

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**



MAI NGỌC LỢI

**HOÀN THIỆN QUY TRÌNH SẢN XUẤT MEN BÁNH MÌ KHÔ
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY THĂNG HOA**

Luận văn kỹ sư

Chuyên ngành: Công Nghệ Sinh Học

Thành phố Hồ Chí Minh
Tháng 09/2006

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**HOÀN THIỆN QUY TRÌNH SẢN XUẤT MEN BÁNH MÌ KHÔ
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY THĂNG HOA**

Luận văn kỹ sư

Chuyên ngành: Công Nghệ Sinh Học

**Giáo viên hướng dẫn:
TS. TRƯƠNG VĨNH**

**Sinh viên thực hiện:
MAI NGỌC LỢI**

Thành phố Hồ Chí Minh

Tháng 09/2006

**MINISTRY OF EDUCATION AND TRAINING
NONG LAM UNIVERSITY, HCMC
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
000**

**COMPLETING THE PRODUCTION OF DRYING BREAD
YEAST BY DRIED- FREEZING PROCESS**

Graduation thesis

Major: Biotechnology

Professor

PHD. TRUONG VINH

Student

MAI NGOC LOI

Term: 2002 - 2006

**Ho Chi Minh City
09/2006**

LỜI CẢM TẠ

Em xin chân thành cảm tạ:

- Ban Giám Hiệu Trường Đại Học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh, Ban chủ nhiệm Bộ Môn Công Nghệ Sinh Học, cùng tất cả quý thầy cô đã truyền đạt kiến thức cho em trong suốt quá trình học tại trường.
- TS. Trương Vĩnh đã hết lòng hướng dẫn, giúp đỡ em trong suốt thời gian thực tập tốt nghiệp.
- Ban Giám Đốc Trung Tâm Phân Tích Thí Nghiệm Hóa Sinh - Trường Đại Học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
- Ban Giám Đốc Trung Tâm Môi Trường - Trường Đại Học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
- Ban chủ nhiệm, Thầy Cô khoa Công Nghệ Thực Phẩm.
- Các Anh Chị tại Trung Tâm Phân Tích Thí Nghiệm Hóa Sinh đã tận tình giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi cho em trong thời gian thực tập tốt nghiệp.
- Các bạn bè thân yêu của lớp công nghệ sinh học khóa 28 đã chia sẻ cùng tôi những vui buồn trong thời gian học cũng như hết lòng hỗ trợ, giúp đỡ tôi trong thời gian thực tập.

Thành phố Hồ Chí Minh tháng 08/2006

Mai Ngọc Lợi

TÓM TẮT

MAI NGỌC LỢI, Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. Tháng 05/2006. “HOÀN THIỆN QUY TRÌNH SẢN XUẤT MEN BÁNH MÌ KHÔ BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY THĂNG HOA”.

Giáo viên hướng dẫn:

TS. TRƯƠNG VĨNH

Đối tượng nghiên cứu của đề tài là nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Khả năng bảo vệ của chất mang đối với nấm men *S. cerevisiae* trong quá trình sấy thăng hoa đã được nghiên cứu nhằm tăng khả năng sống sót của tế bào. Các chất mang có ảnh hưởng với tỉ lệ nhất định đối với khả năng sống sót của tế bào nấm men. Khi phối trộn các chất mang lại với nhau thì khả năng bảo vệ nấm men tăng lên đáng kể trong quá trình sấy thăng hoa. Một số tỉ lệ phối trộn chất mang đã được nghiên cứu và đã đạt được kết quả tốt. Để hoàn thiện quy trình sản xuất men bánh mì khô bằng phương pháp sấy thăng hoa, em đã tiếp tục nghiên cứu thêm một số công thức phối trộn chất mang khác với mục đích sản xuất được loại men khô đạt yêu cầu về ẩm độ bảo quản, đồng thời đảm bảo tương đối toàn vẹn hoạt tính men. Một nhân tố khác cũng ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào nấm men là tốc độ làm lạnh, vì vậy em khảo sát tốc độ làm lạnh nấm men *S. cerevisiae* ở 2 mức nhiệt độ là -20°C và -68°C . Ngoài ra đề tài còn nghiên cứu thêm ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men và phương pháp đông mẫu trong quá trình sấy đến khả năng sống sót của nấm men *S. cerevisiae*.

Những kết quả đạt được:

- Tốc độ làm lạnh ở -20°C là $0,31^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và tốc độ làm lạnh ở -68°C là $0,64^{\circ}\text{C}/\text{phút}$.
- Xác định được hai công thức pha chế chất mang bảo vệ tốt nấm men lúc sấy thăng hoa:
 - 10% sữa gạn kem + 10% mật ong + 5% bột ngọt
 - 20% sữa gạn kem + 15% mật ong + 5% bột ngọt
- Xác định được bề dày lớp vật liệu men tốt nhất là 1mm. Bề dày càng mỏng thì tỉ lệ sống của nấm men *S. cerevisiae* càng cao.
- Phương pháp lạnh đông mẫu trực tiếp tốt hơn lạnh đông gián tiếp.
- Chế độ sấy thăng hoa phù hợp.

MỤC LỤC

NỘI DUNG	TRANG
Trang tựa	
Lời cảm tạ	iii
Tóm tắt.....	iv
Mục lục	v
Danh sách các bảng	viii
Danh sách các hình	xi
Danh sách các biểu đồ	xiii
Chương 1: MỞ ĐẦU	1
1.1. Đặt vấn đề.....	1
1.2. Mục đích của đề tài.....	1
1.3. Nội dung.....	2
1.4. Yêu cầu	2
Chương 2: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
2.1. Khái niệm cơ bản về công nghệ lạnh thực phẩm.....	3
2.1.1. Tác nhân lạnh.....	3
2.1.2. Khái niệm về lạnh.....	3
2.1.3. Chế độ làm lạnh	3
2.1.4. Phân biệt lạnh thường, lạnh đông, lạnh thâm độ và lạnh tuyệt đối	4
2.1.5. Kỹ thuật làm lạnh đông thực phẩm.....	4
2.1.6. Tác dụng của nhiệt độ thấp đối với hoạt động của vi sinh vật	7
2.1.7. Tốc độ làm lạnh	8
2.2. Kỹ thuật sấy	9
2.2.1. Vật ẩm.....	9
2.2.2. Các phương pháp làm khô vật liệu	11
2.2.3. Đại cương về quá trình sấy	12
2.2.3.1. Tác nhân sấy.....	12
2.2.3.2. Tốc độ sấy	12
2.2.3.3. Quá trình sấy	13

2.2.3.4. Chế độ sấy	14
2.2.4. Các phương pháp sấy	14
2.2.5. Phương pháp sấy thăng hoa	15
2.2.5.1. Nguyên lý làm việc của hệ thống sấy thăng hoa.....	15
2.2.5.2. Cấu tạo hệ thống sấy thăng hoa	17
2.2.5.3. Máy sấy thăng hoa được sử dụng trong nghiên cứu	20
2.2.5.4. Ứng dụng của phương pháp sấy thăng hoa.....	22
2.3. Giới thiệu sơ lược về nấm men	22
2.3.1. Hình thái tế bào.....	22
2.3.2. Cấu tạo tế bào	23
2.3.3. Thành phần hóa học của tế bào nấm men.....	25
2.3.4. Sự sinh sản của tế bào nấm men.....	25
2.4. Công nghệ sản xuất men bánh mì	26
2.4.1. Vài nét lịch sử	26
2.4.2. Tình hình sản xuất men bánh mì ở Việt Nam.....	28
2.4.3. Vai trò của nấm men trong sản xuất bánh mì	28
2.4.4. Công nghệ sản xuất.....	31
2.5. Chất phụ gia	36
2.5.1. Khái niệm chất phụ gia	36
2.5.2. Hiệu quả bảo vệ của các chất phụ gia đến khả năng sống sót của tế bào nấm men.....	36
Chương 3: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	39
3.1. Thời gian và địa điểm thực hiện đề tài	39
3.2. Vật liệu và thiết bị sử dụng	39
3.2.1. Vật liệu thí nghiệm	39
3.2.2. Thiết bị thí nghiệm.....	39
3.3. Phương pháp thí nghiệm.....	39
3.3.1. Nguồn men.....	39
3.3.2. Thí nghiệm 1: Khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	40
3.3.3. Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của chất mang và nhiệt độ cấp đông đến chất lượng men khi sấy thăng hoa 24 giờ, cấp đông gián tiếp.....	42

3.3.4. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men lên chất lượng men khi sấy thăng hoa trong 24 giờ, cấp đông gián tiếp	44
3.3.5. Thí nghiệm 4: Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men, cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp lên chất lượng men khi sấy thăng hoa 24 giờ.....	45
3.4. Phương pháp xác định các chỉ tiêu	47
3.4.1. Xác định ẩm độ men	47
3.4.2. Phương pháp xác định trực tiếp số lượng tế bào bằng buồng đếm hồng cầu ..	47
3.4.3. Xác định lực nở.....	48
3.4.4. Xác định tốc độ làm lạnh	49
3.5. Xử lý số liệu	49
Chương 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	50
4.1. Khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50
4.2. Khảo sát ảnh hưởng của chất mang và nhiệt độ cấp đông đến một số tính chất men khi sấy thăng hoa 24 giờ, cấp đông gián tiếp.....	52
4.3. Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men lên chất lượng men khi sấy thăng hoa trong 24 giờ, cấp đông gián tiếp	60
4.4. Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men, cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp lên chất lượng men khi sấy thăng hoa 24 giờ.....	65
Chương 5: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	71
5.1. Kết luận	71
5.2. Đề nghị.....	72
Chương 6: TÀI LIỆU THAM KHẢO	73
PHỤ LỤC	75
Phụ lục A: Số liệu thô	75
Phụ lục B: Cách pha chế phụ gia	79
Phụ lục C: Kết quả phân tích ANOVA	80
Phụ lục D: Hình ảnh bột men và bột mì tương ứng cho từng nghiệm thức	91

DANH SÁCH CÁC BẢNG

BẢNG	TRANG
Bảng 2.1. Liệt kê chi tiết về kỹ thuật của máy	21
Bảng 3.1. Bố trí thí nghiệm 1 ở nhiệt độ - 20°C.....	41
Bảng 3.2. Bố trí thí nghiệm 1 ở nhiệt độ - 68°C.....	42
Bảng 3.3. Bố trí thí nghiệm 2	44
Bảng 3.4. Bố trí thí nghiệm 3	45
Bảng 3.5. Bố trí thí nghiệm 4	46
Bảng 4.1. Bảng tương quan giữa thời gian xử lý nhiệt và nhiệt độ giảm trung bình của khối nấm men bánh mì khảo sát ở nhiệt độ - 20°C	51
Bảng 4.2. Bảng tương quan giữa thời gian xử lý nhiệt và nhiệt độ giảm trung bình của khối nấm men bánh mì khảo sát ở nhiệt độ - 68°C	52
Bảng 4.3. Kết quả ẩm độ của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C khi sấy 24 giờ.	54
Bảng 4.4. Kết quả đếm số tế bào nấm men của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C khi sấy 24 giờ.	55
Bảng 4.5. So sánh giữa nghiệm thức DC và A.....	57
Bảng 4.6. Kết quả hoạt tính men của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C khi sấy 24 giờ.	58
Bảng 4.7 Kết quả ẩm độ của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ.....	61
Bảng 4.8. Kết quả đếm số tế bào nấm men của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ.	62
Bảng 4.9. Kết quả hoạt tính men của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ	63
Bảng 4.10. Kết quả ẩm độ của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp sau khi sấy 24 giờ.....	66
Bảng 4.11. Kết quả đếm số tế bào nấm men của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp khi sấy 24 giờ.	67

Bảng 4.12. Kết quả hoạt tính men của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp khi sấy 24 giờ	69
Bảng A.1. Kết quả khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men trên men paste, bảo quản 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất, sau các thời gian xử lý nhiệt, ẩm độ men 70%, xử lý ở nhiệt độ -20°C.....	75
Bảng A.2. Kết quả khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men trên men paste, bảo quản 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất, sau các thời gian xử lý nhiệt, ẩm độ men 70%, xử lý ở nhiệt độ -68°C.....	76
Bảng A.3. Kết quả các chỉ tiêu của sản phẩm nấm men sau khi sấy 24 giờ, ở hai nhiệt độ đông mẫu là -20°C và -68°C cho từng nghiệm thức DC, A, B, C, D và E.....	77
Bảng A.4. Kết quả các chỉ tiêu của sản phẩm nấm men sau khi sấy 24 giờ, ở nhiệt độ đông mẫu -68°C cho từng nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm, 16mm	78
Bảng A.5. Kết quả các chỉ tiêu của sản phẩm nấm men sau khi sấy 24 giờ, ở nhiệt độ đông mẫu -68°C và đông mẫu trực tiếp trong buồng sấy của máy sấy cho từng nghiệm thức 1mm, 12mm.....	78
Bảng C.1. Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 2 về ẩm độ	80
Bảng C.2. Bảng phân tích LSD cho yếu tố nhiệt độ của thí nghiệm 2 về ẩm độ.....	80
Bảng C.3. Bảng phân tích LSD cho yếu tố chất mang của thí nghiệm 2 về ẩm độ	80
Bảng C.4. Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 2 về độ nở.....	81
Bảng C.5. Bảng phân tích LSD cho yếu tố nhiệt độ của thí nghiệm 2 về độ nở.....	81
Bảng C.6. Bảng phân tích LSD cho yếu tố chất mang của thí nghiệm 2 về độ nở.	82
Bảng C.7. Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 2 về tỉ lệ sống sót.	82
Bảng C.8. Bảng phân tích LSD cho yếu tố nhiệt độ của thí nghiệm 2 về tỉ lệ sống sót	83
Bảng C.9. Bảng phân tích LSD cho yếu tố chất mang của thí nghiệm 2 về tỉ lệ sống sót.....	83
Bảng C.10. Phân tích ANOVA giữa số tế bào sống / 1 gam men sản phẩm sấy và độ nở của thí nghiệm 2..	84
Bảng C.11. Bảng phân tích ANOVA một yếu tố của thí nghiệm 3 về ẩm độ.....	84
Bảng C.12. Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 3 về ẩm độ..	84
Bảng C.13. Bảng phân tích ANOVA một yếu tố của thí nghiệm 3 về độ nở.	85
Bảng C.14. Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 3 về độ nở..	85

Bảng C.15. Bảng phân tích ANOVA một yếu tố của thí nghiệm 3 về tỉ lệ sống sót. ...	86
Bảng C.16. Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 3 về tỉ lệ sống sót.....	86
Bảng C.17. Phân tích ANOVA giữa số tế bào sống / 1 gam men sản phẩm sấy và độ nở của thí nghiệm 3.	87
Bảng C.18. Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 4 về ẩm độ.....	87
Bảng C.19. Bảng phân tích LSD cho yếu tố phương pháp cấp đông của thí nghiệm 4 về ẩm độ.....	88
Bảng C.20. Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 4 về ẩm độ. .	88
Bảng C.21. Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 4 về độ nở.....	88
Bảng C.22. Bảng phân tích LSD cho yếu tố phương pháp cấp đông của thí nghiệm 4 về độ nở.	89
Bảng C.23. Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 4 về độ nở. ..	89
Bảng C.24. Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 4 về tỉ lệ sống sót. ...	89
Bảng C.25. Bảng phân tích LSD cho yếu tố phương pháp cấp đông của thí nghiệm 4 về tỉ lệ sống sót.	89
Bảng C.26. Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 4 về tỉ lệ sống sót.....	90
Bảng C.27. Phân tích ANOVA giữa số tế bào sống / 1 gam men sản phẩm sấy và độ nở của thí nghiệm 3.	90
Bảng C.28. Bảng trung bình của yếu tố bề dày của thí nghiệm 3 về tỉ lệ sống sót.....	90

DANH SÁCH CÁC HÌNH

HÌNH	TRANG
Hình 2.1. Biểu diễn đồ thị chuyển pha của nước trên tọa độ p – t	15
Hình 2.2. Cấu tạo của bình thăng hoa	18
Hình 2.3. Cấu tạo của bình ngưng-đóng băng.....	18
Hình 2.4. Sơ đồ hệ thống sấy thăng hoa chu kỳ sử dụng trong công nghiệp thực phẩm (G.I. Lappa – Stajenhexki)	19
Hình 2.5. Hệ thống sấy thăng hoa trong công nghiệp	20
Hình 2.6. Cấu tạo máy Lyopro 6000	20
Hình 2.7. Hình thái tế bào nấm men	23
Hình 2.8. Sự nảy chồi của nấm men <i>S. cerevisiae</i>	26
Hình 2.9. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất nấm men bánh mì.....	33
Hình 3.1. Kích thước khối men tươi và bố trí nhiệt kế điện tử	40
Hình 4.1. Hình bột men các nghiệm thức C và D khảo sát ở -68°C.....	54
Hình 4.2. Bột mì tương ứng cho nghiệm thức DC cấp đông ở -68°C	60
Hình 4.3. Bột mì tương ứng cho nghiệm thức A cấp đông ở -68°C.....	60
Hình 4.4. Bột mì tương ứng cho nghiệm thức 1mm	65
Hình 4.5. Bột mì tương ứng cho nghiệm thức 12mm	65
Hình D.1, D.2, D.3, D.4, D.5 và D.6. Bột men tương ứng cho nghiệm thức DC, A, B, C, D và E ở -68°C	92
Hình D.7, D.8, D.9, D.10, D.11 và D.12. Bột men tương ứng cho nghiệm thức DC, A, B, C, D và E ở -20°C	93
Hình D.13, D.14, D.15, D.16 và D.17. Bột men tương ứng cho nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm, 16mm	94
Hình D.18, D.19, D.20 và D.21. Bột men tương ứng cho nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp.....	95
Hình D.21, D.22, D.23, D.24, D.25 và D.26. Bột mì tương ứng cho từng nghiệm thức DC, A, B, C, D và E cấp đông ở -68°C	96
Hình D.27, D.28, D.29, D.30, D.31 và D.32. Bột mì tương ứng cho từng nghiệm thức DC, A, B, C, D và E cấp đông ở -20°C	97

Hình D.33, D.34, D.35, D.36 và D.37. Bột mì tương ứng cho từng nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm, 16mm	98
Hình D.38, D.39, D.40, và D.41. Bột mì tương ứng cho từng nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp.....	99
Hình D.42. Buồng đếm hồng cầu	99
Hình D43. Tế bào nấm men nhuộm methylene blue.....	99

DANH SÁCH CÁC BIỂU ĐỒ

BIỂU ĐỒ	TRANG
Biểu đồ 4.1. Biểu diễn mối tương quan giữa sự giảm nhiệt độ với thời gian xử lý nhiệt của nấm men	50
Biểu đồ 4.2. Biểu diễn giá trị ẩm độ của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C khi sấy 24 giờ.	53
Biểu đồ 4.3. Biểu diễn tỉ lệ số tế bào sống sót của sản phẩm men sau khi sấy 24 giờ so với men tươi	55
Biểu đồ 4.4. Biểu diễn mối quan hệ giữa tỉ lệ sống sót và ẩm độ bột men giữa các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E sau khi sấy 24 giờ, cấp đông ở -68°C	57
Biểu đồ 4.5. Biểu diễn độ nở của bột men ở từng nghiệm thức khi sấy 24 giờ	59
Biểu đồ 4.6. Biểu diễn mối tương quan giữa độ nở men và số tế bào sống có trong 1 gam men giữa các nghiệm thức sau khi sấy 24 giờ, cấp đông ở -68°C	59
Biểu đồ 4.7. Biểu diễn giá trị ẩm độ của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ	61
Biểu đồ 4.8. Biểu diễn tỉ lệ số tế bào sống sót của sản phẩm men sau khi sấy 24 giờ so với men tươi.....	62
Biểu đồ 4.9. Biểu diễn độ nở của bột men ở từng nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ	64
Biểu đồ 4.10. Biểu diễn giá trị ẩm độ của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp sau khi sấy 24 giờ	66
Biểu đồ 4.11. Biểu diễn tỉ lệ số tế bào sống sót của sản phẩm men sau khi sấy 24 giờ so với men tươi.	67
Biểu đồ 4.12. Biểu diễn độ nở của bột men ở từng nghiệm thức 1mm, 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp và sấy 24 giờ.	69

Chương 1

MỞ ĐẦU

1.1 Đặt vấn đề

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được sử dụng như là tác nhân chính làm nở bột mì trong quá trình sản xuất bánh mì, được gọi là men bánh mì. Trong sản xuất bánh mì hiện nay, người ta đã sử dụng ba dạng nấm men để làm nở bánh mì: dạng nấm men lỏng, dạng nấm men nhão (paste) và dạng nấm men khô. Nấm men dạng lỏng có ưu điểm là dễ sử dụng và hoạt lực làm nở bánh mì rất cao. Tuy nhiên nấm men dạng lỏng có nhược điểm rất lớn là khó bảo quản: thời gian sử dụng chỉ trong 24 giờ sau khi sản xuất. Nấm men dạng paste là khối nấm men thu được sau khi ly tâm nấm men lỏng. Nấm men paste có hoạt lực làm nở bánh kém hơn nấm men lỏng do quá trình ly tâm và thời gian kéo dài, nhiều tế bào nấm men bị chết. Nếu được bảo quản lạnh 4-7⁰C ta có thể sử dụng nấm men paste trong 10 ngày. Nấm men dạng khô được sản xuất từ nấm men dạng paste. Người ta sấy nấm men dạng paste ở nhiệt độ < 40⁰ C hoặc sử dụng phương pháp sấy thăng hoa. Nấm men dạng khô thường có lực nở không cao nhưng có ưu điểm rất lớn là thời gian sử dụng rất lâu và dễ dàng vận chuyển. Do đó, con người đã áp dụng các phương pháp sấy khác nhau nhằm sản xuất được loại men khô đạt yêu cầu về chất lượng: độ ẩm, hoạt lực và thời gian bảo quản. Hiện nay có nhiều phương pháp sấy và kỹ thuật sấy khác nhau. Nhưng trong sản xuất men khô thì phương pháp sấy thăng hoa là một phương pháp rất được quan tâm. Tuy nhiên trong quá trình sấy thì cũng làm thay đổi độ ẩm và hoạt tính của men, do đó có nhiều nghiên cứu cho thấy việc bổ sung thêm chất mang thì quá trình sấy sẽ hoàn thiện hơn, men được bảo vệ, từ đó chất lượng của nấm men cũng được nâng cao.

Xuất phát từ nhu cầu thực tế và trên cơ sở ứng dụng thí nghiệm, được sự phân công của Bộ Môn công nghệ sinh học - Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, đề tài “Hoàn thiện quy trình sản xuất men bánh mì khô bằng phương pháp sấy thăng hoa” được thực hiện dưới sự hướng dẫn của tiến sĩ Trương Vĩnh.

1.2 Mục đích

- Hoàn thiện quy trình sấy thăng hoa để nâng cao hoạt tính nấm men sau khi sấy.

1.3 Nội dung

- Nghiên cứu ảnh hưởng của chất phụ gia lên chất lượng men sau khi sấy thăng hoa.
- Nghiên cứu quy trình sấy thăng hoa.

1.4 Yêu Cầu

- Xác định tốc độ làm lạnh của tế bào nấm men ở các mức nhiệt độ khác nhau theo thời gian.
- Xác định các chỉ tiêu về ẩm độ, số tế bào nấm men và hoạt tính men sau sấy.
- Chọn được công thức pha chế phụ gia thích hợp để nâng cao hoạt tính của men sau sấy, hoàn thiện quy trình sấy thăng hoa.
- Chọn được bề dày men thích hợp để nâng cao hoạt tính của men sau sấy.
- Chọn được phương pháp đông mẫu thích hợp trong điều kiện thí nghiệm.
- Chọn được chế độ sấy thăng hoa thích hợp trong điều kiện thí nghiệm.

Chương 2

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1. Khái niệm cơ bản về công nghệ lạnh thực phẩm

2.1.1. Tác nhân lạnh

Tác nhân lạnh là chất cung cấp lạnh (thu nhiệt của môi trường xung quanh) trong quá trình nó biến đổi trạng thái (Nguyễn Xuân Phương, 2004).

Tác nhân lạnh được chia thành hai dạng: tác nhân lạnh ở dạng lỏng như NH₃ lỏng, freon (dẫn xuất halogen của các hydrocarbon no) và tác nhân lạnh ở dạng rắn chủ yếu ở dạng đá khô (tuyết carbonic), đá ướt và hỗn hợp đá muối được dùng để bảo quản cá, tôm sau khi đánh bắt.

2.1.2. Khái niệm về lạnh

Khái niệm “lạnh” được hiểu là chỉ trạng thái vật chất có nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ bình thường. Nhiệt độ bình thường là nhiệt độ thích hợp cho cơ thể con người. Nhiệt độ này thay đổi tùy theo con người ở xứ nóng hay xứ lạnh và nó dao động trong khoảng từ +18°C đến +25°C. Như vậy có thể coi giới hạn trên của lạnh là +18°C (Nguyễn Xuân Phương, 2004).

2.1.3. Chế độ làm lạnh

Chế độ làm lạnh thích hợp là những quy định về sự liên quan chặt chẽ giữa các thông số của quá trình làm lạnh như nhiệt độ, độ ẩm, thời gian... để đảm bảo giữ được chất lượng của thực phẩm tốt nhất.

Chế độ làm lạnh được xem là một hàm số của nhiều biến số nó phụ thuộc vào tính chất, trạng thái của sản phẩm, điều kiện trang thiết bị và yêu cầu sử dụng sản phẩm sau khi làm lạnh (Nguyễn Xuân Phương, 2004).

Nếu làm lạnh trong môi trường không khí thường người ta chọn chế độ làm lạnh như sau:

- Độ ẩm không khí phòng làm lạnh khoảng 85 – 100%.
- Vận tốc chuyển động của không khí không có đối lưu cưỡng bức là 0,1 – 0,2 m/s, còn đối lưu cưỡng bức cho phép lớn hơn 0,5 m/s.
- Nhiệt độ của không khí: người ta giữ nhiệt độ không khí phòng làm lạnh thấp hơn nhiệt độ đóng băng của sản phẩm 1 – 2°C.

2.1.4. Phân biệt lạnh thường, lạnh đông, lạnh thâm độ và lạnh tuyệt đối

Sự phân chia khái niệm này chỉ mang tính tương đối tùy theo nhiệt độ và được chia theo các thang nhiệt độ sau:

- Lạnh thường: $t^{\circ} \text{đóng băng} < t^{\circ} < +18^{\circ}\text{C}$.
- Lạnh đông: $-100^{\circ}\text{C} < t^{\circ} < t^{\circ} \text{đóng băng}$.
- Lạnh thâm độ: $-200^{\circ}\text{C} < t^{\circ} < -100^{\circ}\text{C}$.
- Lạnh tuyệt đối: $-272,999985^{\circ}\text{C} < t^{\circ} < -200^{\circ}\text{C}$.

Trong sự phân chia này chỉ có lạnh và lạnh đông là rõ ràng và phân chia cơ bản nhất. Lạnh thường là nước chưa có sự biến thành đá còn tồn tại ở trạng thái lỏng, còn lạnh đông là nước đã tạo thành đá (Nguyễn Xuân Phương, 2004).

2.1.5. Kỹ thuật làm lạnh đông thực phẩm

➤ Sự khác nhau cơ bản giữa làm lạnh và lạnh đông thực phẩm

Sự khác nhau cơ bản giữa làm lạnh và làm lạnh đông là làm lạnh hạ nhiệt độ sản phẩm xuống gần nhiệt độ đóng băng của dịch bào như vậy quá trình làm lạnh không có sự tạo thành tinh thể nước đá trong sản phẩm. Còn làm lạnh đông là hạ nhiệt độ xuống dưới nhiệt độ đóng băng của dịch bào như vậy trong quá trình làm lạnh đông có sự tạo thành nước đá trong sản phẩm. Tùy theo mức độ làm lạnh đông mà lượng nước trong sản phẩm chuyển thành đá từ 80% trở lên.

Về quá trình bảo quản tiếp theo ta thấy làm lạnh và bảo quản lạnh tuy có kìm hãm được sự hoạt động của các enzyme và vi sinh vật nhưng chúng vẫn hoạt động khỏe vì môi trường cho chúng hoạt động vẫn còn. Do vậy làm lạnh và bảo quản lạnh chỉ kéo dài được thời gian ngắn. Quá trình làm lạnh đông ngoài tác dụng của nhiệt độ thấp kìm hãm còn làm mất môi trường hoạt động của đa số enzyme và vi sinh vật, do vậy kìm hãm gần tới đa sự hoạt động của chúng. Nhờ vậy quá trình làm lạnh đông và bảo quản lạnh đông thời gian dài hơn nhiều. Sự làm lạnh đông hiện nay rất đa dạng và phong phú.

➤ Dựa theo quá trình làm lạnh đông người ta chia chúng thành ba loại như sau:

- Làm lạnh đông chậm.
- Làm lạnh đông nhanh.
- Làm lạnh đông cực nhanh.

- Phương pháp làm lạnh đông chậm

Phương pháp làm lạnh đông chậm thường tiến hành trong môi trường có nhiệt độ không khí lớn hơn -25°C và vận tốc đối lưu không khí nhỏ hơn 1 m/s nên thời gian làm lạnh đông thường kéo dài từ 15 – 20 giờ tùy theo kích thước và loại sản phẩm. Số tinh thể đá hình thành trong gian bào và tế bào ít nên có kích thước lớn, dễ gây nên sự co xát làm rách màng tế bào và phá hủy cấu trúc mô tế bào. Khi đưa sản phẩm lạnh đông ra tan giá thì lượng dịch bào bị thoát làm giảm dinh dưỡng của sản phẩm. Vì vậy ngày nay phương pháp làm lạnh đông chậm ít được dùng để kéo dài thời gian bảo quản thực phẩm.

- Phương pháp làm lạnh đông nhanh

Phương pháp làm lạnh đông nhanh thường được áp dụng trong môi trường không khí hoặc môi trường lỏng. Môi trường lỏng thường dùng là các dung dịch muối (hoặc hỗn hợp muối) để nhiệt độ đóng băng của dung dịch càng thấp càng tốt. Làm lạnh đông trong môi trường lỏng tuy có hệ số cấp nhiệt lớn (α), thời gian ngắn nhưng dễ gây bắn và làm hỏng thiết bị.

Làm lạnh đông trong môi trường không khí khi $t_{\text{không khí}} \leq -35^{\circ}\text{C}$ với vận tốc không khí $V_{\text{không khí}} = 3 - 4\text{ m/s}$. Các phòng làm lạnh đông nhỏ với $t_{\text{không khí}} \leq -40^{\circ}\text{C}$, với $V_{\text{không khí}} = 5\text{ m/s}$. Khi sử dụng không khí có nhược điểm sau: hệ số cấp nhiệt α nhỏ, $\alpha = 6 - 8\text{ kcal/m}^2\cdot\text{h}$. độ khi ở trạng thái đối lưu tự nhiên. Để khắc phục ta có thể tăng vận tốc không khí lên nhưng α tăng cũng không nhiều. Sản phẩm làm lạnh đông nhanh do có nhiều tinh thể đá được tạo thành ở trong tế bào và gian bào với lượng rất nhiều và kích thước tinh thể rất bé nên không làm rách màng tế bào và cấu trúc mô vì vậy có thể giữ được tốt chất lượng ban đầu của sản phẩm.

- Phương pháp làm đông cực nhanh

Cùng với sự phát triển của kỹ thuật lạnh, kỹ thuật làm lạnh đông cực nhanh cũng được áp dụng. Làm lạnh đông cực nhanh thường được tiến hành trong môi trường lỏng, nitơ lỏng, freon lỏng hoặc một số khí hóa lỏng khác. Thời gian làm lạnh đông cực nhanh sản phẩm chỉ trong 5 – 10 phút (chỉ bằng khoảng 1/6 thời gian làm lạnh đông nhanh), do rút ngắn thời gian nên làm lạnh đông cực nhanh. Sản phẩm làm lạnh đông cực nhanh hầu như giữ được nguyên vẹn phẩm chất tươi sống của sản phẩm ban đầu. Đối với nấm men thì nguyên nhân của việc đóng băng cực nhanh trong nhân tế bào, dẫn đến khả năng thẩm thấu của nước bên trong tế bào không xảy ra.

➤ Những biến đổi xảy ra trong quá trình làm lạnh đông thực phẩm

Thực tế quá trình làm lạnh đông là làm giảm nhiệt độ xuống dưới nhiệt độ đóng băng của dịch bào vì vậy khi bảo quản lạnh đông những biến đổi xảy ra rất chậm (vì hầu hết nước trong dịch bào đóng băng không còn môi trường cho vi sinh vật và enzyme hoạt động). Sự đóng băng phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như nhiệt độ, bản chất, vận tốc chuyển động của môi trường.v.v.

▪ Sự ảnh hưởng của nhiệt độ quá lạnh tới quá trình tạo đá

Trong quá trình làm lạnh đông luôn có hiện tượng quá lạnh tức là hạ nhiệt độ xuống dưới 0°C mà vẫn chưa có sự đóng băng. Sự chậm tạo thành tâm kết tinh này phụ thuộc vào nồng độ chất tan trong dịch bào. Trong môi trường lỏng luôn có chuyển động nhiệt và chuyển động tương hỗ. Ở nhiệt độ thấp thì chuyển động nhiệt giảm và chuyển động tương hỗ được tăng cường tức là tăng cường khả năng kết hợp các phân tử lại với nhau. Ở một nhiệt độ hệ thống chuyển động được cân bằng khi:

$$P_{\text{kết hợp}} = P_{\text{đẩy}} + P_{\text{chuyển động}}$$

Khi có sự cân bằng này thì xuất hiện tâm kết tinh của mạng lưới tinh thể do đó nước được đóng băng.

Trong quá trình làm lạnh đông thực phẩm, dưới tác dụng của nhiệt độ thấp có sự biến đổi của acid béo no thành không no nên hạ được băng điểm. Mặt khác trong protid của mạng tế bào bắt đầu liên kết với muối bằng cách chuyển nitơ hóa trị ba thành nitơ hóa trị năm và tạo ra các hợp chất mới có khả năng hút nước.

Mỗi phân tử gam liên kết với một lượng nước nhất định. Muốn tách được lượng nước ấy ra cần làm giảm nhiệt độ một lượng $\Delta t = 1,84^{\circ}\text{C}$. Đó chính là độ hạ băng điểm trong định luật Roaoult:

$$\Delta t = 1,84.n$$

Trong đó: n – nồng độ phân tử gam

m – khối lượng chất hòa tan,g

M – phân tử lượng của chất hòa tan.

Như vậy độ hạ băng điểm Δt tỷ lệ thuận với nồng độ phân tử n của dịch bào, vì vậy trong kỹ thuật đông lạnh thực phẩm phải chú ý đến độ hạ băng điểm, chỉ ở nhiệt độ này mới tạo được nhiều mầm tinh thể do vậy kích thước tinh thể đá nhỏ không làm ảnh hưởng tới cấu trúc tế bào. Ở khoảng nhiệt độ quá lạnh -1 đến -4°C , số tinh thể đá được tạo thành trong sản phẩm ít nên kích thước tinh thể đá tương đối lớn, dễ làm rách

màng tế bào thực phẩm, còn nếu tạo được độ quá lạnh từ -10 đến -40°C thì số tinh thể tạo thành sẽ nhiều do kích thước tinh thể đá nhỏ chỉ khoảng $5-10\mu\text{m}$ (theo số liệu của Nicoski) còn nếu nhiệt độ đạt tới -80°C thì chất lỏng sẽ không tạo thành tinh thể mà chỉ tạo được chất rắn vô định hình. Nhiều công trình nghiên cứu còn cho biết nếu ở nhiệt độ cao hơn -30°C thì kích thước tinh thể đá phát triển đều ra xung quanh và lớn dần đều về các phía. Nếu ở nhiệt độ thấp hơn -30°C thì kích thước tinh thể đá chỉ phát triển theo chiều dài nên tinh thể đá trở thành sợi dài bao bọc quanh tế bào, khi đó nó không chỉ không phá vỡ cấu trúc tế bào thực phẩm mà còn bảo vệ cho tế bào toàn vẹn (Nguyễn Xuân Phương, 2004).

2.1.6. Tác dụng của nhiệt độ thấp đối với hoạt động của vi sinh vật

Dưới tác dụng của nhiệt độ thấp một số vi sinh vật bị hạn chế hoạt động hoặc bị chết bởi các nguyên nhân sau (Nguyễn Xuân phương, 2004):

- Phần protein của vi sinh vật bị biến đổi hay bị phân hủy do hệ thống keo sinh học (keo protein) cũng bị phá hủy. Sự giảm nhiệt độ kéo theo sự giảm năng lượng bề mặt của nước, giảm các lực kết hợp với các hệ keo, sự giảm kéo dài đến mức nào đó thì nước bắt đầu tách khỏi vỏ hydrat làm cho protein cuộn tròn lại. Mặt khác sự giảm nhiệt độ làm cho lực đẩy giữa các phân tử giảm đi và đến mức nào đó thì bắt đầu đông tụ protein. Sự đông tụ protein do nhiệt độ là thuận nghịch, không biến đổi hoàn toàn tính chất protein, do vậy sau thời gian làm lạnh và làm lạnh đông khi tiến hành làm ấm hoặc tan giá vi sinh vật lại tiếp tục phát triển.
- Sự phá hủy cơ học ở tế bào vi sinh vật trong quá trình đóng băng tinh thể nước đá. Các tinh thể nước đá có góc cạnh nên nó có thể chèn ép làm rách màng tế bào của vi sinh vật.
- Sự chuyển nước thành nước đá: khi nhiệt độ sản phẩm đạt -18°C thì bên trong thực phẩm 80% nước đá đóng băng (đối với thịt cá), còn đối với rau quả ở -8°C đã đóng băng 72% và ở -15°C đóng băng 79% nước. Do đó môi trường hoạt động của các enzyme và các vi sinh vật hầu như không còn vì thiếu nước tự do. Riêng nấm mốc có thể sống ở nơi khan nước nhưng lượng nước tối thiểu phải đạt 15%.
- Sự thay đổi áp suất, pH, nồng độ chất tan và áp suất thẩm thấu. Do nước bị đóng băng và tách ra ở dạng nguyên chất (dung môi kết tinh trước) nên nồng độ

của dịch bào tăng lên, áp suất thẩm thấu tăng lên và pH giảm do đó vi sinh vật rất khó phát triển.

Nấm men là vi sinh vật ưa lạnh: phát triển được ở nhiệt độ -2°C đến 3°C , môi trường thích hợp nhất của nó là sản phẩm chua. Nhìn chung có thể phát triển được ở trong tất cả các sản phẩm bảo quản lạnh.

Như vậy chúng ta thấy muốn diệt trừ vi sinh vật bằng lạnh là rất khó khăn đòi hỏi phải hạ nhiệt độ thật nhanh đột ngột và nhiệt độ rất thấp. Nhưng diệt một phần và hạn chế sự hoạt động, phát triển thì nhiệt độ thấp lại tác dụng rất lớn. Bắt đầu từ nhiệt độ -6°C đến -8°C thì hệ thống men bị diệt phần lớn nhưng một số nấm mốc vẫn còn hoạt động.

2.1.7. Tốc độ làm lạnh

Tốc độ làm lạnh là tốc độ nhiệt của sản phẩm ($^{\circ}\text{C}/\text{h}$). Nó có ý nghĩa rất lớn trong việc bảo vệ các đặc tính ban đầu của sản phẩm (Nguyễn Xuân Phương, 2004).

Tốc độ làm lạnh thể hiện một sự giảm trung bình của nhiệt độ trên một đơn vị thời gian. Nhìn chung người ta có xu hướng làm lạnh nhanh (tăng tốc làm lạnh), nhưng không được để xảy ra mạnh như bay hơi nước trên bề mặt sản phẩm bằng cách bao gói sản phẩm hay tăng độ ẩm tương đối của môi trường không khí. Ngoài ra khi làm tăng độ ẩm còn có tác dụng làm tăng khả năng dẫn nhiệt của không khí.

- Ảnh hưởng của tốc độ làm lạnh đến khả năng sống của tế bào nấm men *S. cerevisiae*

Tốc độ làm lạnh của tế bào trong giai đoạn làm lạnh là một yếu tố then chốt trong quá trình sấy thăng hoa. Tốc độ làm lạnh tối ưu nhất được tạo thành bởi 2 ảnh hưởng trái ngược:

- Nồng độ chất tan bên trong và bên ngoài tế bào chịu trách nhiệm đối với sự tổn thương tế bào khi tốc độ làm lạnh thấp hơn tốc độ làm lạnh tối ưu.
- Sự đóng băng bên trong tế bào chịu trách nhiệm cho việc tổn thương tế bào khi tốc độ làm lạnh nhanh hơn tốc độ làm lạnh tối ưu (Mazur, 1967,1979,1977).

Ở tốc độ làm lạnh rất chậm, khả năng thẩm thấu trong và ngoài bào có thể vẫn ở trạng thái cân bằng. Khi nước đóng băng, nồng độ dịch trong và ngoài tế bào tăng dần lên dẫn đến sự phá hủy tế bào (Meryman, 1974). Khi tốc độ làm lạnh trở nên nhanh hơn, nồng độ dịch trong và ngoài tế bào cũng tăng nhanh hơn. Sự khác nhau giữa tính

thấm trong và ngoài tế bào sẽ phụ thuộc vào tỉ lệ tăng tính thấm ngoại bào, và bề mặt tỉ lệ dung tích của tế bào (Mazur, 1984). Ở tốc độ làm lạnh nhanh, tế bào không thể mất nước đủ nhanh để duy trì điện thế thẩm thấu của nước nội bào ở trạng thái cân bằng với nước ngoại bào. Dịch nội bào càng lúc càng chậm đông dẫn đến tạo thành đá trong nhân tế bào. Hiệu ứng đóng băng về mặt hình thái học có thể quan sát dưới cryomicroscope (Coulson *et al.*, 1986; Smith *et al.*, 1986). Ở tốc độ làm lạnh tối ưu ($1^{\circ}\text{C}/\text{phút} - 10^{\circ}\text{C}/\text{phút}$), tế bào *S. cerevisie* co lại toàn bộ trong khi ở tốc độ làm lạnh cao hơn, đá ngoại bào làm mất khả năng sống sót của tế bào (Morris *et al.*, 1988).

2.2. Kỹ thuật sấy

2.2.1. Vật ẩm

Vật ẩm trong kỹ thuật sấy là các vật có khả năng chứa nước hoặc hơi nước trong quá trình hình thành hoặc gia công thành các vật liệu (Trần Văn Phú 2001).

➤ Đặc trưng vật lý cơ bản của nước

Nước trong vật ẩm có thể tồn tại ở 3 thể: thể rắn, thể lỏng và thể hơi. Ở áp suất khí quyển (760 mmHg) nước chuyển từ pha rắn sang pha lỏng và ngược lại ở 0°C với nhiệt ẩn nóng chảy bằng 332,322 KJ/Kg và sôi hay ngưng tụ ở 100°C với nhiệt ẩn hóa hơi 2256,3 KJ/Kg. Nước là dịch thể dính ướt. Sức căng bề mặt ngoài ở 20°C bằng 0.0727 Pa. Các đặc trưng vật lý trên cũng như các đặc trưng khác của nước đá, nước và hơi nước đều phụ thuộc vào nhiệt độ và áp suất. Nước ở 4°C là nước có mật độ lớn nhất.

➤ Các đặc trưng trạng thái ẩm của vật liệu

Những vật đem sấy đều là những vật ẩm có chứa một khối lượng chất lỏng đáng kể (chủ yếu là nước). Trong quá trình sấy ẩm chất lỏng trong vật bay hơi, độ ẩm của nó giảm. Trạng thái của vật liệu ẩm được xác định bởi độ ẩm và nhiệt độ của nó. Độ ẩm của vật có thể biểu thị qua độ ẩm tuyệt đối, độ ẩm toàn phần, độ chứa ẩm và nồng độ ẩm.

➤ Các dạng liên kết ẩm trong vật liệu ẩm

Vật ẩm thường là tập hợp của ba pha rắn, lỏng, và hơi. Các vật rắn đem sấy thường là các vật xốp mao dẫn hoặc keo xốp mao dẫn. Trong các mao dẫn có chứa ẩm lỏng cùng với hỗn hợp hơi – khí có thể rất lớn nhưng tỷ lệ khối lượng của nó so với phần rắn và phần ẩm lỏng có thể bỏ qua. Do vậy trong kỹ thuật sấy thường coi vật thể chỉ gồm phần rắn khô và ẩm lỏng.

Diễn biến quá trình sấy của vật ẩm sẽ bị chi phối bởi các dạng liên kết ẩm trong vật. Có nhiều cách phân loại các dạng liên kết ẩm. Theo P.H. Robinde thì tất cả các dạng liên kết ẩm được chia làm 3 nhóm chính là: Liên kết hóa học, liên kết hóa lý và liên kết cơ lý.

- Liên kết hóa học

Liên kết hóa học giữa ẩm và vật khô rất bền vững trong đó các phân tử nước đã trở thành một bộ phận trong thành phần hóa học của phân tử vật ẩm. Loại ẩm này chỉ có thể tách ra khi có phản ứng hóa học và thường phải nung nóng vật đến nhiệt độ cao. Sau khi tách ẩm tính chất hóa lý của vật thay đổi. Quá trình sấy yêu cầu giữ nguyên các tính chất hóa lý của vật.

- Liên kết hóa lý

Liên kết hóa lý bao gồm hai kiểu là liên kết hấp thụ và liên kết thẩm thấu.

- ✓ Liên kết hấp thụ: trong các vật ẩm ta gặp những vật keo. Vật keo có cấu tạo dạng hạt. Do cấu tạo dạng hạt nên vật keo có bề mặt bên trong rất lớn. Vì vậy nó có năng lượng bề mặt tự do đáng kể. Khi tiếp xúc với không khí ẩm hay trực tiếp với nước, ẩm sẽ xâm nhập vào vật theo các bề mặt tự do này tạo thành liên kết hấp thụ giữa nước và bề mặt.
- ✓ Liên kết thẩm thấu: liên kết thẩm thấu là sự liên kết hóa lý giữa nước với vật rắn khi có sự chênh lệch nồng độ các chất hòa tan ở trong và ngoài tế bào, tức là có chênh lệch áp suất hơi nước. Quá trình thẩm thấu không kèm theo hiện tượng tỏa nhiệt và không làm cho vật biến dạng. Về bản chất, ẩm thẩm thấu trong các tế bào không khác với nước bình thường và không chứa các chất hòa tan vì các chất hòa tan sẽ không thể khuếch tán vào trong tế bào cùng với nước.

- Liên kết cơ lý

Đây là dạng liên kết giữa nước và vật liệu được tạo thành do sức căng bề mặt của nước trong các mao dẫn hay trên bề mặt ngoài của vật. liên kết cơ học bao gồm liên kết cấu trúc, liên kết mao dẫn và liên kết dính ướt.

- ✓ Liên kết cấu trúc: liên kết cấu trúc là liên kết giữa nước và vật liệu hình thành trong quá trình hình thành vật. Để tách nước trong trường hợp liên kết cấu trúc ta có thể làm cho nước bay hơi, nén ép vật hoặc

phá vỡ cấu trúc vật v.v. Sau khi tách nước vật bị biến dạng nhiều, có thể thay đổi tính chất và thậm chí thay đổi cả trạng thái pha.

- ✓ Liên kết mao dẫn: nhiều vật ẩm có cấu tạo mao quản, ví dụ: gỗ, vải v.v. Trong các vật thể này có vô số các mao quản. Các vật thể này khi để trong nước sẽ theo các mao quản xâm nhập vào vật thể. Khi vật thể này để trong môi trường không khí ẩm thì hơi nước sẽ ngưng tụ trên bề mặt mao dẫn và theo các mao quản xâm nhập vào vật thể. Muốn tách ẩm có liên kết mao dẫn ta cần làm cho ẩm bay hơi hoặc đẩy ẩm ra bằng áp suất lớn hơn áp suất mao dẫn. Vật sau khi tách ẩm mao dẫn nói chung vẫn giữ được kích thước, hình dáng và các tính chất hóa lý.
- ✓ Liên kết dính ướt: liên kết dính ướt là liên kết do nước bám dính vào bề mặt vật. Ẩm liên kết dính ướt dễ tách khỏi vật bằng phương pháp bay hơi đồng thời có thể tách ra bằng các phương pháp cơ học như: lau, thấm, thổi, vắt ly tâm v.v.

2.2.2. Các phương pháp làm khô vật liệu

Trong công nghiệp hóa chất, thực phẩm thì quá trình tách nước ra khỏi vật liệu (làm khô vật liệu) là rất cần thiết. Tùy theo tính chất và độ ẩm của vật liệu người ta thực hiện một trong các phương pháp tách nước ra khỏi vật liệu sau đây:

- Phương pháp cơ học: dùng máy ép, lọc, ly tâm v.v. để tách nước, phương pháp này dùng trong trường hợp không cần tách nước triệt để mà chỉ làm khô sơ bộ vật liệu.
- Phương pháp hóa lý: dùng một hóa chất để hút nước trong vật liệu, ví dụ dùng canxi clorua, axit sunfuric... Phương pháp này tương đối đắt và phức tạp, chủ yếu là để hút nước trong hỗn hợp khí.
- Phương pháp nhiệt: dùng nhiệt để làm bốc hơi nước trong vật liệu, phương pháp này được sử dụng rộng rãi. Quá trình làm thoát hơi nước ra khỏi vật liệu bằng nhiệt gọi là sấy.
- Phương pháp thẩm thấu: dùng một dung môi có nồng độ chất tan tương đối cao để ngâm vật liệu. Quá trình này làm chất tan thẩm vào vật liệu và nước được đẩy ra khỏi vật liệu.

2.2.3. Đại cương về quá trình sấy

2.2.3.1. Tác nhân sấy

Tác nhân sấy là những chất dùng để chuyển chở lượng ẩm tách ra từ vật sấy (Hoàng Văn Chúc, 2004).

Trong quá trình sấy môi trường buồng sấy luôn luôn được bổ sung ẩm thoát ra từ vật sấy. Nếu lượng ẩm này không được mang đi thì độ ẩm tương đối trong buồng sấy tăng lên, đến một lúc nào đó sẽ đến sự cân bằng giữa vật sấy và môi trường trong buồng sấy và quá trình thoát ẩm từ vật sấy sẽ ngừng lại, lúc này phân áp suất hơi nước thoát ra từ vật bằng với phân áp suất của hơi nước trong buồng sấy. Do vậy cùng với việc cung cấp nhiệt cho vật để hóa hơi ẩm lỏng đồng thời phải tải ẩm đã thoát ra khỏi từ buồng sấy. Người ta sử dụng tác nhân sấy làm nhiệm vụ này.

Các tác nhân sấy thường là các chất khí như: không khí, khói, hơi quá nhiệt. Chất lỏng cũng được sử dụng làm tác nhân sấy như các loại dầu, một số loại muối nóng chảy.v.v... Trong đa số các quá trình sấy tác nhân sấy còn làm nhiệm vụ gia nhiệt cho sản phẩm sấy, ví dụ, trong các quá trình sấy đối lưu tác nhân sấy vừa làm nhiệm vụ gia nhiệt cho vật liệu sấy vừa làm nhiệm vụ tải nhiệt. Ở một số quá trình sấy như sấy bức xạ tác nhân sấy còn có nhiệm vụ bảo vệ sản phẩm sấy khỏi quá nhiệt. Hai loại tác nhân sấy thông dụng nhất là không khí và khói.

2.2.3.2. Tốc độ sấy

➤ Khái niệm về tốc độ sấy

Tốc độ sấy được xác định bằng lượng kg ẩm (nước) bay hơi trên 1 m² bề mặt vật liệu sấy trong một đơn vị thời gian (1 giờ) và được biểu thị dưới dạng vi phân như sau:

$$U = dW / (Fdt) \text{ (kg/m}^2\text{.h)}$$

Trong đó:

W: lượng ẩm bay hơi trong thời gian sấy, kg/h.

F: bề mặt chung của vật liệu sấy, m².

t: thời gian sấy, h.

Khi biết được tốc độ sấy, ta có thể tìm được thời gian sấy theo công thức:

$$t = [G_k(X_d - X_c)] / (UF)$$

Trong đó:

G_k: lượng vật liệu khô tuyệt đối trong vật liệu sấy, kg.

X_d, X_c : độ ẩm ban đầu và cuối của vật liệu ấy, kg/kg vật liệu khô tuyệt đối.

➤ Các nhân tố ảnh hưởng đến tốc độ sấy

Tốc độ sấy phụ thuộc vào nhiều nhân tố, sau đây là một số nhân tố chủ yếu:

- Bản chất của vật liệu sấy: cấu trúc, thành phần hóa học, đặc tính liên kết ẩm v. v.
- Hình dáng vật liệu sấy: kích thước vật liệu sấy, bề dày lớp vật liệu v. v. Bề mặt vật liệu sấy càng lớn thì quá trình sấy tiến hành càng nhanh.
- Độ ẩm ban đầu và cuối của vật liệu, đồng thời cả độ ẩm tới hạn của vật liệu.
- Độ ẩm của không khí, nhiệt độ và tốc độ của không khí. Nhiệt độ không khí càng cao, tốc độ không khí càng lớn, độ ẩm tương đối của không khí càng nhỏ thì quá trình sấy tiến hành càng nhanh.
- Tác nhân sấy: có thể sấy bằng không khí hoặc bằng khói lò, nếu bằng khói lò thì nhiệt độ cao, nhưng cũng chỉ sử dụng được đối với một số vật liệu chịu được nhiệt độ cao.
- Chênh lệch nhiệt độ ban đầu và cuối của tác nhân sấy, nhiệt độ cuối giảm ít thì nhiệt độ trung bình của tác nhân sấy càng cao, do đó tốc độ sấy cũng tăng. Nhưng không nên chọn nhiệt độ cuối quá cao vì không sử dụng triệt để nhiệt.
- Cấu tạo máy sấy, phương thức sấy và chế độ sấy.

2.2.3.3. Quá trình sấy

Quá trình sấy là quá trình làm khô các vật thể, các vật liệu, các sản phẩm bằng phương pháp bay hơi (Trần Văn Phú, 2001).

Như vậy muốn sấy khô một vật ta phải tiến hành các biện pháp kỹ thuật sau:

- Gia nhiệt cho vật để đưa nhiệt độ của nó lên đến nhiệt độ bão hòa ứng với phân áp suất của hơi nước trên bề mặt vật
- Cấp nhiệt để làm bay hơi ẩm trong vật thể.
- Vận chuyển hơi ẩm đã thoát ra khỏi vật thể vào môi trường.

Như vậy trong quá trình sấy xảy ra các quá trình trao đổi nhiệt và trao đổi chất cụ thể là: quá trình truyền nhiệt từ chất tải nhiệt cho vật sấy, quá trình truyền ẩm từ trong vật sấy ra ngoài bề mặt vật sấy, quá trình truyền ẩm từ bề mặt vật sấy vào môi trường.

Các quá trình truyền nhiệt, truyền chất trên xảy ra đồng thời trên vật sấy chúng có ảnh hưởng qua lại lẫn nhau.

2.2.3.4. Chế độ sấy

Chế độ sấy được hiểu là quy trình tổ chức quá trình sấy mà chủ yếu là cách tổ chức quá trình truyền nhiệt truyền chất giữa tác nhân sấy và vật liệu sấy và các thông số của nó để đảm bảo năng suất hệ thống sấy theo yêu cầu, chất lượng sản phẩm tốt và chi phí vận hành cũng như chi phí năng lượng hợp lý (Trần Văn Phú, 2001).

Chế độ sấy là một khái niệm rộng. Trong một hệ thống cụ thể, chế độ sấy thường được hiểu như là nhiệt độ và độ ẩm của tác nhân sấy vào và ra khỏi thiết bị sấy, tốc độ tác nhân sấy, tốc độ thoát ẩm v.v.

2.2.4. Các phương pháp sấy

Phương pháp sấy chia ra làm hai loại lớn là sấy tự nhiên và sấy bằng thiết bị. Sấy tự nhiên là quá trình phơi vật liệu ngoài trời. Phương pháp này sử dụng nguồn nhiệt bức xạ của mặt trời và ẩm bay ra được không khí bay đi (Nguyễn Văn May, 2002).

Phương pháp sấy tự nhiên có ưu điểm là đơn giản, đầu tư vốn ít, bề mặt trao đổi nhiệt lớn, dòng nhiệt bức xạ từ mặt trời tới vật có mật độ lớn (tới 1000W/m^2).

Tuy vậy sấy tự nhiên có nhược điểm là:

- Khó thực hiện cơ giới hóa, chi phí lao động nhiều.
- Nhiệt độ thấp nên cường độ sấy không cao
- Sản phẩm dễ bị ô nhiễm do bụi và sinh vật, vi sinh vật.
- Chiếm diện tích mặt bằng sản xuất lớn.
- Nhiều sản phẩm nếu sấy tự nhiên chất lượng sản phẩm không đạt yêu cầu.

Các phương pháp sấy nhân tạo được thực trong các thiết bị sấy.

Có nhiều phương pháp sấy nhân tạo khác nhau. Căn cứ vào phương pháp cung cấp nhiệt có thể chia ra các loại sau:

- Phương pháp sấy đối lưu: nguồn nhiệt cung cấp cho quá trình sấy là nhiệt truyền từ môi chất sấy đến vật liệu bằng cách truyền nhiệt đối lưu.
- Phương pháp bức xạ: nguồn nhiệt cung cấp cho quá trình sấy thực hiện bằng bức xạ từ một bề mặt nào đó đến vật sấy.

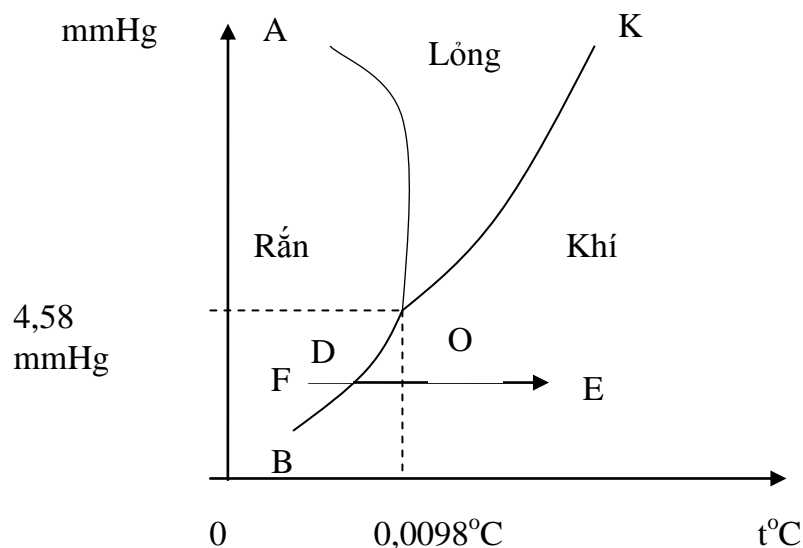
- Phương pháp sấy tiếp xúc: trong phương pháp này người ta cung cấp nhiệt cho vật sấy bằng cách cho tiếp xúc trực tiếp vật với bề mặt nguồn nhiệt.
- Phương pháp sấy bằng điện trường dòng cao tần: nhiệt cung cấp cho vật sấy nhờ dòng điện cao tần tạo nên điện trường cao tần trong vật làm vật nóng lên.
- Phương pháp sấy thăng hoa: phương pháp này thực hiện bằng cách làm lạnh vật đồng thời hút chân không để cho vật sấy đạt đến trạng thái thăng hoa của nước. Ẩm thoát ra khỏi vật nhờ quá trình thăng hoa.

2.2.5. Phương pháp sấy thăng hoa

2.2.5.1. Nguyên lý làm việc của hệ thống sấy thăng hoa

Sấy thăng hoa là quá trình tách ẩm ra khỏi vật liệu sấy trực tiếp từ trạng thái rắn biến thành trạng thái hơi nhờ quá trình thăng hoa (Trần Văn Phú, 2001).

Để tạo ra quá trình sấy thăng hoa, vật liệu sấy phải được làm lạnh dưới điểm ba thể. Điểm ba thể là điểm mà ở đó nước tồn tại đồng thời ba thể: thể rắn, thể lỏng và thể hơi. Từ đó vật liệu sấy nhận được nhiệt lượng để ẩm từ dạng rắn trực tiếp thăng hoa lên thể khí và thải ra môi trường.



Hình 2.1: Biểu diễn đồ thị chuyển pha của nước trên tọa độ p-t.

Điểm O gọi là điểm ba thể. Nhiệt độ và áp suất của điểm ba thể O tương ứng: $t = 0,0098^{\circ}\text{C}$ và áp suất $p = 4,58 \text{ mmHg}$. Trên đồ thị hình 2.1 đường BO biểu diễn ranh giới giữa pha rắn và pha lỏng. Tương tự như vậy đường OA là ranh giới giữa pha rắn và

pha lỏng và cuối cùng đường OK là ranh giới giữa pha lỏng và pha khí. Điểm K gọi là điểm tới hạn, ở đó nhiệt ẩm hóa hơi có thể xem bằng không.

Nếu ẩm trong vật liệu sấy có trạng thái đóng băng ở điểm F như trên hình 2.1 chẳng hạn, được đốt nóng đẳng áp đến nhiệt độ t_D tương ứng với điểm D thì nước ở thể rắn sẽ thực hiện quá trình thăng hoa DE. Cũng trên hình 2.1 có thể thấy rằng áp suất càng thấp thì nhiệt độ thăng hoa của nước càng bé. Do đó, khi cấp nhiệt cho vật liệu sấy ở áp suất càng thấp thì độ chênh lệch nhiệt độ giữa nguồn nhiệt và vật liệu sấy càng tăng. Đúng về mặt truyền nhiệt thì đây là ưu điểm của sấy thăng hoa so với sấy chân không bình thường.

Quá trình sấy thăng hoa được chia làm 3 giai đoạn:

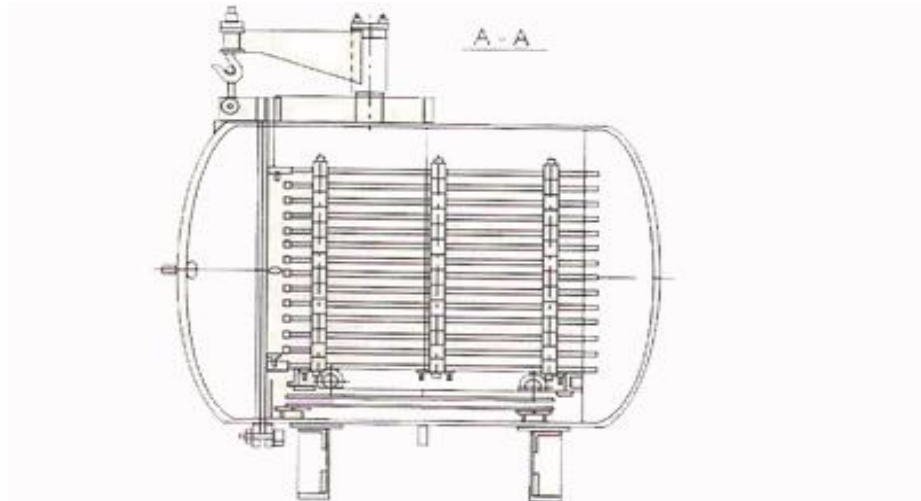
- Giai đoạn làm lạnh: trong giai đoạn này vật liệu sấy được làm lạnh từ nhiệt độ môi trường (khoảng 20°C) xuống đến nhiệt độ $-10^{\circ}\text{C} \div -15^{\circ}\text{C}$ (sấy thăng hoa liên tục). Có thể làm lạnh vật liệu trong buồng lạnh riêng (sấy thăng hoa gián đoạn). Trong giai đoạn này không gian của bình thăng hoa được hút chân không và áp suất trong bình giảm, do đó phân áp suất hơi nước trong không gian bình cũng giảm so với phân áp suất hơi nước trong lòng vật liệu sấy. Điều đó dẫn tới hiện tượng thoát ẩm từ vật liệu sấy vào không gian bình thăng hoa. Như vậy kết thúc giai đoạn làm lạnh nhiệt độ của vật liệu sấy nhỏ hơn nhiệt độ điểm ba thể. Áp suất trong bình thăng hoa cũng nhỏ hơn áp suất của điểm ba thể.
- Giai đoạn thăng hoa: trong giai đoạn này, nước trong vật liệu sấy bắt đầu thăng hoa mãnh liệt. Độ ẩm của vật liệu sấy giảm rất nhanh và gần như tuyến tính. Như vậy giai đoạn thăng hoa có thể xem là giai đoạn có tốc độ sấy không đổi.
- Giai đoạn bốc hơi ẩm còn lại: sau giai đoạn thăng hoa, do trạng thái của nước trong vật liệu sấy nằm trên điểm ba thể nên ẩm trong vật liệu sấy trở về dạng lỏng. vì khi đó áp suất trong bình thăng hoa vẫn được duy trì bé hơn áp suất khí trời nhờ bơm chân không và vật liệu sấy vẫn tiếp tục được gia nhiệt nên ẩm vẫn không ngừng từ dạng lỏng lên dạng hơi và đi vào không gian bình thăng hoa. Như vậy giai đoạn bốc hơi ẩm còn lại chính là quá trình sấy chân không bình thường.

Quá trình dịch chuyển ẩm trong sấy thăng hoa khác với quá trình dịch chuyển ẩm trong các hệ thống sấy khác làm việc ở áp suất khí quyển. Khi thăng hoa, các phân tử nước không va chạm nhau. Nhờ đó mà sấy thăng hoa có một ưu điểm rất lớn là bảo toàn được chất lượng sinh học của sản phẩm sấy. Nhược điểm lớn nhất của sấy thăng hoa là chi phí sấy của 1 kg sản phẩm rất cao, hệ thống phức tạp, công kênh phải dùng đồng thời bơm chân không và máy lạnh. Do đó, vận hành phức tạp và đòi hỏi công nhân có trình độ kỹ thuật cao.

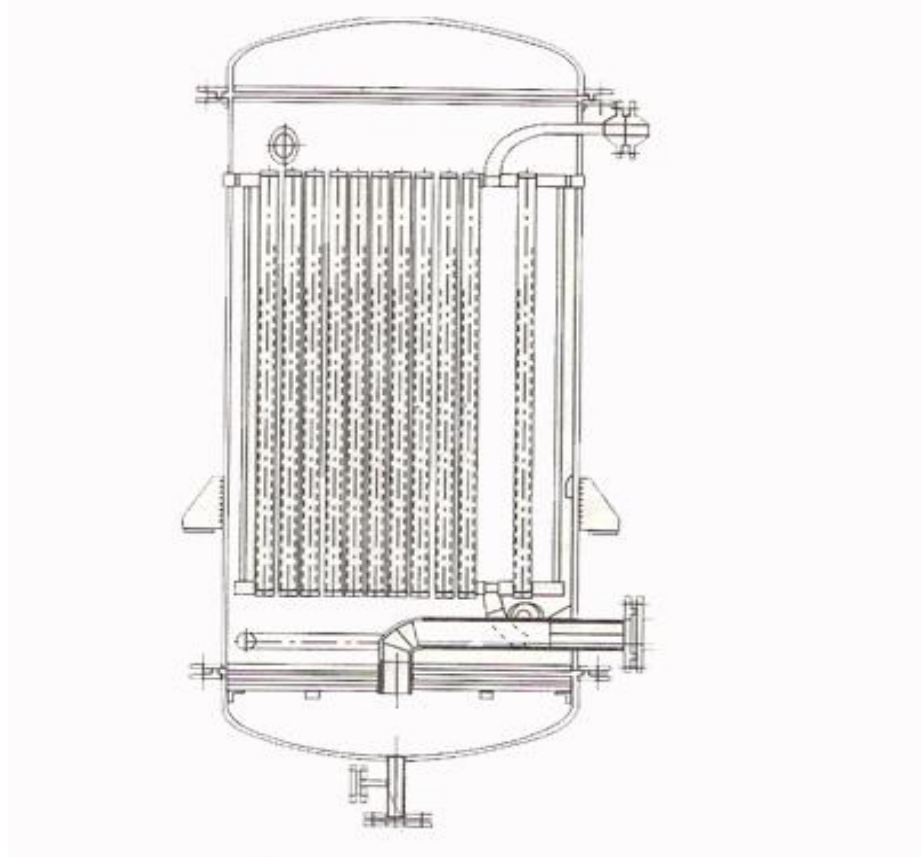
2.2.5.2. Cấu tạo hệ thống sấy thăng hoa

Hệ thống sấy thăng hoa gồm các thiết bị chính sau:

- Bình thăng hoa: bình là một trụ tròn. Một đáy được hàn liền với hình trụ còn đáy kia là một chỏm cầu được gắn kết với thân hình trụ bằng bu lông để đưa vật liệu sấy vào ra. Đỉnh bình thăng hoa có một mặt bích để nối với bơm chân không qua bình ngưng-đóng băng. Phía trong bình thăng hoa người ta bố trí các hộp kim loại xen kẽ nhau. Trên các hộp đó là các khay chứa vật liệu sấy. Trong các hộp là nước nóng chuyển động. Do nhiệt độ trong bình thăng hoa rất thấp và có một độ chân không rất lớn nên truyền nhiệt giữa các thành hộp chứa nước nóng với vật liệu sấy chủ yếu xảy ra nhờ bức xạ nhiệt.
- Bình ngưng- đóng băng: bình ngưng-đóng băng là một thiết bị trao đổi nhiệt dạng ống. Nó là một hình trụ đứng, trong đó bố trí các ống có đường kính 51/57 mm được gắn kết với nhau và với hình trụ nhờ hai mặt sàng. Hỗn hợp hơi nước và không khí được bơm chân không hút từ bình thăng hoa qua một lưới phân phối phía dưới đi vào trong các ống. Amoniac đưa vào trên mặt sàng và chứa đầy không gian giữa các ống. Ở đây hỗn hợp hơi nước-không khí được làm lạnh và hơi nước trong hỗn hợp đó ngưng tụ lại bám vào các thành trong của ống, còn không khí khô qua bơm chân không để thải vào khí quyển. Ngược lại, amoniac lỏng nhận nhiệt của hỗn hợp hơi nước-không khí để bay hơi và qua bình tách lỏng về máy nén của máy lạnh.

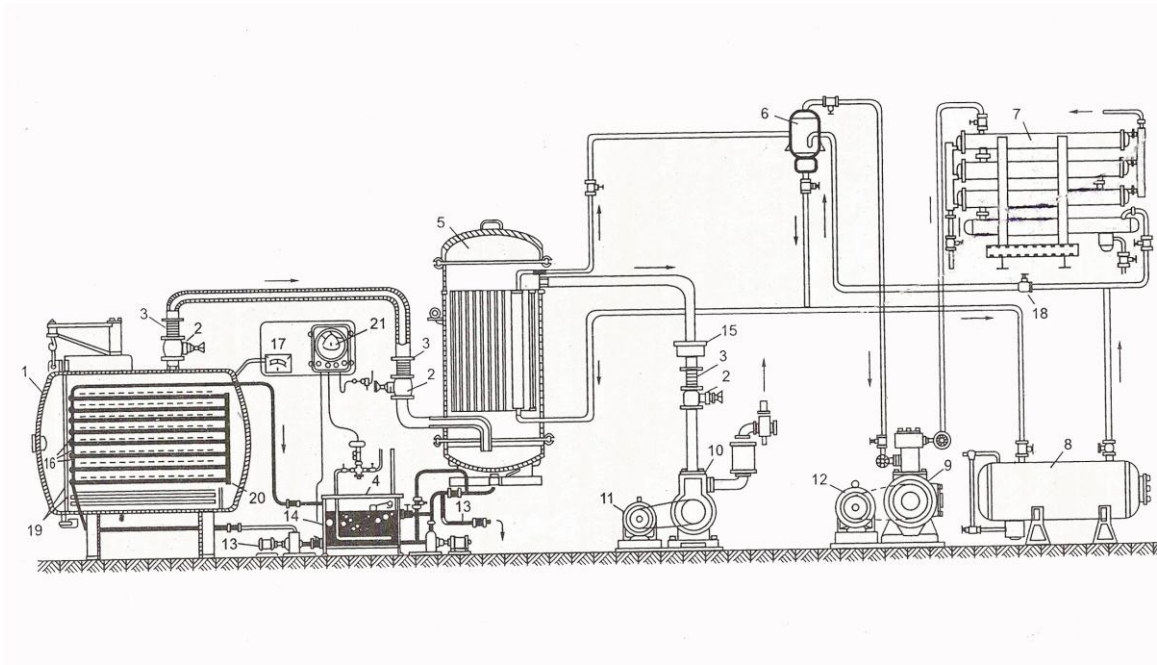


Hình 2.2: Cấu tạo của bình thẳng hoa



Hình 2.3: Cấu tạo của bình ngưng-đóng băng

- Hệ thống bơm chân không: có nhiệm vụ hút khí tạo chân không ban đầu cho bình thăng hoa và trong thời gian sấy có nhiệm vụ hút hết khí không ngưng, bảo đảm sự làm việc của thiết bị.
- Hệ thống làm lạnh: nhiệm vụ của hệ thống làm lạnh là làm lạnh sản phẩm đến nhiệt độ yêu cầu (dưới điểm ba thể) và làm lạnh bình ngưng để ngưng tụ và đóng băng ẩm thoát ra, tạo điều kiện duy trì chân không và chế độ làm việc trong hệ thống (Trần Văn Phú, 2001).



Hình 2.4: Sơ đồ hệ thống sấy thăng hoa chu kỳ sử dụng trong công nghiệp thực phẩm (G.I. Lappa – Stajenhexki).

1 – bình thăng hoa; 2 – van; 3 – xyfon; 4 – bể chứa nước nóng; 5 – bình ngưng; 6 – bình tách lỏng; 7 – giàn ngưng amôniac; 8 – bình chứa amôniac; 9 – máy nén; 10 – bơm chân không; 11,12,13 - động cơ điện; 14 – bơm ly tâm; 15 – phin lọc; 16 - tấm gia nhiệt; 17 – chân không kế; 18 – van điều chỉnh; 19 – khay chứa vật liệu sấy; 20 – tấm gia nhiệt dưới; 21 – bộ điều chỉnh nhiệt.

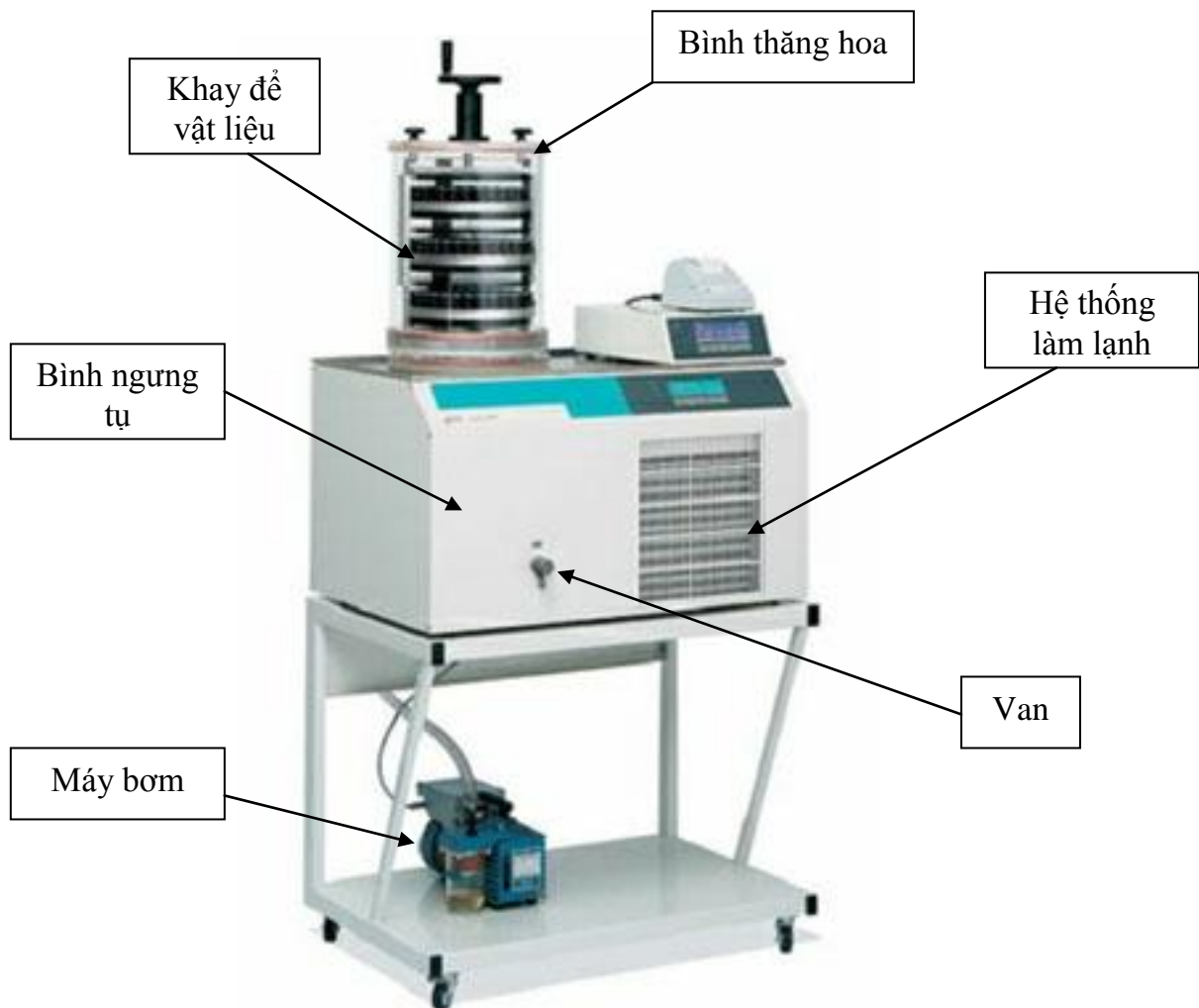
Continuous freeze-drying system with up to 60 tons of fresh product per day per unit



Hình 2.5: Hệ thống sấy thăng hoa trong công nghiệp

2.2.5.3. Máy sấy thăng hoa được sử dụng trong nghiên cứu

- Cấu tạo của máy lyopro 6000



Hình 2.6: Cấu tạo máy Lyopro 6000

- Liệt kê chi tiết về kỹ thuật của máy

Bảng 2.1: Liệt kê chi tiết về kỹ thuật của máy

Tổng quát về máy	
Sâu x rộng x cao	526 x 842 x 480 mm
Đường kính / cao của bình ngưng tụ	230/300 mm
Trọng lượng	90 kg
Nguồn điện	230/50 hoặc 115/60 V/Hz
Nhiệt độ xung quanh	5 – 32°C
Những tham số cho hoạt động của máy	
Nhiệt độ	-55/-90
Công suất ngưng tụ / 24 giờ	6 kg
Công suất ngưng tụ / tổng số	10 kg
Thể tích ngưng tụ	12 lít

- Các bước vận hành máy

- Đặt buồng và các kệ lên, chú ý buồng phải kín.
- Bật công tắc chính ở phía sau máy lên.
- Chờ đợi sự khởi động của bộ điều khiển.
- Màn hình hiển thị phiên bản phần mềm hiện hành.
- Trong pre – menu, nếu đèn bơm chưa sáng màu xanh, phải ấn nút pump. Lúc này bơm sẽ khởi động. Để cho bơm chân không hoạt động ít nhất 30 phút trước khi đông khô.
- Làm lạnh bình ngưng đến < -70°C.
- Khi bình ngưng đạt đến nhiệt độ vận hành, đèn nhiệt độ lạnh sẽ xanh, cho biết bình ngưng đã sẵn sàng cho tiến trình đông khô.
- Cân bằng áp suất bằng cách ấn nút AIR ở pre – freeze menu.
- Mở buồng đặt vật liệu đông khô lên các kệ trong buồng và đóng buồng và van xả nước.
- Ấn RUN.
- Để ngừng quá trình đông khô ta ấn END, sau đó lấy mẫu ra khỏi các kệ.

- Để khử đá ta ấn de – ice , sau đó ấn start để bắt đầu chức năng khử đá, sau đó ấn stop.

2.2.5.4. Ứng dụng của phương pháp sấy thăng hoa

Phương pháp sấy thăng hoa thu được sản phẩm có chất lượng cao, khi sấy không bị biến chất albumin, bảo vệ nguyên vẹn các vitamin như lúc tươi, đặc biệt là ứng dụng trong sản xuất những sản phẩm có tính nhạy cảm với nhiệt độ cao như: sữa, rau, quả. Tuy nhiên phương pháp này còn phức tạp và đắt nên chỉ mới áp dụng rộng rãi trong sản xuất dược phẩm để sấy các chất kháng sinh như: pênixilin, treptômicin và một vài thực phẩm chất lượng cao.

2.3. Giới thiệu sơ lược về nấm men

Nấm men là tên chung để chỉ nhóm nấm thường có cấu tạo đơn bào và thường sinh sản vô tính theo lối nảy chồi.

Nấm men phân bố rộng rãi trong tự nhiên: đất, nước, lương thực thực phẩm, rau quả. Đặc biệt chúng hiện diện nhiều ở các đất trồng nho và cây ăn quả.

Theo J. Lodder đã xác định có 349 loài nấm men, thuộc 39 chi khác nhau. Theo J.A. Barnett, R.W. Payne và D.Yarrow xác định có 430 loài nấm men, thuộc 66 chi khác nhau.

Nhiều loại nấm men có khả năng lên men rượu vì vậy con người đã biết sử dụng chúng để nấu rượu, làm bia, cồn, glycerin. Nấm men sinh sản nhanh chóng, sinh khối giàu protein và vitamin vì vậy chúng còn được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp chế biến thức ăn bổ sung cho con người và gia súc. Nấm men còn được sử dụng làm nở bột mì, gây hương nước chấm, làm dược phẩm. Tuy nhiên, có một số loại nấm men có thể gây bệnh cho người và gia súc (*Candida*), làm hỏng lương thực thực phẩm (*Mycoderma*) (Vương Thị Việt Hoa, 1999).

2.3.1. Hình thái tế bào

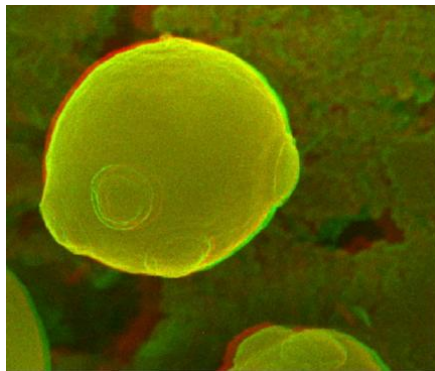
Nấm men thường có cấu tạo đơn bào. Hình dạng tế bào nấm men thường thay đổi tùy theo loài, ngoài ra một phần còn phụ thuộc vào tuổi giống và điều kiện ngoại cảnh. Nói chung, thường nấm men có hình trứng hay bầu dục (*Saccharomyces cerevisiae*), hình cầu (*Candida utilis*), hình ống (*Psychia*).v.v.

Một số tế bào nấm men có hình dài nối tiếp nhau thành những dạng sợi gọi là khuẩn ty hoặc khuẩn ty giả. Thường gặp ở các giống *Endomycopsis*, *Candida*,

Trichosporon. Nhiều loài nấm men chỉ sinh khuẩn ty giả khi không được cung cấp đầy đủ oxy.

Kích thước tế bào nấm men thay đổi rất nhiều, theo từng giống, từng loài, nói chung thường to hơn tế bào vi khuẩn từ 5 – 10 lần. Các loài nấm men đơn bào trong công nghiệp thường có kích thước 3-5 X 5-10 μm .

Men bánh mì ở các cơ sở sản xuất đang dùng thuộc giống *Saccharomyces* loài *cerevisiae*, lớp Ascomycetes, ngành nấm. Là tế bào hình trứng hay bầu dục, có kích thước nhỏ từ 5 – 6 đến 10 – 14 μm .



Hình 2.7: Hình thái của nấm men *S. cerevisiae*

2.3.2. Cấu tạo tế bào

Tế bào nấm men được cấu tạo chủ yếu từ những thành phần cơ bản sau: thành tế bào, màng nguyên chất, chất nguyên sinh, nhân và các cơ quan khác.

➤ Thành tế bào

Thành tế bào nấm men trong suốt, nhòn và dày khoảng 1000 A° , chiếm khoảng 25 – 30% trọng lượng khô tế bào. Thành tế bào gồm 3 lớp: lớp ngoài cùng có cấu tạo hóa học chủ yếu là lypoprotein. Lớp giữa có cấu tạo chủ yếu là manan protein. Lớp trong chủ yếu là glucan. Chức năng chủ yếu là duy trì hình thái của tế bào và duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào.

➤ Màng nguyên sinh chất

Thành phần chủ yếu là lypoprotein chứa nhiều hợp chất calci và men permease. Chiều dày của màng nguyên sinh chất khoảng 200 A° . Màng nguyên sinh chất thường ăn sâu vào chất nguyên sinh tạo thành mạng lưới nội chất. Chức năng chủ yếu là điều hòa việc hấp thu các chất dinh dưỡng và thải các sản phẩm trao đổi chất.

➤ Chất nguyên sinh

Khi tế bào còn non, chất nguyên sinh là đồng nhất và độ nhớt thấp hơn so với tế bào trưởng thành. Ở tế bào già, tế bào chất không đồng nhất do xuất hiện không bào và các cơ quan khác.

➤ Nhân tế bào

Khác với tế bào vi khuẩn, tế bào nấm men đã có nhân thực. Nhân thường có hình bầu dục hay hình tròn nằm gần không bào trung tâm với kích thước 1 – 2 μm . Nhân được bao bọc bởi màng nhân, bên trong là một lớp dịch nhân chứa hạch nhân hay còn gọi là nhân con. Nhân của tế bào nấm men chứa protein, acid nucleic, nhiều hệ men và ribosomes. Lượng nhiễm sắc thể của nhân rất khác nhau tùy loài nấm men và chúng có thể phân chia theo kiểu gián phân hoặc đôi khi theo kiểu trực phân.

➤ Các thành phần khác

+ Không bào: trong tế bào nấm men có chứa một hoặc nhiều không bào được hình thành từ thể golgi hay mạng lưới nội chất. Không bào chứa đầy dịch tế bào, bên ngoài được bao bọc bởi một màng lypoprotein gọi là màng không bào. Hình dạng không bào có thể thay đổi tùy theo tuổi và trạng thái sinh lý của tế bào. Vị trí của không bào trong tế bào cũng rất thay đổi. Chúng có thể nằm ở một đầu (nếu tế bào có một không bào) hoặc ở hai đầu (tế bào có hai không bào) hoặc nằm chung quanh (tế bào có nhiều không bào). Không bào có tính thấm thấu cao và là nơi tích lũy các sản phẩm trao đổi chất.

+ Ty thể: ty thể nấm men có hình bầu dục, kích thước khoảng 0,2 – 0,5 x 0,4 – 1,0 μm . Ty thể có hai lớp: nếp trong hình thành nhiều nếp gấp hoặc ống nhỏ hình răng lược làm cho diện tích bề mặt của lớp trong tăng lên rất nhiều và nếp ngoài chia thành nhiều lớp, có chứa enzyme của chuỗi hô hấp, men phosphorin hóa. Ty thể được cấu tạo chủ yếu từ hợp chất protein và lipid. Chức năng chủ yếu của ty thể là: thực hiện các phản ứng oxy hóa giải phóng điện tử, tham gia tổng hợp ATP, tham gia giải phóng năng lượng từ ATP và chuyển chúng thành năng lượng khác cung cấp cho tế bào và thực hiện quá trình tổng hợp protein.

+ Ribosome: Tương tự các vi sinh vật khác, ribosome của nấm men cũng tham gia vào quá trình tổng hợp các hợp chất trong cơ thể. Ribosome ở tế bào nấm men tồn tại hai loại: loại 80 S gồm hai tiểu thể 40 S và 60 S; loại 70 S gồm hai tiểu thể 50 S và 40 S. Ribosome chứa khoảng 40 – 60% ARN.

2.3.3. Thành phần hóa học của tế bào nấm men

Thành phần hóa học và dinh dưỡng của nấm men phụ thuộc vào chủng nấm men, môi trường, trạng thái sinh lý cũng như điều kiện nuôi cấy. Nấm men chứa trung bình khoảng 70 – 75% nước và 25 – 30% còn lại là chất khô. Các chất khô của nấm men bao gồm các thành phần sau:

Protein: chiếm khoảng 40 – 60% chất khô trong nấm men và có đủ các acid amin không thay thế.

Glucid: chiếm khoảng 24 – 40% chủ yếu là glycogen, đây là chất dự trữ tế bào. Theo thành phần cấu tạo thì glycogen giống như amylopectin nhưng khác là khối lượng phân tử lớn hơn. Hàm lượng của nó trong tế bào nấm men phụ thuộc vào môi trường dinh dưỡng. Trong môi trường dư lượng đường, lượng glycogen tăng đáng kể. Dưới tác dụng của α - amilase glycogen sẽ biến thành mantose và dextrin. Ngoài ra nấm men còn chứa polysacharic, trehalose, mannan, glucan và chitin. Những nghiên cứu động học về sự biến đổi năng lượng hydrat cacbon trong quá trình bảo quản nấm men cho thấy là glucan, mannan và dạng glycogen tan trong kiềm và axit clohydric là yếu tố cấu trúc tế bào, trong khi trehalose và glycogen tan trong axit acêtic, là chất tạo năng lượng chính cho tế bào. Hàm lượng trehalose trong nấm men có liên quan đến tính bền vững của nó, lượng trehalose càng cao, nấm men càng bền.

Lipid: chiếm khoảng 2 – 5%, là dinh dưỡng dự trữ của nấm men. Trong nấm men còn chứa các chất tương tự chất béo như lecithin và sterol. Trong đó, quan trọng hơn cả là ergosterol, chất này dễ biến thành vitamin D dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời, còn gọi là tiền vitamin D. Ngoài ra, nấm men còn có vitamin B₂, B₃, B₅ và B₆.

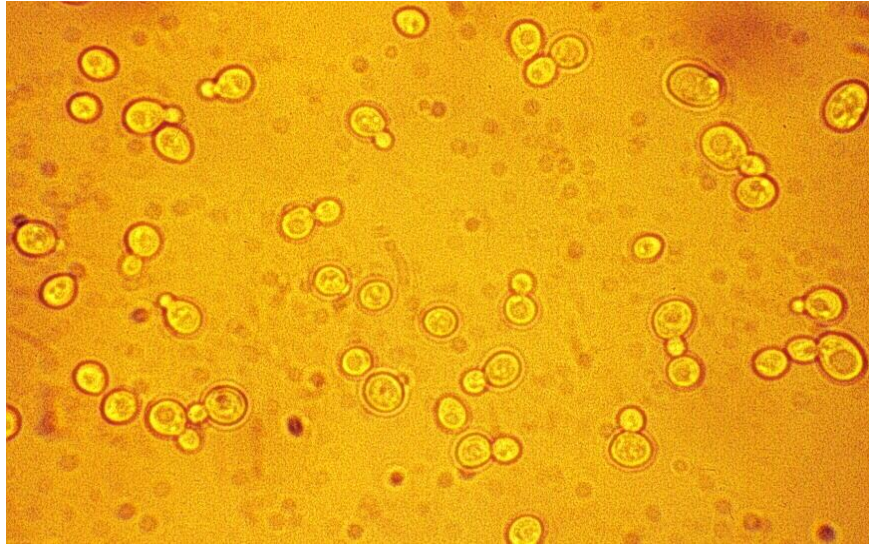
Chất khoáng: chiếm khoảng 5 – 11%, có vai trò quan trọng trong hoạt động của tế bào nấm men, đặc biệt là phospho có trong thành phần photphatid, nucleoprotein. Ngoài ra trong tế bào nấm men còn có chứa các ion kali, natri, canxi, magie, sắt, lưu huỳnh và acid silicic.

2.3.4. Sự sinh sản của tế bào nấm men

➤ Sinh sản bằng cách nảy chồi

Đây là hình thức sinh sản phổ biến nhất của tế bào nấm men. Khi tế bào trưởng thành, nhân sẽ dài ra và thắt lại chính giữa. Trên tế bào mẹ bắt đầu phát triển một chồi con, hoạt động cùng một lúc tế bào mẹ có thể tạo ra nhiều tế bào con ở nhiều hướng khác nhau. Mỗi chồi con sẽ nhận một phần chất nhân và chất nguyên sinh từ tế bào mẹ. khi

chồi con trưởng thành, nó sẽ hình thành một vách ngăn để tách khỏi tế bào mẹ và sống độc lập. Có trường hợp, tế bào con không tách khỏi tế bào mẹ mà tiếp tục nảy chồi tạo một tập hợp tế bào nấm men có dạng xương rồng hay còn gọi là khuẩn ty giả. Kiểu sinh sản nảy chồi thường gặp nấm men giống *Saccharomyces*, *Candida*, *Torulopsis*.



Hình 2.8: Sự nảy chồi của nấm men *S. cerevisiae*

➤ Sự phân chia tế bào

Sinh sản bằng cách phân đôi thường gặp ở nấm men có dạng sợi dài, giống *Schizosaccharomyces*, giống *Endomyces*. Quá trình phân chia giống như ở tế bào vi khuẩn. Lúc đầu tế bào dài ra và thắt lại ở chính giữa. Nơi thắt nhỏ dần tới khi đứt hẳn tạo thành hai tế bào con.

➤ Sinh sản bằng bào tử

Nhiều loài nấm men có khả năng hình thành bào tử. Nấm men thường hình thành bào tử sau 5-10 ngày nuôi cấy trong môi trường mạch nha (Vương Thị Việt Hoa, 1999).

2.4. Công nghệ sản xuất men bánh mì

2.4.1. Vài nét lịch sử

Loài người sử dụng nấm men để làm nở bánh mì từ trước khi biết được hình thái, cấu tạo và đặc tính sinh lý, sinh hóa của chúng.

Lúc đầu, những người Châu Âu để bột mì lên men tự nhiên và làm bánh. Sau đó, vào thế kỷ 17 người Châu Âu bắt đầu không cho bột mì lên men tự nhiên nữa, mà sử dụng nấm men bia để nhào bột. Kết quả của việc này là làm khối bột nở đều hơn, bánh thơm hơn, đặc biệt là không chua như cho ủ tự nhiên.

Lúc đầu, người Châu Âu chỉ biết hót lớp bột ở trên dịch lên men và đem làm bánh mì. Lớp bột này chứa nhiều tế bào nấm men chết, do đó rất khó bảo quản và đôi khi làm hư quá trình làm bánh. Họ đã cố gắng khắc phục nhược điểm này bằng cách loại bỏ phần nước và cho bột khoai tây vào cặn men bia, lấy vải ép bỏ được nhiều nước trong cặn men bia.

Năm 1850 bắt đầu giai đoạn quan trọng trong sự phát triển của công nghệ sản xuất nấm men bánh mì. Người Châu Âu đã biết sản xuất sinh khối nấm men bánh mì dạng nhão (dạng paste). Lúc đầu họ lấy cặn nấm men từ quá trình sản xuất rượu, chuyển cặn nấm men này sang thùng đựng nấm men, rửa sạch nấm men bằng nước lạnh và đưa vào máy ép.

Nhà máy đầu tiên vừa sản xuất rượu vừa sản xuất nấm men ép là nhà máy của nước Áo được xây dựng vào năm 1860. Từ đó, phương pháp sản xuất này được phát triển rất rộng rãi ở các nước Châu Âu. Theo phương pháp này, bắp được nghiền nhỏ, nấu với axit yếu và được thủy phân bằng malt đại mạch. Người ta thường cho hai phần bột bắp và một phần đại mạch để tiến hành thủy phân. Sau 12 giờ tiến hành lên men, khi khối lên men sủi rất nhiều bọt, người ta lấy hết phần bọt này, làm lạnh và cho đi ép, còn lại đem chưng cất để thu rượu mạnh. Hiệu suất của phương pháp này thường rất thấp. Sinh khối nấm men thường chỉ khoảng 9 – 10%, rượu là 30% so với khối lượng nguyên liệu.

Năm 1878, L. Pasteur nghiên cứu ảnh hưởng của oxy đến sự phát triển của nấm men. Kết quả cho thấy khi có mặt của oxy, hiệu suất thu nhận nấm men rất cao. Kết quả nghiên cứu của L. Pasteur được phổ biến rộng rãi ở các nước Châu Âu. Khó khăn nhất trong việc cung cấp oxy cho quá trình lên men là do người Châu Âu sử dụng môi trường nhão, nên oxy rất khó phân tán đều và khó thổi khí cho toàn bộ khối nhão này.

Sau đó, năm 1886, người Châu Âu bắt đầu thay đổi môi trường. Người ta không dùng môi trường nhão nữa mà sử dụng dịch nước đường. Phương pháp này lần đầu tiên được áp dụng tại nhà máy Gianthan (nước Anh). Người ta sử dụng nước đường từ quá trình thủy phân bột lúa mì hay đại mạch để sản xuất nấm men. Cứ 100 kg bột người ta thu được 18 – 20 kg nấm men và 20 – 22 lít rượu. Tuy nhiên, chất lượng nấm men vẫn chưa tốt.

Năm 1900, người ta sử dụng máy ly tâm tốc độ cao để tách nước ra khỏi nấm men và phương pháp nuôi nấm men được hoàn thiện dần. Lúc đầu người ta nuôi cấy

nấm men ở 15 – 17°C, hiệu suất tăng hơn bình thường từ 2 – 8%. Sau đó, người ta nuôi nấm men ở nhiệt độ cao hơn (25 – 30°C) với dung dịch đường 4%, lượng khí thổi vào là 50 – 80 m³/giờ cho một m³ môi trường. Kết quả đạt được rất tốt: cứ 100 kg bột đem thủy phân và nuôi nấm men sẽ thu được 30 – 40 kg nấm men và 12 – 15 lít cồn.

Sau đó, kỹ thuật nuôi nấm men được cải tiến. Người ta thay bột thủy phân bằng mật rỉ hoặc phế liệu nhà máy đường, nhà máy bánh kẹo. Lượng đường dùng để lên men cũng giảm hơn, lưu lượng khí được tăng lên để tăng khả năng hô hấp của nấm men.

Năm 1916, xuất hiện nhà máy đầu tiên thực hiện các cải tiến này. Người ta cũng biết cho vào dịch lên men các muối vô cơ như muối phospho và kết quả là hiệu suất thu nhận nấm men từ 35 – 45% đã tăng lên 55 – 65%.

Năm 1940, nhà máy men bánh mì lớn nhất Châu Âu, với công suất 16500 tấn/năm được khánh thành ở Moscow. Từ đó đến nay, hầu như nước nào ở Châu Âu cũng có hàng chục nhà máy lớn nhỏ sản xuất nấm men bánh mì.

Ngày nay, men bánh mì được sản xuất rộng khắp trên thế giới với sản lượng 2,5 triệu tấn/năm. Việc áp dụng các kỹ thuật hiện đại vào trong sản xuất, ngành công nghiệp nấm men đã không ngừng mở rộng và phát triển. Ngoài ra, các ngành công nghiệp lên men hình thành trên cơ sở vi sinh đã thừa hưởng các thành quả từ những đổi mới không ngừng của ngành công nghệ nấm men, bao gồm các quá trình sản xuất các enzyme, amino acid, và vitamin hoặc các chất thuộc lĩnh vực y học như hoocmon, vacxin, kháng sinh v.v. (Nguyễn Đức Lượng, 2002).

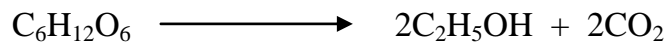
2.4.2. Tình hình sản xuất men bánh mì ở Việt Nam

Ở Việt Nam nhu cầu về men bánh mì ngày càng tăng và hiện đang ở mức khá cao: khoảng 4 – 5 tấn/ngày. Trong khi đó, chỉ có khoảng 15 cơ sở đang sản xuất men bánh mì, chủ yếu là tư nhân với trang thiết bị còn thô sơ, quy trình công nghệ lạc hậu. Do vậy, việc sản xuất men bánh mì còn nhiều nhược điểm, trong đó phải kể đến: hiệu suất men thấp, chất lượng không ổn định, bảo quản phức tạp và tốn kém (Nguyễn Đăng Diệp, 1995).

2.4.3. Vai trò của nấm men trong sản xuất bánh mì

Trong công nghệ sản xuất bánh mì, giai đoạn lên men bột mì đóng vai trò quyết định đến chất lượng bánh mì. Quá trình lên men được thực hiện bởi nấm men. Khi đó

nấm men sẽ chuyển hóa đường có trong bột mì thành cồn và CO₂ theo phương trình phản ứng sau:



Chính CO₂ sẽ là tác nhân làm bánh mì nở. Khi CO₂ được tạo thành sẽ bị giữ lại trong các mạng gluten. Gluten trong bột mì là loại protein rất đặc biệt, chúng có tính chất đàn hồi và tạo mạng. Các protein khác không có đặc tính này. Khi nướng bánh mì ở nhiệt độ cao, CO₂ sẽ tăng thể tích, mạng gluten sẽ căng ra và tạo thành những túi chứa CO₂.

Khi nhiệt độ cao hơn, CO₂ sẽ thoát ra khỏi túi chứa đó và tạo ra những lỗ xốp trong bánh, kết quả là bánh có độ xốp. Khả năng lên men càng mạnh, độ xốp của bánh càng nhiều, bánh càng nở và thể tích bánh càng tăng. Tuy nhiên, không phải thể tích bánh lớn quyết định đến chất lượng của bánh mì. Mức độ tăng thể tích của bánh chỉ nói lên khả năng lên men bột mì của nấm men. Các nước sản xuất bánh mì có yêu cầu mức tăng thể tích rất khác nhau. Điều này phụ thuộc vào thói quen khi sử dụng bánh mì.

Trong sản xuất bánh mì hiện nay ở các nước Châu Âu, người ta sử dụng ba dạng nấm men để làm nở bánh:

- Dạng nấm men lỏng.
- Dạng nấm men nhão (paste).
- Dạng nấm men khô.

➤ Nấm men dạng lỏng

Nấm men dạng lỏng có ưu điểm là dễ sử dụng và hoạt lực làm nở bánh rất cao. Tuy nhiên, nấm men lỏng cũng có nhược điểm rất lớn là khó bảo quản: thời gian sử dụng chỉ nằm trong giới hạn 24 giờ sau khi sản xuất. Chính vì thế, việc sản xuất và sử dụng nấm men dạng lỏng thường được tổ chức như một phân xưởng riêng trong những cơ sở sản xuất bánh mì mang tính chất tự cung tự cấp mà không mang tính chất thương phẩm bán trên thị trường.

Nấm men lỏng là một dạng sản phẩm thu nhận được ngay sau khi quá trình lên men hiếu khí kết thúc. Người ta thu nhận dịch lên men có chứa sinh khối nấm men đang phát triển này để sản xuất bánh mì. Khi sử dụng dịch nấm men này làm bánh mì, người ta thường phải sử dụng với khối lượng lớn (thường từ 1 – 10% so với khối

lượng bột mì đem sử dụng). Khi sử dụng nấm men lỏng cần lưu ý đến chất lượng dịch nấm men. Trong trường hợp dịch nấm men này bị nhiễm các vi sinh vật lạ sẽ gây ra nhiều quá trình lên men khác nhau khi ta tiến hành ủ bột mì. Mặt khác, ta sử dụng toàn bộ dịch sau lên men cũng có nghĩa sử dụng cả sản phẩm trao đổi chất của quá trình lên men này. Như thế nếu dịch lên men bị lẫn quá nhiều các sản phẩm khác nhau từ quá trình lên men thu sinh khối sẽ làm giảm chất lượng cảm quan của bánh mì.

Hiện nay nhiều cơ sở sản xuất bánh mì ở các nước Châu Âu và Châu Mỹ không sử dụng nấm men lỏng mà sử dụng chủ yếu nấm men dạng paste và dạng khô.

➤ Nấm men dạng paste

Nấm men paste là khối nấm men thu được sau khi ly tâm nấm men lỏng. Nấm men paste thường có độ ẩm khoảng 70 – 75%. Nấm men paste thường có hoạt lực làm nở bánh kém hơn nấm men lỏng do trong quá trình ly tâm và thời gian kéo dài, nhiều tế bào nấm men bị chết. Nếu được bảo quản lạnh ở 4 – 7°C, ta có thể sử dụng nấm men paste trong khoảng 10 ngày. Như vậy, nếu chuyển nấm men lỏng sang nấm men paste ta kéo dài được thời gian sử dụng và thuận lợi trong vận chuyển. Ở nhiều nước nhiều cơ sở sản xuất bánh mì cũng thường sử dụng nấm men paste. Liều lượng sử dụng nấm men paste thường 1 – 5%, tùy theo chất lượng nấm men.

➤ Nấm men khô

Nấm men khô được sản xuất từ nấm men paste. Người ta sấy nấm men paste ở nhiệt độ < 40°C hoặc sử dụng phương pháp sấy thăng hoa. Nấm men khô thường có lực nở không cao nhưng có ưu điểm rất lớn là thời gian sử dụng rất lâu và dễ dàng vận chuyển.

Men khô không đòi hỏi phải có nước đường để chúng hoạt hóa trở lại mà có thể phục hồi hoạt tính ngay tức khắc chỉ với nước (nếu ẩm độ ≤ 5%). Vì thế, sử dụng men khô, bánh mì có vị ngon có thể được sản xuất trong một thời gian rất ngắn.

Nấm men khô thương mại có thể được phân chia thành hai loại, tùy thuộc vào phương pháp sản xuất và thành phần của chúng. Một loại không đòi hỏi bất kỳ điều kiện đặc biệt nào để sản xuất chúng gọi là men khô hoạt tính. Ẩm độ của men này dao động xung quanh 10% và ở dạng hạt thông thường, nhưng chỉ bảo quản được trong thời gian ngắn. Loại còn lại được gọi là men khô tác dụng nhanh. Loại này có ẩm độ khoảng 4% và thời gian tồn trữ dài khoảng một đến vài năm trong bao bì chân không (Nguyễn Đức Lượng, 2002).

2.4.4. Công nghệ sản xuất

➤ Nguyên liệu dùng trong sản xuất nấm men bánh mì

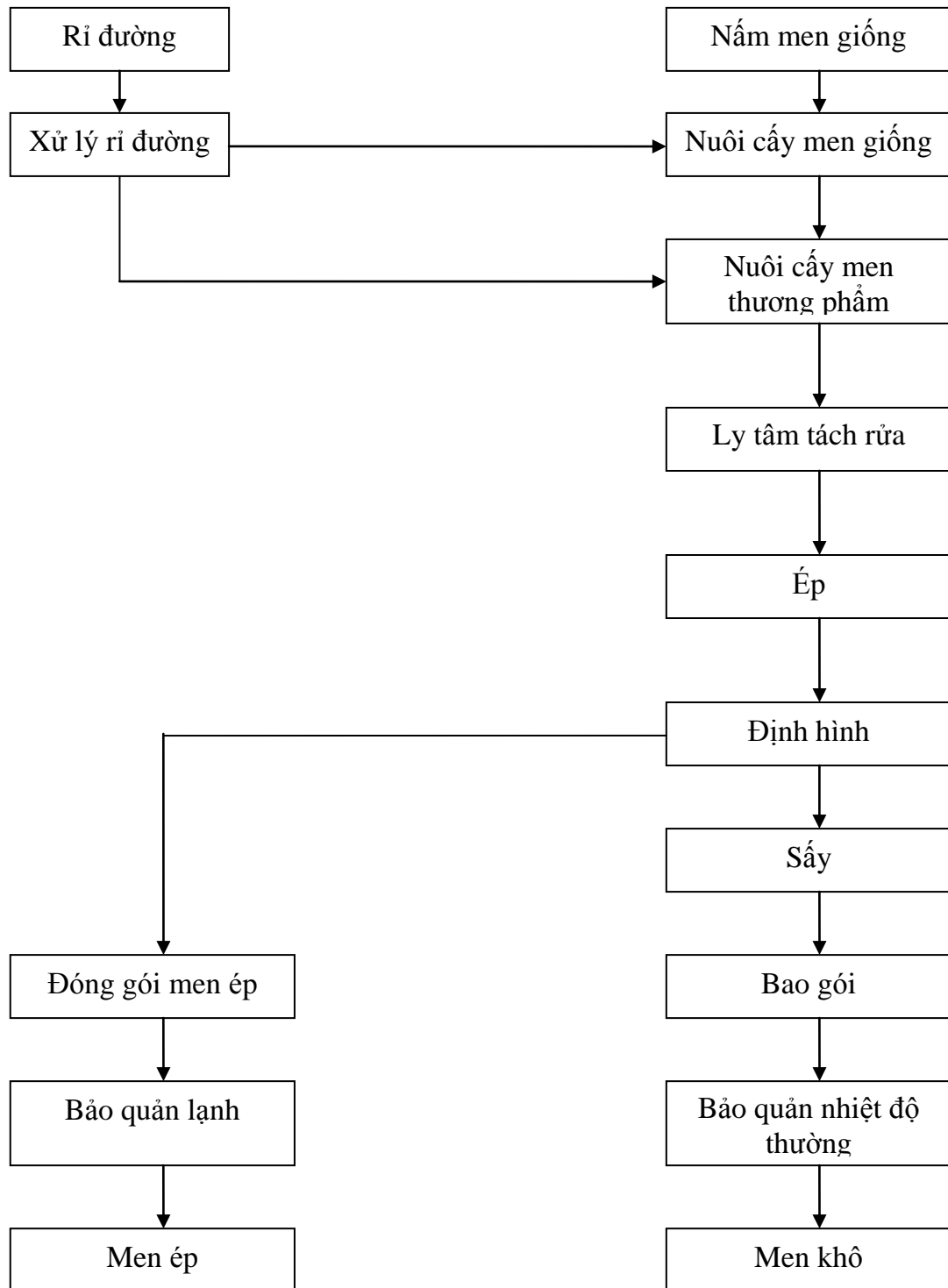
Để sản xuất nấm men bánh mì chất lượng cao, người ta sử dụng các loại nguyên liệu sau:

- Nước: Nước sử dụng trong sản xuất nấm men bánh mì là nước sử dụng trong sinh hoạt (nước máy). Trường hợp sử dụng nước giếng hoặc nước bề mặt khác phải xử lý chúng để chất lượng các loại nước này đạt chất lượng nước máy dùng cho sinh hoạt. Nước được coi như nguyên liệu chính dùng trong sản xuất vì đây là công nghệ lên men chìm hiếu khí.
 - Nguồn hydratcacbon: Hydratcacbon sử dụng trong sản xuất nấm men bánh mì là đường có trong mật rỉ. Như vậy mật rỉ là nguyên liệu chính thứ hai dùng trong sản xuất nấm men bánh mì. Mật rỉ có hai loại: mật rỉ từ quá trình sản xuất đường từ củ cải đường và từ cây mía. Mật rỉ từ cả hai nguồn nguyên liệu khác nhau này có rất nhiều đặc điểm vật lý và hóa học giống nhau. Trong sản xuất nấm men bánh mì, ngoài hàm lượng đường ra, người ta còn quan tâm đến ba vấn đề có ảnh hưởng quyết định đến chất lượng nấm men bánh mì:
 - Hàm lượng biotin (vitamin H).
 - Hệ keo.
 - Màu sẫm của mật rỉ
 - Nguồn phospho và nitơ: Trong sản xuất nấm men bánh mì người ta thường sử dụng urea như nguồn chứa nitơ và diamonphotphat như nguồn chứa nitơ và photpho. Ngoài ra, có rất nhiều hợp chất vô cơ khác của photpho và nitơ đều có thể sử dụng để nuôi cấy nấm men bánh mì. Tuy nhiên, hai nguồn nitơ và diamonphotpho (DAP) là những loại phân vô cơ được sử dụng nhiều trong nông nghiệp, dễ mua và rẻ hơn rất nhiều so với các chất khác nên chúng được sử dụng nhiều trong sản xuất nấm men bánh mì. Lượng DAP sử dụng là 0,15 – 0,3%.
 - Nguồn kali và magie: Trong sản xuất sinh khối nấm men, người ta sử dụng K₂CO₃ và KCl như những nguồn kali và MgSO₄.7H₂O hoặc MgCl₂ như nguồn cung cấp magie (Nguyễn Đức Lượng, 2002).
- Vi Sinh Vật trong sản xuất nấm men bánh mì

Để sản xuất men bánh mì người ta gần như chỉ sử dụng chủng *Saccharomyces cerevisiae*. Đó phải là chủng rất bền nhiệt, có thể sinh sản nhanh và đồng thời kéo dài được hoạt tính enzyme ở nhiệt độ cao hoặc ở nhiệt độ rất thấp. Cũng đã có nhiều nghiên cứu tìm cách sử dụng các loài *Torula*, *Candida* và *Oospora* để sản xuất men bánh mì, nhưng cho đến nay người ta vẫn chưa thành công trong việc sử dụng các loài này để sản xuất men bánh mì ở quy mô công nghiệp (Nguyễn Đức Lượng, 2002).

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* dùng trong sản xuất bánh mì phải đảm bảo những yêu cầu sau:

- Tế bào nấm men có kích thước lớn, đều, có khả năng phát triển mạnh và chịu được nhiệt độ cao.
 - Có hoạt lực enzyme zymase < 45 phút (giá trị này được xác định khi cho nấm men (2,5%) lên men 20ml dung dịch đường 5%, giải phóng ra được 10ml CO₂).
 - Hoạt lực maltose < 75 phút (giá trị này biểu thị thời gian cần thiết để giải phóng 10ml CO₂ lên men 20ml dung dịch 5% mantose với hàm lượng nấm men 5%). Chỉ số này dùng để đánh giá khả năng lên men đường mantose của nấm men.
 - Lực nở bột < 5 phút (giá trị này biểu thị thời gian cần thiết để làm nở 280g bột với 160ml dung dịch NaCl 2,5% và lượng nấm men là 5g).
 - Độ bền của nấm men > 72 giờ (xác định sự thay đổi thời gian làm nở bột của nấm men lúc ban đầu và sau một thời gian bảo quản nhất định. Nếu độ bền của nấm men cao thì sau 72 giờ bảo quản ở nhiệt độ 0 – 4⁰C. Thời gian làm nở bánh không được tăng quá 5 phút).
- Công nghệ sản xuất



Hình 2.9: Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất nấm men bánh mì

- Nuôi giống nấm men

Nuôi giống nấm men là quá trình tăng dịch nấm men giống sau mỗi chu kỳ nuôi. Cứ mỗi một chu kỳ nuôi, lượng dịch nấm men giống tăng từ 5-10 lần dung tích trước đó. Ta cứ tiến hành như vậy cho tới khi nào đạt được khối lượng nấm men giống cần thiết cho quá trình sản xuất.

Điều kiện nuôi:

- Môi trường dịch nha hay môi trường nước đường có 2-4% đường, bổ sung thêm một số nuôi dinh dưỡng.
- Môi trường phải được thanh trùng và làm nguội trước khi cho giống nấm men vào hay chuyển từ chu kỳ trước sang chu kỳ sau.
- Nhiệt độ lên men là 26-30°C.
- pH dịch nuôi 4,0-4,5.
- Thời gian nuôi từ 10-24 giờ.
- Nuôi trên máy lắc hay thổi khí vô trùng tùy theo dung tích bình nuôi cấy.

- Nuôi nấm men thương phẩm theo chu kỳ

Trong giai đoạn nuôi và cấy cần phải lưu ý mấy vấn đề sau:

- Thành phần môi trường: môi trường nuôi cấy nấm men thương phẩm không khác nhiều so với môi trường nuôi cấy trong quá trình nhân giống. Tuy nhiên thành phần môi trường phải tuyệt đối ổn định để chất lượng nấm men đồng đều ở tất cả các mẻ nuôi trong suốt quá trình sản xuất và môi trường nuôi cấy phải vô trùng.
- Thiết bị nuôi nấm men vừa có dung tích thích hợp, vừa thuận lợi cho việc nạp môi trường, phá bọt cũng như thu nhận sản phẩm. Thiết bị phải được lắp đặt hợp lý hệ thống thổi khí, hệ thống cánh khuấy và tấm cản dòng chuyển động của môi trường để làm tăng quá trình trao đổi chất của vi sinh vật.
- Việc cung cấp oxy cho quá trình tạo sinh khối rất cần thiết. Oxy là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Vi sinh vật nhất là nấm men không thể sử dụng oxy ở dạng hòa tan trong môi trường lỏng. Lượng oxy hòa tan trong nước rất ít. Trong quá trình phát triển, nấm men sẽ nhận oxy hòa tan và như

vậy lượng oxy hòa tan sẽ giảm, do đó cần phải cung cấp oxy từ bên ngoài thiết bị. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là loài vi sinh vật hiếu khí tùy tiện. Nếu chỉ thiếu oxy trong một thời gian ngắn, ngay lập tức chúng chuyển quá trình lên men hiếu khí sang quá trình lên men yếm khí. Như vậy lượng sinh khối tạo thành rất ít và đường sẽ được chuyển hóa theo các chu trình đường phân cả các chu trình khác để cuối cùng tạo ra những sản phẩm trao đổi chất bậc hai. Do đó, quá trình nuôi cấy nấm men thu nhận sinh khối bắt buộc phải được cung cấp oxy liên tục. Nhu cầu cung cấp oxy cho quá trình phát triển của nấm men không phải lúc nào cũng giống nhau. Do đó, ta phải thay đổi mức độ cung cấp oxy theo đúng nhu cầu thực của nấm men. Trong sản xuất nấm men bánh mì, người ta thường kết thúc quá trình nuôi nấm men ở giai đoạn tăng trưởng, bởi vì, một trong những yêu cầu quan trọng của nấm men bánh mì là số lượng tế bào nấm men sống phải chiếm đại đa số nên không thể đợi đến giai đoạn cân bằng mới tiến hành thu nhận sinh khối, làm như vậy nấm men thu được sẽ chứa rất nhiều tế bào già. Trong nuôi cấy nấm men bánh mì, người ta thường nuôi trong khoảng thời gian 8-16 giờ, tối đa là 16 giờ.

Nuôi cấy nấm men theo chu kỳ có nhược điểm:

- ✓ Tốn nhiều thời gian cho giai đoạn vệ sinh thiết bị và điều kiện sản xuất.
- ✓ Sinh khối nấm men thu nhận được bao gồm cả tế bào mới sinh trưởng, tế bào trưởng thành và tế bào già.
- ✓ Bị tác động mạnh bởi chất dinh dưỡng và hàm lượng khá cao ngay từ thời gian mới nuôi cấy.

- Nuôi cấy nấm men thương phẩm theo phương pháp liên tục

Để khắc phục các nhược điểm của phương pháp nuôi cấy theo chu kỳ, người ta thực hiện phương pháp nuôi cấy liên tục. Ưu điểm lớn nhất của phương pháp này là năng suất tăng và tế bào nấm men luôn luôn được đổi mới chất dinh dưỡng.

Phương pháp nuôi cấy liên tục còn cho phép ta kiểm soát và điều khiển dễ dàng quá trình. Điều lưu ý là việc cung cấp oxy là phải liên tục và có cùng một mức độ. Đây là điểm khác biệt giữa phương pháp liên tục và phương pháp theo chu kỳ. Mức độ

cung cấp không khí trong phương pháp này là $80-100\text{m}^3/\text{giờ}/\text{m}^3$ môi trường suốt quá trình nuôi cấy.

➤ Thu nhận sinh khối nấm men dạng paste

Ngay sau khi kết thúc quá trình lên men, người ta phải thu nhận sinh khối nấm men ngay. Nếu để nấm men ở trong dịch nuôi cấy sẽ làm biến đổi chất lượng nấm men, trong đó hoạt tính zinase và maltase sẽ giảm rất mạnh.

Để tách nấm men ra khỏi dung dịch lên men, người ta thường dùng phương pháp ly tâm. Thiết bị ly tâm nấm men thường được thiết kế riêng và có hệ thống nước lạnh để rửa nấm men trong suốt quá trình ly tâm. Người ta phải sử dụng nước lạnh để tránh hiện tượng mất hoạt tính enzyme của nấm men.

Nấm men sau khi ly tâm gọi là nấm men dạng nhão (nấm men paste), còn chứa rất nhiều nước ở dạng tự do. Hàm lượng nước có nhiều trong sinh khối này sẽ làm giảm chất lượng nấm men, do đó, người ta phải ép sinh khối này.

➤ Thu nhận nấm men dạng khô

Từ nấm men dạng paste, người ta đem sấy để thu được nấm men dạng khô. Nấm men khô thường có độ ẩm $< 10\% \text{ w}$. Nếu độ ẩm nấm men khô $> 10\% \text{ w}$ rất khó bảo quản (Nguyễn Đức Lượng, 2002).

2.5. Chất phụ gia

2.5.1. Khái niệm chất phụ gia

Phụ gia thực phẩm là những chất không được coi là thực phẩm hay là một phần chủ yếu của thực phẩm, có ít hoặc không có giá trị dinh dưỡng. Được chủ động thêm vào một lượng nhỏ an toàn cho sức khỏe, nhằm duy trì chất lượng, hình dạng, mùi vị, độ kiềm hay độ axit của thực phẩm, đáp ứng nhu cầu về công nghệ trong sản xuất chế biến, đóng gói, vận chuyển, bảo quản thực phẩm v.v.

Trong sản xuất men bánh mì khô thu nhận bằng phương pháp sấy thăng hoa thì một số chất đã được sử dụng để bảo vệ nấm men: Sữa gạn kem (skim milk), dextran, mật ong, glutamate, trehalose, polyvinyl- pyrolidone (PVP), carboxymethyl cellulose v.v.

2.5.2. Hiệu quả bảo vệ của các chất phụ gia đến khả năng sống sót của tế bào nấm men

Thành phần của môi trường có hai chức năng chính trong việc bảo vệ sự sống của tế bào trong quá trình đông khô (J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991):

- Cung cấp các chất với cấu trúc cố định có chức năng như là những chất hỗ trợ trong sự hấp thụ nước của tế bào.
- Bảo vệ các yếu tố sinh hóa của tế bào sống để chống lại sự hủy hoại tế bào trong suốt quá trình đông khô.

Tỉ lệ tồn tại của tế bào không phụ thuộc vào cấu trúc của các chất, mà nó phụ thuộc vào tỉ lệ pha trộn giữa các chất.

Tỉ lệ tồn tại của tế bào *Saccharomyces cerevisiae* trong skim milk là 30%, trong dextran là 24%, trong carboxymethyl cellulose (CMC) là 20% và trong trehalose là 74%.

Sữa gạn kem (skim milk) đã được sử dụng rộng rãi, sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp với những chất khác, theo Heckly (1961), Butterfield (1974), Malik (1976), Smith và Onion (1983) (trích dẫn bởi J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991). Skim milk có tác dụng tốt trong việc bảo vệ tế bào nấm men với tỉ lệ sống sót khoảng 30%. Tuy nhiên, skim milk có tác dụng bảo vệ kém đối với *B. bruxellensis* và không có tác dụng bảo vệ đối với *Arthrotrys arthrotryides*.

Polyvinyl pyrrolidone (PVP) đã được báo cáo như là một chất bảo vệ tốt cho catalase và những hệ thống sinh học khác, theo Ashwood-Smith và Farrand (1972) (trích dẫn bởi J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991). Tuy nhiên, PVP không có tác dụng trong việc bảo vệ đối với nấm men *Cryptococcus terricolus*. PVP cũng không có tác dụng tốt cho sự tồn tại của *B. bruxellensis* và *A. arthrotryoides*. Trong thí nghiệm trên nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, PVP có tác dụng bảo vệ sự tồn tại của tế bào khoảng 15%, chỉ bằng một nửa tỉ lệ tồn tại đạt được trong skim milk.

Carboxymethyl cellulose (CMC), hydroxymethyl cellulose (HMC) cũng có tác dụng bảo vệ sự tồn tại của nấm men *S. cerevisiae* khoảng 20%, nhưng không có hiệu quả đối với *B. bruxellensis* và *A. arthrotryoides*.

Inositol thì rất hiệu quả khi kết hợp với skim milk trong việc bảo vệ vi khuẩn chống lại sự phá hủy tế bào trong quá trình đông khô, theo Malik (1976, 1988) (trích dẫn bởi J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991). Inositol còn được xem là yếu tố gây hại đối với nấm men trong quá trình đông khô, theo Hieda và Ito (1973) (trích dẫn bởi J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991). Tuy nhiên, trong quá trình đông khô tế bào *S. cerevisiae* thì hiệu quả của inositol tùy thuộc vào chất được kết hợp với nó. Khi 5% inositol + 10% skim milk thì làm giảm sự tồn tại của tế bào khoảng 5%, khi 5%

inositol + 20% skim milk thì không làm thay đổi sự tồn tại của tế bào, nhưng khi 5% inositol + 5% dextran thì làm gia tăng sự tồn tại của tế bào khoảng 7%, nhưng khi dùng 7,5% inositol mà có sự hiện diện của sodium glutamate thì sẽ làm giảm sự tồn tại của tế bào, ví dụ: 7,5% inositol + 5% dextran + 1% glutamate thì sẽ làm giảm sự tồn tại của tế bào từ 65% xuống 20%.

Sodium glutamate đã được dùng để bảo vệ nấm men trong quá trình đông khô, theo Hieda và Ito (1973) và vi khuẩn theo Ashwood-Smith và Warby (1972) (trích dẫn bởi J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991). Sodium glutamate (5%) thì bảo vệ tế bào *T. viride* hoặc tế bào *S. cerevisiae* không tốt hơn skim milk khi sử dụng ở dạng đơn. Sodium glutamate không có hiệu quả cho sự tồn tại của *B. bruxellensis* hoặc *A. arthrobotryoides*. Nhưng khi kết hợp với 10% hoặc 20% skim milk thì nó sẽ cải thiện sự tồn tại của *B. bruxellensis*, nhưng không có hiệu quả đối với *A. arthrobotryoides*. Sodium glutamate chỉ có hiệu quả khi được kết hợp với 10% hoặc 20% skim milk và cộng với một trong các loại đường sau: 10% trehalose, 10% raffinose, 5% hoặc 10% mật ong.

Mật ong đã được sử dụng như là một hỗn hợp tự nhiên mà có chứa nhiều thành phần khác nhau, rất tốt cho việc bảo vệ tế bào vi khuẩn trong quá trình đông khô, theo Malik (1976) (trích dẫn bởi J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991). Mật ong cũng bảo vệ rất tốt tế bào *S. cerevisiae* với tỉ lệ sống khoảng 60% và *B. bruxellensis* với tỉ lệ sống khoảng 22%. Mật ong có tác dụng hiệu quả khi kết hợp với 10% skim milk và một chất bảo vệ khác như: 10% trehalose hoặc 5% sodium glutamate.

Dextran là một polymer, khi sử dụng đơn lẻ thì có tác dụng bảo vệ thấp. Tuy nhiên, khi kết hợp với skim milk thì tỉ lệ sống sót có thể đạt khoảng 82%. Dextran khi kết hợp với skim milk và cả mật ong, sodium glutamate, trehalose hoặc raffinose thì tỉ lệ sống sót có thể đạt đến trên 94%.

Trong số các loại đường thì trehalose được nghiên cứu rộng rãi. Chất này có tác dụng bảo vệ cao cho những enzyme trong suốt quá trình đông khô, theo Carpenter (1987) (trích dẫn bởi J. F. Berny và G. L. Hennebert, 1991). Vai trò của nó là ổn định màng sinh học bằng liên kết hydro với đầu phân cực của màng phospholipid.

Chương 3

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Thời gian và địa điểm thực hiện đề tài

Đề tài được tiến hành từ ngày 6/2/2006 đến 18/06/2006 tại Trung Tâm Phân Tích Thí Nghiệm Hóa Sinh-Trường Đại Học Nông TP. Hồ Chí Minh, Khoa Công Nghệ Thực Phẩm-Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, phòng công nghệ sinh học môi trường-Trường Đại Học Nông Lâm Thành TP. Hồ Chí Minh.

3.2. Vật liệu và thiết bị sử dụng

3.2.1. Vật liệu thí nghiệm

- Men bánh mì dạng paste, hiệu Saf – Việt được mua tại công ty men Cát Tường.
- Sữa gạn kem (skim milk) hiệu Table Cape: Skim milk, do Tasmania sản xuất.
- Mật ong nguyên chất, do công ty cô phần mật ong Tp.HCM sản xuất.
- Bột ngọt hiệu AJI-NO-MOTO.
- Bột mì.
- Muối tinh.
- Đường tinh khiết.

3.2.2. Thiết bị thí nghiệm

- Máy sấy thăng hoa.
- Nhiệt kế điện tử đo tốc độ làm lạnh.
- Tủ lạnh : 4°C.
- Tủ đông.
- Bể điều nhiệt dùng để đo độ nở.
- Tủ sấy dùng để xác định ẩm độ.
- Các thiết bị phòng vi sinh: Autoclave, buồng đếm hồng cầu, kính hiển vi, cân v.v.
- Máy đóng gói chân không dùng để chuẩn bị mẫu thí nghiệm, đóng gói sản phẩm sau khi sấy.
- Một số dụng cụ khác: thau, ống đong, màng film v.v

3.3. Phương pháp thí nghiệm

3.3.1. Nguồn men

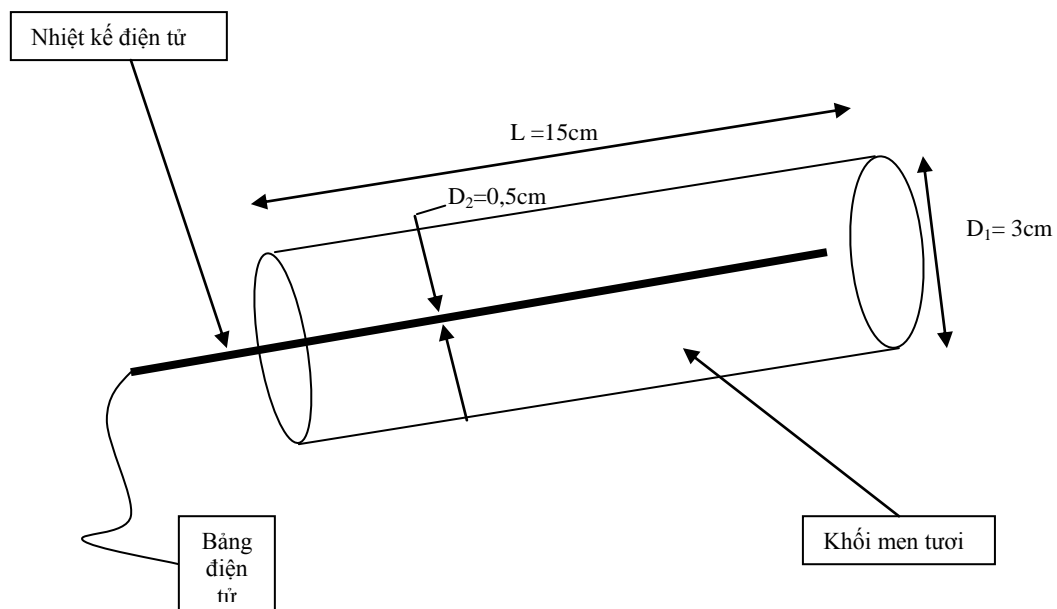
Sử dụng men bánh mì dạng paste hiệu Saf – Việt, sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất.

3.3.2. Thí nghiệm 1: Khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae*

- Mục đích:

Khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men ở hai mức nhiệt độ -20°C và -68°C .

- Chuẩn bị mẫu:



Hình 3.1: Kích thước khối men tươi và bố trí nhiệt kế điện tử

- ✓ Kiểm tra men nguyên liệu ban đầu (ẩm độ), điều chỉnh ẩm độ men đúng ẩm độ cần thí nghiệm.
- ✓ Cân 100g men tươi 2 tuổi bảo quản ở 4°C .
- ✓ Đóng gói men tươi bằng bao plastic tạo thành khối men hình trụ có đường kính 3cm, chiều dài 15cm.
- ✓ Kẹp nhiệt kế vào giữa dọc theo chiều dài khối men như hình 3.1.
- Quy trình:
 - ✓ Đặt khối men đã chuẩn bị vào tủ đông ở nhiệt độ cần khảo sát (mỗi thí nghiệm thực hiện lại ba lần).
 - ✓ Sau những khoảng thời gian xử lý, đọc nhiệt độ hiện trên bảng điện tử của nhiệt kế.
- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm tiến hành ở ẩm độ men 70%, lặp lại 3 lần. Mức thời gian xử lý được chọn tăng dần. Thí nghiệm được bố trí như bảng sau:

Bảng 3.1: Bố trí thí nghiệm 1 ở nhiệt độ - 20°C

Nhiệt độ khảo sát T (°C)	Thời gian t (phút)	Nhiệt độ T (°C)	ΔT	Δt	$\Delta T / \Delta t$
- 20°C	0	T ₀	ΔT_0	Δt_0	C ₀
	1	T ₁	ΔT_1	Δt_1	C ₁
	2	T ₂	ΔT_2	Δt_2	C ₂
	3	T ₃	ΔT_3	Δt_3	C ₃
	4	T ₄	ΔT_4	Δt_4	C ₄
	5	T ₅	ΔT_5	Δt_5	C ₅
	10	T ₆	ΔT_6	Δt_6	C ₆
	15	T ₇	ΔT_7	Δt_7	C ₇
	20	T ₈	ΔT_8	Δt_8	C ₈
	30	T ₉	ΔT_9	Δt_9	C ₉
	40	T ₁₀	ΔT_{10}	Δt_{10}	C ₁₀
	50	T ₁₁	ΔT_{11}	Δt_{11}	C ₁₁
	60	T ₁₂	ΔT_{12}	Δt_{12}	C ₁₂
	90	T ₁₃	ΔT_{13}	Δt_{13}	C ₁₃
120	T ₁₄	ΔT_{14}	Δt_{14}	C ₁₄	

Bảng 3.2: Bố trí thí nghiệm 1 ở nhiệt độ - 68°C

Nhiệt độ khảo sát T (°C)	Thời gian t (phút)	Nhiệt độ T (°C)	ΔT	Δt	$\Delta T / \Delta t$
- 68°C	0	T ₀	ΔT_0	Δt_0	C ₀
	1	T ₁	ΔT_1	Δt_1	C ₁
	2	T ₂	ΔT_2	Δt_2	C ₂
	3	T ₃	ΔT_3	Δt_3	C ₃
	4	T ₄	ΔT_4	Δt_4	C ₄
	5	T ₅	ΔT_5	Δt_5	C ₅
	10	T ₆	ΔT_6	Δt_6	C ₆
	15	T ₇	ΔT_7	Δt_7	C ₇
	20	T ₈	ΔT_8	Δt_8	C ₈
	30	T ₉	ΔT_9	Δt_9	C ₉
	40	T ₁₀	ΔT_{10}	Δt_{10}	C ₁₀
	50	T ₁₁	ΔT_{11}	Δt_{11}	C ₁₁
	60	T ₁₂	ΔT_{12}	Δt_{12}	C ₁₂
	90	T ₁₃	ΔT_{13}	Δt_{13}	C ₁₃
120	T ₁₄	ΔT_{14}	Δt_{14}	C ₁₄	

3.3.3. Thí nghiệm 2: Khảo sát Ảnh hưởng của chất mang và nhiệt độ cấp đông đến chất lượng men khi sấy thăng hoa 24 giờ, cấp đông gián tiếp

- Mục đích:
 - ✓ Chọn chế độ sấy và công thức phụ gia tốt nhất làm cơ sở cho thí nghiệm tiếp theo.
 - ✓ Xác định mối quan hệ giữa các chỉ tiêu sau: số lượng tế bào nấm men, độ nở trung bình và ẩm độ.
- Chuẩn bị mẫu:
 - ✓ Kiểm tra nguyên liệu men ban đầu: ẩm độ, số lượng tế bào và hoạt lực men.
 - ✓ Chuẩn bị đĩa petri đã hấp vô trùng có đường kính 9,5cm, chiều cao là 2cm.
 - ✓ Cân 20g men tươi 2 tuổi, bảo quản ở 4°C cho vào petri.

- ✓ Phối trộn men tươi với chất mang trên petri theo các công thức phối trộn được trình bày bên dưới (mỗi petri được phối trộn theo 1 công thức).
- Quy trình:
 - ✓ Cho các mẫu đã chuẩn bị vào tủ đông ở nhiệt độ mong muốn, để trong 24 giờ.
 - ✓ Đặt vào máy sấy.
 - ✓ Vận hành máy sấy thăng hoa, sấy trong 24 giờ.
 - ✓ Thu men và đóng gói.
 - ✓ Bảo quản ở 4°C trong 24 giờ.
 - ✓ Kiểm tra các chỉ tiêu: ẩm độ, số lượng tế bào và hoạt lực men.

- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm tiến hành ở men có ẩm độ 70%, lặp lại ba lần. Chỉ sử dụng ba chất phụ gia là: Sữa gạn kem (skim milk), mật ong và bột ngọt theo công thức pha chế như sau:

- ✓ DC=thí nghiệm thức tốt trong thí nghiệm của LÊ VĂN BÌNH (2005):
men tươi + sữa gạn kem 10% + mật ong 10% + bột ngọt 5%.
- ✓ A = men tươi + sữa gạn kem 20% + mật ong 10% + bột ngọt 15%.
- ✓ B = men tươi + sữa gạn kem 15% + mật ong 5% + bột ngọt 10%.
- ✓ C = men tươi + sữa gạn kem 15% + mật ong 5% + bột ngọt 5%.
- ✓ D = men tươi + sữa gạn kem 20% + mật ong 10% + bột ngọt 10%.
- ✓ E = men tươi + sữa gạn kem 15% + mật ong 5% + bột ngọt 15%.

Bảng 3.3: Bố trí thí nghiệm 2

Nhiệt độ cấp đông (°C)	Công thức phụ gia
-20°C	DC
	A
	B
	C
	D
	E
-68°C	DC
	A
	B
	C
	D
	E

3.3.4. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men lên chất lượng men khi sấy thăng hoa trong 24 giờ, cấp đông gián tiếp

- Mục đích:
 - ✓ Sử dụng nghiệm thức tốt ở thí nghiệm 2 để thực hiện thí nghiệm 3.
 - ✓ Chọn chế độ sấy và bề dày men tốt nhất làm cơ sở cho thí nghiệm tiếp theo.
 - ✓ So sánh chất lượng men khi sấy thăng hoa giữa các bề dày men 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm.
 - ✓ Xác định mối quan hệ giữa các chỉ tiêu sau: số lượng tế bào nấm men, độ nở trung bình và ẩm độ.
- Chuẩn bị mẫu:
 - ✓ Kiểm tra nguyên liệu men ban đầu: ẩm độ, số lượng tế bào và hoạt lực men.
 - ✓ Chuẩn bị các đĩa petri hấp vô trùng có đường kính 9,5cm, chiều cao là 2cm.
 - ✓ Cân 180g men tươi cho vào một becher 600ml.
 - ✓ Cho chất mang vào theo tỉ lệ phối của nghiệm thức tốt nhất ở thí nghiệm 2.
 - ✓ Trộn đều hỗn hợp trong becher.

- ✓ Phân phối men đã phối trộn vào các đĩa petri tạo thành các bề dày 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm.
- Quy trình:
 - ✓ Cho mẫu vào tủ đông ở nhiệt độ mong muốn, để trong 24 giờ.
 - ✓ Đặt vào máy sấy.
 - ✓ Vận hành máy sấy thăng hoa, sấy trong 24 giờ.
 - ✓ Thu men và đóng gói.
 - ✓ Bảo quản ở 4°C trong 24 giờ.
 - ✓ Kiểm tra các chỉ tiêu: ẩm độ, số lượng tế bào và hoạt lực men.
- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm tiến hành ở men có ẩm độ 70%, lặp lại ba lần. Chỉ sử dụng ba chất phụ gia là: Sữa gạn kem (skim milk), mật ong và bột ngọt theo công thức pha chế ở nghiệm thức tốt trong thí nghiệm 2.

Bảng 3.4: Bố trí thí nghiệm 3

Bề dày lớp vật liệu men (mm)	Số lần lặp lại		
	1	2	3
1			
4			
8			
12			
16			

3.3.5. Thí nghiệm 4: Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men men, cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp lên chất lượng men khi sấy thăng hoa 24 giờ

- Mục đích:
 - ✓ Sử dụng nghiệm thức tốt ở thí nghiệm 2 và thí nghiệm 3 để thực hiện thí nghiệm 4.
 - ✓ So sánh chất lượng men giữa hai bề dày tốt chọn ở thí nghiệm 3 và giữa hai phương pháp cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp.
 - ✓ Chọn ra nghiệm thức tốt.

- ✓ Xác định mối quan hệ giữa các chỉ tiêu sau: số lượng tế bào nấm men, độ nở trung bình và ẩm độ.
- Chuẩn bị mẫu:
 - ✓ Kiểm tra nguyên liệu men ban đầu: ẩm độ, số lượng tế bào và hoạt lực men.
 - ✓ Chuẩn bị các đĩa petri hấp vô trùng có đường kính 9,5cm, chiều cao là 2cm.
 - ✓ Cân 150g men tươi cho vào một becher 600ml.
 - ✓ Cho chất mang vào theo tỉ lệ phối của nghiệm thức tốt nhất ở thí nghiệm 2.
 - ✓ Trộn đều hỗn hợp trong becher.
 - ✓ Phân phối men đã phối trộn vào các đĩa petri tạo thành bề dày men theo nghiệm thức tốt ở thí nghiệm 3.
- Quy trình:
 - ✓ Nếu cấp đông gián tiếp thì đặt mẫu vào tủ đông trong 24 giờ, sau đó sấy mẫu trong 24 giờ.
 - ✓ Nếu cấp đông trực tiếp thì đặt mẫu trực tiếp vào buồng sấy của máy sấy thăng hoa, sấy trong 24 giờ.
 - ✓ Thu men và đóng gói.
 - ✓ Bảo quản ở 4°C trong 24 giờ.
 - ✓ Kiểm tra các chỉ tiêu: ẩm độ, số lượng tế bào và hoạt lực men.
- Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm tiến hành ở men có ẩm độ 70%, lặp lại ba lần. Chỉ sử dụng ba chất phụ gia là: Sữa gạn kem (skim milk), mật ong và bột ngọt theo công thức pha chế ở nghiệm thức tốt trong thí nghiệm 2 và bề dày men ở nghiệm thức tốt trong thí nghiệm 3. Cấp đông mẫu trong tủ đông và cấp đông trực tiếp trong buồng sấy của máy sấy.

Bảng 3.5: Bố trí thí nghiệm 4

Phương pháp cấp đông	Bề dày tốt (mm)	Số lần lặp lại		
		1	2	3
Trực tiếp	M			
	N			
Gián tiếp	M			
	N			

3.4. Phương pháp xác định các chỉ tiêu

3.4.1. Xác định ẩm độ men

Nguyên tắc: Cân chính xác m (gam) mẫu, sấy ở nhiệt độ 105°C trong 4 giờ, được giá trị m' (gam). Ẩm độ được tính theo công thức

$$W(\%) = \frac{m - m'}{m} \times 100$$

Cách tiến hành: Sử dụng tủ sấy, chỉnh ở nhiệt độ 105°C . Khối lượng mẫu sử dụng tốt nhất trong khoảng 2 – 5 gam, mẫu phải được nghiền nhỏ và được trải đều trên cốc.

3.4.2. Phương pháp xác định trực tiếp số lượng tế bào bằng buồng đếm hồng cầu

➤ Cấu tạo buồng đếm hồng cầu:

Buồng đếm hồng cầu là một phiến kính dày hình chữ nhật, giữa là phần lõm phẳng, tại đây có kẻ một lưới gồm 400 hình vuông nhỏ có diện tích tổng cộng là 1 mm^2 . Ô trung tâm có 25 ô vuông lớn, mỗi ô vuông lớn này có 16 ô vuông nhỏ. Vì thế diện tích một hình vuông nhỏ là $1/400 \text{ mm}^2$ và một hình vuông lớn hơn là $1/25 \text{ mm}^2$.

➤ Vật liệu

- Lọ đựng dịch huyền phù nấm men.
- Ống nghiệm.
- Phiến kính và lá kính.
- Pipet Pasteur.
- Kính hiển vi.
- Buồng đếm hồng cầu.
- Cân điện tử.
- Đèn cồn, que cấy vòng.
- Máy Vortex.
- Xanh methylen.

➤ Cách tiến hành

- Tiến hành pha loãng mẫu ở các nồng độ khác nhau.
- Đặt lá kính lên khu vực buồng đếm.
- Lắc đều dịch tế bào nấm men và dùng pipet Pasteur để lấy một ít dịch cho vào khe ở mép giữa buồng đếm. Tránh tạo bọt khí.
- Đặt buồng đếm vào bàn kính hiển vi và để yên vài phút.

- Chính kính hiển vi, với vật kính x40, tìm mạng ô đếm ở khu vực buồng đếm. Chính thị trường sao cho một thị trường chứa trọn một ô lớn ($4 \times 4 = 16$ ô nhỏ).
- Đối với nấm men, quan sát dịch men đã được nhuộm xanh methylen 0,1%. Tế bào chết sẽ bắt màu xanh, tế bào sống trong suốt quan sát được.
- Đếm số tế bào sống và tính toán.

➤ Cách tính:

Thể tích dịch chứa trên ô trung tâm (gồm 25 ô vuông lớn hay 400 ô vuông nhỏ) là $1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3$ (vì diện tích tổng cộng của ô trung tâm là 1 mm^2).

Tuy nhiên, chỉ cần đếm số tế bào trên 5 ô vuông lớn đại diện cho 25 ô vuông lớn trên ô trung tâm. Khi đó, số lượng tế bào trong 1 ml (1 gam) mẫu nghiên cứu được tính bằng công thức sau:

$$N = [(a/b) \times 400/0,1] \times 10^3 \times 10^n$$

Trong đó:

N: số lượng tế bào trong 1 ml mẫu nghiên cứu.

a: số tế bào trong 5 ô vuông lớn (80 ô vuông nhỏ).

b: số ô vuông nhỏ trong 5 ô vuông lớn ($16 \times 5 = 80$ ô vuông nhỏ).

400: tổng số ô vuông nhỏ trong ô trung tâm.

0,1: thể tích dịch tế bào (tính bằng mm^3) chứa trên ô trung tâm.

10^3 : số chuyển mm^3 thành ml ($1000 \text{ mm}^3 = 1 \text{ ml}$).

10^n : độ pha loãng mẫu.

3.4.3. Xác định lực nở

Hoạt tính men được xác định bằng cách tính độ nở tương đối của khối bột nhào trộn bột men. Độ nở tương đối của khối bột được xác định bằng phương pháp đo thể tích.

Cách tiến hành:

- Hòa men với nước muối NaCl 2,5% nếu ẩm độ của men < 5% (hoặc ngâm với nước đường 10% để phục hồi hoạt tính nếu ẩm độ của men $\geq 5\%$) và khuấy đều.
- Ngâm dịch này trong nước ấm (khoảng 50°C) trong 10 phút.
- Trộn với bột mì, nhào trộn trong 10 phút.

- Bao khối bột bằng màng film bao gói thực phẩm, đo thể tích ban đầu của khối bột.
- Ủ khối bột ở nhiệt độ phòng (phủ lên khối bột khăn ẩm mỏng, tránh khô bề mặt khối bột, gây ảnh hưởng đến lực nở) trong vòng 2 giờ.
- Đo thể tích cuối của khối bột.

Chỉ số lực nở của men được tính bằng % thể tích nở tương đối của khối bột, được tính theo công thức:

$$\%V_n = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100\%$$

Trong đó: V_1 : thể tích ban đầu của khối bột.

V_2 : thể tích sau 2 giờ ủ của khối bột.

Việc xác định thể tích khối bột được tiến hành bằng cách đo khối lượng nước tràn ra khi nhúng ngập khối bột vào bình chứa đầy nước.

3.4.4. Xác định tốc độ làm lạnh

Tốc độ làm lạnh được tính theo biểu thức sau:

$$C = \frac{1}{t} \int_0^t \frac{dT}{dt} dt$$

t: khoảng thời gian đo nhiệt độ làm lạnh của men.

T: nhiệt độ ghi nhận ở thời điểm t.

C: tốc độ làm lạnh ($^{\circ}\text{C}/\text{phút}$).

Công thức tính gần đúng:

$$C = \frac{1}{t} \sum \left| \frac{\Delta T}{\Delta t} \right|_{tb} \cdot \Delta t$$

3.5. Xử lý số liệu

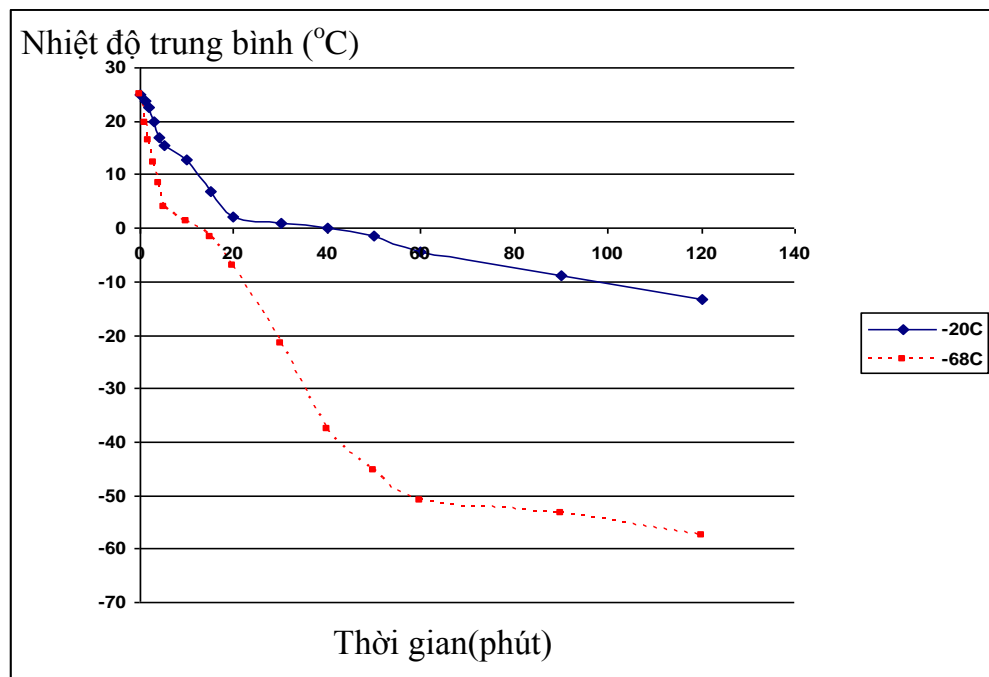
Số liệu trong các thí nghiệm được xử lý bằng EXCEL và phần mềm STATGRAPHICS.

Chương 4

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae*

Thí nghiệm được tiến hành trên men paste có ẩm độ 70% được bảo quản ở 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất, có bề dày 8cm. Sự giảm nhiệt độ của khối tế bào nấm men theo thời gian khi khảo sát ở các nhiệt độ -20°C và -68°C được biểu diễn trên đồ thị 4.1.



Biểu đồ 4.1: Biểu diễn mối tương quan giữa sự giảm nhiệt độ với thời gian xử lý nhiệt của nấm men.

Qua biểu đồ 4.1 cho thấy ở nhiệt độ -20°C có đồ thị tương đối thoải, chứng tỏ sự giảm nhiệt độ của khối tế bào nấm men chậm và rất đều. Ở -68°C nhận thấy đồ thị rất dốc. Trên đồ thị có sự phân chia thành hai vùng rõ rệt, vùng phía trên đồ thị tương đối thoải, nhưng phần phía dưới lại rất dốc như vậy có thể thấy rằng ban đầu sự giảm nhiệt độ của khối nấm men tương đối chậm nhưng khi nhiệt độ xuống thấp từ -1°C thì nhiệt độ giảm rất nhanh.

Qua kết quả tính ở bảng 4.1 nhận thấy ở -20°C sự chênh lệch nhiệt độ (ΔT) giữa các thời điểm khảo sát là không lớn, dao động trong khoảng 2-5°C. Trong khoảng 20 phút đầu sự giảm nhiệt độ tương đối chậm. Qua tính toán được tốc độ làm lạnh sau 20 phút là 1,07°C/phút. Ở 100 phút sau sự giảm nhiệt độ xảy nhanh hơn nhưng cũng chỉ

dao động trong khoảng 2-5°C. Tốc độ làm lạnh tính được là 0,15°C/phút. Qua bảng 4.2 nhận thấy ở -68°C trong khoảng 20 phút đầu sự chênh lệch nhiệt độ giữa các thời điểm là không lớn cũng khoảng 2-5°C, tốc độ làm lạnh tính được là 1,59°C/phút. Khi nhiệt độ giảm xuống âm tức là khoảng 100 phút sau thì sự chênh lệch là tương đối lớn khoảng 7-16°C, tốc độ làm lạnh tính được là 0,51°C/phút. Qua tính toán ta được tốc độ làm lạnh trung bình sau 120 phút ở -20°C là 0,31°C/phút và tốc độ làm lạnh ở -68°C là 0,64°C/phút. Có thể giải thích kết quả này như sau: Khi nhiệt độ xuống mức lạnh đông và khoảng thời gian khảo sát càng lớn thì sự giảm nhiệt độ càng nhanh, đến một thời điểm nào đó nhiệt độ sẽ bão hòa và sự giảm nhiệt độ sẽ là không đáng kể. Tốc độ làm lạnh ở -68°C lớn hơn -20°C là cũng do kết quả giải thích trên.

Bảng 4.1: Bảng tương quan giữa thời gian xử lý nhiệt và nhiệt độ giảm trung bình của khối nấm men bánh mì khảo sát ở nhiệt độ - 20°C.

Thời gian (phút)	Nhiệt độ giảm trung bình (°C)	ΔT	Δt	$(\Delta T/\Delta t)_{tb} \cdot \Delta t$
0	25,00			
1	23,67	1,33	1,00	1,17
2	22,67	1,00	1,00	1,83
3	20,00	2,67	1,00	2,83
4	17,00	3,00	1,00	2,33
5	15,33	1,67	1,00	1,10
10	12,67	2,67	5,00	4,17
15	7,00	5,67	5,00	5,33
20	2,00	5,00	5,00	2,75
30	1,00	1,00	10,00	1,00
40	0,00	1,00	10,00	1,17
50	-1,33	1,33	10,00	2,17
60	-4,33	3,00	10,00	2,28
90	-9,00	4,67	30,00	4,50
120	-13,33	4,33	30,00	4,33

Bảng 4.2: Bảng tương quan giữa thời gian xử lý nhiệt và nhiệt độ giảm trung bình của khối nấm men bánh mì khảo sát ở nhiệt độ - 68°C.

Thời gian (phút)	Nhiệt độ giảm trung bình (°C)	ΔT	Δt	$(\Delta T/\Delta t)_{tb} \cdot \Delta t$
0	25,00			
1	19,67	5,33	1,00	4,33
2	16,33	3,33	1,00	3,67
3	12,33	4,00	1,00	4,00
4	8,33	4,00	1,00	4,17
5	4,00	4,33	1,00	2,43
10	1,33	2,67	5,00	2,83
15	-1,67	3,00	5,00	4,17
20	-7,00	5,33	5,00	6,33
30	-21,67	14,67	10,00	15,33
40	-37,67	16,00	10,00	11,83
50	-45,33	7,67	10,00	6,67
60	-51,00	5,67	10,00	3,22
90	-53,33	2,33	30,00	3,33
120	-57,67	4,33	30,00	4,33

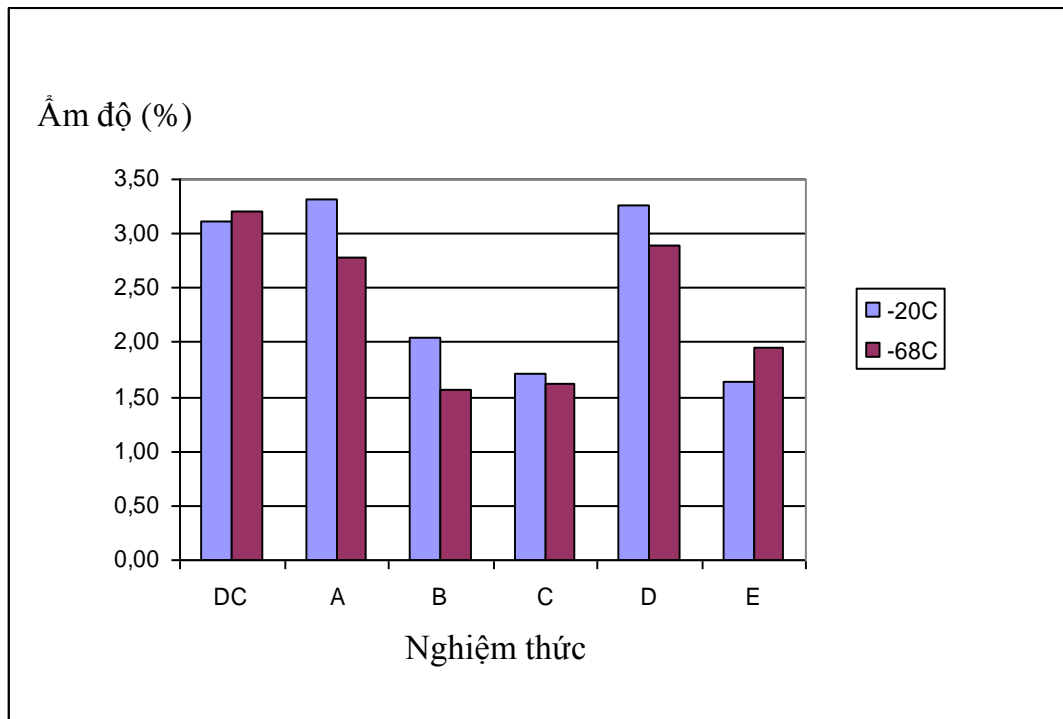
4.2. Khảo sát ảnh hưởng của chất mang và nhiệt độ cấp đông đến một số tính chất men khi sấy thăng hoa 24 giờ, cấp đông gián tiếp

Hai thông số quan trọng, tốc độ làm lạnh và nồng độ chất phụ gia, đã được nghiên cứu nhằm tăng khả năng sống của tế bào nấm men trong quá trình sấy thăng hoa. Thí nghiệm được tiến hành trên men paste có ẩm độ 70% được bảo quản ở 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất. Men được cấp đông ở 2 nhiệt độ là -20°C và -68°C. Các chất phụ gia sử dụng là skim milk, Sodium mono glutamate (bột ngọt) và honey. Men được phối trộn phụ gia với 5 công thức phối trộn khác nhau có bề dày lớp vật liệu men đồng nhất là 4mm. Kết quả đạt được trong thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphic 7.0 với kiểu

xử lý hai yếu tố (nhiệt độ cấp đông và tỉ lệ phối trộn phụ gia), phân tích tương quan hồi quy tuyến tính bằng phần mềm Microsoft Excel.

a. Ẩm độ bột men

Độ ẩm là lượng nước tự do có trong thực phẩm. Biết được độ ẩm là một điều rất quan trọng trong công tác phân tích xác định giá trị dinh dưỡng và chất lượng thực phẩm. Về phương diện xác định chất lượng thực phẩm và khả năng bảo quản, nếu ẩm độ vượt quá tối đa thực phẩm sẽ mau hỏng.



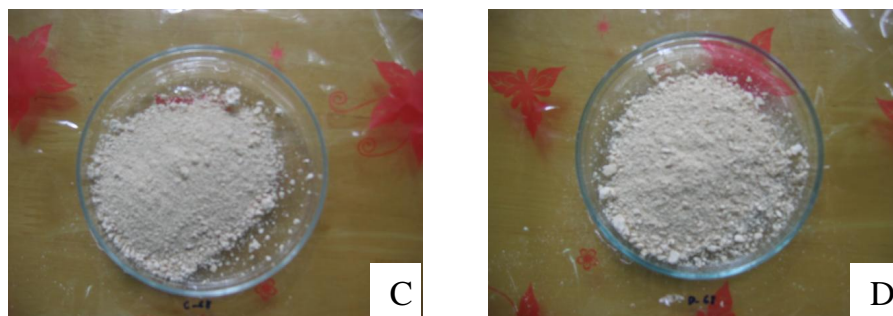
Biểu đồ 4.2: Biểu diễn giá trị ẩm độ của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C khi sấy 24 giờ.

Khi sấy 24 giờ ở nhiệt độ đông mẫu là -68°C , vì thời gian sấy dài nên độ ẩm còn rất thấp. Qua bảng C.1 phân tích ANOVA (phụ lục C) về ẩm độ, nhận thấy không có sự khác biệt về ẩm độ ($P > 0,05$) giữa hai nhiệt độ cấp đông. Bảng C.2 phân tích LSD (phụ lục C) cũng cho thấy điều đó. Qua biểu đồ 4.2 và bảng 4.3 nhận thấy ẩm độ giữa các nghiệm thức đều $< 5\%$. Kết quả thu được ở bảng 4.3 cho thấy các nghiệm thức B, C, E có ẩm độ rất thấp. Qua bảng C.1 phân tích ANOVA (phụ lục C) nhận thấy có sự khác biệt về ẩm độ giữa các nghiệm thức. Ẩm độ của các nghiệm thức B, C, E thấp hơn so với các nghiệm thức DC, A, D. Bảng C.3 phân tích LSD (phụ lục C) cho thấy sự khác biệt đó. Sự chênh lệch ẩm độ giữa các nghiệm thức là do tỉ lệ phối trộn chất phụ gia ở các nghiệm thức. Ở -68°C nghiệm thức C có ẩm độ thấp nhất là do nghiệm

thức C chỉ có chứa 15% sữa gạn kem, 5% mật ong và 5% bột ngọt, nghiệm thức DC và D có ẩm độ cao nhất là do trong tỉ lệ phối trộn mật ong chiếm đến 10%. Ở -20°C nghiệm thức C và E có ẩm độ thấp nhất là do chỉ chứa 5% mật ong. Tuy nhiên ẩm độ trung bình là khoảng 2,42%. Tùy thuộc vào nồng độ chất phụ gia có trong từng nghiệm thức mà ẩm độ sẽ khác nhau, được trình bày bằng bảng 4.3.

Bảng 4.3: Kết quả ẩm độ của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C khi sấy 24 giờ.

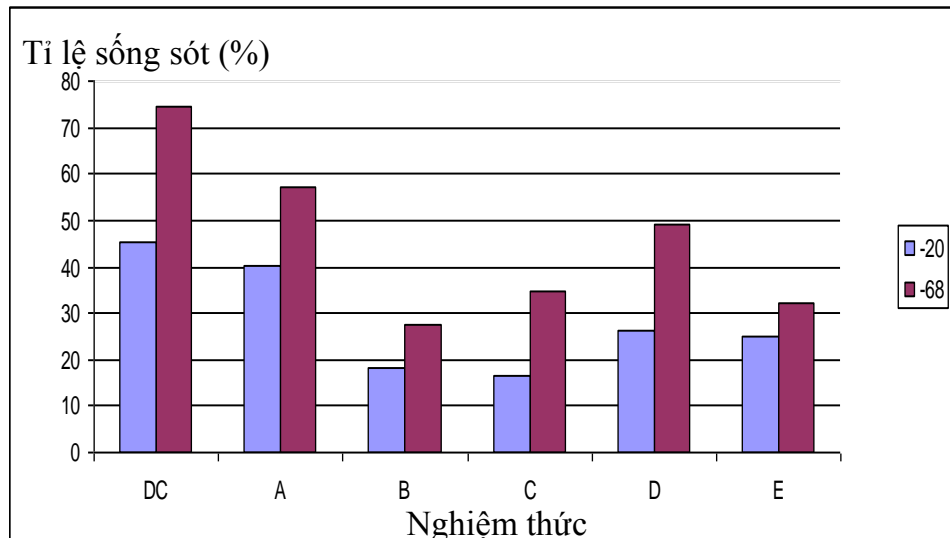
Nhiệt độ cấp đông ($^{\circ}\text{C}$)	Nghiệm thức	Ẩm độ (%)
-20°C	DC	3,12
	A	3,31
	B	2,04
	C	1,70
	D	3,26
	E	1,64
-68°C	DC	3,21
	A	2,78
	B	1,56
	C	1,62
	D	2,89
	E	1,95



Hình 4.1: Hình bột men các nghiệm thức C và D khảo sát ở -68°C .

Hình bột men các nghiệm thức sau khi đông khô trong 24 giờ được trình bày chi tiết ở phụ lục D.

b. Số tế bào nấm men sau sấy



Biểu đồ 4.3: Biểu diễn tỉ lệ số tế bào sống sót của sản phẩm men sau khi sấy 24 giờ so với men tươi.

Bảng 4.4: Kết quả đếm số tế bào nấm men của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C .

Nhiệt độ cấp đông ($^{\circ}\text{C}$)	Nghiệm thức	Ẩm độ (%)	Số tế bào/ 1gam mẫu	Số tế bào/ 1gam chất khô	Tỉ lệ số tế bào sống sót so với men tươi (%)
-20°C	DC	3,12	11725000000	120913769037	45,45
	A	3,31	10312500000	106543795007	40,05
	B	2,04	4775000000	48748426248	18,32
	C	1,70	4362500000	44427100357	16,70
	D	3,26	6750000000	69934793460	26,29
	E	1,64	6500000000	65991933809	24,81
-68°C	DC	3,21	19162500000	198003023429	74,43
	A	2,78	14825000000	152322698186	57,26
	B	1,56	7250000000	73653877143	27,69
	C	1,62	9050000000	92170164112	34,65
	D	2,89	12737500000	131139724793	49,30
	E	1,95	8350000000	85167020019	32,01

Qua biểu đồ 4.3 ta thấy tỉ lệ sống của tế bào men khi cấp đông ở -68°C luôn cao hơn ở -20°C . Mặc khác qua bảng C.7 phân tích ANOVA (phụ lục C) về tỉ lệ sống của tế bào nấm men ta thấy mức xác suất tin cậy $P \ll 0,05$ ($P = 0,0035$), điều này cho thấy có sự khác biệt rất lớn về tỉ lệ sống của tế bào nấm men khi cấp đông ở -20°C và -68°C . Sự khác biệt này có thể giải thích như sau: Ở khoảng nhiệt độ quá lạnh -1 đến -4°C , số tinh thể đá được tạo thành trong tế bào ít nên kích thước tinh thể đá tương đối lớn, dễ làm rách màng tế bào nấm men, khi tạo được độ quá lạnh từ -10°C đến -40°C thì số tinh thể tạo thành sẽ nhiều hơn, còn nếu nhiệt độ đạt âm sâu tới -60 đến -80°C thì chất lỏng sẽ không tạo thành tinh thể mà chỉ tạo được chất rắn vô định hình. Nhiều công trình nghiên cứu cho biết nếu ở nhiệt độ cao hơn -30°C thì kích thước tinh thể đá phát triển đều ra xung quanh và lớn dần đều về các phía. Nếu ở nhiệt độ thấp hơn -30°C thì kích thước tinh thể đá chỉ phát triển theo chiều dài nên tinh thể đá trở thành sợi dài bao bọc quanh tế bào, khi đó cấu trúc tế bào không bị phá vỡ mà còn được bảo vệ toàn vẹn. Điều đó cho thấy cấp đông ở -68°C có tỉ lệ tế bào sống cao hơn ở -20°C . Mặc khác, thí nghiệm 1 đã tính được tốc độ làm lạnh ở -68°C gần đạt tốc độ làm lạnh tối ưu $1^{\circ}\text{C}/\text{phút} - 10^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ (Mazur, 1967,1979,1977) cũng phần nào giải thích kết quả trên.

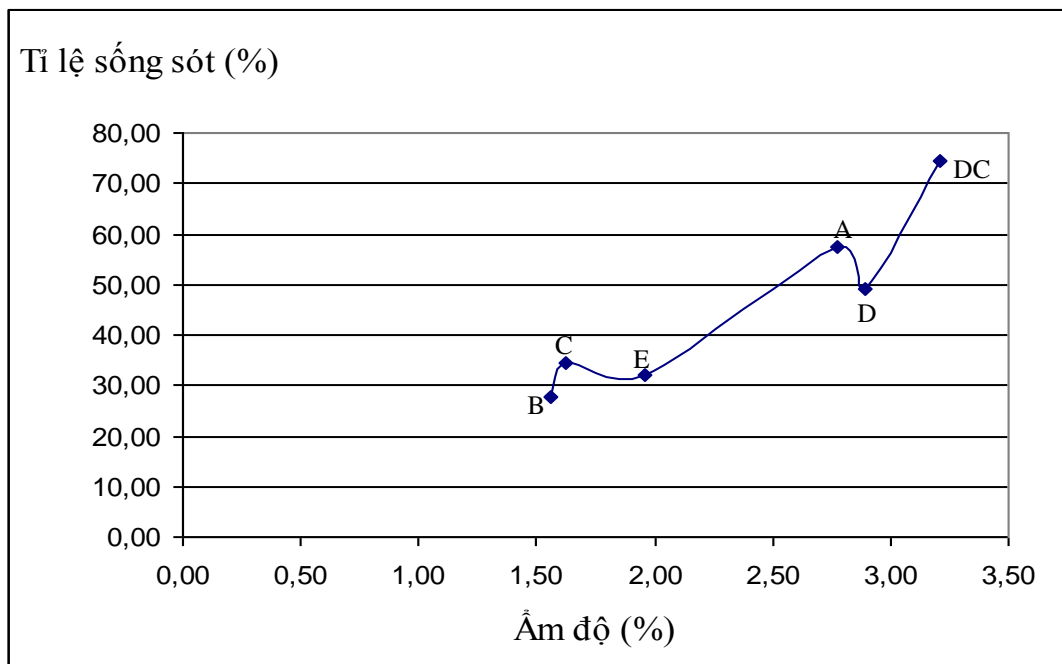
Tỉ lệ sống sót của tế bào nấm men còn phụ thuộc vào tỉ lệ phối trộn các chất phụ gia. Bảng C.7 phân tích ANOVA (phụ lục C) cho thấy mức xác suất tin cậy nghiệm thức $P < 0,05$ ($P = 0,0072$) như vậy có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê học giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Qua biểu đồ 4.3 nhận thấy nghiệm thức DC và A có tỉ lệ sống sót rất cao, đặc biệt là ở -68°C . Bảng C.9 phân tích LSD (phụ lục C) cho thấy giữa DC và A không có sự khác biệt, nhưng giữa DC và các nghiệm thức khác đều có sự khác biệt. Kết quả thu được ở bảng 4.4 cho thấy nghiệm thức DC cấp đông ở -68°C có tỉ lệ sống cao nhất là 74,43%, bên cạnh đó là nghiệm thức A có tỉ lệ sống tế bào cao là 57,26%, nghiệm thức B có tỉ lệ sống thấp nhất là 27,69%. Các chất phụ gia có hai chức năng chính khi được phối trộn với nấm men: tạo cấu trúc vật lý xác định cho men khô, chức năng thứ hai là khả năng bảo vệ. Như vậy khả năng sống sót của nấm men không phụ thuộc vào cấu trúc của vật liệu sấy mà nó phụ thuộc vào thành phần và tỉ lệ phối trộn của các chất phụ gia. Skim milk hay sữa gạn kem được sử dụng rộng rãi trong việc bảo vệ tế bào nấm men khi sấy thăng hoa. Nó có thể được sử dụng 1 mình hay phối trộn với một số chất phụ gia khác. Khi skim milk được phối trộn với các chất

phụ gia khác thì khả năng bảo vệ nấm men *S. cerevisiae* cao hơn khi sử dụng đơn lẻ trong quá trình sấy thăng hoa với tỉ lệ sống hơn 30%. Sodium mono glutamate (SMG) hay bột ngọt cũng được biết như là một chất bảo vệ nấm men trong sấy thăng hoa. SMG khi sử dụng một mình thì khả năng bảo vệ tế bào *S. cerevisiae* kém hơn skim milk. Nhưng khi SMG phối trộn với 10% hay 20% skim milk và một chất phụ gia thứ hai như trehalose, raffinose hay mật ong thì khả năng bảo vệ sẽ cao hơn. Mật ong là một hợp chất tự nhiên có khả năng bảo vệ *S. cerevisiae* trong quá trình sấy thăng hoa. Khi chỉ sử dụng mật ong thì khả năng bảo vệ tế bào *S. cerevisiae* rất cao tới 60%.

Bảng 4.5: So sánh giữa nghiệm thức DC và A.

Nghiệm thức	DC	A
Âm độ (%)	3,21	2,78
Tỉ lệ tế bào sống sót (%)	74,43	57,26

Qua bảng 4.5 nhận thấy tỉ lệ tế bào sống sót của nghiệm thức DC cao hơn nghiệm thức A nhưng âm độ của A lại nhỏ hơn DC. Vì nghiệm thức A sấy đến âm độ thấp hơn nghiệm thức DC nên số tế bào chết nhiều hơn. Nói cách khác, nếu nghiệm thức A sấy đến 3,21% như của DC (tức sấy ít hơn 24 giờ) thì có khả năng số tế bào của nghiệm thức A sẽ tăng hoặc nhiều hơn nghiệm thức DC.



Biểu đồ 4.4: Biểu diễn mối quan hệ giữa tỉ lệ sống sót và âm độ bột men giữa các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E sau khi sấy 24 giờ, cấp đông ở -68°C .

Qua biểu đồ 4.4 nhận thấy có sự tương quan giữa số tế bào sống và ẩm độ bột men, ẩm độ càng thấp thì số tế bào sống càng giảm. Như vậy, các nghiệm thức khác nếu có điều kiện thí nghiệm chỉ sấy xuống 3,21% như của nghiệm thức DC thì số tế bào sống sẽ cao.

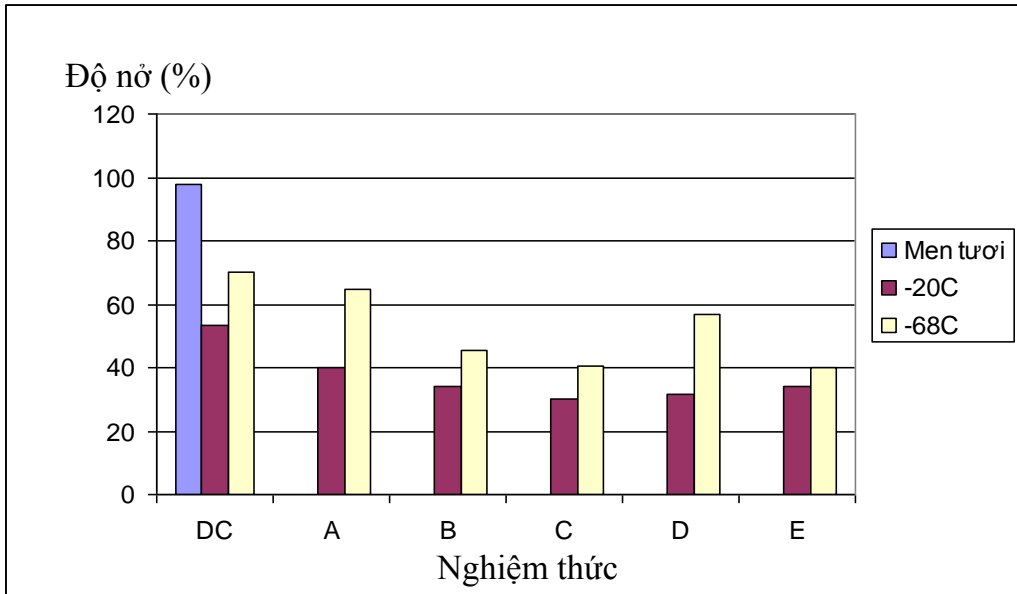
Nhận xét về tỉ lệ chất phụ gia: các nghiệm thức D, C và E có ít honey (5%) nên sấy rất nhanh (ẩm độ thấp nhất), nếu thí nghiệm lại và để cho ẩm độ bằng DC (3,21%) thì có thể giảm thời gian sấy các nghiệm thức này xuống dưới 24 giờ và lúc đó số tế bào sống có thể cao như nghiệm thức DC vì thời gian sấy càng lâu thì số tế bào chết càng nhiều.

Như vậy với tỉ lệ phối trộn phụ gia ở nghiệm thức DC, A và với thời gian sấy 24 giờ thì tỉ lệ sống của tế bào là tốt nhất trong nghiên cứu này.

c. Hoạt tính men

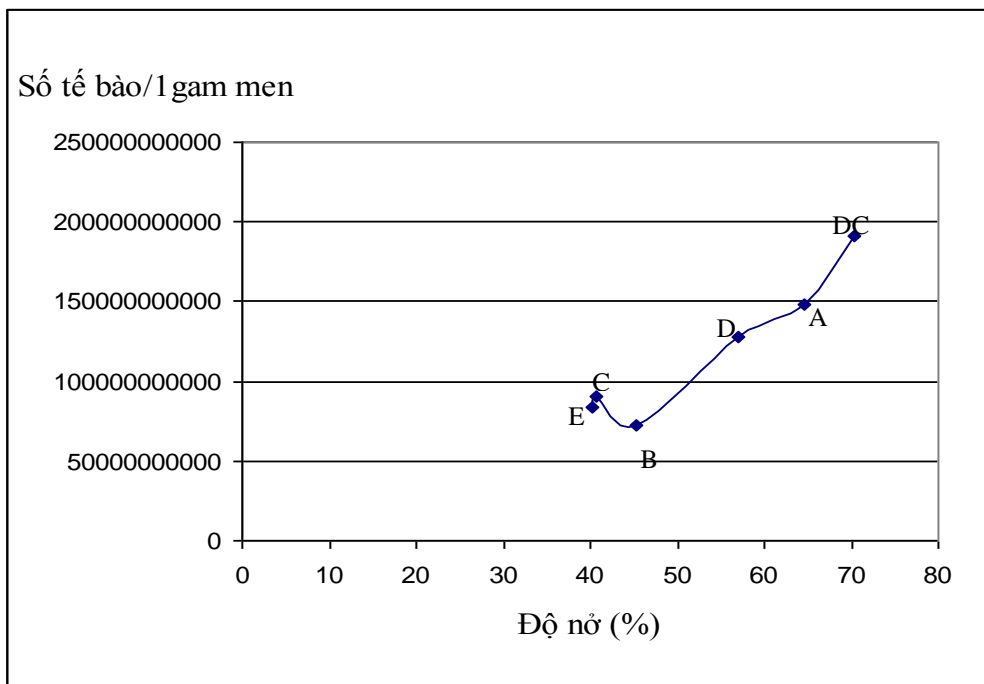
Bảng 4.6: Kết quả hoạt tính men của các nghiệm thức DC, A, B, C, D và E khảo sát ở nhiệt độ cấp đông -20°C và -68°C khi sấy 24 giờ.

Nhiệt độ cấp đông ($^{\circ}\text{C}$)	Nghiệm thức	Độ nở (%)	Số tế bào/ 1gam chất khô
-20	DC	53,32	120913769037
	A	39,88	106543795007
	B	34,05	48748426248
	C	29,91	44427100357
	D	31,68	69934793460
	E	34,20	65991933809
-68	DC	70,34	198003023429
	A	64,69	152322698186
	B	45,39	73653877143
	C	40,58	92170164112
	D	56,99	131139724793
	E	40,16	85167020019



Biểu đồ 4.5: Biểu diễn độ nở của bột men ở từng thí nghiệm khi sấy 24 giờ.

Biểu đồ 4.5 cho thấy độ nở của bột mì sử dụng men sấy cấp đông ở -68°C luôn cao hơn so với bột mì sử dụng men sấy cấp đông ở -20°C. Qua bảng C.4 phân tích ANOVA (phụ lục C) về độ nở nhận thấy xác suất tin cậy về nhiệt độ $P < 0,05$ nên có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa nhiệt độ -20°C và -68°C hay nói cách khác bột mì sử dụng men sấy cấp đông ở -68°C nở tốt hơn bột mì sử dụng men sấy cấp đông ở -20°C. Qua bảng 4.6 cũng nhận thấy độ nở bột mì phụ thuộc rất lớn vào hoạt tính của nấm men hay số lượng tế bào còn sống có trong 1 gam men mẫu thí nghiệm.



Biểu đồ 4.6: Biểu diễn mối tương quan giữa độ nở men và số tế bào sống có trong 1 gam men giữa các thí nghiệm sau khi sấy 24 giờ, cấp đông ở -68°C.

Qua bảng C.10 ANOVA phân tích mối tương quan giữa độ nở men và số tế bào còn sống có trong 1 gam men mẫu thí nghiệm nhận thấy $P < 0,05$ nên có sự tương quan giữa tế bào còn sống và độ nở bột mì. Biểu đồ 4.6 cũng cho thấy có sự tương quan giữa độ nở men và số tế bào còn sống có trong 1 gam men mẫu thí nghiệm. Theo nhận xét về số tế bào sống thì nghiệm thức DC ở -68°C có số tế bào sống cao nhất, bên cạnh đó là nghiệm thức A và D ở -68°C cũng có số tế bào sống rất cao. Qua hình 4.2 và 4.3 nhận thấy hình bột mì tương ứng cho nghiệm thức DC thì nở lớn nhất, còn hình bột mì tương ứng cho nghiệm thức A cũng nở rất lớn.

Các hình nở bột mì tương ứng cho từng nghiệm thức, từng thời gian sấy và từng nhiệt độ đông mẫu được trình bày trong phụ lục D.



Hình 4.2: Bột mì tương ứng cho nghiệm thức DC cấp đông ở -68°C



Hình 4.3: Bột mì tương ứng cho nghiệm thức A cấp đông ở -68°C

d. Chọn lựa nghiệm thức và chế độ sấy tốt nhất

Như vậy nghiệm thức tốt nhất vẫn là nghiệm thức DC (Lê Văn Bình, 2005). Vì nghiệm thức DC và A có số tế bào sống, độ nở cao nhất nên được chọn là hai nghiệm thức tốt nhất khi sấy thăng hoa 24 giờ và ở nhiệt độ cấp đông là -68°C . Tuy nhiên, các nghiệm thức khác nếu có điều kiện thí nghiệm chỉ sấy xuống 3,21% như của nghiệm thức DC thì số tế bào sống và độ nở sẽ cao hơn.

4.3. Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men lên chất lượng men khi sấy thăng hoa trong 24 giờ, cấp đông gián tiếp

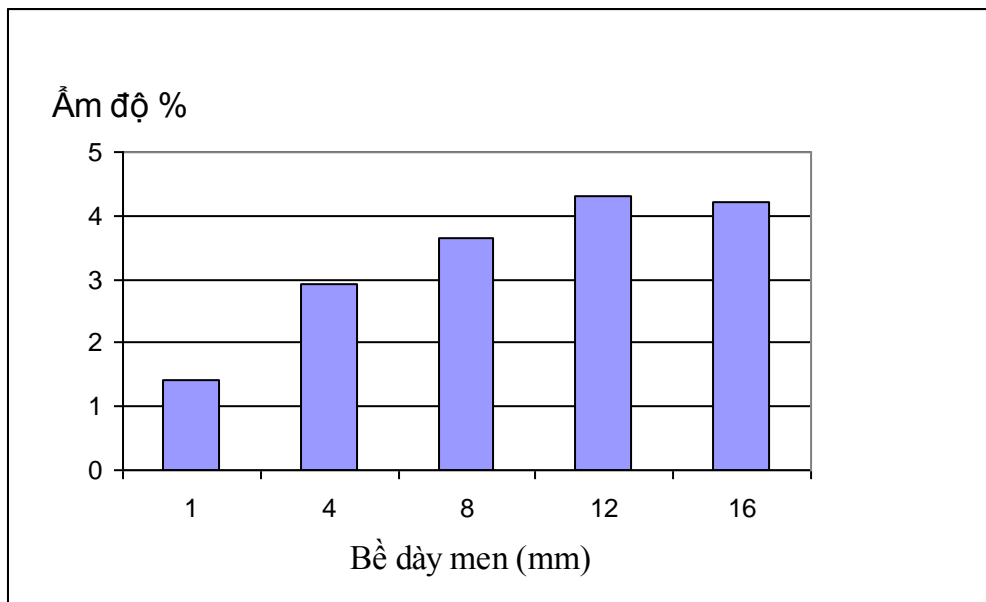
Độ lớn nhỏ, dày mỏng của vật liệu sấy có ảnh hưởng rõ rệt trong quá trình sấy thăng hoa. Vật liệu sấy mỏng thì tốc độ khô càng nhanh chóng. Tốc độ làm khô phụ thuộc vào sự chênh lệch của áp suất hơi nước bão hòa trên bề mặt vật liệu và áp suất thăng hoa có nghĩa là phụ thuộc vào gradient áp suất. Thí nghiệm được tiến hành trên men paste có ẩm độ 70% được bảo quản ở 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất. Men được tạo khối với các bề dày khác nhau và cấp đông ở -68°C trong 24 giờ và sau

đó được sấy trong 24 giờ. Các chất phụ gia sử dụng là skim milk, Sodium mono glutamate (SMG) và honey. Men được phối trộn phụ gia theo tỉ lệ của nghiệm thức tốt nhất DC ở thí nghiệm 2. Kết quả đạt được trong thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphic 7.0 với kiểu xử lý đơn yếu tố, phân tích tương quan hồi quy tuyến tính bằng phần mềm Microsoft Excel.

a. Ẩm độ bột men

Bảng 4.7: Kết quả ẩm độ của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ.

Bề dày men (mm)	Ẩm độ (%)
1	1,41
4	2,91
8	3,65
12	4,32
16	4,22



Biểu đồ 4.7: Biểu diễn giá trị ẩm độ của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ.

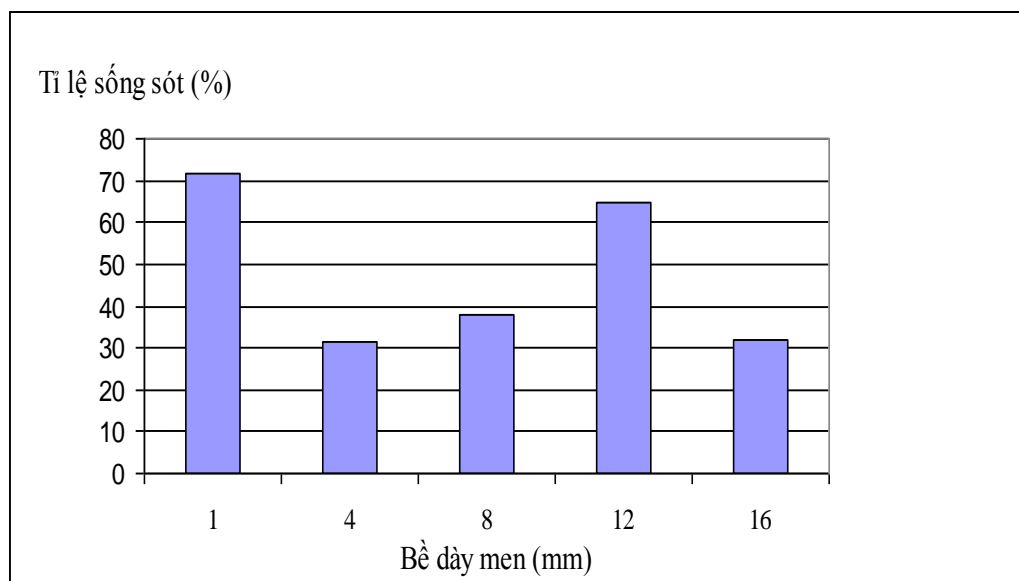
Qua kết quả ở bảng 4.7 ta nhận thấy ẩm độ bột men giữa các nghiệm thức là rất thấp, vì thời gian sấy tương đối dài. Qua bảng C.11 phân tích ANOVA (phụ lục C) về ẩm độ cho thấy xác suất tin cậy là $P > 0,05$, điều này cho thấy không có sự khác biệt về ẩm độ giữa các bề dày men khi sấy 24 giờ. Bảng C.12 phân tích

LSD (phụ lục C) cho thấy bề dày càng lớn thì ẩm độ càng cao nhưng sự chênh lệch về ẩm độ là không lớn lắm. Biểu đồ 4.7 cũng cho thấy điều đó. Bề dày 12mm có ẩm độ cao nhất, còn bề dày 1mm có ẩm độ thấp nhất. Sự khác biệt ẩm độ giữa 12mm và 16mm là không đáng kể. Bảng 4.7 cho thấy sự khác nhau chi tiết.

b. Số tế bào nấm men sau sấy

Bảng 4.8: Kết quả đếm số tế bào nấm men của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ.

Bề dày (mm)	Ẩm độ (%)	Số tế bào/ 1gam mẫu	Số tế bào/ 1gam chất khô	Tỉ lệ số tế bào sống sót so với men tươi(%)
1	1,41	264333333333	268149188888	71,69
4	2,91	115000000000	118441393984	31,66
8	3,65	137000000000	142220991625	38,02
12	4,32	231666666667	242151240277	64,74
16	4,22	113833333333	118942997249	31,80



Biểu đồ 4.8: Biểu diễn tỉ lệ số tế bào sống sót của sản phẩm men sau khi sấy 24 giờ so với men tươi.

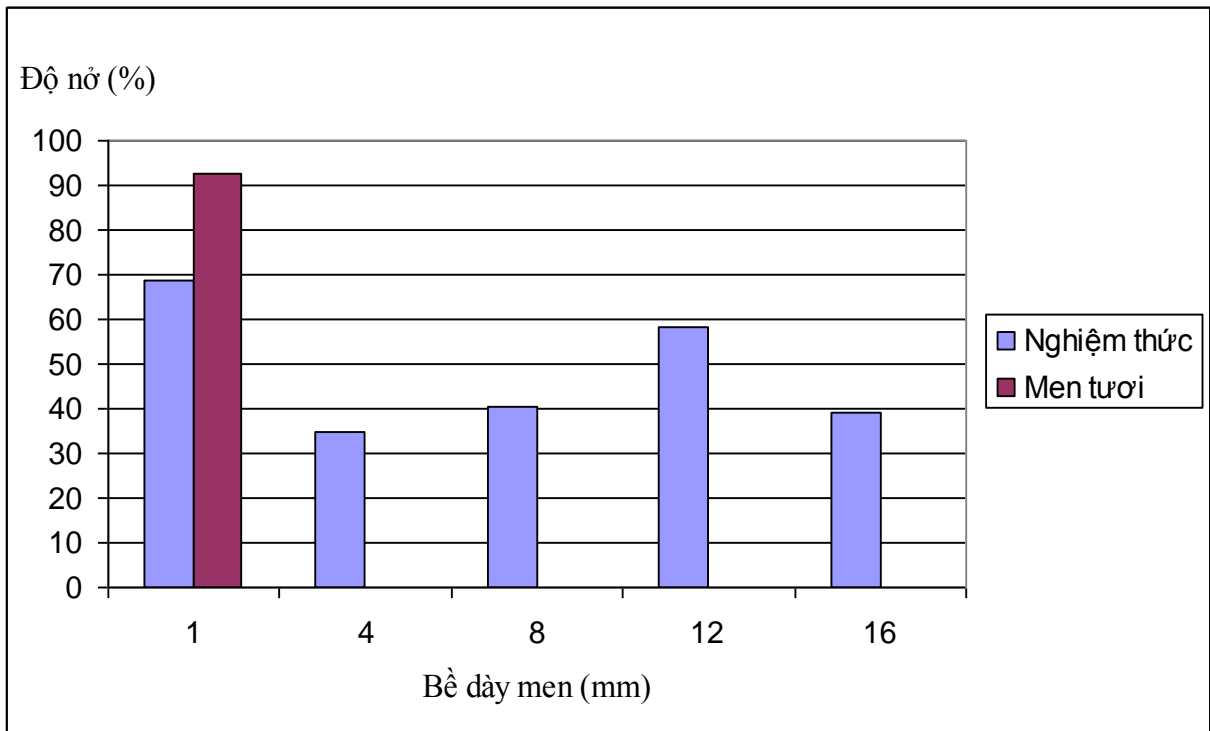
Qua bảng 4.8 ta nhận thấy tỉ lệ sống sót của tế bào nấm men còn phụ thuộc vào bề dày lớp vật liệu men khi sấy. Qua bảng C.15 phân tích ANOVA (phụ lục C) về tỉ lệ

sống sót nhận thấy $P < 0,05$ chứng tỏ có sự khác biệt có ý về mặt thống kê học giữa các bề dày men hay bề dày men có tác động đến tỉ lệ sống sót của tế bào nấm men. Qua kết quả thu được ở bảng 4.8 nhận thấy ở bề dày 1mm có tỉ lệ sống cao nhất 71,69%, bên cạnh đó bề dày 12mm cũng cho tỉ lệ sống sót cao 64,74%, còn ở bề dày 4mm có tỉ lệ sống thấp nhất 31,66%. Bề dày 1mm là bề dày mỏng nhất, nhưng lại có số tế bào sống cao nhất là do ở bề dày càng mỏng thì tốc độ làm lạnh đến tế bào nấm men càng nhanh và đều, do đó làm tăng khả năng sống sót của tế bào nấm men. Biểu đồ 4.8 cũng cho thấy tỉ lệ tế bào sống của nghiệm thức 12mm cao hơn so với các nghiệm thức 4mm, 8mm và 16mm. Tuy nhiên qua bảng C.28 (phụ lục C) nhận thấy sai lệch chuẩn của nghiệm thức 12mm là khá lớn, như vậy số liệu của nghiệm thức này có độ tin cậy thấp. Ở các bề dày còn lại thì số tế bào sống là tương đối thấp. Tuy nhiên tỉ lệ sống sót trung bình là 47,58%.

c. Hoạt tính men

Bảng 4.9: Kết quả hoạt tính men của các nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ.

Nhiệt độ (°C)	Nghiệm thức	Số tế bào / 1 gam chất khô	Độ nở (%)
-68°C	1	268149188888	68,62
	4	118441393984	34,81
	8	142220991625	40,59
	12	242151240277	58,42
	16	118942997249	39,34
4°C	MEN TƯƠI	374062500000	92,54



Biểu đồ 4.9: Biểu diễn độ nở của bột men ở từng nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm và 16mm khi sấy 24 giờ.

Qua bảng 4.9 nhận thấy độ nở bột mì phụ thuộc rất lớn vào hoạt tính của nấm men hay số lượng tế bào còn sống có trong 1 gam men mẫu thí nghiệm. Qua bảng C.17 phân tích ANOVA (phụ lục C) nhận thấy $P < 0,05$ nên có sự tương quan giữa tế bào còn sống và độ nở bột mì. Qua bảng C.13 phân tích ANOVA (phụ lục C) cũng cho thấy xác suất tin cậy về độ nở $P < 0,05$ nên có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê học về độ nở giữa các bề dày thí nghiệm.

Theo nhận xét về độ nở thì bề dày 1mm có độ nở cao nhất, bên cạnh đó là bề dày 12mm cũng có độ nở rất cao. Bảng C.14 (phụ lục C) cho thấy độ nở của nghiệm thức 12mm không có sự khác biệt so với 8mm và 16mm. Qua hình 4.4 và 4.5 nhận thấy hình bột mì tương ứng cho bề dày 1mm thì nở lớn nhất, còn hình bột mì tương ứng cho bề dày 12mm cũng nở rất lớn. Bề dày 1mm có số tế bào sống và độ nở cao hơn các bề dày khác là do ở bề dày mỏng, sự giảm nhiệt độ nhanh tạo sự đóng băng tương đối đều nên tỉ lệ tế bào sống cao và hoạt tính của tế bào nấm men được bảo vệ.



Hình 4.4: Bột mì tương ứng cho nghiệm thức 1mm



Hình 4.5: Bột mì tương ứng cho nghiệm thức 12mm

Các hình nở bột mì ứng với từng nghiệm thức được trình bày trong phụ lục D.

d. Chọn lựa bề dày tốt nhất

Vì bề dày 1mm và 12mm có số tế bào sống, độ nở cao nhất nên được chọn là hai nghiệm thức tốt nhất khi sấy thăng hoa 24 giờ, ở nhiệt độ cấp đông là -68°C . Tuy nhiên số liệu của nghiệm thức 12mm có độ tin cậy không cao nên thí nghiệm tiếp theo tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của bề dày 1mm và 12mm lên chất lượng men, từ đó chọn ra bề dày tốt nhất.

4.4. Khảo sát ảnh hưởng của bề dày lớp vật liệu men, cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp lên chất lượng men khi sấy thăng hoa 24 giờ

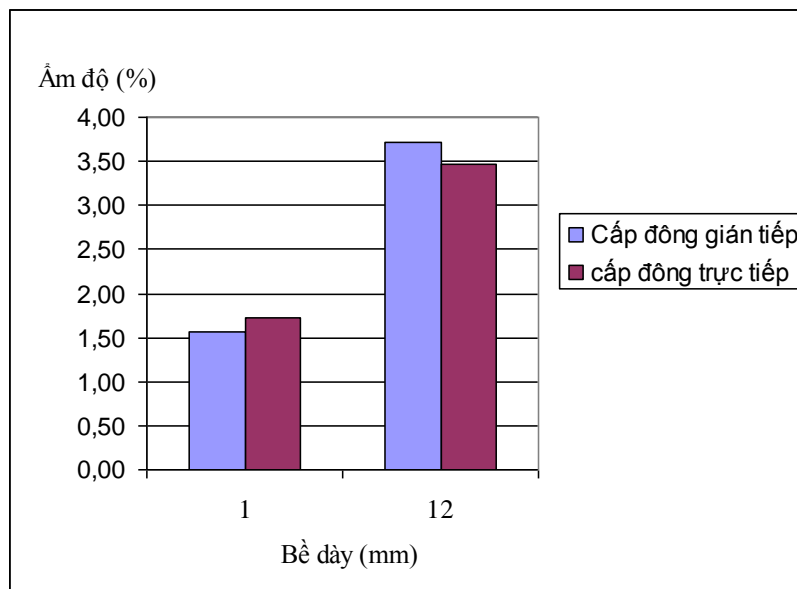
Muốn sấy thăng hoa, trước tiên phải làm lạnh đông (cấp đông) vật sấy để biến ẩm trong vật sấy thành thể rắn. Quá trình làm lạnh đông vật sấy được thực hiện bằng hai cách. Cách thứ nhất là dùng máy lạnh đông hoặc nitơ lỏng để làm lạnh đông vật sấy bên ngoài buồng sấy thăng hoa (cấp đông gián tiếp). Cách thứ hai là vật sấy tự lạnh đông ngay trong buồng sấy thăng hoa bằng hút chân không (cấp đông trực tiếp). Khi hút chân không, áp suất trong buồng sấy giảm xuống; ẩm tự do trong vật sấy bay hơi mạnh, làm giảm nhanh nhiệt độ của nó xuống nhiệt độ đóng băng của ẩm. Hai cách làm lạnh đông vật liệu sấy khác nhau có thể ảnh hưởng nhất định đến chất lượng men khô sau khi sấy thăng hoa trong 24 giờ. Thí nghiệm được tiến hành trên men paste có ẩm độ 70% được bảo quản ở 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất. Men được tạo khối với hai bề dày tốt nhất được chọn ở thí nghiệm 3 và làm lạnh đông bằng hai cách: lạnh đông gián tiếp bằng tủ âm sâu ở -68°C trong 24 giờ, sau đó được sấy trong 24 giờ và làm lạnh đông trực tiếp trong buồng sấy thăng hoa của máy sấy thăng hoa lyopro 6000, sấy trong 24 giờ. Các chất phụ gia sử dụng là skim milk, glutamate và honey. Men được

phối trộn phụ gia theo tỉ lệ của nghiệm thức tốt nhất DC ở thí nghiệm 2. Kết quả đạt được trong thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphic 7.0 với kiểu xử lý hai yếu tố, phân tích tương quan bằng phần mềm Microsoft Excel.

a. Ẩm độ bột men

Bảng 4.10: Kết quả ẩm độ của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp sau khi sấy 24 giờ.

Phương pháp cấp đông	Bề dày (mm)	Ẩm độ (%)
Gián Tiếp	1	1,57
	12	3,72
Trực tiếp	1	1,73
	12	3,46



Biểu đồ 4.10: Biểu diễn giá trị ẩm độ của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp sau khi sấy 24 giờ.

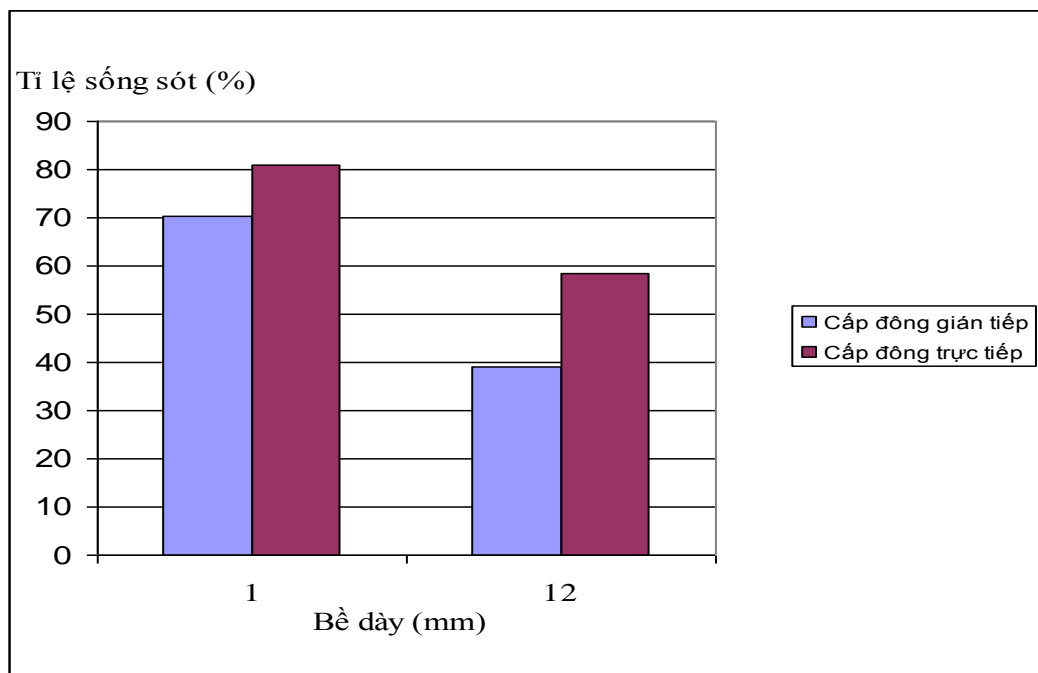
Qua bảng C.18 phân tích ANOVA (phụ lục C) về ẩm độ, nhận thấy không có sự khác biệt về ẩm độ ($P > 0,05$) giữa hai phương pháp lạnh đông nấm men. Bảng C.19 phân tích LSD (phụ lục C) cũng cho thấy điều đó. Qua biểu đồ 4.10 và bảng 4.10 ta thấy ẩm độ giữa các nghiệm thức đều $< 5\%$. kết quả thu được ở bảng 4.10, nhận thấy ở bề dày 1mm thì có ẩm độ rất thấp. Bảng C.18 phân tích ANOVA (phụ lục C) về ẩm độ cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa về ẩm độ giữa bề dày 1mm và 12mm. Bảng C.20 phân tích LSD (phụ lục C) cho thấy sự khác biệt đó. Như vậy bề dày men càng

mỏng thì ẩm độ càng thấp hay bề dày men có ảnh hưởng đến ẩm độ của bột men sau khi sấy. Tuy nhiên, ẩm độ trung bình là 2,62% là rất thấp, không ảnh hưởng nhiều đến chất lượng bột men sau khi sấy. Bảng C.18 ANOVA (phụ lục C) cũng cho thấy không có sự tương tác giữa bề dày men và phương pháp cấp đông lên ẩm độ bột men ($P>0,05$).

b. Số tế bào nấm men sau sấy

Bảng 4.11: Kết quả đếm số tế bào nấm men của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp khi sấy 24 giờ.

Phương pháp cấp đông	Bề dày (mm)	Ẩm độ (%)	Số tế bào/ 1gam mẫu	Số tế bào/ 1gam chất khô	Tỉ lệ số tế bào sống sót so với men tươi(%)
Gián tiếp	1	1,57	487666666667	495445155610	70,40
	12	3,72	265000000000	275238886581	39,11
Trực tiếp	1	1,73	560666666667	570536956006	81,07
	12	3,46	396000000000	410206829875	58,29



Biểu đồ 4.11: Biểu diễn tỉ lệ số tế bào sống sót của sản phẩm men sau khi sấy 24 giờ so với men tươi.

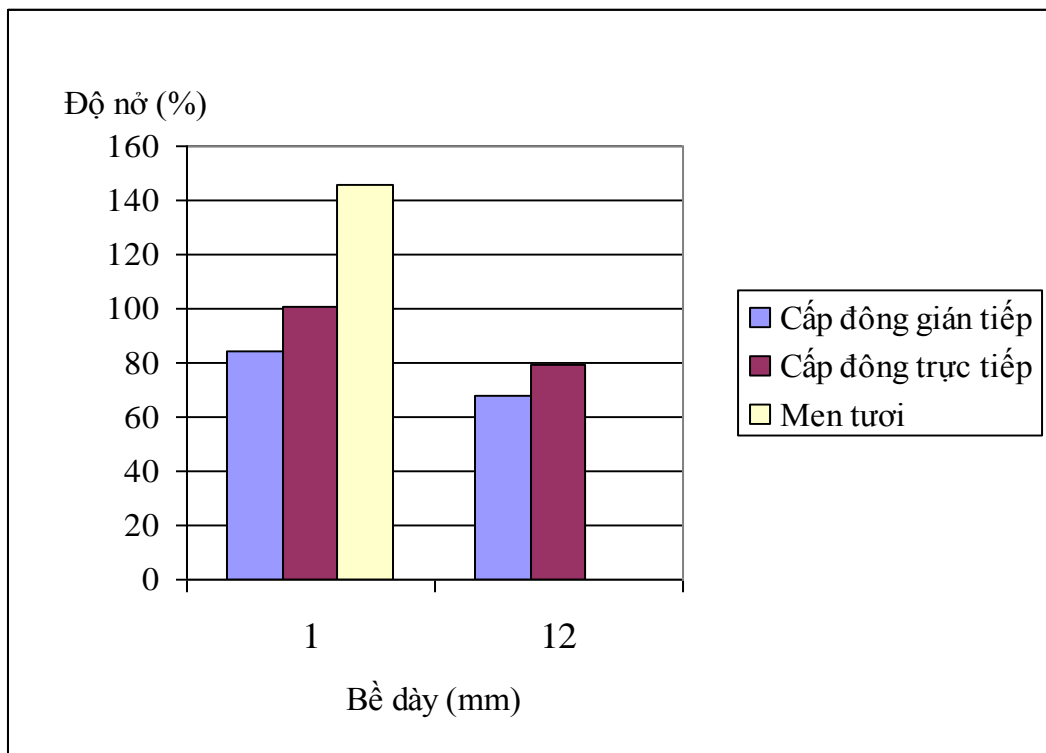
Qua biểu đồ 4.11 ta thấy tỉ lệ sống của tế bào nấm men khi được làm lạnh đông trực tiếp trong buồng sấy của máy sấy thăng hoa thì luôn cao hơn khi được làm lạnh đông trong tủ lạnh -68°C . Mặc khác qua bảng C.24 phân tích ANOVA phụ lục C về tỉ lệ sống của tế bào nấm men ta thấy mức xác suất tin cậy $P \ll 0,05$, điều này cho thấy có sự khác biệt rất lớn về tỉ lệ sống của tế bào nấm men giữa hai phương pháp làm lạnh đông. Sự khác biệt này là do quá trình cấp đông gián tiếp kéo dài đến 24 giờ, trong thời gian này tỉ lệ tế bào nấm men sống sẽ giảm đáng kể do ảnh hưởng của nhiệt độ lạnh đến khả năng tồn tại của tế bào nấm men. Khi làm lạnh đông trực tiếp trong buồng sấy của máy sấy thì thời gian lạnh đông ngắn và sấy liền trong 24 giờ nên tỉ lệ sống của tế bào là khá cao. Một nguyên nhân khác là do khi làm lạnh đông mẫu trong tủ lạnh thì nhiệt độ giảm xuống không ổn định, và đều bằng khi làm lạnh đông trực tiếp trong buồng sấy. Như vậy có thể kết luận phương pháp làm lạnh đông trực tiếp tốt hơn phương pháp làm lạnh đông gián tiếp.

Qua biểu đồ 4.11 và bảng kết quả 4.11 nhận thấy rằng giữa các bề dày men cũng có sự khác biệt. Qua bảng C.24 phân tích ANOVA (phụ lục C) cho thấy xác suất tin cậy $P \ll 0,05$ nên có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa hai bề dày 1mm và 12mm. Bảng C.26 phân tích LSD (phụ lục C) cũng thể hiện sự khác biệt rõ ràng đó. Biểu đồ 4.11 cho thấy nghiệm thức 1mm luôn có tỉ lệ sống sót cao hơn hẳn so với nghiệm thức 12mm. Điều này xác định lại một lần nữa kết quả ở thí nghiệm 3, bề dày 1mm rất mỏng nên quá trình lạnh đông xảy ra tương đối đều đối với các tế bào, mặt tiếp xúc của các tế bào đối với tác nhân lạnh rất đồng đều. Bề dày 12mm khá dày, những tế bào ở mặt trên chịu tác động đầu tiên, sau đó mới đến các tế bào nằm phía lớp dưới, quá trình lạnh đông xảy ra không đồng đều giữa các tế bào nên ảnh hưởng đến chất lượng men khô sau khi sấy. Bảng số liệu cho thấy sự khác biệt rõ về tỉ lệ sống sót giữa các nghiệm thức.

c. Hoạt tính men

Bảng 4.12: Kết quả hoạt tính men của các nghiệm thức 1mm và 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp khi sấy 24 giờ

Phương pháp cấp đông	Bề dày(mm)	Số tế bào/ 1gam chất khô	Độ nở (%)
Gián tiếp	1	495445155610	84,16
	12	275238886581	67,76
Trực tiếp	1	570536956006	100,68
	12	410206829875	79,16
4°C	Men tươi	703750000000	145,54



Biểu đồ 4.12: Biểu diễn độ nở của bột men ở từng nghiệm thức 1mm, 12mm cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp và sấy 24 giờ

Biểu đồ 4.12 cho thấy độ nở của bột mì sử dụng men sấy cấp đông trực tiếp luôn cao hơn so với bột mì sử dụng men sấy cấp đông gián tiếp. Qua bảng C.21 phân tích ANOVA (phụ lục C) về độ nở nhận thấy xác suất tin cậy về phương pháp cấp đông $P < 0,05$ nên có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa hai phương pháp cấp đông hay nói cách khác bột mì sử dụng men sấy cấp đông trực tiếp nở tốt hơn bột mì sử dụng men sấy cấp đông gián tiếp. Qua bảng 4.12 cũng nhận thấy độ nở bột mì phụ thuộc rất lớn vào hoạt tính của nấm men hay số lượng tế bào còn sống có trong 1 gam men mẫu thí nghiệm. Qua bảng C.27 phân tích mối tương quan giữa độ nở men và số tế bào còn sống có trong 1 gam men mẫu thí nghiệm nhận thấy $P < 0,05$ nên có sự tương quan giữa tế bào còn sống và độ nở bột mì. Theo nhận xét về số tế bào sống thì nghiệm thức 1mm cấp đông trực tiếp có số tế bào sống cao nhất.

Chương 5

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1. Kết luận

Đề tài đã khảo sát được cơ bản về tốc độ làm lạnh ở 2 nhiệt độ đông mẫu -20°C và -68°C của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Ngoài ra, còn khảo sát thêm một số tỷ lệ pha chế chất mang nhằm hoàn thiện phương pháp sấy thăng hoa, xác định được nhiệt độ đông mẫu thích hợp khi cấp đông gián tiếp. Đề tài còn khảo sát các bề dày của khối men đem sấy và hai phương pháp cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp, hoàn thiện quy trình sản xuất nấm men bánh mì khô bằng phương pháp sấy thăng hoa.

Qua các thí nghiệm đã tiến hành, ta đã đạt được những kết quả như sau:

- 1) Tốc độ làm lạnh ở -20°C là $0,31^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và tốc độ làm lạnh ở -68°C là $0,64^{\circ}\text{C}/\text{phút}$, với khối men có đường kính là 3cm, chiều dài 15cm.
- 2) Nhiệt độ đông mẫu -68°C tốt hơn -20°C khi cấp đông gián tiếp.
- 3) Xác định được hai công thức pha chế chất mang ảnh hưởng tốt đến nấm men khi sấy 24 giờ:
 - ✓ 10% sữa gạn kem + 10% mật ong + 5% bột ngọt (thí nghiệm thức DC). Thu được bột men khô có tỉ lệ tế bào sống khoảng 74,43%, độ ẩm khoảng 3,21%, độ nở bột mì khoảng 70,34%.
 - ✓ 20% sữa gạn kem + 10% mật ong + 15% bột ngọt (thí nghiệm thức A). Thu được bột men khô có tỉ lệ tế bào sống khoảng 57,26%, độ ẩm khoảng 2,78%, độ nở khoảng 64,69%.

Vậy, việc áp dụng kỹ thuật sấy thăng hoa, có bổ sung chất mang vào sản xuất men bánh mì khô đạt được hiệu quả khá tốt.

- 4) Xác định được bề dày men tốt nhất trong quá trình sấy thăng hoa là 1 mm. Bề dày càng mỏng thì tỉ lệ sống và hoạt tính của nấm men *S. cerevisiae* càng cao.
- 5) Phương pháp lạnh đông mẫu trực tiếp trong buồng sấy của máy sấy thăng hoa tốt hơn khi lạnh đông mẫu bằng tủ lạnh âm sâu. Tăng tỉ lệ số tế bào sống lên khoảng 27% và tăng độ nở bột mì lên khoảng 18%.

5.2. Đề nghị

Một số đề nghị để đề tài được thực hiện chi tiết hơn, đạt độ chính xác cao hơn.

- Lặp lại thí nghiệm với số lần lớn hơn.
- Khảo sát tốc độ làm lạnh nấm men *Saccharomyces cerevisiae* ở nhiều mức nhiệt độ và nhiều mức thời gian hơn.
- Sử dụng các loại men bánh mì dạng paste từ các cơ sở sản xuất khác nhau.
- Sử dụng nhiều chất mang khác nhau.
- Sử dụng nhiều công thức pha chế chất mang khác nhau.
- Thay đổi thời gian sấy để không chế ẩm độ cuối như nhau, từ đó kết luận chính xác hơn kết quả giữa các nghiệm thức.

Chương 6

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

1. Lê Văn Bình, 2005. Khóa luận tốt nghiệp: Nghiên cứu quy trình sản xuất men bánh mì khô bằng phương pháp sấy thăng hoa, Trường Đại Học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.
2. Hoàng Văn Chúc, 1997. Kỹ thuật sấy, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
3. Nguyễn Đăng Diệp, 1995. Nghiên cứu tối ưu hóa các thông số chủ yếu trong quy trình công nghệ lên men sản xuất sinh khối men nở bánh mì ở quy mô công nghiệp địa phương phù hợp với điều kiện nước ta, viện khoa học công nghệ TP. Hồ Chí Minh.
4. Vương Thị Việt Hoa, 1999. Vi Sinh Vật Học Đại Cương, tủ sách Trường Đại Học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.
5. Nguyễn Đức Lượng, 2002. Vi sinh vật học công nghiệp, nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh.
6. Nguyễn Văn May, 2002. Kỹ thuật sấy nông sản thực phẩm, nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
7. Trần Văn Phú, 2001. Tính toán và thiết kế hệ thống sấy, nhà xuất bản giáo dục.
8. Nguyễn Xuân Phương, 2004. Kỹ thuật lạnh thực phẩm, nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
9. Lê Bạch Tuyết, 1996. Các quá trình công nghệ cơ bản trong sản xuất thực phẩm, nhà xuất bản giáo dục.

TÀI LIỆU TIẾNG NƯỚC NGOÀI

10. Berny, J. F., and Hennebert, G. L., 1991. Viability and stability of yeast cells and filamentous fungus spores during freeze – drying: effects of protectants and cooling rates. *Mycologia* 83: 805 – 815.
11. Carlos Gancedo, Carmen – Lisset Flores, 2004. The importance of a functional trehalose biosynthetic pathway for the life of yeast and fungi. *FEMS Yeast Research* 4: 351 – 359.
12. Morris, G. J., Coulson, G. E., and Clarke, K. J., 1988. Freezing injury in *Saccharomyces cerevisiae*: the effect of growth conditions. *Cryobiology* 25: 471 – 482.

13. Labconco corporation, 2004. A guide to freeze drying for the laboratory, an industry service publication.

14. Ana S. CARVALHO, Joana SILVA, Peter HO, Paula TEIXEIRA, F. Xavier MALCATA, Paul GIBBS, 2002. Protective effect of sorbitol and monosodium glutamate drying storage freeze-dried lactic acid bacteria.

CÁC TRANG WEB

15. <http://www2.biomed.cas.cz/~benada/lem117/eng/stereo.htm>

16. http://www.biomed.cas.cz/gim_em/data/sem4a_eng.h

17. <http://www.phys.ksu.edu/gene/a2f2.html>

18. http://www.virtualmuseum.ca/Exhibitions/Mushroom/Images/Fungus/Other/Large/yeast_md.jpg

19. <http://www.scielo.org.ar/img/revistas/laar/v33n3/3a05g747.gif>

20. http://www.virtualmuseum.ca/Exhibitions/Mushroom/Images/Fungus/Other/yeast_sm.jpg

21. <http://www.heto-holten.com/>

PHỤ LỤC

Phụ lục A: Số liệu thô

Bảng A.1: Kết quả khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men trên men paste, bảo quản 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất, sau các thời gian xử lý nhiệt, ẩm độ men 70%, xử lý ở nhiệt độ -20°C.

Thời Gian(phút)	Nhiệt độ trung bình	ΔT	Δt	$\Delta T/\Delta t$	$(\Delta T/\Delta t)_{tb}$	$(\Delta T/\Delta t)_{tb} * \Delta t$
0	25,00					
1	23,67	1,33	1	1,33	1,17	1,17
2	22,67	1,00	1	1,00	1,83	1,83
3	20,00	2,67	1	2,67	2,83	2,83
4	17,00	3,00	1	3,00	2,33	2,33
5	15,33	1,67	1	1,67	1,10	1,10
10	12,67	2,67	5	0,53	0,83	4,17
15	7,00	5,67	5	1,13	1,07	5,33
20	2,00	5,00	5	1,00	0,55	2,75
30	1,00	1,00	10	0,10	0,10	1,00
40	0,00	1,00	10	0,10	0,12	1,17
50	-1,33	1,33	10	0,13	0,22	2,17
60	-4,33	3,00	10	0,30	0,23	2,28
90	-9,00	4,67	30	0,16	0,15	4,50
120	-13,33	4,33	30,00	0,14	0,14	4,33

Bảng A.2: Kết quả khảo sát tốc độ làm lạnh tế bào nấm men trên men paste, bảo quản 4°C sau 2 ngày kể từ ngày sản xuất, sau các thời gian xử lý nhiệt, ẩm độ men 70%, xử lý ở nhiệt độ -68°C.

Thời Gian(phút)	Nhiệt độ trung bình	ΔT	Δt	$\Delta T/\Delta t$	$(\Delta T/\Delta t)_{tb}$	$(\Delta T/\Delta t)_{tb} * \Delta t$
0	25,00					
1	19,67	5,33	1	5,33	4,33	4,33
2	16,33	3,33	1	3,33	3,67	3,67
3	12,33	4,00	1	4,00	4,00	4,00
4	8,33	4,00	1	4,00	4,17	4,17
5	4,00	4,33	1	4,33	2,43	2,43
10	1,33	2,67	5	0,53	0,57	2,83
15	-1,67	3,00	5	0,60	0,83	4,17
20	-7,00	5,33	5	1,07	1,27	6,33
30	-21,67	14,67	10	1,47	1,53	15,33
40	-37,67	16,00	10	1,60	1,18	11,83
50	-45,33	7,67	10	0,77	0,67	6,67
60	-51,00	5,67	10	0,57	0,32	3,22
90	-53,33	2,33	30	0,08	0,11	3,33
120	-57,67	4,33	30	0,14	0,14	4,33

Bảng A.3: Kết quả các chỉ tiêu của sản phẩm nấm men sau khi sấy 24 giờ, ở hai nhiệt độ đông mẫu là -20°C và -68°C cho từng nghiệm thức DC, A, B, C, D và E.

Nhiệt độ	Nghiệm thức	Ẩm độ(%)	Số tế bào / 1 gam	Số tế bào / 1gam chất khô	Tỉ lệ số tế bào sống sót so với men tươi (%)	Độ Nở(%)
-20°C	DC	3,12	117250000000	120913769037	45,45	53,32
	A	3,31	103125000000	106543795007	40,05	39,88
	B	2,04	477500000000	48748426248	18,32	34,05
	C	1,70	436250000000	44427100357	16,70	29,91
	D	3,26	675000000000	69934793460	26,29	31,68
	E	1,64	650000000000	65991933809	24,81	34,20
-68°C	DC	3,21	191625000000	198003023429	74,43	70,34
	A	2,78	148250000000	152322698186	57,26	64,69
	B	1,56	725000000000	73653877143	27,69	45,39
	C	1,62	905000000000	92170164112	34,65	40,58
	D	2,89	127375000000	131139724793	49,30	56,99
	E	1,95	835000000000	85167020019	32,01	40,16

Bảng A.4: Kết quả các chỉ tiêu của sản phẩm nấm men sau khi sấy 24 giờ, ở nhiệt độ đông mẫu -68°C cho từng nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm, 16mm.

Bề dày (mm)	Âm độ(%)	Số tế bào / 1 gam	Số tế bào / 1gam chất khô	Tỉ lệ số tế bào sống sót so với men tươi (%)	Độ nở (%)
1	1,41	264333333333	268149188888	71,69	68,62
4	2,91	115000000000	118441393984	31,66	34,81
8	3,65	137000000000	142220991625	38,02	40,59
12	4,32	231666666667	242151240277	64,74	58,42
16	4,22	113833333333	118942997249	31,80	39,34

Bảng A.5: Kết quả các chỉ tiêu của sản phẩm nấm men sau khi sấy 24 giờ, ở nhiệt độ đông mẫu -68°C và đông mẫu trực tiếp trong buồng sấy của máy sấy cho từng nghiệm thức 1mm, 12mm.

Phương pháp đông mẫu	Nghiệm thức	Âm độ(%)	Số tế bào / 1 gam	Số tế bào / 1gam chất khô	Tỉ lệ số tế bào sống sót so với men tươi (%)	Độ Nở(%)
-20°C	1	1,57	487666666667	495445155610	70,40	84,16
	12	3,72	265000000000	275238886581	39,11	67,76
-68°C	1	1,73	560666666667	570536956006	81,07	100,68
	12	3,46	396000000000	410206829875	58,29	79,16

Phụ lục B: Cách pha chế phụ gia

Gọi G_k (gam): là khối lượng chất khô.

$M\%$: là độ ẩm.

G (gam): là khối lượng của mẫu.

$C\%$: là nồng độ chất mang.

$$G_{k-men} = G_{men} * (1 - M_{men}\%)$$

$$G_{k-skim\ milk} = C_{skim\ milk}\% * G_{k-men}$$

$$G_{k-mật\ ong} = C_{mật\ ong}\% * G_{k-men}$$

$$G_{k-bột\ ngọt} = C_{bột\ ngọt}\% * G_{k-men}$$

$$G_{skim\ milk} = G_{k-skim\ milk} / (1 - M_{skim\ milk}\%).$$

$$G_{mật\ ong} = G_{k-mật\ ong} / (1 - M_{mật\ ong}\%).$$

$$G_{bột\ ngọt} = G_{k-bột\ ngọt} / (1 - M_{bột\ ngọt}\%).$$

$$\Rightarrow G_{tổng} = G_{men} + G_{skim\ milk} + G_{mật\ ong} + G_{bột\ ngọt}.$$

$$\Rightarrow G_k\ tổng = G_{k-men} + G_{skim\ milk} + G_{mật\ ong} + G_{bột\ ngọt}.$$

$$\Rightarrow G_{sau\ khi\ pha\ nước} = G_k\ tổng / (1 - M\%_{sau\ khi\ pha}).$$

$$\Rightarrow \text{Khối lượng nước pha vào} = G_{sau\ khi\ pha} - G_{tổng}.$$

Phụ lục C: Kết quả phân tích thống kê

Bảng C.1: Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 2 về ẩm độ.

Analysis of Variance for TN2.AD - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
MAIN EFFECTS					
A:TN2.NHietDo	.0930230	1	.0930230	1.611	.2602
B:TN2.NT	5.4450315	5	1.0890063	18.862	.0029
RESIDUAL	.2886734	5	.0577347		
TOTAL (CORRECTED)	5.8267278	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Bảng C.2: Bảng phân tích LSD cho yếu tố nhiệt độ của thí nghiệm 2 về ẩm độ.

Multiple range analysis for TN2.AD by TN2.NHietDo

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-68	6	2.3358670	X
-20	6	2.5119569	X

contrast	difference	limits
-68 - -20	-0.17609	0.35672

*denotes a statistically significant difference.

Bảng C.3: Bảng phân tích LSD cho yếu tố chất mang của thí nghiệm 2 về ẩm độ.

Multiple range analysis for TN2.AD by TN2.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
C	2	1.6625379	X
E	2	1.7963564	X
B	2	1.7995637	X
A	2	3.0434890	X
D	2	3.0754178	X
DC	2	3.1661067	X

contrast	difference	limits
DC - A	0.12262	0.61786
DC - B	1.36654	0.61786 *
DC - C	1.50357	0.61786 *
DC - D	0.09069	0.61786
DC - E	1.36975	0.61786 *
A - B	1.24393	0.61786 *
A - C	1.38095	0.61786 *
A - D	-0.03193	0.61786
A - E	1.24713	0.61786 *
B - C	0.13703	0.61786
B - D	-1.27585	0.61786 *
B - E	0.00321	0.61786
C - D	-1.41288	0.61786 *
C - E	-0.13382	0.61786
D - E	1.27906	0.61786 *

* denotes a statistically significant difference.

Bảng C.4: Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 2 về độ nở.

Analysis of Variance for TN2.DN - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
MAIN EFFECTS					
A:TN2.NHietDo	753.7468	1	753.74675	23.860	.0045
B:TN2.NT	1041.6367	5	208.32733	6.595	.0295
RESIDUAL	157.95312	5	31.590623		
TOTAL (CORRECTED)	1953.3365	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Bảng C.5: Bảng phân tích LSD cho yếu tố nhiệt độ của thí nghiệm 2 về độ nở.

Multiple range analysis for TN2.DN by TN2.NHietDo

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-20	6	37.172917	X
-68	6	53.023750	X

contrast	difference	limits
-68 - -20	15.8508	8.34430 *

* denotes a statistically significant difference.

Bảng C.6: Bảng phân tích LSD cho yếu tố chất mang của thí nghiệm 2 về độ nở.

Multiple range analysis for TN2.DN by TN2.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
C	2	35.245000	X
E	2	37.180000	X
B	2	39.720000	XX
D	2	44.333750	XX
A	2	52.282500	XX
DC	2	61.828750	X

contrast	difference	limits
DC - A	9.54625	14.4528
DC - B	22.1088	14.4528 *
DC - C	26.5837	14.4528 *
DC - D	17.4950	14.4528 *
DC - E	24.6488	14.4528 *
A - B	12.5625	14.4528
A - C	17.0375	14.4528 *
A - D	7.94875	14.4528
A - E	15.1025	14.4528 *
B - C	4.47500	14.4528
B - D	-4.61375	14.4528
B - E	2.54000	14.4528
C - D	-9.08875	14.4528
C - E	-1.93500	14.4528
D - E	7.15375	14.4528

* denotes a statistically significant difference.

Bảng C.7: Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 2 về tỉ lệ sống sót.

Analysis of Variance for TN2.TLS - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
MAIN EFFECTS					
A:TN2.NHietDo	896.3408	1	896.34080	26.817	.0035
B:TN2.NT	2120.6024	5	424.12049	12.689	.0072
RESIDUAL	167.12102	5	33.424204		
TOTAL (CORRECTED)	3184.0643	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Bảng C8: Bảng phân tích LSD cho yếu tố nhiệt độ của thí nghiệm 2 về tỉ lệ sống sót.

Multiple range LSD analysis for TN2.TLS___ by TN2.NHietDo

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	---------	--------------------

-20	6	28.604025	X
-68	6	45.889287	X

contrast	difference	limits
-68 - -20	17.2853	8.58305 *

*denotes a statistically significant difference.

Bảng C9: Bảng phân tích LSD cho yếu tố chất mang của thí nghiệm 2 về tỉ lệ sống sót.

Multiple range LSD analysis for TN2.TLS___ by TN2.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	---------	--------------------

B	2	23.005957	X
C	2	25.673952	X
E	2	28.410874	X
D	2	37.792686	XX
A	2	48.654897	XX
DC	2	59.941569	X

contrast	difference	limits
DC - A	11.2867	14.8663
DC - B	36.9356	14.8663 *
DC - C	34.2676	14.8663 *
DC - D	22.1489	14.8663 *
DC - E	31.5307	14.8663 *
A - B	25.6489	14.8663 *
A - C	22.9809	14.8663 *
A - D	10.8622	14.8663
A - E	20.2440	14.8663 *
B - C	-2.66799	14.8663
B - D	-14.7867	14.8663
B - E	-5.40492	14.8663
C - D	-12.1187	14.8663
C - E	-2.73692	14.8663
D - E	9.38181	14.8663

* denotes a statistically significant difference.

Bảng C.10: Phân tích ANOVA giữa số tế bào sống / 1 gam men sản phẩm sấy và độ nở của thí nghiệm 2.

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	9,43262E+21	9,43262E+21	37,64706	0,003576398
Residual	4	1,00222E+21	2,50554E+20		
Total	5	1,04348E+22			

Bảng C.11: Bảng phân tích ANOVA một yếu tố của thí nghiệm 3 về ẩm độ.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN3.AmDo

Level codes: TN3.BeDay

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
Between groups	17.153290	4	4.2883225	2.975	.0738
Within groups	14.416303	10	1.4416303		
Total (corrected)	31.569593	14			

0 missing value(s) have been excluded.

Bảng C12: Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 3 về ẩm độ.

Multiple range LSD analysis for TN3.AmDo by TN3.BeDay

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
0.1Cm	3	1.4145848	X
0.4Cm	3	2.9106218	XX
0.8Cm	3	3.6514238	X
1.6Cm	3	4.2213831	X
1.2Cm	3	4.3192997	X

contrast	difference	limits
0.1Cm - 0.4Cm	-1.49604	2.18494
0.1Cm - 0.8Cm	-2.23684	2.18494 *
0.1Cm - 1.2Cm	-2.90471	2.18494 *
0.1Cm - 1.6Cm	-2.80680	2.18494 *
0.4Cm - 0.8Cm	-0.74080	2.18494
0.4Cm - 1.2Cm	-1.40868	2.18494
0.4Cm - 1.6Cm	-1.31076	2.18494
0.8Cm - 1.2Cm	-0.66788	2.18494

* denotes a statistically significant difference.

Bảng C.13: Bảng phân tích ANOVA một yếu tố của thí nghiệm 3 về độ nở.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN3.DoNo

Level codes: TN3.BeDay

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	SigLevel
Between groups	2510.7794	4	627.69486	5.584	.0126
Within groups	1123.9950	10	112.39950		
Total (corrected)	3634.7744	14			

0 missing value(s) have been excluded.

Bảng C14: Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 3 về độ nở.

Multiple range analysis for TN3.DoNo by TN3.BeDay

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
0.4Cm	3	34.805128	X
1.6Cm	3	39.343590	XX
0.8Cm	3	40.594872	XX
1.2Cm	3	58.415385	XX
0.1Cm	3	68.620513	X

contrast	difference	limits
0.1Cm - 0.4Cm	33.8154	19.2928 *
0.1Cm - 0.8Cm	28.0256	19.2928 *
0.1Cm - 1.2Cm	10.2051	19.2928
0.1Cm - 1.6Cm	29.2769	19.2928 *
0.4Cm - 0.8Cm	-5.78974	19.2928
0.4Cm - 1.2Cm	-23.6103	19.2928 *
0.4Cm - 1.6Cm	-4.53846	19.2928
0.8Cm - 1.2Cm	-17.8205	19.2928

* denotes a statistically significant difference.

Bảng C.15: Bảng phân tích ANOVA một yếu tố của thí nghiệm 3 về tỉ lệ sống sót.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN3.TLS

Level codes: TN3.BeDay

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
Between groups	4407.5785	4	1101.8946	3.783	.0400
Within groups	2912.7850	10	291.2785		

Total (corrected) 7320.3635 14

0 missing value(s) have been excluded.

Bảng C16: Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 3 về tỉ lệ sống sót.

Multiple range analysis for TN3.TLS by TN3.BeDay

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
0.4Cm	3	31.663531	X
1.6Cm	3	31.797627	X
0.8Cm	3	38.020649	XX
1.2Cm	3	64.735503	XX
0.1Cm	3	71.685665	X

contrast	difference	limits
0.1Cm - 0.4Cm	40.0221	31.0575 *
0.1Cm - 0.8Cm	33.6650	31.0575 *
0.1Cm - 1.2Cm	6.95016	31.0575
0.1Cm - 1.6Cm	39.8880	31.0575 *
0.4Cm - 0.8Cm	-6.35712	31.0575
0.4Cm - 1.2Cm	-33.0720	31.0575 *
0.4Cm - 1.6Cm	-0.13410	31.0575
0.8Cm - 1.2Cm	-26.7149	31.0575

* denotes a statistically significant difference.

Bảng C.17: Phân tích ANOVA giữa số tế bào sống / 1 gam men sản phẩm sấy và độ nở của thí nghiệm 3.

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	1,95E+22	1,94976E+22	131,5485281	0,001422599
Residual	3	4,45E+20	1,48216E+20		
Total	4	1,99E+22			

Bảng C.18: Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 4 về ẩm độ.

Analysis of Variance for TN4.AmDo - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level

MAIN EFFECTS					
A:TN4.PPCD	.007008	1	.007008	.017	.9021
B:TN4.BeDay	11.310208	1	11.310208	26.731	.0009
INTERACTIONS					
AB	.1302083	1	.1302083	.308	.6000
RESIDUAL	3.3848667	8	.4231083		

TOTAL (CORRECTED)	14.832292	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Bảng C.19: Bảng phân tích LSD cho yếu tố phương pháp cấp đông của thí nghiệm 4 về ẩm độ.

Multiple range analysis for TN4.AmDo by TN4.PPCD

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
TT	6	2.5966667	X
GT	6	2.6450000	X

contrast	difference	limits
GT - TT	0.04833	0.86626

*denotes a statistically significant difference.

Bảng C.20: Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 4 về ẩm độ.

Multiple range analysis for TN4.AmDo by TN4.BeDay

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1	6	1.6500000	X
12	6	3.5916667	X

contrast	difference	limits
1 - 12	-1.94167	0.86626 *

*denotes a statistically significant difference.

Bảng C.21: Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 4 về độ nở.

Analysis of Variance for TN4.DoNo - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
MAIN EFFECTS					
A:TN4.PPCD	584.6913	1	584.6913	10.000	.0133
B:TN4.BeDay	1077.7497	1	1077.7497	18.432	.0026
INTERACTIONS					
AB	19.618156	1	19.618156	.336	.5844
RESIDUAL	467.76174	8	58.470218		
TOTAL (CORRECTED)	2149.8209	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Bảng C.22: Bảng phân tích LSD cho yếu tố phương pháp cấp đông của thí nghiệm 4 về độ nở.

Multiple range analysis for TN4.DoNo by TN4.PPCD

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
GT	6	75.959444	X
TT	6	89.920000	X

contrast	difference	limits
GT - TT	-13.9606	10.1833 *

*denotes a statistically significant difference.

Bảng C.23: Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 4 về độ nở.

Multiple range analysis for TN4.DoNo by TN4.BeDay

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
12	6	73.462778	X
1	6	92.416667	X

contrast	difference	limits
1 - 12	18.9539	10.1833 *

*denotes a statistically significant difference.

Bảng C.24: Bảng phân tích ANOVA hai yếu tố của thí nghiệm 4 về tỉ lệ sống sót.

Analysis of Variance for TN4.TLS - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig.level
MAIN EFFECTS					
A:TN4.PPCD	668.4758	1	668.4758	89.113	.0000
B:TN4.BeDay	2193.0645	1	2193.0645	292.352	.0000
INTERACTIONS					
AB	54.630624	1	54.630624	7.283	.0271
RESIDUAL	60.011587	8	7.5014484		

TOTAL (CORRECTED)	2976.1825	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Bảng C.25: Bảng phân tích LSD cho yếu tố phương pháp cấp đông của thí nghiệm 4 về tỉ lệ sống sót.

Multiple range analysis for TN4.TLS by TN4.PPCD

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
GT	6	54.753125	X
TT	6	69.680458	X

GT	6	54.753125	X
TT	6	69.680458	X

contrast	difference	limits
GT - TT	-14.9273	3.64749 *

- denotes a statistically significant difference.

Bảng C.26: Bảng phân tích LSD cho yếu tố bề dày men của thí nghiệm 4 về tỉ lệ sống sót.

Multiple range analysis for TN4.TLS by TN4.BeDay

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
12	6	48.698087	X
1	6	75.735496	X

12	6	48.698087	X
1	6	75.735496	X

contrast	difference	limits
1 - 12	27.0374	3.64749 *

*denotes a statistically significant difference.

Bảng C.27: Phân tích ANOVA giữa số tế bào sống / 1 gam men sản phẩm sấy và độ nở của thí nghiệm 3.

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	4,5E+22	4,5E+22	23,68425	0,039723332
Residual	2	3,8E+21	1,9E+21		
Total	3	4,88E+22			

Bảng C.28: Bảng trung bình của yếu tố bề dày của thí nghiệm 3 về tỉ lệ sống sót.

Table of means for TN3.TLS by TN3.BeDay

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
0.1Cm	3	71.685665	4.523551	9.8535697	56.156909	87.214420
0.4Cm	3	31.663531	2.369821	9.8535697	16.134775	47.192286
0.8Cm	3	38.020649	.981052	9.8535697	22.491894	53.549405
1.2Cm	3	64.735503	19.557225	9.8535697	49.206747	80.264258
1.6Cm	3	31.797627	8.714246	9.8535697	16.268871	47.326382
Total	15	47.580595	4.406650	4.4066503	40.635924	54.525265

Phụ lục D: Hình ảnh bột men và bột mì tương ứng cho từng nghiệm thức**Hình D.1:** Nghiệm thức DC ở -68°C **Hình D.4:** Nghiệm thức C ở -68°C **Hình D.2:** Nghiệm thức A ở -68°C **Hình D.5:** Nghiệm thức D ở -68°C **Hình D.3:** Nghiệm thức B ở -68°C **Hình D.6:** Nghiệm thức E ở -68°C



Hình D.7: Nghiệm thức DC ở -20°C



Hình D.10: Nghiệm thức C ở -20°C



Hình D.8: Nghiệm thức A ở -20°C



Hình D.11: Nghiệm thức D ở -20°C



Hình D.9: Nghiệm thức B ở -20°C



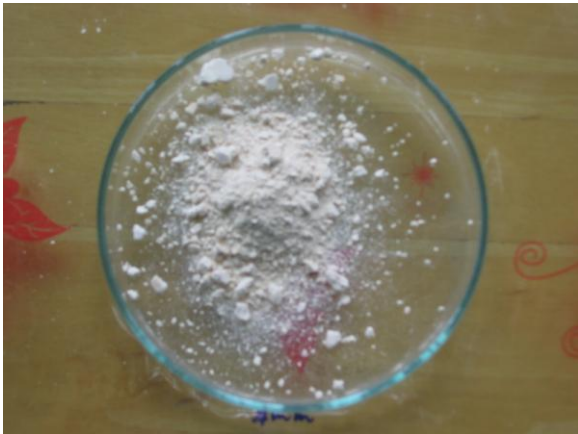
Hình D.12: Nghiệm thức E ở -20°C



Hình D.13: Nghiệm thức 1mm



Hình D.16: Nghiệm thức 12mm



Hình D.14: Nghiệm thức 4mm



Hình D.17: Nghiệm thức 16mm



Hình D.15: Nghiệm thức 8mm



Hình D.18: Nghiệm thức 1mm, cấp đông gián tiếp



Hình D.20: Nghiệm thức 1mm, cấp đông trực tiếp



Hình D.19: Nghiệm thức 12mm, cấp đông gián tiếp



Hình D.21: Nghiệm thức 12mm, cấp đông trực tiếp

Sau đây là các hình bột mì được làm nở cho từng nghiệm thức DC, A, B, C, D và E, nhiệt độ đông mẫu là -68°C .



Hình D.21: Nghiệm thức DC



Hình D.24: Nghiệm thức C



Hình D.22: Nghiệm thức A



Hình D.25: Nghiệm thức D



Hình D.23: Nghiệm thức B



Hình D.26: Nghiệm thức E

Sau đây là các hình bột mì được làm nở cho từng nghiệm thức DC, A, B, C, D và E, nhiệt độ đông mẫu là -20°C .



Hình D.27: Nghiệm thức DC



Hình D.30: Nghiệm thức C



Hình D.28: Nghiệm thức A



Hình D.31: Nghiệm thức D



Hình D.29: Nghiệm thức B



Hình D.32: Nghiệm thức E

Sau đây là các hình bột mì được làm nở cho từng nghiệm thức 1mm, 4mm, 8mm, 12mm, 16mm.



Hình D.33: Nghiệm thức 1mm



D.36: Nghiệm thức 12mm



Hình D.34: Nghiệm thức 4mm



Hình D.37: Nghiệm thức 16mm



Hình D.35: Nghiệm thức 8mm

Sau đây là các hình bột mì được làm nở cho từng nghiệm thức 1mm, 12mm, cấp đông trực tiếp và cấp đông gián tiếp.



Hình D.38: Nghiệm thức 1mm, cấp đông trực tiếp



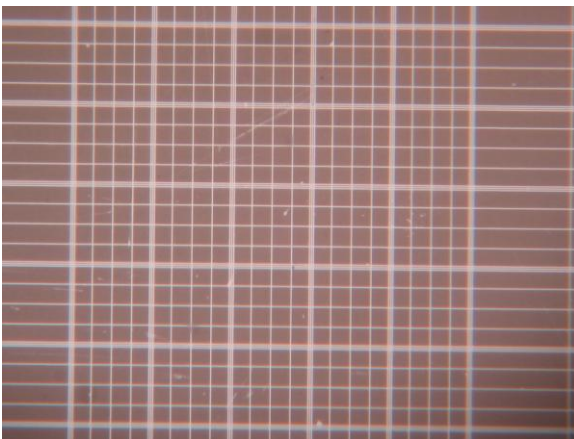
Hình D.40: Nghiệm thức 1mm, cấp đông gián tiếp



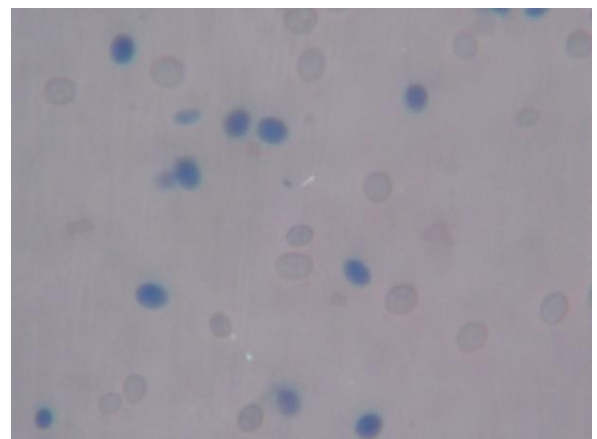
Hình D.39: Nghiệm thức 12mm, cấp đông trực tiếp



Hình D.41: Nghiệm thức 12mm, cấp đông gián tiếp



Hình D.42: Buồng đếm hồng cầu



Hình D.43: Tế bào nấm men nhuộm methylene blue