 ml cho vào các ống nghiệm 5 và 6 đã chứa sẵn 10 ml dung dịch iod phân tích. Lắc đều rồi đem đo mật độ quang của mẫu dung dịch trên máy so màu với chiều dày dung dịch 1 cm, kính lọc sáng có bước sóng $\lambda = 656.10^{-9}$ m. Mật độ quang của ống kiểm chứng ứng với nồng độ tinh bột ban đầu; còn mật độ quang

của mẫu thí nghiệm ứng với nồng độ tinh bột còn lại sau thủy phân. Hiệu số mật độ quang giữa mẫu kiểm chứng và mẫu thí nghiệm sẽ tương ứng với lượng tinh bột đã được thủy phân.

Lượng tinh bột đã được thủy phân tính theo công thức:

$$C = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \times 0,1, \text{ g}$$

D_1 - mật độ quang của mẫu kiểm chứng;

D_2 - mật độ quang của mẫu thí nghiệm;

0,1 - lượng tinh bột chứa trong 10 ml dịch tinh bột.

Biết lượng tinh bột đã được thủy phân C , ta thay và tính được hoạt độ amylaza theo công thức:

$$H_{da} = \frac{7,264 \times C - 0,03766}{n} \text{ đ.v/g}$$

n - lượng chế phẩm enzym ứng với 5 ml dịch tính theo gam.

Ví dụ, khi phân tích ta cân 5 g chế phẩm có độ ẩm 10% và pha thành 100 ml. Sau đó lấy 10 ml dịch lọc pha thành 100 ml. Như vậy trong 5 ml dịch sẽ chứa một lượng chế phẩm là:

$$\frac{5}{100} \times \frac{10}{100} \times 5 = 0,025 \text{ g}$$

Khi xác định mật độ quang trên máy so màu ta đo được $D_1 = 0,720$; $D_2 = 0,382$. Do đó:

$$C = \frac{0,720 - 0,382}{0,720} = 0,4694 \text{ g}$$

$$H_{da} = \frac{7,264 \times 0,4694 - 0,03766}{0,025} = 138,8 \text{ đ.v/g}$$

12.2. Hoạt độ oligo-1,6 glucozidaza (dextrinaza)

Hoạt độ dextrinaza cho biết khả năng xúc tác phân ly dextrin bằng enzym của nấm mốc đến glucoza.

Một đơn vị hoạt độ oligo-1,6 glucosidaza là lượng enzym xúc tác phân ly 1 mg dextrin thành glucoza, còn hoạt độ dextrinaza được biểu diễn bằng đơn vị trên gam chế phẩm hoặc ml (với canh trường dùng 100 ml).

Hóa chất:

Dung dịch dextrin 1% và các dung dịch cần để xác định đường theo phương pháp Bectran.

Cân 1,1 g photphodextrin trong cốc khô, sau đó thêm 60÷80 ml nước nóng 40÷50°C và đun tới hòa tan hoàn toàn. Làm nguội rồi chuyển toàn bộ vào bình định mức 100 ml, thêm vào đó 10 ml dung dịch đệm có pH = 4,7÷4,9, lắc đều rồi thêm nước cất tới gần bình và đem lọc. Nếu chưa dùng thì đem bảo quản ở nhiệt độ 5÷10°C.

Tiến hành

Dùng ống hút lấy 25 ml dung dịch photphodextrin cho vào bình định mức 50 ml, thêm vào đó 10÷13 ml nước rồi đặt bình vào nồi cách thủy có nhiệt độ 50÷51°C. Sau 15 phút cho vào 10 ml dịch enzym cộng thêm nước tới gần bình. Lắc đều và lấy nhanh ra 10 ml cho vào bình xác định đường theo phương pháp Bectran. Số còn lại nút kín và giữ ở 50°C trong một giờ. Tiếp đó cũng lấy 10 ml để xác định đường như mẫu kiểm chứng. Hiệu số lượng đường giữa hai mẫu chính là lượng glucoza được tạo thành do tác dụng của oligo-1,6 glucosidaza.

Hoạt độ enzym được tính theo công thức sau:

$$H_{dD} = \frac{(A - a) \times 50}{10 \times n} \cdot 0,9 \text{ đ v/g}$$

A - lượng glucoza có trong 10 ml sau thủy phân, mg

a - lượng glucoza có trong 10 ml trước thủy phân

n - lượng chế phẩm chứa trong dịch enzym, gam hoặc ml.

0,9 - hệ số chuyển glucoza ra dextrin.

Ví dụ: A = 42,44; a = 19,42

$$n = \frac{5}{100} \times 10 = 0,5 \text{ g}$$

$$H_{dD} = \frac{(42,44 - 19,42) \times 50}{10 \times 0,5} \times 0,9 = 207,18 \text{ đ.v/g}$$

12.3. Hoạt độ glucoamylaza

Hoạt độ glucoamylaza đặc trưng cho khả năng xúc tác thủy phân tinh bột thành glucoza của chế phẩm.

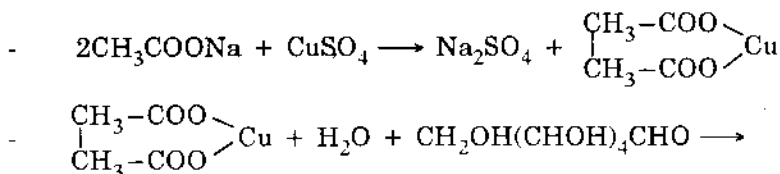
Một đơn vị hoạt độ glucoamylaza được xem là lượng enzym đủ khả năng phân ly 1 g tinh bột thành glucoza trong 1 giờ ở điều kiện nhiệt độ 30°C và pH = 4,7÷4,8.

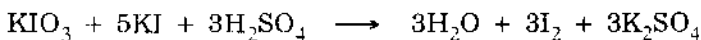
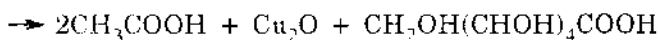
Phương pháp dựa trên cơ sở thủy phân tinh bột rồi định lượng glucoza tạo thành. Chú ý rằng hoạt độ chỉ đặc trưng riêng cho glucoamylaza khi chế phẩm ở dạng tinh khiết, nghĩa là không chứa các enzym khác. Các chế phẩm thô thường chứa hỗn hợp nhiều enzym như α , β -amylaza, α -glucozidaza, oligo-1,6 glucozidaza... Vì thế lượng glucoza được tạo thành là do tác dụng đồng thời của hệ amylaza nói chung và do đó hoạt độ glucoamylaza sẽ đặc trưng cho tổng các khả năng thủy phân tinh bột và sản phẩm trung gian thành đường và tính theo glucoza.

Trong dung dịch thủy phân glucoza còn chứa maltoza, vì thế không thể xác định glucoza theo phương pháp iod thông thường mà phải dùng phương pháp Philip-Konduel hoặc phương pháp sắc ký.

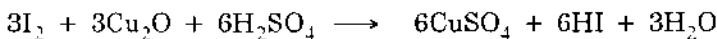
Phương pháp Philip-Konduel dựa trên cơ sở sau:

Trong dung dịch chứa nhiều axetat natri thì glucoza sẽ khử Cu^{2+} và tạo Cu_2O , còn maltoza rất ít bị oxy hóa trong các điều kiện của thí nghiệm.





I_2 vừa thải ra sẽ oxy hóa Cu_2O theo phản ứng:



Lượng I_2 dư sẽ tác dụng với $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Căn cứ lượng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu hao ta biết lượng I_2 đã được giải phóng ra. Từ đó suy ra lượng oxyt đồng rồi tính ra lượng đường đã phản ứng với axetat đồng. 1 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N tương đương 0,9 mg đường glucoza.

Hóa chất:

- Dung dịch tinh bột 1% có pH = 4,7÷4,8, chuẩn bị tương tự như khi xác định amylaza.

- Dung dịch CuSO_4 : Cân 69,28 g CuSO_4 rồi hòa thành 1 lít.

- Dung dịch axetat natri: Cân 500 g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (loại tinh khiết cao) rồi hòa tan bằng 800 ml nước nóng, xong chuyển toàn bộ vào bình định mức 1 lít và thêm nước tới gần bình. Dung dịch phải có pH = 8,7÷8,8.

- Dung dịch ioda và iodat kali: Cân 5,4 g KIO_3 và 60 g KI hòa tan với nước, xong cho thêm 0,25 g NaOH và đổ đầy nước cất tới 1 lít.

- Dung dịch H_2SO_4 4N: Lấy 114 ml axit sunfuric đậm đặc hòa thành 1 lít, sau đó pha dung dịch H_2SO_4 1N.

- Dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N.

- Dung dịch oxalat kali bão hòa: Cân 330 g hòa thành 1 lít, để nguội dung dịch sẽ trở nên bão hòa.

Tiến hành phản ứng enzym

Lấy 20 ml dịch tinh bột 1% cho vào bình tam giác 100 ml cộng thêm 5 ml nước cất, đặt bình vào nồi điều nhiệt cách thủy có $t = 30^\circ\text{C}$. Sau 15 phút cho vào bình 5 ml dịch enzym, lắc nhẹ và giữ ở nhiệt độ 30°C . Sau 30 phút cho vào bình 5 ml dung dịch H_2SO_4 1N để ngừng chỉ hoạt động của enzym.

Xác định glucoza:

Lấy hai ống nghiệm khô rồi cho vào mỗi ống 1 ml CuSO_4 , cộng 2 ml axetat natri. Tiếp đó cho 2 ml dịch thủy phân vào ống 1, 2 ml nước cất vào ống 2, đậy ống nghiệm và đồng thời đặt cả 2 vào nồi nước đang sôi và cho sôi 20 phút. Sau đó làm nguội nhanh rồi cho vào mỗi ống 3 ml dung dịch iodua + iodat kali và 1 ml H_2SO_4 4N, 2 ml oxalat kali. Lắc nhẹ cả hai rồi để cho phản ứng 30 phút. Trong thời gian này thỉnh thoảng lắc nhẹ để Cu_2O tan hoàn toàn. Đôi khi có hiện tượng kết tủa oxalat đồng màu xanh, điều này không ảnh hưởng đến kết quả phân tích.

Sau 30 phút ta chuyển hai ống dịch vào hai bình tam giác 100÷150 ml. Tráng ống nghiệm nhiều lần bằng nước cất rồi đổ vào bình tam giác tương ứng. Tiếp theo dùng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N chuẩn lượng iod dư với chỉ thị là tinh bột 0,5%.

Hoạt độ glucoamylaza tính theo công thức sau:

$$H_{\text{dGlu}} = \frac{\alpha \times 60}{n \cdot \tau} \text{ d.v/g}$$

α - lượng tinh bột được thủy phân đến glucoza tính theo mg và bằng:

$$\frac{(V_0 - V_1) \times 0,9}{2} \times 35 \times 0,9 = 141,75 (V_0 - V_1)$$

V_0 - lượng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N tiêu hao trong thí nghiệm trắng (không có enzym);

V_1 - số ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu hao trong thí nghiệm thực;

2 - số ml dịch thủy phân lấy để xác định đường;

35 - tổng số ml hỗn hợp sau phản ứng;

n - số gam chế phẩm chứa trong 5 ml dịch enzym - 0,025 gam (25 mg);

τ - thời gian thủy phân bằng 30 phút;

0,9 - hệ số chuyển glucoza thành tinh bột.

Hoạt độ glucoamylaza:

$$\frac{141,75(V_0 - V_1)}{25 \times 30} \times 60 = \frac{141,75(3,2 - 0,2) \times 60}{25 \times 30} = 34 \text{ đ.v/g}$$

12.4. Xác định hoạt độ đường hóa chung theo Linsø

Hiện nay các nhà máy rượu của ta thường đánh giá chất lượng chế phẩm amylaza theo khả năng đường hóa chung và được biểu diễn dưới dạng hệ số Linsø.

Hóa chất và dụng cụ:

- Dung dịch tinh bột 2% có pH = 4,7÷4,8
- Dung dịch $K_3Fe(CN)_6$ 1%
- Dung dịch KOH 2,5 N.
- Dung dịch xanh metylen 0,5%
- Dung dịch glucoza hoặc fructoza tinh khiết 0,5%: Cân 0,5 g đường đã sấy đến khối lượng không đổi sau đó pha thành 100 ml trong bình định mức.

- Dịch chiết enzym: Cân 5 g chế phẩm cho vào cốc khô, sau đó nghiền nát trong cối sứ hoặc thủy tinh, hòa với 100 ml nước 30 - 35°C, giữ 1 giờ rồi đem lọc.

Nồng độ dịch enzym cần điều chỉnh hoặc pha loãng sao cho nồng độ đường glucoza tạo thành trong dịch thủy phân (ở điều kiện thí nghiệm, vào khoảng 3 đến 7 mg/l ml.

Tiến hành:

Đầu tiên ta xác định xem 20 ml dung dịch ferixyanua 1% tương đương bao mg đường.

Dùng ống hút lấy 20 ml dung dịch $K_3Fe(CN)_6$ 1% cho vào bình tam giác 250 ml, sau đó thêm 5 ml KOH 2,5N và 2÷3 giọt xanh metylen, 3÷4 ml dịch đường 0,5% tinh khiết. Lắc đều rồi đặt lên bếp ga hoặc bếp điện đun sao cho sau 2÷3 phút thì sôi. Tiếp đó dùng ống hút nhỏ dịch đường vào dịch đang sôi tới mất màu xanh

metylen. Làm lại thí nghiệm 2÷3 lần để lấy số dịch đường trung bình. Giả sử trung bình của 3 lần thí nghiệm là 5 ml. Như vậy 20 ml ferixyanua kali tương đương $5 \times 5 = 25$ mg đường glucoza.

Bây giờ ta hút 20 ml dịch tinh bột 2% cho vào bình tam giác 100 ml, sau đó đặt bình vào bếp cách thủy có nhiệt độ 30°C (không nên tiến hành ở 55°C như trước đây một số nơi vẫn làm, vì dễ dẫn đến sai số). Sau 10 đến 15 phút dùng ống hút cho vào đúng 2 ml dịch enzym. Lắc đều và tính thời gian, sau 30 phút giữ ở 30°C ta lấy bình tam giác ra và nhúng ngay vào nước đang sôi để diệt enzym. Bảo đảm thời gian thủy phân đúng 30 phút. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và dùng dịch này để chuẩn độ 20 ml dung dịch ferixyanua.

Lấy 20 ml ferixyanua kali 1% vào bình tam giác 250 ml, cộng thêm 5 ml KOH 2,5N, 2÷3 giọt xanh metylen và cũng đem đun sôi rồi dùng dịch thủy phân tinh bột chuẩn cho tới mất màu xanh.

Làm một thí nghiệm khác tương tự như trên nhưng dịch dùng để chuẩn là dịch enzym. Giả sử số ml dịch thủy phân chuẩn hết là a , dịch enzym hết b ml. Hệ số Lincơ sẽ là:

$$\frac{100}{a} - \frac{100}{b} \times 0,1$$

0,1 - tỷ số pha loãng dịch enzym trong thí nghiệm: (2/20).

Ví dụ: $a = 4$; $b = 10$. Hệ số Lincơ = $\frac{100}{4} - \frac{100}{10} \times 0,1 = 24$

Chú ý:

Phương pháp xác định hoạt độ enzym nói chung và khả năng đường hóa nói riêng có rất nhiều. Ở mỗi nước và mỗi phòng thí nghiệm có thể dùng phương pháp này hay phương pháp khác là tùy thuộc điều kiện và thói quen của mình. Nhưng khi so sánh chất lượng giữa các chế phẩm với nhau thì phải theo phương pháp thống nhất. Vì thế trên thực tế người ta định ra tiêu chuẩn ngành, tiêu chuẩn quốc gia, quốc tế...

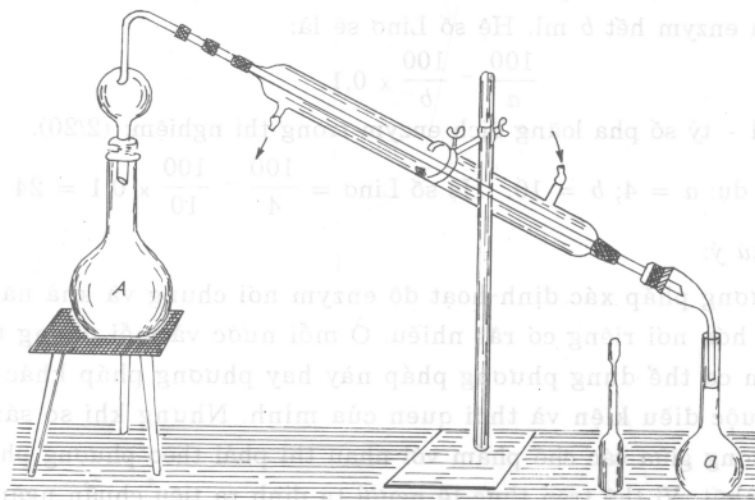
Chương XIII

KIỂM TRA DỊCH ĐƯỜNG HÓA VÀ GIẤM CHÍN SAU LÊN MEN

13.1. Độ rượu trong giấm chín và nước thải

Sau lên men trước hết ta cần kiểm tra nồng độ rượu trong giấm, đồng thời thỉnh thoảng phải kiểm tra rượu sót ở đáy thấp thô và thấp tinh. Muốn xác định ta phải chưng cất để tách rượu khỏi các chất hòa tan.

Lấy 100 ml dịch lọc giấm chín có nhiệt độ xấp xỉ 20°C cho vào bình định mức 100 ml, rót dịch giấm vào bình cất rồi tráng bình bằng 100 ml nước cất rồi cũng đổ vào bình A có dung tích khoảng 500 ml.

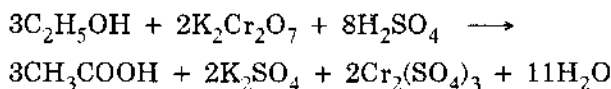


Hình 13-1. Sơ đồ chưng cất rượu trong phòng kiểm tra

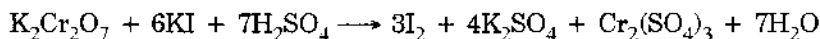
Nối bình với hệ thống cất như ở hình 13-1, tiến hành chưng cất cho tới khi nước ngưng ở bình α chỉ còn 2÷3 ml nữa thì đầy tới gần 100 ml. Cất xong đặt bình α vào nồi điều nhiệt và giữ ở nhiệt độ 20°C (cùng nhiệt độ khi lấy dịch giảm chín).

Sau 10 đến 15 phút thêm nước cất tới gần bình, đầy kín và chuẩn bị đo nồng độ rượu trong dung dịch như đã trình bày ở phần kiểm tra độ rượu trong cồn. (Dùng thước đo rượu hay cân tỷ trọng).

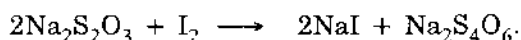
Đối với kiểm tra rượu sót (nồng độ thấp), sau khi thu được dịch cất ta đem xác định rượu theo phương pháp hóa học và dựa trên cơ sở phản ứng sau:



Lượng bicromat kali dư được xác định theo phương trình phản ứng:



Lượng I_2 giải phóng ra được định phân bằng $Na_2S_2O_3$:



Hóa chất:

- Dung dịch bicromat kali 0,1N
- Axit sunfuric đậm đặc ($d = 1,83 - 1,84$)
- KI tinh thể
- Dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,1N.

Tiến hành:

Lấy 20 ml bicromat kali cho vào bình cầu 500 ml cộng thêm 5 ml H_2SO_4 . Tiếp theo dùng ống hút cho vào bình 10 ml dung dịch rượu đã pha loãng tới 0,3÷0,6% hay 20 ml dịch cất từ bã rượu hoặc nước thải, lắc đều và để cho phản ứng 15 phút. Sau đó cân khoảng 1÷2 g KI hòa với ít nước rồi cho cả vào bình phản ứng, lắc đều rồi đặt vào chỗ tối để tránh tác dụng của ánh sáng. Sau 10 phút pha thêm vào bình khoảng 100 ml nước cất rồi định phân I_2 vừa được

tạo thành bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N (hoặc 0,01N) với chỉ thị là dung dịch tinh bột 0,5% cho đến xuất hiện màu xanh da trời (màu của $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$).

Song song với mẫu thí nghiệm, ta làm mẫu thí nghiệm trắng và thay dung dịch rượu bằng nước cất.

Căn cứ hiệu số lượng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ giữa mẫu thí nghiệm và mẫu kiểm chứng, ta suy ra lượng rượu chứa trong mẫu thí nghiệm và % rượu sót sẽ là:

$$\frac{(A - A_0) \cdot 1,15}{20} \times 100 = \text{mg}/100\text{ml}$$

A_0 - số ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu hao trong thí nghiệm;

A - số ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tiêu hao trong kiểm chứng;

1,15 - lượng rượu tương ứng với 1 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N hay 1ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,1.

Giả sử $A = 22,8$ ml; $A_0 = 19,8$. Lượng rượu sót trong nước thải sẽ là:

$$\frac{(22,8 - 19,8) \times 1,15}{20} \times 100 = 17,25 \text{ mg}/100 \text{ ml hay } 0,017\% \text{ khối}$$

lượng.

(ở nồng độ thấp nồng độ g/100 ml $\approx$ % khối lượng).

13.2. Đường và tinh bột sót trong giấm chín

Sau khi lên men trong giấm chín còn chứa một lượng nhỏ các chất khử bao gồm dextrin, maltoza, pentoza và đôi khi có cả glucoza.

Hàm lượng chất khử chung nhiều hay ít là tùy thuộc nguyên liệu và điều kiện kỹ thuật khi đường hóa và lên men, có thể từ 0,2 đến 1 g/100 ml. Glucoza, maltoza và dextrin thuộc dạng glucit có khả năng lên men được, còn đường pentoza không thể biến thành rượu dưới tác dụng của zymaza. Tuy nhiên, vì phương pháp xác định pentoza tốn nhiều thời gian và hóa chất nên trên thực tế sản

xuất người ta vẫn xác định tổng chất khử trong giấm trước, sau khi thủy phân tính theo glucoza. Đây chỉ là qui ước dùng để so sánh và đánh giá kết quả đường hóa và lên men một cách tương đối. Muốn biết lượng glucit thực còn lại ta phải xác định hàm lượng đường 5 cacbon và trừ bớt lượng đó. Hiện nay người ta đã tìm được phương pháp antron - cho phép đánh giá chính xác lượng đường có khả năng lên men còn lại trong giấm chín mà không tốn nhiều thời gian.

13.2.1. Xác định tổng hàm lượng tinh bột và đường theo phương pháp thủy phân bằng axit

Lấy 50 ml giấm chín cho vào bình tam giác 250 ml, thêm vào đó 50 ml nước cất và 6 ml HCl đậm đặc (hoặc 10 ml 25%), nối bình với ống sinh hàn khí dài ít nhất 50 cm. Mặt khác lấy 50 ml dịch lọc giấm chín rồi cho vào bình khác, cũng thêm nước và axit như mẫu giấm chưa lọc. Sau khi nối ống sinh hàn khí, đặt cả hai bình tam giác vào nồi cách thủy và đun sôi 2 giờ. Tiếp đó làm nguội tới nhiệt độ phòng rồi trung hòa bằng NaOH 10% tới khi màu của giấy quì chuyển sang xanh lơ. Chuyển toàn bộ dịch vào hai bình định mức 250 ml rồi thêm nước tới gần bình, đem lọc qua giấy vào hai bình khô khác nhau.

Dịch lọc của hai bình dùng để xác định đường theo các phương pháp khác nhau.

Giả sử khi định phân 20 ml dung dịch $K_3Fe(CN)_6$ 1% (20 ml dung dịch tương đương 25 mg glucoza) tốn hết a và a_0 ml dịch đường. Hàm lượng đường cộng tinh bột sót trong giấm chín sẽ là:

$$\frac{0,025 \times 250}{a \times 50} \times 100 = \frac{12,5}{a} \text{ g/100 ml}$$

Ví dụ, $a = 10$ như vậy tổng tinh bột và đường sót (chất khử) sẽ là:

$$\frac{12,5}{10} = 1,25 \text{ g/100 ml}$$

Tương tự đối với giấm chín đã lọc khi định phân 20 ml

dùng để phân tích.

Để tiến hành phản ứng, dịch lọc cần pha loãng sao cho trong 10 ml đem phân tích chứa từ 5 đến 12 mg đường. Muốn vậy dùng ống hút lấy 5 hoặc 10 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml rồi thêm nước cất tới gần bình.

Lấy ít nhất hai ống nghiệm có nút mài đã sấy khô đặt vào giá. Sau đó dùng ống hút lấy 10 ml dung dịch antron cho vào các ống nghiệm (Cẩn thận vì antron hòa tan trong H_2SO_4 đậm đặc!). Tiếp theo cho vào ống nghiệm thứ nhất 5 ml nước cất (mẫu kiểm chứng), các ống nghiệm khác cho 5 ml dịch đường loãng. Khi cho nước và dịch đường phải từ từ nhỏ theo thành ống sao cho dịch không bị xáo trộn và chia thành hai lớp rõ rệt. Dùng nút mài đậy kín và quấn chặt bằng dây cao su nhỏ. Lắc đều các ống rồi đặt giá cùng ống nghiệm vào nồi nước đang sôi, sao cho sau 1/2 phút thì sôi trở lại và giữ thêm 5,5-6 phút nữa. Lấy giá cộng ống nghiệm nhúng ngay vào nước lạnh.

Do mật độ quang của các dung dịch trên máy so màu quang điện với chiều dày lớp chất lỏng 5 mm với hai kính lọc sáng khác nhau.

Kết quả khi dùng kính lọc màu da cam ($\lambda = 610.10^{-9}$ m) ta có D_1 , sau đó đo với kính lọc sáng màu tím ($\lambda = 413.10^{-9}$ m) ta có mật độ quang D_2 .

Hàm lượng đường sót trong giấm chín được tính theo công thức:

$$\frac{18,9(D_1 - D_2) \times n}{1000} \%$$

n - hệ số pha loãng của giấm chín.

Ví dụ, lúc đầu cân 20 g pha thành 250 ml, lần sau lấy 10 ml pha thành 100. Hệ số pha loãng n sẽ là:

$$n = \frac{250 \times 100}{20 \times 10} = 125$$

$$D_1 = 0,525; D_2 = 0,156.$$

Hàm lượng đường sót sẽ là:

$$\frac{18,9(0,525 - 0,156)}{1000} \times 125 = 0,86\%$$

Mẫu giám thử hai dùng để xác định tổng cả tinh bột và đường, vì vậy cần chuyển tinh bột sang trạng thái hòa tan. Muốn vậy ta chuyển toàn bộ 20 g giám vào bình định mức 250 ml rồi cho thêm 80 ml dung dịch H_2SO_4 0,5% để rửa và tráng cốc. Nồng độ H_2SO_4 trong dịch sẽ là 0,4%. Đặt bình vào nước đang sôi và cho sôi 15 phút. Sau đó làm nguội, thêm nước tới gần bình và đem lọc trong.

Dung dịch trong đem pha loãng và tiến hành cho phản ứng với antron như trên. Sau đó cũng đo mật độ quang D_3 và D_4 .

Tổng lượng tinh bột và đường trong giám chín cũng xác định theo công thức:

$$\frac{18,9(D_3 - D_4) \times n}{1000} \cdot \%$$

Ví dụ khi đo ta được $D_3 = 0,742$; $D_4 = 0,202$, % tinh bột cộng đường trong giám sẽ là:

$$\frac{18,9(0,742 - 0,202)}{1000} \times 125 = 1,27\%$$

Hàm lượng tinh bột sót sẽ là:

$$(1,27 - 0,86) \times 0,9\% = 0,37\%$$

Xác định đường sót trong giám chín từ rỉ đường

Trong giám chín rỉ đường chứa chủ yếu là saccaroza và hỗn hợp đường hoàn nguyên gồm glucoza và fructoza, vì thế trước khi xác định cần thủy phân saccaroza thành đường khử.

Lấy 50 ml dịch lọc giám chín cho vào bình định mức 100 ml. Sau đó cho 8 ml dung dịch axetat chì trung tính để kết tủa protein, lắc đều rồi thêm vào 16 ml dung dịch Na_2HPO_4 10%, thêm nước cất tới gần bình rồi đem lọc.

Lấy 50 ml dịch lọc cho vào bình tam giác 250 ml, sau đó thêm 5 ml HCl 25% rồi nối với ống sinh hàn khí và đun sôi cách thủy trong 10 phút để biến đường saccaroza thành glucoza và fructoza. Làm lạnh đến nhiệt độ phòng rồi trung hòa bằng dung dịch NaOH 10% đến xuất hiện màu hồng nhạt với chỉ thị là phenolphthalein. Trung hòa xong ta chuyển toàn bộ dịch vào bình định mức 100 ml rồi thêm nước cất tới gần bình.

Xác định đường khử trong dung dịch có thể tiến hành theo phương pháp Bectran hay $K_3Fe(CN)_6$.

Giả sử khi xác định đường theo phương pháp ferixyanua kali ta thấy lượng dịch đường tiêu hao là 10 ml. Biết 20 ml ferixyanua tương đương 0,025 g đường glucoza. Do đó hàm lượng đường sót trong giấm chín sẽ là:

$$\frac{0,025}{a} \times 100 \text{ g/100 ml}$$

$$a = \frac{50}{100} \times \frac{50}{100} \times 10 = 2,5 \text{ ml giấm chưa pha.}$$

Đường sót tính theo glucoza (chất khử) sẽ là:

$$\frac{0,025}{2,5} \times 100 = 1 \text{ g/100 ml}$$

Độ chua của giấm chín

Độ chua của giấm cho biết mức độ nhiễm tạp khuẩn trong quá trình lên men và có thể biểu diễn theo 2 cách.

Một là độ chua biểu diễn theo gam axit sunfuric chứa trong 1 lít giấm như các nhà máy rượu của ta vẫn làm.

Hai là độ chua được biểu diễn theo độ. Một độ chua là số ml NaOH có nồng độ 1N cần thiết để trung hòa axit tự do chứa trong 20 ml giấm. Nếu số ml NaOH qui về 1N là bằng 1, ta nói giấm chín có độ chua bằng 1 độ.

1 độ chua tương đương 2,45 g H_2SO_4 /lít.

Bảng 13-1. Bảng hiệu chỉnh theo nhiệt độ

Nhiệt độ °C	Chỉ số đọc được trên đường kế							
	0	5	10	12	14	16	18	20
	Chỉ số trên đường kế - f							
10	0,32	0,37	0,42	0,44	0,46	0,48	0,50	0,51
11	0,31	0,34	0,39	0,41	0,42	0,44	0,45	0,47
12	0,28	0,31	0,35	0,37	0,38	0,40	0,41	0,42
13	0,26	0,28	0,32	0,33	0,34	0,35	0,36	0,38
14	0,23	0,25	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,33
15	0,20	0,21	0,24	0,25	0,26	0,26	0,27	0,28
16	0,16	0,18	0,19	0,20	0,21	0,22	0,22	0,23
17	0,12	0,13	0,15	0,15	0,16	0,16	0,17	0,17
18	0,08	0,09	0,10	0,10	0,11	0,11	0,11	0,12
19	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06
20	0,00							
	Chỉ số trên đường kế + f							
21	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
22	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12
23	0,15	0,16	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18
24	0,21	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,25	0,26
25	0,27	0,28	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32
26	0,33	0,34	0,36	0,37	0,37	0,38	0,39	0,39
27	0,40	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,45	0,46
28	0,46	0,47	0,49	0,50	0,51	0,52	0,53	0,54
29	0,53	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,61
30	0,60	0,61	0,63	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68

Đối với dịch đường hóa, ngoài nồng độ chất hòa tan cần xác định đường và tính theo glucoza. Xác định có thể tiến hành theo phương pháp ferixyanua kali, nhưng muốn chính xác thì dịch đường hóa cần pha loãng khoảng 10 lần.

Lượng đường tính theo glucoza đạt trên 3% (30 g/l), bảo đảm cho phát triển bình thường của nấm men lúc ban đầu.

Nồng độ chất hòa tan sau lên men

Nồng độ chất hòa tan sau lên men còn gọi là độ lên men hay

đường sót, cũng đo bằng đường kế, Bomé kế và cũng ở điều kiện 20°C. Độ lên men lại chia thành độ lên men biểu kiến và độ lên men thực. Độ lên men biểu kiến đo khi trong giấm chín còn chứa rượu và CO₂; độ lên men thực cũng đo trong điều kiện như biểu kiến nhưng giấm chín đã tách hết rượu và CO₂ sau đó thêm nước cất tới khối lượng ban đầu.

Trong thực tế sản xuất rượu, người ta thường chỉ đo độ lên men biểu kiến và làm như sau: Lấy dịch lọc giấm chín cho vào ống đong 250 ml rồi dùng đường kế đo và đọc kết quả trên vạch chia độ, sau đó qui về 20°C theo bảng 13-1.

Độ lên men biểu kiến phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố nhưng với nguyên liệu xác định nó dao động trong giới hạn rất nhỏ. Với nguyên liệu tinh bột có thể từ -0,5% đến +1%. Đối với giấm chín từ rỉ đường công nghiệp có thể đạt tới 5 đến 6% nhưng với rỉ đường thủ công chỉ khoảng 0 đến 1%.

Chương XIV

KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM CỒN

Đối với cồn thành phẩm ta cần kiểm tra các chỉ tiêu sau đây:

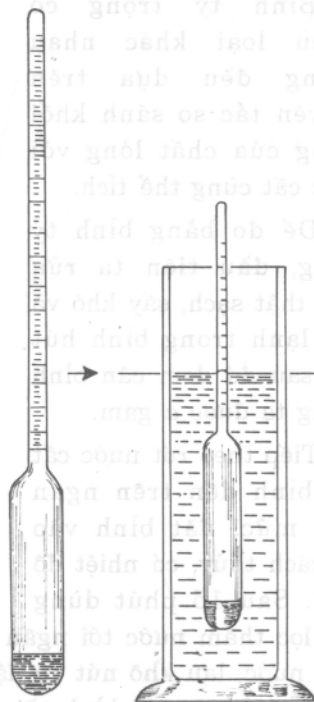
14.1. Nồng độ rượu

Hay dùng nhất là rượu kế thủy tinh (hình 14-1) còn gọi là tửu kế hay thước đo độ rượu. Thước đo độ rượu cũng được thiết lập theo định luật Archimèdes và có nhiều loại. Loại dùng để đo nồng độ từ 0 đến 10%, 10 đến 20, ... 90 đến 100%. Mỗi vạch trên thước đo thường ứng với 1% thể tích. Loại chính xác lại chia thành vạch nhỏ hơn 0,1%, thường dùng để đo độ rượu trong giấm sau khi cất 0 đến 10%.

Tiêu chuẩn Việt Nam được thiết lập ở 20°C nhưng thước đo lại chia từ 0 đến 100%, do khoảng cách quá hẹp nên kém chính xác, nhất là khi đo dung dịch rượu có nồng độ thấp.

Muốn đo ta rót cồn hoặc rượu vào ống đo đặt thẳng đứng. Ống đo phải sạch, khô và phải tráng qua dung dịch định đo. Nhiệt độ khi đo cần làm lạnh hoặc gia nhiệt đến xấp xỉ 20°C.

Từ từ nhúng thước đo vào, buông tay để thước nổi tự do rồi đọc kết quả. Đọc 2 đến 3 lần để



Hình 14-1. Thước đo và cách đọc nồng độ trên thước

lấy kết quả trung bình. Khi đọc phải đặt mắt ngang tầm mức chất lỏng và không đọc ở phần lồi (hoặc lõm). Trong mỗi dung dịch đều chứa các chất hoạt động bề mặt và do đó làm ảnh hưởng tới sức căng bề mặt, chỉ số đọc được trên thước đo, dẫn đến làm tăng hoặc giảm so với nồng độ thực tế.

Khi đo ở nhiệt độ khác 20° thì cần hiệu chỉnh theo Phụ lục III.

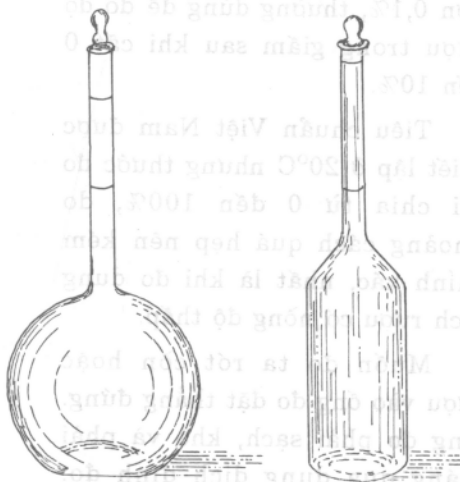
Xác định nồng độ rượu cũng có thể dựa theo phương pháp cân đo tỷ trọng rồi tra bảng để tìm % thể tích hoặc % khối lượng.

Muốn biết tỷ trọng của dung dịch ta có thể đo trực tiếp bằng thước đo tỷ trọng thủy tinh (tương tự thước đo rượu, Bx kế và cũng dựa vào lực đẩy Archimèdes của chất lỏng) hoặc dùng bình tỉ trọng hay cân tỷ trọng.

Bình tỷ trọng có nhiều loại khác nhau nhưng đều dựa trên nguyên tắc so sánh khối lượng của chất lỏng với nước cất cùng thể tích.

Để đo bằng bình tỷ trọng, đầu tiên ta rửa bình thật sạch, sấy khô và làm lạnh trong bình hút ẩm, sau đó đem cân bình không ta được a gam.

Tiếp theo rót nước cất vào bình đến trên ngấn định mức, đặt bình vào nồi cách thủy, có nhiệt độ 20°C . Sau 15 phút dùng giấy lọc thấm nước tới ngấn bình đồng thời thấm khô phần không chứa nước, lau khô nút và đặt lại. Lấy bình ra khỏi nồi điều nhiệt, lau khô phía ngoài bình rồi đem cân ta được b gam. Tiếp theo đổ nước khỏi bình, tráng bình 2 đến 3 lần bằng dung dịch cần đo tỷ



Hình 14-2. Các loại bình tỷ trọng.

trọng rồi cũng rót chất lỏng tới trên vạch, sau đó làm tương tự như khi bình chứa nước cất, giả sử bình chứa dịch cần được c gam.

Chú ý: Sau khi định mức chất lỏng ở 20°C vừa tới ngấm, nhiệt độ sẽ tăng và mức chất lỏng sẽ cao hơn ngần cũ. Điều này không làm ảnh hưởng tới kết quả.

Tỷ trọng chất lỏng so với nước cùng nhiệt độ 20°C sẽ là:

$$d_{20}^{20} = \frac{c - a}{b - a}$$

Căn cứ vào tỷ trọng tra Phụ lục IV, ta sẽ biết % rượu trong chất lỏng.

Trường hợp khi đo nhiệt độ chất lỏng khác 20°C nhưng biết rõ nhiệt độ khi cân nước vẫn là 20°C , ta có thể chuyển d_{20}^{20} sang d_{20}^{20} theo bảng 14-1 rồi tiếp đó mới tra Phụ lục IV để biết nồng độ rượu.

Ví dụ, khi cân bình không và nước ở 20°C ta được 45,8942 g, khi cân bình và rượu ở 25°C ta được $c = 45,6252$ g. Bình không có khối lượng $a = 30,8442$ gam, ta có:

$$d_{20}^{25} = \frac{45,6252 - 30,8442}{45,8942 - 30,8482} = 0,9821$$

Tra bảng 14-1, để qui về d_{20}^{20} ta cần cộng 0,0014:

$$d_{20}^{20} = 0,9821 + 0,0014 = 0,9835$$

Căn cứ vào $d_{20}^{20} = 0,9835$, tra Phụ lục IV ta biết được nồng độ rượu trong dung dịch đo là 10,06% khối lượng hay 12,57% thể tích.

Tỷ trọng của dung dịch đo cũng có thể xác định bằng cân tỷ trọng (hình 14-3).

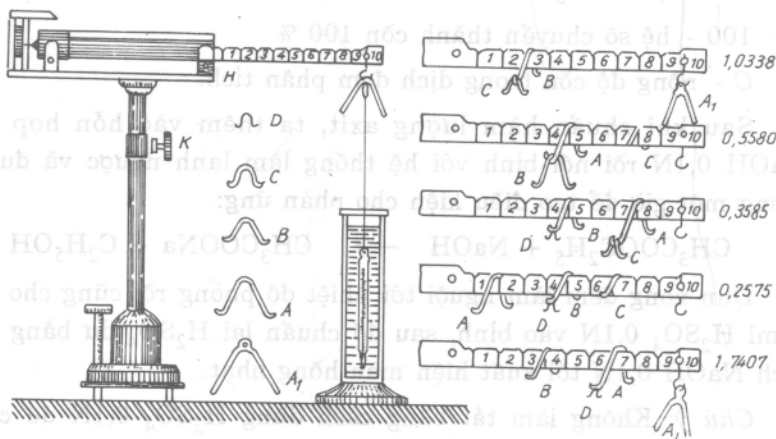
Cân tỷ trọng cũng dựa trên sức đẩy Archimèdes và có cấu tạo như ở hình 14-3. Dung dịch rượu hoặc chất lỏng bất kỳ được rót vào ống đồng, sau đó nhúng thỏi thủy tinh được treo trên móc thăng bằng. Chất lỏng sẽ đẩy vào thỏi thủy tinh một lực m , tùy theo tỷ trọng d của chất lỏng lớn hơn hay bé, cân cân sẽ bị lệch so với thăng bằng với nước cất lúc ban đầu. Bằng cách đặt và thay đổi các quả cân A_1 , A, B, C, D vào các vị trí sao cho cân trở lại trạng thái

thăng bằng. Đọc trên cân cân và vị trí các quả cân ta sẽ có tỷ trọng trực tiếp của chất lỏng ở nhiệt độ t . Tỷ trọng của chất lỏng có thể lớn hơn hoặc nhỏ hơn 1. Khi treo A_1 vào để cân các chất có $d > 1$, còn đối với rượu và các chất lỏng có $d < 1$ thì không cần móc A_1 vào.

Khi thăng bằng với nước cất cần tiến hành ở nhiệt độ $t = 20^\circ\text{C}$, còn với dung dịch có thể đo ở nhiệt độ $t \neq 20^\circ\text{C}$, rồi cũng hiệu chỉnh theo bảng 14-5 và sau đó làm tương tự khi xác định tỷ trọng bằng bình tỷ trọng kể trên.

Bảng 14-1. Bảng hiệu chỉnh tỷ trọng chất lỏng (rượu) từ $d_{20}^1 \rightarrow d_{20}^{20}$

Nhiệt độ $^\circ\text{C}$	Tỷ trọng						
	từ 0,9980 đến 0,9940	từ 0,9939 đến 0,9890	từ 0,9889 đến 0,9850	từ 0,9849 đến 0,9810	từ 0,9809 đến 0,9770	từ 0,9769 đến 0,9730	từ 0,9729 đến 0,9690
	Trừ bớt						
10	0,0015	0,0016	0,0018	0,0021	0,0024	0,0028	0,0031
11	0,0014	0,0015	0,0017	0,0019	0,0022	0,0026	0,0028
12	0,0013	0,0014	0,0015	0,0017	0,0020	0,0024	0,0026
13	0,0012	0,0013	0,0014	0,0016	0,0018	0,0020	0,0023
14	0,0010	0,0011	0,0012	0,0014	0,0016	0,0018	0,0020
15	0,0009	0,0010	0,0011	0,0012	0,0014	0,0016	0,0017
16	0,0007	0,0008	0,0009	0,0010	0,0011	0,0013	0,0014
17	0,0005	0,0006	0,0007	0,0008	0,0009	0,0010	0,0011
18	0,0004	0,0004	0,0005	0,0005	0,0006	0,0006	0,0007
19	0,0002	0,0002	0,0002	0,0003	0,0003	0,0003	0,0004
Cộng thêm							
21	0,0002	0,0002	0,0002	0,0003	0,0003	0,0003	0,0004
22	0,0004	0,0004	0,0005	0,0005	0,0006	0,0006	0,0007
23	0,0006	0,0006	0,0007	0,0008	0,0009	0,0010	0,0011
24	0,0009	0,0009	0,0010	0,0011	0,0012	0,0014	0,0015
25	0,0011	0,0012	0,0013	0,0014	0,0016	0,0018	0,0019
26	0,0014	0,0015	0,0016	0,0017	0,0019	0,0021	0,0023
27	0,0017	0,0018	0,0019	0,0020	0,0022	0,0025	0,0028
28	0,0020	0,0021	0,0022	0,0023	0,0026	0,0029	0,0032
29	0,0023	0,0024	0,0025	0,0026	0,0030	0,0033	0,0036
30	0,0026	0,0027	0,0028	0,0030	0,0034	0,0037	0,0040



Hình 14-3. Cân tỷ trọng - cân thủy lực.

14.2. Hàm lượng axit và este trong cồn

Trong cồn chứa rất nhiều loại axit khác nhau, đều tạo thành trong quá trình lên men, nhưng chủ yếu là axit axetic. Vì thế người ta thường biểu diễn độ axit trong cồn theo axit axetic và tính theo mg trong một lít cồn khan (cồn không nước).

Tiến hành

Dùng ống hút cho 100 ml cồn (pha loãng tới khoảng 50%) vào bình tam giác 250 ml. Nối bình với hệ thống làm lạnh ngược rồi đun sôi 15 phút để tách hết CO_2 . Tiếp theo làm lạnh tới nhiệt độ phòng, cho vào 3÷4 giọt phenolphthalein, rồi dùng dung dịch NaOH 0,1N chuẩn đến xuất hiện màu hồng nhạt.

Hàm lượng axit tính theo công thức sau:

$$\frac{V \times 6 \times 10 \times 100}{C} \text{ mg/l}$$

V - số mg dung dịch NaOH 0,1N tiêu hao khi định phân.

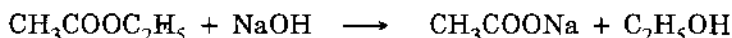
6 - số mg axit axetic ứng với 1 ml NaOH có nồng độ 0,1 N.

10 - hệ số chuyển thành 1 lít.

100 - hệ số chuyển thành còn 100 %

C - nồng độ còn trong dịch đem phân tích.

Sau khi chuẩn hàm lượng axit, ta thêm vào hỗn hợp 5 ml NaOH 0,1N rồi nối bình với hệ thống làm lạnh ngược và đun sôi trong một giờ để tạo điều kiện cho phản ứng:



Đun xong đem làm nguội tới nhiệt độ phòng rồi cũng cho đúng 5 ml H_2SO_4 0,1N vào bình, sau đó chuẩn lại H_2SO_4 dư bằng dung dịch NaOH 0,1N tới xuất hiện màu hồng nhạt.

Chú ý: Không làm tắt bằng cách dùng H_2SO_4 0,1N để chuẩn lượng NaOH 0,1N dư sau phản ứng, vì như vậy sẽ dẫn tới sai số. (xuất hiện màu hồng và làm mất màu hồng).

Hàm lượng este trong cồn được tính như sau:

$$E = \frac{V \times 8,8 \times 10 \times 100}{C} \text{ mg/l}$$

V - số ml NaOH 0,1N tiêu hao khi chuẩn lượng H_2SO_4 dư.

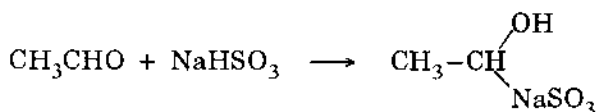
8,8 - lượng este etylic ứng với 1 ml NaOH có nồng độ 0,1N, theo mg.

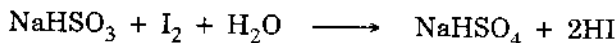
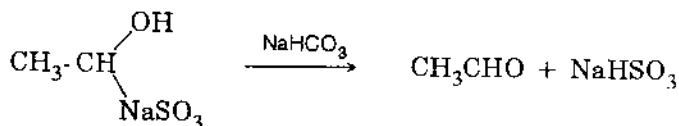
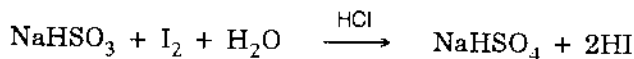
Chú ý: Muốn nhận được kết quả chính xác hơn, ta có thể dùng dung dịch NaOH có nồng độ 0,05N để chuẩn lần cuối cùng. Lúc đó 1 ml NaOH 0,05N chỉ tương đương 4,4 mg este etylic.

14.3. Xác định hàm lượng aldehyt theo phương pháp iod

Trong cồn chứa chủ yếu là aldehyt axetic. Để xác định ta có thể dùng nhiều phương pháp khác nhau. Ở đây chúng tôi chỉ giới thiệu phương pháp hiện dùng theo TCVN - 71.

Cơ sở của phương pháp dựa trên các phản ứng sau:





Hóa chất:

- Dung dịch NaHSO_3 1,2%
- Dung dịch NaHCO_3 1N $\longrightarrow$ (42 g/l)
- Dung dịch HCl 1N
- Dung dịch iod 0,1N và 0,01N
- Dung dịch tinh bột 0,5%

Tiến hành:

Lấy 50 ml rượu hoặc cồn đã pha loãng xấp xỉ 50%, cho vào bình tam giác 250 ml. Sau đó thêm vào 25 ml NaHSO_3 1,2%, lắc đều và để 1 giờ. Tiếp đó cho vào 5÷7 ml dung dịch HCl 1N và dùng dung dịch I_2 0,1N để oxy hóa lượng NaHSO_3 dư với chỉ thị là dung dịch tinh bột 0,5%. (Cuối giai đoạn nên dùng I_2 0,01N để lượng I_2 không dư nhiều). Lượng dung dịch I_2 , 1N và 0,01N tiêu hao trong giai đoạn này không tính đến. Tiếp theo ta thêm vào bình phản ứng 25 ml NaHCO_3 để giải phóng lượng NaHSO_3 và aldehyt. Sau 1 phút ta dùng dung dịch I_2 0,01N để chuẩn lượng NaHSO_3 vừa được giải phóng do kết hợp với aldehyt lúc ban đầu. Phản ứng được xem là kết thúc khi xuất hiện màu tím nhạt.

Song song với thí nghiệm thực, ta làm một thí nghiệm kiểm chứng, chỉ khác là thay 50 ml rượu bằng 50 ml nước cất.

Hàm lượng aldehyt tính theo mg/l được xác định theo công thức:

$$\frac{(V - V_0) \times 0,22 \times 1000 \times 100}{50 \times C}, \text{ mg/l}$$

V và V_0 - số ml dung dịch I_2 0,01N tiêu hao trong thí nghiệm thực và kiểm chứng.

0,22 - số mg aldehyt axetic tương ứng với 1 ml dung dịch I_2 0,01N.

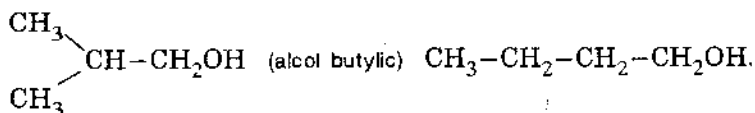
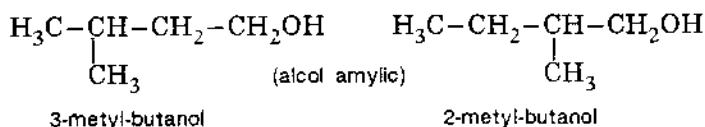
Ví dụ, khi tiến hành thí nghiệm ta nhận được $V_1 = 1,8$ ml, $V_0 = 0,3$ ml. Nồng độ rượu bằng 50%.

Hàm lượng aldehyt axetic trong 1 lít cồn tuyệt đối sẽ là:

$$\frac{(1,8 - 0,3) \times 0,22 \times 1000 \times 100}{50 \times 50} = 13,2 \text{ mg/l}$$

14.4. Xác định hàm lượng alcol cao phân tử

Ở đây gọi alcol cao phân tử là alcol có số cacbon lớn hơn hai. Alcol cao phân tử là sản phẩm trung gian của quá trình lên men rượu. Trong thành phần của nó chứa chủ yếu là alcol amylic và alcol butylic. Các alcol này thường gặp ở dạng *izo*, vì vậy khi phân tích người ta đem so sánh với hỗn hợp izobutylic và izoamylic 1:3.



Để xác định alcol cao phân tử, người ta dựa vào phản ứng màu giữa chúng với aldehyt salixilic. Trong môi trường axit sunfuric, alcol etylic sẽ phản ứng với aldehyt salixilic ($\text{OHC}_6\text{H}_4\text{CHO}$) và có màu vàng, nhưng nếu trong rượu có chứa các alcol cao phân tử thì màu của hỗn hợp sẽ biến thành đỏ - da cam. Cường độ màu phụ thuộc vào hàm lượng alcol cao phân tử chứa trong hỗn hợp etylic, ngoài ra còn phụ thuộc vào hàm lượng aldehyt. Nếu trong cồn chứa không quá 0,00025% aldehyt theo thể tích (tương đương 2 mg/l) thì sự đổi màu do aldehyt xem như không đáng kể. Nếu hàm lượng aldehyt lớn hơn 0,00025% thì dung dịch mẫu cũng phải chứa

aldehyt với nồng độ khác nhau.

Hóa chất:

- Dung dịch aldehyt salixilic 1% thể tích (nhiệt độ sôi $196 \div 197^{\circ}\text{C}$). Dung dịch này được pha bằng alcol 50% nhưng không chứa aldehyt lẫn alcol cao phân tử. Pha xong cần bảo quản trong chỗ tối.

- Axit sunfuric đậm đặc, tinh khiết, không màu.

- Các dung dịch mẫu có nồng độ khác nhau của alcol izoamylic và izobutylic 3, 4, 15 và 20 mg/l. Ngoài ra các dung dịch mẫu cũng chứa aldehyt axetic với nồng độ khác nhau. Tất cả dung dịch mẫu đều được pha bằng cồn không chứa aldehyt axetic và alcol cao phân tử hoặc rất ít.

Dung dịch mẫu tốt nhất là do Cục Tiêu chuẩn Chất lượng Đo lường nhà nước cấp.

Tiến hành:

Dùng một số ống đóng 50 ml hay 25 ml có nút nhám đã rửa sạch sấy khô. Sau đó cho vào ống thứ nhất 10 ml cồn hoặc rượu thí nghiệm, các ống khác chứa 10 ml dung dịch mẫu có hàm lượng aldehyt axetic tương đương như trong mẫu thí nghiệm. Dùng ống hút cho vào mỗi ống đóng 0,4 ml dung dịch aldehyt salixilic 1% và 20 ml H_2SO_4 đậm đặc (cho theo thành ống đóng). Nút các ống đóng rồi lắc đều và để yên 30 phút. Sau đó đem so màu bằng mắt thường, màu của ống thí nghiệm phù hợp với màu của ống mẫu nào thì hàm lượng alcol cao phân tử trong rượu thí nghiệm chính là hàm lượng alcol cao phân tử của mẫu đó.

Hàm lượng alcol cao phân tử được tính theo công thức:

$$\frac{a \times 100}{C} \quad \text{mg/l hay \%}$$

a - hàm lượng dầu fusel trong mẫu;

C - nồng độ cồn trong mẫu thí nghiệm.

Chú ý:

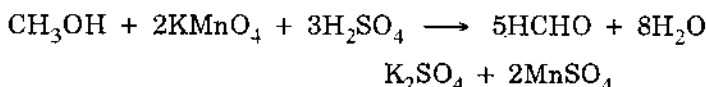
Nếu dùng ống đong 25 ml thì các dung dịch đưa vào lấy bằng một nửa.

14.5. Xác định hàm lượng alcol metylic (CH₃OH)

Alcol metylic là chất lỏng rất linh động và không màu, hòa tan trong nước theo bất cứ tỷ lệ nào. Nhiệt độ sôi 64,7°C. Alcol metylic là chất độc đối với cơ thể. Nếu uống vào từ 8 đến 10 g thì có thể bị ngộ độc, mắt bị rối loạn và có thể bị mù lòa. Nếu uống nhiều sẽ gây tử vong. Người ngửi lâu phải alcol metylic cũng bị ngộ độc.

Theo tiêu chuẩn của các nước tiên tiến và hiện nay ta cũng áp dụng, hàm lượng alcol metylic trong cồn thô không được quá 0,13%. Đối với cồn tinh chế không được quá 0,05% và đối với cồn hảo hạng không quá 0,03%.

Phương pháp xác định alcol metylic dựa trên cơ sở sau: Trong môi trường axit, dưới tác dụng của KMnO₄, alcol metylic sẽ bị oxy hóa theo phản ứng:



Sau đó aldehyt formic sẽ tác dụng với sunfit fucxin để tạo phản ứng màu.

Hóa chất:

- Dung dịch axit oxalic bão hòa (8 g/100 ml)
- Dung dịch KMnO₄ 1%
- Axit sunfuric đậm đặc ($d = 1,83 \div 1,84$)

- Dung dịch sunfit fucxin: Cân 0,1 g fucxin rồi hòa với 20 ÷ 30 ml nước nóng 80°C, xong chuyển toàn bộ vào bình định mức 100 ml và thêm nước cất tới gần bình. Tiếp đó chuyển dung dịch vào một bình khô khác lớn hơn, thêm vào đó 2,5 ml dung dịch NaHSO₃ vừa pha ($d = 1,262$). Lắc đều và để yên 3 đến 4 giờ. Khi dung dịch trở nên màu hồng nhạt hoặc không màu thì thêm 0,5 ml H₂SO₄ đậm

đặc. Lắc đều và để bình ngoài chỗ sáng 2 đến 3 ngày cho tới khi màu của dung dịch trở nên vàng thì có thể đem dùng hoặc chuyển vào bình nâu và bảo quản nơi tối mát.

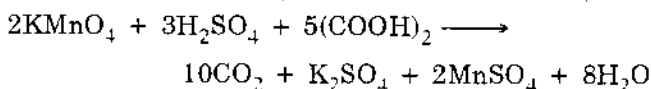
- Dung dịch mẫu có nồng độ metylic khác nhau được pha bằng cồn etylic 96% nhưng không chứa alcol metylic.

Lấy 1 ml alcol metylic tinh khiết cho vào bình định mức 100 ml rồi dùng cồn etylic không chứa metylic đổ đầy đến gần bình. Từ dung dịch này ta pha thành các dung dịch có nồng độ metylic khác nhau:

- 0,13% khi xác định hàm lượng metylic trong cồn thô;
- 0,05% và 0,03% khi xác định cồn tinh chế;

Tiến hành:

Lấy ống nghiệm to (18 × 180) khô và sạch, cho vào đó 0,1 ml dịch cồn hoặc rượu cộng 5 ml KMnO_4 0,1N và 0,4 ml H_2SO_4 đậm đặc. Lắc nhẹ và để yên, sau 3 phút thêm vào đó 1 ml axit oxalic bão hòa để khử lượng KMnO_4 dư:



Khi dung dịch có màu vàng, thêm vào đó 1 ml H_2SO_4 đậm đặc, khi mất màu dùng ống hút cho vào 5 ml dung dịch fucxin. Lắc nhẹ và để khoảng 25 đến 30 phút. Song song với thí nghiệm trên ta làm thí nghiệm với dung dịch mẫu chứa alcol metylic đã biết trước. Sau 25 đến 30 phút nếu màu của ống chứa cồn thí nghiệm nhạt hơn hoặc bằng màu của dung dịch mẫu thì xem như cồn đạt tiêu chuẩn về hàm lượng alcol metylic. Nếu màu của mẫu thí nghiệm đậm hơn, nghĩa là không đạt.

14.6. Xác định thời gian oxy hóa

Cồn tinh khiết khử chất oxy hóa KMnO_4 rất chậm, nhưng nếu trong cồn chứa các hợp chất không no thì sẽ bị oxy hóa nhanh và do đó rút ngắn thời gian. Ví dụ nếu cồn chứa aldehyt không no như acrolein ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$) và aldehyt crotonovic

($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}-\text{CHO}$) sẽ làm tăng quá trình oxy hóa và màu KMnO_4 bị mất nhanh hơn. Còn aldehyt-axetic và furfurol không làm tăng phản ứng oxy hóa.

Việc xác định thời gian oxy hóa được thực hiện như sau: Dùng ống đong 50 ml có nút nhám cho vào 50 ml cồn thí nghiệm rồi đặt vào nồi giữ nhiệt độ ở 20°C . Sau 15 phút dùng ống hút cho vào 1 ml dung dịch KMnO_4 0,02%. Đậy nút nhám và lắc đều rồi đặt vào nồi giữ tiếp ở nhiệt độ 20°C . Màu của KMnO_4 sẽ dần dần thay đổi cho tới khi đạt tới màu của dung dịch mẫu cùng rót đầy vào một ống đong khác.

Thời gian từ khi cho KMnO_4 vào cho tới khi kết thúc được xem là thời gian oxy hóa. Khi so sánh màu cần đặt cả hai ống đong trên sứ trắng hoặc giấy. Thời gian càng dài chứng tỏ cồn có chất lượng cao hơn.

- Dung dịch mẫu: Cân chính xác 0,25 g CoCl_2 và 0,28g $\text{UO}_2(\text{NO}_2)_2$ hòa tan thành 100 ml. Dung dịch cần bảo quản trong bình màu nâu nơi thoáng mát. Nên dùng dung dịch mẫu của Cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng Việt Nam.

14.7. Xác định hàm lượng furfurol ($\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$)

Xác định furfurol dựa trên cơ sở: nếu cồn chứa furfurol thì khi phản ứng với anilin ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$) trong môi trường HCl, màu của dung dịch hồng - da cam. Cường độ màu tỷ lệ thuận với hàm lượng furfurol.

Theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN- 71, cồn tinh chế không được chứa furfurol.

Tiến hành xác định.

Lấy ống nghiệm hoặc ống đong 25 ml có nút nhám, dùng ống hút nhỏ 10 giọt anilin tinh khiết vào ống đong và 3 giọt HCl ($d=1,19$). Tiếp đó cho 10 ml cồn rồi lắc đều và để yên. Nếu sau 10 phút hỗn hợp phản ứng vẫn không màu thì cồn được xem là đạt tiêu chuẩn, nếu xuất hiện màu hồng thì xem như cồn có chứa furfurol nghĩa là không đạt.

PHẦN PHỤ LỤC

Phụ lục I. Hệ số bay hơi K của etylic

% khối lượng rượu	Hệ số bay hơi	% khối lượng rượu	Hệ số bay hơi
10	5,16	0,9	10,6
9	5,46	0,8	10,9
8	5,78	0,7	11,1
7	6,11	0,6	11,4
6	6,63	0,5	11,3
5	7,20	0,4	11,2
4	7,80	0,3	11,2
3	8,76	0,2	11,1
2	9,25	0,1	11,0
1	10,5	0,05	11,0

Phụ lục II. Quan hệ giữa nồng độ rượu và nhiệt độ sôi

% khối lượng		Nhiệt độ sôi, °C	% phân tử		% khối lượng		Nhiệt độ sôi, °C	% phân tử	
thể lỏng	thể hơi		thể lỏng	thể hơi	thể lỏng	thể hơi		thể lỏng	thể hơi
0,01	0,13	99,9	0,004	0,053	9	50,00	91,90	3,73	28,12
0,10	1,30	99,8	0,040	0,51	10	52,20	91,30	4,16	29,92
0,15	1,95	99,7	0,055	0,77	11	54,10	90,80	4,61	31,56
	2,60	99,6	0,08	1,03	12	55,80	90,50	5,07	33,16
	3,80	99,5	0,12	1,57	13	57,40	89,7	5,51	34,51
	4,90	99,4	0,16	1,98	14	58,80	89,2	5,98	35,83
0,5	6,10	99,3	0,19	2,48	15,0	60,0	89,0	6,46	36,98
0,7	7,10	99,2	0,23	2,90	16,0	61,1	88,3	6,86	38,06
0,75	8,10	99,1	0,27	3,33	17,0	62,2	87,9	7,41	39,16
0,80	9,00	99,0	0,31	3,72	18,0	63,2	87,7	7,95	40,18
0,90	9,90	98,9	0,35	4,12	19,0	64,3	87,4	8,41	41,27
1,00	10,75	98,75	0,39	4,51	20,0	65,0	87,0	8,92	42,09
2	19,70	97,65	0,79	8,76	21,0	65,8	86,7	9,42	42,94
3	27,20	96,65	1,19	12,75	22,0	66,6	86,4	9,93	43,82
4	33,30	95,80	1,61	16,34	23,0	67,3	86,2	10,43	44,61
5	37,10	94,95	2,01	18,68	24,0	68,0	85,95	11,00	45,41
6	41,10	94,15	2,43	21,45	25,0	68,7	85,7	11,55	46,08
7	44,60	93,35	2,86	23,96	26,0	69,8	82,2	12,08	47,49
8	47,60	92,60	3,29	26,21	27,0	70,0	85,6	12,64	47,90

Tiếp phụ lục II

% khối lượng		Nhiệt độ sôi, °C	% phân tử		% khối lượng		Nhiệt độ sôi, °C	% phân tử	
thể lỏng	thể hơi		thể lỏng	thể hơi	thể lỏng	thể hơi		thể lỏng	thể hơi
28,0	70,3	85,0	13,19	48,08	63	80,3	80,75	40,00	61,44
29,0	70,8	84,8	13,88	48,68	64	80,5	80,65	41,02	61,76
30,0	71,3	84,7	14,35	49,16	65	80,8	80,60	42,09	62,22
31,0	71,7	84,5	14,95	49,77	66	81,0	80,50	43,17	62,52
32,0	72,1	84,2	15,55	50,27	67	81,3	80,45	44,27	62,99
33,0	72,5	83,9	16,16	50,78	68	81,6	80,40	45,41	63,43
34,0	72,8	83,95	16,77	51,27	69,0	81,90	80,3	46,55	63,91
35,0	73,2	83,75	17,41	51,67	70,00	82,10	80,2	47,72	64,21
36,0	73,5	83,7	18,03	52,04	71	82,40	80,1	48,92	64,70
37,0	73,8	83,5	18,68	52,43	72	82,80	80,0	50,16	65,35
38,0	74,0	83,4	19,34	52,68	73	83,10	79,95	51,39	65,81
39,0	74,3	83,3	20,00	53,09	74	83,40	79,85	52,68	66,28
40,00	74,60	83,1	20,68	53,46	75	83,80	79,75	54,00	66,93
41	74,80	82,95	21,38	53,76	76	84,20	79,75	55,34	67,51
42	75,12	82,78	22,07	54,12	77	84,50	70,70	56,71	68,07
43	75,40	82,65	22,79	54,53	78	84,90	79,65	58,11	68,76
44	75,60	82,5	23,51	54,80	79	85,40	79,55	59,55	69,59
45	75,90	82,45	24,25	55,22	80,00	85,80	79,50	61,02	70,29
46	76,10	82,35	25,00	55,48	81	86,30	79,40	62,52	71,14
47	76,30	82,3	25,57	55,75	82	86,70	79,30	64,05	71,86
48	76,50	82,15	26,53	55,03	83	87,20	70,20	65,64	72,71
49	76,80	82,0	27,32	56,44	84	87,70	79,10	67,27	73,61
50,00	77,0	81,9	28,12	56,71	85	88,30	78,95	68,92	74,69
51	77,3	81,8	28,93	57,12	86	88,90	78,85	70,62	75,81
52	77,5	81,7	29,80	57,41	87	89,50	78,75	72,36	76,93
53	77,7	81,6	30,61	55,70	88	90,10	78,65	74,15	78,00
54	78,0	81,5	31,47	58,11	89	90,70	78,60	75,99	79,26
55	78,2	81,4	32,34	58,39	90,00	91,30	78,50	77,88	80,42
56	78,5	81,3	33,24	58,78	91	92,00	78,40	79,82	81,73
57	78,7	81,25	34,16	59,10	92	92,65	78,30	81,82	83,15
58	79,0	81,20	35,09	59,55	93	93,40	78,27	83,87	84,70
59	79,2	81,10	36,02	59,84	94	94,20	78,20	85,97	86,40
60,00	79,5	80,96	36,98	60,29	95	95,05	78,18	88,15	88,25
61	79,7	80,85	37,97	60,58	95,57	95,57	78,15	89,41	89,41
62	80,0	80,75	38,95	61,02					

Phụ lục III. Quan hệ giữa hàm lượng đường và số mg Cu theo phương pháp Bectran

Lượng đường mg	mg đồng bị khử do tác dụng của đường			
	glucoza	invertaza	galactoza	maltoza
1	2	3	4	5
10	20,4	20,6	19,3	11,2
11	22,4	22,6	21,2	12,3
12	24,3	24,6	23,0	13,4
13	26,3	26,5	24,9	14,5
14	28,3	28,5	26,7	15,6
15	30,2	30,5	28,6	16,7
16	32,2	32,5	30,5	17,8
17	34,2	34,5	32,3	18,9
18	36,2	36,4	34,2	20,0
19	38,1	38,4	36,0	21,1
20	40,1	40,4	37,9	22,2
21	42,0	42,3	39,7	23,3
22	43,9	44,2	41,6	24,4
23	45,8	46,1	43,4	25,5
24	47,7	48,0	45,2	26,6
25	49,6	49,8	47,0	27,7
26	51,5	51,7	48,9	28,9
27	53,4	53,6	50,7	30,0
28	55,3	55,6	52,5	31,1
29	57,2	57,4	54,4	32,2
30	59,1	59,3	56,2	33,3
31	60,9	61,1	58,0	34,4
32	62,8	63,0	59,7	35,5
33	64,6	64,8	61,5	36,5
34	66,5	66,7	63,3	37,6
35	68,3	68,5	65,0	38,7
36	70,1	70,3	66,8	39,8
37	72,0	72,2	68,6	40,9
38	73,8	74,0	70,4	41,9
39	75,7	75,9	72,1	43,0
40	77,6	77,7	73,9	44,1
41	79,3	79,5	75,6	45,2

Tiếp phụ lục III

1	2	3	4	5
42	81,1	81,2	77,4	46,3
43	82,9	83,0	79,1	47,4
44	84,7	84,8	80,8	48,5
45	86,4	86,5	82,5	49,5
46	88,2	88,3	84,3	50,5
47	90,0	90,1	86,0	51,7
48	91,8	91,9	87,7	52,8
49	93,6	93,6	89,5	53,9
50	95,4	95,4	91,2	55,0
51	97,1	97,1	92,9	56,1
52	98,9	98,8	94,6	57,1
53	100,6	100,6	96,3	58,2
54	102,3	102,3	98,0	59,3
55	104,1	104,0	99,7	60,3
56	105,8	105,7	101,5	61,4
57	107,6	107,4	103,2	62,5
58	109,3	109,2	105,0	63,5
59	111,7	110,9	106,6	64,6
60	112,8	112,6	108,3	65,7
61	114,5	114,3	110,0	66,8
62	116,2	115,9	111,6	67,9
63	117,9	117,6	113,3	68,9
64	119,6	119,2	115,0	70,0
65	121,3	120,9	116,6	71,1
66	123,0	122,6	118,3	72,2
67	124,7	124,2	120,0	73,3
68	126,4	125,9	121,7	74,3
69	128,1	127,5	123,3	75,4
70	129,8	129,2	125,0	76,5
71	131,4	130,8	126,6	77,6
72	133,1	132,4	128,3	78,6
73	134,7	134,0	130,0	79,7
74	136,3	135,6	131,5	80,8
75	137,9	137,2	133,1	81,8
76	139,6	138,9	134,8	82,9
77	141,2	140,5	136,4	84,0

Tiếp phụ lục III

1	2	3	4	5
78	142,8	142,1	138,0	85,1
79	144,5	143,7	139,7	86,1
80	146,1	145,3	141,3	87,2
81	147,7	146,9	142,9	88,3
82	149,3	148,5	144,6	80,4
83	150,9	150,0	146,2	90,4
84	152,5	151,6	147,8	91,5
85	154,0	153,2	149,4	92,1
86	155,6	154,8	151,1	93,7
87	157,2	156,4	152,7	94,8
88	158,8	157,9	154,3	95,8
89	160,4	159,5	156,0	96,9
90	162,0	161,1	157,6	98,0
91	163,6	162,6	159,2	99,0
92	165,2	164,2	160,8	100,1
93	166,7	165,7	162,4	101,1
94	168,3	167,3	164,0	102,2
95	169,9	168,8	165,6	103,2
96	171,5	170,3	167,2	103,2
97	173,1	171,3	168,8	105,3
98	174,6	173,4	170,4	106,3
99	176,2	175,0	172,0	107,4
100	177,8	176,5	173,6	108,4

Phụ lục IV. Quan hệ giữa % thể tích và % khối lượng của hỗn hợp rượu - nước cùng khối lượng riêng ở điều kiện 20°C và d_{20}^{20}

d_{20}^{20}	Hàm lượng rượu trong hỗn hợp			d_{20}^{20}	Hàm lượng rượu trong hỗn hợp		
	% khối lượng	% thể tích	g/100 ml		% khối lượng	% thể tích	g/100 ml
1	2	3	4	1	2	3	4
1,0000	0,00	0,00	0,00	0,9969	1,67	2,10	1,66
0,9999	0,05	0,07	0,05	8	1,72	2,17	1,71
8	0,11	0,13	0,10	7	1,78	2,24	1,77
7	0,16	0,20	0,16	6	1,83	2,31	1,82
6	0,21	0,27	0,21	5	1,88	2,38	1,88
5	0,27	0,34	0,26	4	1,94	2,44	1,93
4	0,32	0,40	0,32	3	1,99	2,51	1,98
3	0,37	0,47	0,37	2	2,05	2,58	2,04
2	0,43	0,54	0,42	1	2,11	2,65	2,09
1	0,48	0,61	0,48	0	2,16	2,72	2,15
0	0,53	0,67	0,53	0,9959	2,22	2,79	2,20
0,9989	0,59	0,74	0,59	8	2,28	2,86	2,26
8	0,64	0,81	0,64	7	2,33	2,93	2,32
7	0,70	0,88	0,69	6	2,39	3,00	2,37
6	0,75	0,94	0,74	5	2,44	3,08	2,43
5	0,80	1,01	0,80	0,9954	2,50	3,15	2,48
4	0,86	1,08	0,85	3	2,56	3,22	2,54
3	0,91	1,15	0,90	2	2,61	3,29	2,59
2	0,96	1,21	0,96	1	2,67	3,36	2,65
1	1,02	1,28	1,01	0	2,72	3,43	2,70
0	1,07	1,35	1,06	0,9949	2,78	3,50	2,76
0,9979	1,12	1,42	1,12	8	2,84	3,57	2,82
8	1,18	1,49	1,17	7	2,89	3,64	2,87
0,9977	1,23	1,56	1,23	6	2,95	3,71	2,93
6	1,29	1,62	1,29	5	3,00	3,78	2,98
5	1,34	1,69	1,34	4	3,06	3,85	3,04
4	1,40	1,76	1,39	3	3,12	3,92	3,10
3	1,45	1,83	1,44	2	3,18	4,00	3,16
2	1,50	1,90	1,50	1	3,24	4,07	3,21
1	1,56	1,97	1,55	0	3,30	4,14	3,27
0	1,61	2,03	1,60	0,9939	3,35	4,22	3,33

Tiếp phụ lục IV

1	2	3	4	1	2	3	4
8	3,41	4,29	3,38	2	5,59	7,00	5,52
7	3,47	4,36	3,44	1	5,65	7,08	5,59
6	3,53	4,43	3,50	0	5,72	7,16	5,65
5	3,59	4,51	3,56	0,9899	5,78	7,24	5,71
4	3,64	4,58	3,61	8	5,84	7,31	5,77
3	3,70	4,65	3,67	7	5,90	7,39	5,83
2	3,76	4,72	3,73	6	5,97	7,47	5,90
1	3,82	4,80	3,78	5	6,03	7,55	5,96
0	3,88	4,87	3,84	0,9894	6,10	7,53	6,02
0,9929	3,94	4,94	3,90	3	6,16	7,71	6,09
8	3,99	5,01	3,96	2	6,23	7,79	6,15
7	4,05	5,09	4,02	1	6,29	7,87	6,21
6	4,12	5,16	4,08	0	6,36	7,95	6,28
5	4,18	5,24	4,14	0,9889	6,42	8,03	6,34
0,9924	4,24	5,32	4,20	8	6,49	8,12	6,40
3	4,30	5,34	4,26	7	6,56	8,20	6,47
2	4,36	5,47	4,31	6	6,62	8,28	6,53
1	4,42	5,54	4,37	5	6,69	8,36	6,60
0	4,48	5,62	4,43	4	6,75	8,44	6,66
0,9919	4,54	5,69	4,49	3	6,82	8,52	6,72
8	4,60	5,77	4,55	2	6,88	8,60	6,79
7	4,66	5,84	4,61	1	6,95	8,68	6,85
6	4,72	5,92	4,67	0	7,01	8,76	6,92
5	4,78	6,00	4,73	0,0879	7,08	8,85	6,98
4	4,84	6,07	4,79	8	7,15	8,93	7,05
3	4,90	6,15	4,85	7	7,21	9,01	7,11
2	4,96	6,22	4,91	5	7,28	9,10	7,18
1	5,02	6,30	4,97	6	7,35	9,18	7,24
0	5,09	6,38	5,03	4	7,42	9,26	7,31
0,9909	5,15	6,46	5,09	3	7,48	9,34	7,37
8	5,21	6,53	5,16	2	7,55	9,43	7,44
7	5,28	6,61	5,22	1	7,62	9,51	7,50
6	5,34	6,69	5,28	0	7,68	9,59	7,57
5	5,40	6,77	5,34	0,986 9	7,75	9,68	7,64
4	5,46	6,84	5,40	8	7,82	9,76	7,70
3	5,53	6,92	5,46	7	7,88	9,84	7,77

Tiếp phụ lục IV

1	2	3	4	1	2	3	4
6	7,95	9,92	7,83	0	9,03	11,26	8,88
5	8,02	10,01	7,90	0,984 9	9,10	11,34	8,95
0,986 4	8,09	10,09	7,96	8	9,17	11,43	9,02
3	8,16	10,17	8,03	7	9,24	11,51	9,08
2	8,22	10,26	8,09	6	9,31	11,60	9,15
1	8,29	10,34	8,16	5	9,38	11,68	9,22
0	8,36	10,42	8,22	4	9,45	11,77	9,29
0,985 9	8,92	10,51	8,29	3	9,52	11,85	9,35
8	8,49	10,59	8,36	2	9,59	11,94	9,42
7	8,56	10,67	8,42	1	9,66	12,02	9,49
6	8,63	10,76	8,49	0	9,73	12,11	9,56
5	8,70	10,84	8,55	0,983 9	9,80	12,20	9,62
4	8,76	10,92	8,62	8	9,87	12,29	9,68
3	8,83	11,00	8,68	7	9,83	12,39	9,75
2	8,90	11,09	8,75	6	10,00	12,48	9,82
1	8,97	11,17	8,82	5	10,06	12,57	9,90

**Phụ lục V. Khối lượng riêng và thể tích riêng của hỗn hợp rượu - nước
ở áp suất $P = 1$ và 1,1 ata**

$$\gamma = \frac{1,1P_o}{RT} = \frac{10,333 \times 1,1}{18,4(2,73 + 78,4)}$$

% khối lượng trong hơi	Nhiệt độ sôi, °C	Khối lượng 1 m ³ ở P = 1,1 ata	Thể tích của 1 kg, m ³	Nhiệt độ sôi, °C	Khối lượng 1 m ³ ở P = 1,0 ata	Thể tích của 1 kg, m ³
0	100,0	0,638	1,567	100,0	0,589	1,697
5	99,5	0,670	1,492	95,0	0,620	1,513
10	99,0	0,693	1,443	91,5	0,643	1,555
15	98,6	0,715	1,398	89,0	0,667	1,499
20	98,3	0,742	1,347	87,1	0,684	1,440
25	98,0	0,768	1,302	85,8	0,722	1,385
30	97,2	0,799	1,251	84,6	0,750	1,333
35	96,3	0,833	1,200	83,8	0,785	1,273
40	95,0	0,870	1,149	83,1	0,817	1,224
45	93,8	0,909	1,100	82,5	0,854	1,171
50	92,4	0,950	1,052	81,9	0,887	1,127
55	90,9	0,999	1,001	81,5	0,933	1,107
60	89,5	1,050	0,952	81,0	0,976	1,024
65	87,5	1,109	0,900	80,5	1,020	0,970
70	86,3	1,176	0,850	80,1	1,085	0,922
75	84,5	1,247	0,802	79,7	1,145	0,812
80	82,7	1,326	0,753	79,3	1,224	0,816
85	80,5	1,418	0,704	78,9	1,309	0,763
90	79,0	1,520	0,657	78,5	1,396	0,717
95	78,7	1,632	0,613	78,3	1,498	0,667
100	78,4	1,750	0,571	78,2	1,592	0,622

Phụ lục VI. Nhiệt hàm của hơi rượu - nước ở nồng độ khác nhau khi bay hơi và ngưng tụ ở áp suất 760 mmHg

Nồng độ rượu trong hơi, % khối lượng	Nhiệt độ ngưng tụ, °C	Tỉ nhiệt trung bình, kcal/kg.độ	Nhiệt hàm lỏng	Ấn nhiệt bay hơi	Nhiệt hàm hơi
			kcal/kg		
0	100,0	1,00	100,0	539	639,0
5	99,4	1,02	101,8	522	623,4
10	98,8	1,03	101,4	505	606,8
15	98,2	1,03	101,1	488	589,1
20	97,6	1,03	100,5	471	571,5
25	97,0	1,035	100,4	454,5	554,9
30	96,0	1,04	99,8	438	537,8
35	95,3	1,02	97,2	421	518,2
40	94,0	1,01	94,9	404	498,9
45	93,2	0,98	91,3	388	479,3
50	91,9	0,96	88,2	371	459,2
55	90,6	0,94	85,5	354,5	440,0
60	89,0	0,92	81,9	338	419,9
65	87,0	0,89	77,1	321,5	398,6
70	85,1	0,86	73,2	305	378,2
75	82,8	0,82	67,9	289	356,9
80	80,8	0,77	62,1	273	333,1
85	79,6	0,75	59,7	256	315,7
90	78,7	0,72	56,7	238	294,7
95	78,2	0,68	53,2	221	274,2
100	78,15	0,64	50,1	204	254,1

Phụ lục VII. Bảng tra độ rượu
Thước đo 20°C. Bảng tra từ 0°V ÷ 10°V

0	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5	8	8,5	9	9,5	10	$\frac{^{\circ}\text{V}}{^{\circ}\text{C}}$
1,3	1,8	2,4	2,9	3,4	3,9	4,4	5,0	5,5	6,0	6,5	7,1	7,6	8,2	8,7	9,3	9,9	10,3	10,9	11,4	10
1,3	1,8	2,3	2,8	3,3	3,9	4,4	4,9	5,4	6,0	6,5	7,0	7,6	8,1	8,6	9,2	9,8	10,2	10,8	11,3	11
1,2	1,7	2,2	2,8	3,3	3,8	4,3	4,8	5,4	5,9	6,4	6,9	7,5	8,0	8,5	9,1	9,7	10,1	10,7	11,2	12
1,2	1,7	2,2	2,7	3,2	3,7	4,2	4,8	5,3	5,8	6,3	6,8	7,4	7,9	8,4	9,0	9,6	10	10,6	11,1	13
1,1	1,6	2,1	2,6	3,1	3,6	4,2	4,7	5,2	5,7	6,2	6,7	7,3	7,8	8,3	8,9	9,5	9,9	10,4	11	14
1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,1	4,6	5,1	5,6	6,1	6,6	7,2	7,7	8,2	8,8	9,4	9,8	10,3	10,8	15
0,4	1,4	1,9	2,4	2,9	3,4	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,6	8,1	8,6	9,3	9,6	10,2	10,7	16
0,3	1,3	1,8	2,3	2,8	3,3	3,9	4,4	4,9	5,4	5,9	6,4	6,9	7,4	8,0	8,5	9,2	9,5	10	10,5	17
0,2	1,2	1,7	2,2	2,7	3,2	3,7	4,2	4,8	5,3	5,8	6,3	6,8	7,3	7,8	8,3	8,8	9,3	9,8	10,4	18
0,1	1,1	1,6	2,1	2,6	3,1	3,6	4,1	4,6	5,1	5,7	6,1	6,6	7,2	7,6	8,2	8,7	9,2	9,7	10,2	19
0,0	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,6	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	9,5	10	20
	0,9	1,4	1,9	2,4	2,9	3,4	3,9	4,4	4,8	5,5	5,8	6,3	6,8	7,3	7,8	8,3	8,8	9,3	9,8	21
	0,7	1,2	1,7	2,2	2,7	3,2	3,7	4,2	4,7	5,4	5,7	6,2	6,7	7,2	7,7	8,2	8,6	9,1	9,6	22
	0,6	1,1	1,6	2,1	2,6	3,1	3,6	4,1	4,6	5,2	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,4	8,9	9,4	23
	0,4	0,9	1,4	1,9	2,4	2,9	3,4	3,9	4,4	5,0	5,4	5,8	6,3	6,8	7,3	7,8	8,3	8,8	9,2	24
	0,3	0,8	1,3	1,8	2,3	2,8	3,2	3,7	4,2	4,9	5,2	5,7	6,2	6,6	7,1	7,6	8,1	8,6	9,0	25
	0,1	0,6	1,1	1,6	2,1	2,6	3,1	3,6	4,0	4,7	5,0	5,5	6,0	6,4	6,9	7,4	7,9	8,3	8,8	26
	0,0	0,4	1,0	1,4	1,9	2,4	2,9	3,4	3,9	4,5	4,8	5,3	5,8	6,3	6,7	7,2	7,7	8,1	8,6	27
		0,3	0,8	1,3	1,8	2,2	2,7	3,2	3,7	4,3	4,6	5,1	5,5	6,1	6,5	7,0	7,5	7,9	8,4	28
		0,2	0,6	1,1	1,6	2,1	2,5	3,0	3,5	4,2	4,4	4,9	5,4	5,8	6,3	6,8	7,2	7,7	8,2	29
		0,1	0,4	0,9	1,4	1,9	2,4	2,8	3,3	4,0	4,2	4,7	5,2	5,6	6,1	6,6	7,0	7,5	7,9	30

Phụ lục VII. Bảng tra độ rượu

Thước đo 20°C. Bảng tra từ 10,5°V ÷ 20°V

	11	11,5	12	12,5	13	13,5	14	14,5	15	15,5	16	16,5	17	17,5	18	18,5	19	19,5	20	°V \ °C
10,5	12,6	13,1	13,7	14,3	14,9	15,4	16	16,6	17,2	17,8	18,4	19	19,6	20,2	20,8	21,4	22	22,5	23,1	10
11,0	12,4	13	13,6	14,1	14,7	15,3	15,8	16,4	17	17,6	18,2	18,8	19,4	20	20,5	21,1	21,7	22,2	22,8	11
11,5	12,3	12,8	13,4	14	14,5	15,1	15,7	16,2	16,8	17,4	18	18,5	19,1	19,7	20,2	20,8	21,4	21,9	22,5	12
11,6	12,2	12,7	13,2	13,8	14,4	14,9	15,5	16	16,6	17,2	17,7	18,3	18,8	19,4	20	20,5	21,1	21,6	22,2	13
11,5	12	12,5	13,1	13,6	14,2	14,7	15,3	15,8	16,4	16,9	17,5	18	18,7	19,1	19,7	20,2	20,8	21,3	21,9	14
11,3	11,9	12,4	12,9	13,5	14	14,5	15,1	15,6	16,2	16,7	17,2	17,8	18,3	18,9	19,4	20	20,5	21	21,6	15
11,2	11,7	12,2	12,8	13,3	13,8	14,3	14,9	15,4	15,9	16,5	17	17,5	18,1	18,6	19,2	19,7	20,2	20,7	21,2	16
11	11,5	12,1	12,6	13,1	13,6	14,1	14,7	15,2	15,7	16,2	16,8	17,3	17,8	18,3	18,9	19,4	19,9	20,4	20,9	17
10,9	11,4	11,9	12,4	12,9	13,4	13,9	14,4	15	15,5	16	16,5	17	17,6	18,1	18,6	19,1	19,6	20,1	20,6	18
10,7	11,2	11,7	12,2	12,7	13,2	13,7	14,2	14,7	15,2	15,8	16,3	16,8	17,3	17,8	18,3	18,8	19,3	19,8	20,3	19
10,5	11	11,5	12	12,5	13	13,5	14	14,5	15	15,5	16	16,5	17	17,5	18	18,5	19	19,5	20	20
10,3	10,8	11,3	11,8	12,3	12,8	13,3	13,8	14,3	14,8	15,2	15,7	16,2	16,7	17,2	17,7	18,2	18,7	19,2	19,7	21
10,1	10,6	11,1	11,6	12,1	12,6	13,1	13,6	14	14,5	15	15,5	16	16,5	17	17,4	17,9	18,4	18,9	19,4	22
9,9	10,4	10,9	11,4	11,8	12,3	12,8	13,3	13,8	14,3	14,7	15,2	15,7	16,2	16,6	17,1	17,6	18,1	18,6	19	23
9,7	10,2	10,7	11,2	11,6	12,1	12,6	13,1	13,5	14	14,5	15	15,4	15,9	16,4	16,9	17,3	17,8	18,3	18,7	24
9,5	10	10,4	10,9	11,4	11,9	12,4	12,8	13,3	13,8	14,2	14,7	15,2	15,6	16,1	16,6	17	17,5	18	18,4	25
9,3	9,8	10,2	10,7	11,2	11,7	12,1	12,6	13	13,5	14	14,4	14,9	15,4	15,8	16,3	16,7	17,2	17,6	18,1	26
9,1	9,5	10	10,5	10,9	11,4	11,9	12,3	12,8	13,2	13,5	14	14,6	15,1	15,2	16	18,4	16,9	17,3	17,8	27
8,9	9,3	9,8	10,3	10,7	11,2	11,6	12,1	12,6	13	13,4	13,9	14,4	14,8	15,1	15,7	18,1	16,6	17	17,5	28
8,6	9,1	9,5	10	10,5	10,9	11,4	11,8	12,3	12,7	13,2	13,6	14,1	14,3	15	15,4	15,8	16,3	16,7	17,2	29
8,4	8,9	9,3	9,8	10,2	10,7	11,1	11,6	12	12,5	12,9	13,4	13,8	14,2	14,7	15	15,5	16	16,5	16,9	30

Phụ lục VII. Bảng tra độ cồn tĩnh chế
Thước đo 20°C. Bảng tra từ 91°V ÷ 100°V

	91	91,5	92	92,5	93	93,5	94	94,5	95	95,5	96	96,5	97	97,5	98	98,5	99	99,5	100	°V °C
91	92,2	92,7	93,2	93,7	94,2	94,6	95,1	95,6	96,1	96,5	97	97,5	98	98,4	98,9	99,4	99,8			15
92	92,4	93	93,4	93,9	94,4	94,9	95,4	95,9	96,3	96,8	97,3	97,8	98,2	98,7	99,2	99,7				16
91,7	92,2	92,7	93,2	93,7	94,2	94,7	95,2	95,6	96,1	96,6	97,1	97,6	98,1	98,6	99	99,5	100			17
91,5	92	92,5	93	93,5	94	94,4	94,9	95,4	95,9	96,4	96,9	97,4	97,9	98,4	98,9	99,3	99,8			18
91,2	91,7	92,2	92,7	93,2	93,7	94,2	94,7	95,2	95,7	96,2	96,7	97,2	97,7	98,2	98,7	99,2	99,7			19
91	91,5	92	92,5	93	93,5	94	94,5	95	95,5	96	96,5	97	97,5	98	98,5	99	99,5	100		20
90,7	91,2	91,8	92,2	92,8	93,3	93,8	94,3	94,8	95,3	95,8	96,3	96,8	97,3	97,8	98,3	98,8	99,3	99,8		21
90,5	91	91,5	92	92,5	93	93,5	94	94,6	95,1	95,6	96,1	96,6	97,1	97,6	98,1	98,6	99,2	99,7		22
90,2	90,7	91,3	91,8	92,3	92,8	93,3	93,8	94,3	94,8	95,4	95,9	96,4	96,9	97,4	97,9	98,5	99	99,5		23
90	90,5	91	91,5	92	92,6	93,1	93,6	94,1	94,6	95,1	95,6	96,2	96,7	97,2	97,7	98,3	98,8	99,3		24
89,7	90,2	90,7	91,3	91,8	92,3	92,8	93,3	93,9	94,4	94,9	95,4	96	96,5	97	97,6	98,1	98,6	99,2		25
89,4	90	90,5	91	91,5	92,1	92,6	93,1	93,6	94,2	94,7	95,2	95,8	96,3	96,8	97,4	97,9	98,4	99		26
89,2	89,7	90,2	90,7	91,3	91,8	92,3	92,9	93,4	93,9	94,3	94,8	95,3	95,8	96,1	96,6	97,2	97,7	98,3	98,8	27
88,9	89,4	90	90,5	91	91,6	92,1	92,6	93,1	93,7	94,2	94,8	95,3	95,8	96,4	97	97,5	98,1	98,6		28
88,6	89,2	89,7	90,2	90,8	91,3	91,8	92,4	92,9	93,4	94	94,5	95,1	95,6	96,2	96,7	97,3	97,9	98,4		29
88,4	88,9	89,4	90	90,5	91	91,6	92,1	92,7	93,2	93,8	94,3	94,8	95,4	96	96,5	97,1	97,7	98,3		30
88,1	88,6	89,1	89,7	90,2	90,7	91,3	91,9	92,4	92,9	93,5	94	94,5	95,1	95,7	96,2	96,8	97,5	98,1		31
87,9	88,3	88,9	89,4	89,9	90,4	91	91,6	92,1	92,6	93,2	93,7	94,2	94,8	95,4	95,9	96,5	97,3	97,9		32
87,6	88	88,6	89,1	89,6	90,1	90,7	91,3	91,8	92,3	92,9	93,4	93,9	94,5	95,1	95,6	96,2	97,1	97,6		33
87,3	87,7	88,3	88,9	89,3	89,8	90,4	91	91,5	92	92,6	93,1	93,6	94,2	94,8	95,3	95,9	96,8	97,3		34

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Lê Bạch Tuyết, Hà Văn Thuyết, Nguyễn Đình Thương, ...*
Những quá trình cơ bản trong Công nghệ Thực phẩm.
Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1994
2. *Lê Ngọc Tú, La Văn Chư, Đặng Thị Thu, ...*
Hóa sinh công nghiệp
Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1997
3. *Mai Lê, Bùi Đức Hội*
Bảo quản lương thực
Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1987
4. *Nguyễn Thanh Hằng.*
"Nghiên cứu thu nhận và sử dụng chế phẩm amylaza từ vi sinh vật để đường hóa tinh bột sắn trong sản xuất rượu etylic"
Luận án PTS. KHKT Đại học Bách khoa Hà Nội, 1994
5. *Nguyễn Đình Thương, Nguyễn Mai Phương, Trần Thị Viện, Nguyễn Thị Dung*
"Kết quả bước đầu trong việc nghiên cứu sử dụng chủng XII vào lên men trong sản xuất rượu etylic"
Khoa học và Kỹ thuật, Công nghệ Thực phẩm
Số 2 - 1982
6. *Nguyễn Đình Thương*
"Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà nước" - 1801-02-02B"
"Nghiên cứu nâng cao hiệu suất tổng thu hồi trong sản xuất cồn etylic", 1981 - 1985
7. *Quản Văn Thịnh -*
Kỹ thuật sản xuất cồn etylic,
Đại học Bách khoa Hà Nội, 1968
8. *Nguyễn Đình Thương*
"Изыскание оптимальных условий для осахаривания паниока ферментами плесневых грибов А. Оризае 476 и

- А. Авамори в производстве спирта".
Диссертация на соискание ученой степени кандидата
технических наук, Киев, 1972.
9. Агабальянц Г.Г., Бегунова Р.Д., Дубоглаб Джанполагян
Н. М., Захарина О.Ц., Майоров В.С.
"Химико-технохимический контроль винодояния
Издательство Пищевая промышленность. Москва, 1969
 10. Баргенов Е.Н.
"Основы проектирования спиртовых заводов"
Пищепромиздат. Москва 1952.
 11. Деншиков М.Т.
"Непрерывное осахаривание вакуум - охлаждением на
спиртовых заводах"
Пищевая промышленность. Москва 1959.
 12. Гребинский С., Биохимия растений"
Издательство Львовского университета, 1967
 13. Гренишикова О.К.
Современное мировое производство этилового спирта.
Труды ВНИИФС Выпуск XVI
Пищевая промышленность Москва, 1965
 14. Мальцев П.М.
Технология бродильных производств.
Пищевая промышленность. Москва, 1980.
 15. Маринченко В.А., Мстощев Б. Д. Швеи В.Н.
"Технология спирта из мелассы". Издательство "Вища
школа"
Техника Киев 1975.
 16. Маринченко В.А., Швеи В.Н., Цыганов П.С.
Интенсификация спиртового производства.
Техника Киев, 1983.
 17. Мудрецова К.А. ВНИИ

- Микробиология экономика, 1985.
18. Климовский Д.Н., Смирнов В.А., Стабников В.Н.
Технология спирта Пищевая промышленность. Москва, 1967.
 19. Крстович В.А. Яровенко В.А. и другие.
Ферменты в пищевой промышленности.
Пищевая промышленность.
Москва, 1975.
 20. Кудрявцев В.И.
"Систематика дрожжей"
Издательство "Академия Наук" СССР, Москва, 1954.
 21. Никитин Г.А.
Биохимические основы микробиологических
производств. Вища школа, Киев, 1981.
 22. Полуянова М.Т., Усгеников В. А. Громов С.И.
"Переработка на спиртовых заводах сырья с получением
и сбраживанием сусла повышенной концентрации"
Фермент. и спирт. промышленность, №. 1975.
 23. Рухлядева А.П.
Техно-химический контроль спиртового производства
Пищевая промышленность. Москва, 1974.
 24. Рухлядева А.П.
"Справочник для работников лабораторий спиртовых
заводов"
Пищевая промышленность. Москва, 1979.
 25. Ферман Г.И., Шойхет М.И.
"Технологический контроль бродильных производств".
Издательство Пищепром. Москва, 1969
 26. Усов А.Г.
Оборудование спиртовых заводов.
Пищепромиздат, Москва, 1950.

27. Швец В.Н. Слюсаренко Т.П.
Влияние продуктов реакций метаноидинообразования и карамелизации сахаров на дрожжью....
Прикл. биохимия и микробиология. Том 12 - 1976,
Выпуск 1.
28. Швец В.Н. Слюсаренко Т.П., Мельник А.Н.
"Подавление молочнокислой инфекции мелассы
лактоцидом"
Фермент. и спирт. промышленность, №6 - 1974.
29. Шульман М.С. Механическая клейстеризация крамала
Труды ВНИСП Москва, 1961.
30. Цыганков П.С.
"Ректификационные установки спиртовой промышленности".
Издательство "Легкая и пищевая промышленность",
Москва, 1984.
31. Яровенко В.А. Калунянц К.А. Голгер А.И.
"Производство ферментных премаратов из грибов и
бактерий"
Пищевая промышленность
Москва, 1970.
32. Авторское Коллектив.
"Справочник работника спиртовой промышленности"
Издательство "Техника"
Киев, 1972.
33. Balogopadan C., Padmaja G. Nanda S.K, Moorthy S.W.
"Cassava in Food, Feed and industry"
CRC Press. Florida, 1986.
34. Андеркофлер Л.А. и Хикей Р.Дж.
"Бродильные производства"
Перевод с английского.
Пищепромиздат. Москва, 1959.

35. Акпан Й, Йкенебомех М.И, Уратх Н, Обук Ц.О.
Продуктйон оф стханол прам пассава Жхей.
Акта Биотехнол 8. 1988. П. 39 - 45.
36. Bon E. and Weble C.
Glucosamylase production and nitrogen amtrition in
Asspergillus awamorii.
Applied biochem. Biotechnol. 1993 Vol. 39140. PP. 349-369.
37. Fujio Y, Ueda S
Ethanol fermentation by an energy saving process.
J. Ferment Technol. V.6c4, 1986 PP. 161-168.
38. Fujio. Y. Ogata. M. Ueda S.
Etanol fermentation of raw cassava starch with Rhizopus koji
in a gas circulation type fermentor. Biotechnol. Bioeng. Vol.
27. 1985 pp 1270 - 1273
39. Gang S.K. Doelle H.W.
Optimization of physiological factors for direct saccharification
of cassava starch to glucose by rhiropus oligosporus 145F.
Biotechnol Bioengineering, 1989. Vol 33 pp 948-954
40. Hans C.B.
Enryme in starch processing cereal food world, Vol.21, N.11,
pp 558-564, 1986
41. Ikenebomen M.J., Chikwendu A.E.
Cassava whey treatment with Arpergillus niger
Acta Biotechnol, 1990, Vol 10, N°4, pp 341-348
42. Inlow D. Mc Rae J. and Ben-Bassat A.
Fermentation of torn starch to etanol with genetically
engineered yeast Biotechnol.
Bioeng, Vol.32, pp 227-234, 1988
43. Oteng - GYang K. Anuonye C.C.
Biochemical stuclies onthe fermentation os cassava. Acta
Biotechnol, 1987, Vol.7, N°3, pp 289-292
44. Kehn H.J and Greed
Biotechnology. Chapter 3a. 1983 pp 258-383.

Pgs. Ts. NGUYỄN ĐÌNH THƯỜNG
Ts. NGUYỄN THANH HẰNG

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT
VÀ
KIỂM TRA CỒN ETYLIC

(In lần thứ 2 có sửa chữa, bổ sung)

Chịu trách nhiệm xuất bản:

Biên tập:

Sửa bài:

Vẽ bìa:

Pgs. Ts. Tô Đăng Hải

Nguyễn Thị Ngọc Khuê

Phạm Văn

Hương Lan

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
70 TRẦN HUNG ĐẠO - HÀ NỘI

In 800 cuốn, khổ 14,5 x 20,5 cm, tại Nhà in Đại học Quốc gia Hà Nội.
Quyết định xuất bản số: 75-2007/CXB/97-02/KHKT cấp ngày
6/3/2007. In xong và nộp lưu chiểu tháng 3 năm 2007.

2 0 7 0 7 1



Giá: 34.000"