



TRƯỜNG ĐẠI HỌC AN GIANG
KHOA NÔNG NGHIỆP – TÀI NGUYÊN THIÊN NHIÊN

HUỲNH MUỖI HÊN
MSSV: DTP010788

NƯỚC THÓT LÓT LÊN MEN

LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP KỸ SƯ NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

GIÁO VIÊN HƯỚNG DẪN:
PGs. Ts. Nguyễn Văn Bá
Ks. Nguyễn Hữu Thanh

Tháng 6.2005

TRƯỜNG ĐẠI HỌC AN GIANG
KHOA NÔNG NGHIỆP – TÀI NGUYÊN THIÊN NHIÊN

NƯỚC THỐT LÓT LÊN MEN

Do sinh viên: HUỲNH MUỐI HÊN thực hiện và đệ nạp
Kính trình Hội đồng chấm luận văn tốt nghiệp xét duyệt

Long Xuyên, ngày tháng năm 2005
GIÁO VIÊN HƯỚNG DẪN

PGs. Ts. Nguyễn Văn Bá

Ks. Nguyễn Hữu Thanh

TRƯỜNG ĐẠI HỌC AN GIANG
KHOA NÔNG NGHIỆP – TÀI NGUYÊN THIÊN NHIÊN

Hội đồng chấm luận văn tốt nghiệp đã chấp thuận luận văn đính kèm với tên đề tài: **NƯỚC THÓT LÓT LÊN MEN.**

Do sinh viên: HUỲNH MUÔI HÊN

Thực hiện và bảo vệ trước Hội đồng ngày:.....

Luận văn đã được Hội đồng đánh giá ở mức:.....

Ý kiến của Hội đồng:.....

.....
.....
.....
.....

Long Xuyên, ngày tháng năm 2005

DUYỆT

Chủ tịch Hội đồng

BAN CHỦ NHIỆM KHOA NN-TNTN

TIỂU SỬ CÁ NHÂN

Họ và tên: Huỳnh Muỗi Hên

Ngày tháng năm sinh: 19/02/1982

Nơi sinh: Huyện Tri Tôn - tỉnh An Giang

Con Ông: Huỳnh Văn Chung

và Bà: Giang Thị Lang

Địa chỉ: 38 ấp Tô Trung, xã Núi Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang

Đã tốt nghiệp phổ thông năm: 2000

Vào trường Đại học An Giang năm 2001 học lớp DH2TP1 khóa 2 thuộc Khoa Nông Nghiệp và Tài Nguyên Thiên Nhiên và đã tốt nghiệp kỹ sư ngành Công Nghệ Thực Phẩm năm 2005.

LỜI CẢM TẠ



Lời cảm ơn sâu sắc nhất con xin gửi đến Cha Mẹ, người đã nuôi dưỡng, dạy bảo và cho con được đi học như ngày hôm nay.

Chân thành cảm tạ Thầy Nguyễn Văn Bá và Thầy Nguyễn Hữu Thanh đã tận tình hướng dẫn để tôi hoàn thành đề tài này.

Thành thật biết ơn quý thầy cô trong Bộ Môn Công Nghệ Thực Phẩm đã truyền đạt cho tôi những kinh nghiệm quý báu trong suốt quá trình học.

Chân thành cảm ơn cán bộ phòng thí nghiệm bộ môn Công Nghệ Thực Phẩm và bộ môn Công Nghệ Sinh Học, cùng các bạn sinh viên lớp Công Nghệ Thực Phẩm khóa 2 đã giúp đỡ và tạo điều kiện cho tôi hoàn thành đề tài này.

Long Xuyên, ngày 23 tháng 5 năm 2005

Sinh viên

Huỳnh Muối Hên

TÓM LƯỢC

Với mục tiêu tạo ra sản phẩm nước thốt lốt lên men đạt chất lượng, chúng tôi tiến hành khảo sát mức độ các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men như: pH, độ Brix ban đầu của dịch lên men và tỷ lệ nấm men sử dụng, từ đó tìm ra thông số thích hợp. Sau khi phối chế nước thốt lốt đạt độ Brix từ 18% - 22% bằng đường thốt lốt, chúng tôi tiến hành điều chỉnh pH từ 4,5 – 6,5 bằng acid citric và Na_2CO_3 , tiếp đó bổ sung nấm men với các tỷ lệ 0,1%, 0,2%, và không bổ sung (0%). Sau 6 ngày lên men ở điều kiện nhiệt độ phòng, kết quả cho thấy ở nồng độ chất khô ban đầu là 22%, pH = 4,5 và tỷ lệ nấm men sử dụng là 0,2% thì quá trình lên men xảy ra là tốt nhất.

Đồng thời để tạo cho sản phẩm có vị hài hòa, hợp khẩu vị, chúng tôi cũng tiến hành điều vị sản phẩm ở các hàm lượng đường kem (dưới dạng dịch sirô) khác nhau: 1%, 2%, 3% và không bổ sung (0%) sau khi quá trình lên men kết thúc và dịch lên men đã được làm trong. Sau khi tiến hành đánh giá cảm quan kết quả cho thấy, sản phẩm điều vị ở hàm lượng đường 2% thì có giá trị cảm quan cao, vị hài hòa, người tiêu dùng có thể chấp nhận.

MỤC LỤC

Nội dung	Trang
----------	-------

LỜI CẢM ƠN.....	i
TÓM LƯỢC.....	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH SÁCH BẢNG.....	v
DANH SÁCH HÌNH.....	vi
Chương 1 GIỚI THIỆU.....	1
1.1. Đặt vấn đề.....	1
1.2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
Chương 2 LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU.....	3
2.1. Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu.....	3
2.1.1. Nước thốt lốt.....	3
2.1.2. Nấm men.....	4
2.1.3. NaHSO ₃	8
2.1.4. Acid citric, Na ₂ CO ₃	8
2.1.5. Đường thốt lốt.....	8
2.2. Khái quát về quá trình lên men rượu.....	9
2.3. Cơ chế của quá trình lên men.....	9
2.4. Động học của quá trình lên men.....	10
2.5. Sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian của quá trình lên men rượu.....	11
2.5.1. Sự tạo thành acid.....	11
2.5.2. Sự tạo thành alcol cao phân tử.....	11
2.5.3. Sự tạo thành ester.....	11
2.6. Các vi khuẩn có hại cho nấm men.....	12
2.6.1. Vi khuẩn lactic.....	12
2.6.2. Vi khuẩn acetic.....	12
2.6.3. Vi khuẩn butylic và các vi sinh vật khác.....	13
2.7. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men.....	13
2.7.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ.....	13
2.7.2. Ảnh hưởng của acid (pH).....	13
2.7.3. Ảnh hưởng của nồng độ rượu.....	14
2.7.4. Ảnh hưởng của số lượng tế bào nấm men.....	14
2.7.5. Ảnh hưởng của việc thông khí và đảo trộn.....	14
2.8. Qui trình lên men rượu ngọt và rượu cơ tham khảo.....	15

DANH SÁCH BẢNG

Bảng số	Tựa bảng	Trang
1	Thành phần hóa học của nước thốt lốt.....	3
2	Thành phần hóa học của đường thốt lốt	9
3	Bảng đánh giá cảm quan sản phẩm nước thốt lốt lên men.....	22
4	Thành phần nguyên liệu nước thốt lốt	23
5	Ảnh hưởng của độ Brix ban đầu đến hàm lượng cồn sinh ra.....	23
6	Sự biến đổi độ Brix theo thời gian lên men ở các nghiệm thức độ Brix ban đầu khác nhau.....	25
7	Ảnh hưởng của các tỉ lệ nấm men bổ sung vào đến hàm lượng cồn sinh ra theo thời gian.....	26
8	Sự biến đổi độ Brix ở các tỉ lệ nấm men khác nhau theo thời gian.....	27
9	Ảnh hưởng của pH ban đầu đến hàm lượng cồn sinh ra theo thời gian	28
10	Sự thay đổi độ Brix ở các pH ban đầu khác nhau theo thời gian lên	
11	men	29
12	Điểm cảm quan sản phẩm nước thốt lốt lên men của các thành viên....	30
	Kết quả phân tích nước thốt lốt lên men thành phẩm so với tiêu chuẩn rượu uống của TCVN 5013 - 89.....	31

DANH SÁCH HÌNH

Hình số	Tựa hình	Trang
1	Sơ đồ bố trí thí nghiệm khảo sát sự ảnh hưởng của pH, độ Brix và tỉ lệ nấm men bổ sung đến quá trình lên men.....	19
2	Sơ đồ bố trí thí nghiệm điều vị.....	21
3	Đồ thị biểu diễn độ cồn tăng theo thời gian lên men ở các nghiệm thức có độ Brix ban đầu khác nhau.....	24
4	Đồ thị biểu diễn sự thay đổi độ Brix theo thời gian lên men.....	25
5	Đồ thị biểu diễn sự biến đổi độ cồn theo thời gian lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau.....	26
6	Đồ thị biểu diễn sự thay đổi độ Brix theo thời gian lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau.....	27
7	Đồ thị biểu diễn sự biến đổi độ cồn theo thời gian lên men ở các pH ban đầu khác nhau.....	28
8	Đồ thị biểu diễn sự thay đổi độ Brix theo thời gian lên men ở các pH ban đầu khác nhau.....	29
9	Sơ đồ qui trình sản xuất đề nghị.....	32
10	Nguyên liệu nước thốt lốt.....	pc-1
11	Nước thốt lốt đang lên men.....	pc-1
12	Kết thúc quá trình lên men nước thốt lốt	pc-2
13	Sản phẩm nước thốt lốt lên men.....	pc-2

Chương 1 GIỚI THIỆU

1.1.Đặt vấn đề

Tỉnh Biên và Tri Tôn thuộc tỉnh An Giang là nơi có tiềm năng rất lớn về trữ lượng cây thốt nốt hàng năm. Trước năm 1980, cư dân thuộc vùng này vẫn còn chưa biết khai thác hết tiềm năng kinh tế từ cây thốt nốt, nên lượng cây thốt nốt bị chặt phá khá nhiều để làm gỗ xây dựng và canh tác các cây công nghiệp khác.

Từ năm 1990 đến nay, nguồn lợi từ cây thốt nốt (phục vụ cho khách du lịch Núi Sam) đã tác động lớn đến ý thức người dân, chính quyền địa phương đã ra chỉ thị ngăn cấm việc chặt phá cây thốt nốt. Chương trình khuyến nông đã tạo điều kiện giúp đỡ cho người dân trong việc mua sắm các phương tiện dụng cụ sản xuất chế biến đường, nên đến nay cây thốt nốt được giữ gìn và trở thành một trong những nguồn lợi chính của người dân địa phương.

Cây thốt nốt là cây có hiệu quả kinh tế cao, dễ trồng và thời gian khai thác dài hạn. Việc phát triển cây thốt nốt còn góp phần phủ xanh đất trồng, đồi trọc, cải tạo và chống suy thoái môi trường, khu vực.

Nước thốt nốt có hương vị đặc trưng và giá trị dinh dưỡng cao, được thu hoạch gần như quanh năm (mùa vụ thu hoạch bắt đầu từ tháng 12 năm trước đến tháng 8 năm sau), và mỗi cây thốt nốt có thể cho từ 6 – 10 lít nước thốt nốt mỗi ngày. Nguồn nguyên liệu sau khi thu hoạch thường chỉ dùng để sản xuất đường là chủ yếu, tiêu thụ ở Đồng Bằng Sông Cửu Long, ngoài ra nó còn được bán như nước giải khát dạng tươi hoặc dùng làm nước thốt nốt chua, giá trị không cao, chỉ mang tính phục vụ địa phương với sản lượng thấp do chất lượng và vệ sinh kém, giá trị cảm quan chưa cao, mùi vị chưa phù hợp với người tiêu dùng, chưa có bao bì chứa đựng, đã làm giảm giá trị kinh tế của nguồn nguyên liệu. Do đó việc đa dạng hóa các sản phẩm từ thốt nốt cũng tạo ra một sản phẩm mới đạt chất lượng, nhằm nâng cao thu nhập, phát huy hiệu quả kinh tế và cải thiện đời sống của người dân địa phương là việc làm bức thiết hiện nay.

Trên cơ sở vấn đề đặt ra, việc sản xuất nước thốt nốt lên men cần được thực hiện để tạo ra một sản phẩm mới đạt chất lượng, mùi vị tốt, giá trị cảm quan cao,

hợp vệ sinh, góp phần đa dạng hóa các sản phẩm từ thốt nốt phục vụ cho khách du lịch, làm cho sản phẩm trở thành đặc sản của vùng Bảy Núi.

1.2.Mục tiêu nghiên cứu

Với mục tiêu tạo ra sản phẩm nước thốt nốt lên men đạt chất lượng: Mùi vị hài hòa người tiêu dùng có thể chấp nhận được, đề tài được tiến hành với các thí nghiệm sau:

- Khảo sát mức độ của các nhân tố ảnh hưởng đến quá trình lên men nước thốt nốt: pH, độ Brix và tỉ lệ nấm men bổ sung.

- Khảo sát tỉ lệ đường bổ sung trong việc điều vị sản phẩm.

Chương 2 LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU

2.1. Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu

2.1.1. Nước thốt lốt

2.1.1.1. Nguồn gốc

Nước thốt lốt được lấy từ hoa, mỗi cây có từ 20 – 30 hoa, người lấy nước thốt lốt thường dùng 2 thanh tre kẹp ngang cuống hoa, mỗi ngày kẹp 2 lần. Với cây thốt lốt đực thì kẹp liên tiếp 3 – 4 ngày, còn cây cái thì 9 – 10 ngày. Sau đó dùng dao tiện nối vào chỗ kẹp độ 2 – 3 phần, rồi treo ống hứng nước dính vào cuống, nước thốt lốt sẽ rỏ vào ống. Mỗi cây thốt lốt có thể cho 6 – 10 lít nước mỗi ngày. Cây từ 20 tuổi trở lên mới cho nước thốt lốt đạt chất lượng, thời gian khai thác nước thốt lốt từ tháng 12 năm trước đến tháng 8 năm sau. (Lê Thanh Tùng, 2003)

2.1.1.2. Thành phần hóa học

Phần lớn thốt lốt của vùng Bảy Núi thuộc loài lai giữa *Borassus flabellifer* và *Borassus baethiopium*, có mùi hương hấp dẫn, giá trị dinh dưỡng cao.

Thành phần hóa học của nước thốt lốt được trình bày ở bảng sau

Bảng 1: Thành phần hóa học của 100ml nước thốt lốt

Thành phần	Hàm lượng, mg
Nitrogen	56
Protein	350
Đường khử	960
Khoáng chất	540
Phosphor	140
Sắt	400
Vitamin B1	3,9
Vitamin C	13,25

(Hoàng Xuân Phương, 2004)

2.1.2. Nấm men

2.1.2.1. Hình dạng

Nấm men có nhiều hình dạng khác nhau, thường chúng có hình cầu, hình elip, hình bầu dục và cả hình dài. Hình dạng tế bào nấm men hình như không ổn định nó phụ thuộc vào tuổi của nấm men và phụ thuộc vào điều kiện nuôi cấy.

2.1.2.2. Kích thước tế bào nấm men

Tế bào nấm men thường có kích thước rất lớn gấp 5 – 10 lần kích thước tế bào vi khuẩn.

Kích thước trung bình của tế bào nấm men:

- Chiều dài: 8 – 10 μm
- Chiều rộng: 2 – 7 μm

Kích thước này cũng thay đổi, sự không đồng đều thấy ở các loài khác nhau, ở lứa tuổi khác nhau và ở điều kiện nuôi cấy khác nhau. (Trần Minh Tâm, 2000)

2.1.2.2. Cấu tạo tế bào nấm men

Tế bào nấm men cũng như nhiều loại tế bào khác được cấu tạo chủ yếu từ các phân cơ bản sau:

- Thành tế bào: Thành tế bào nấm men được cấu tạo từ nhiều thành phần khác nhau. Trong đó đáng kể nhất là: Glucan, manan, protein, lipid và một số thành phần nhỏ khác như kitin.

- Màng nguyên sinh chất: Gồm các hợp chất phức tạp như protein, photpholipid, enzym permase.

- Nhân: Tế bào nấm men có nhân thật, nhân có hình bầu dục hay hình cầu. Cũng như các vi sinh vật khác nhân nấm men có chứa protein và acid nucleic.

Những thành phần khác như: Không bào, volutin, ty lạp thể, riboxom.

2.1.2.3. Các hình thức hô hấp của nấm men

Ở nấm men hô hấp là quá trình khá phức tạp, nó xảy ra theo 2 chiều hướng khác nhau. Vì thế, người ta phân bố ra thành 2 loại hô hấp: Hiếu khí và yếm khí.

Điểm giống và khác nhau của 2 dạng hô hấp trên:

- Giống nhau:

+ Cả 2 đều sinh ra năng lượng, năng lượng này dùng để cung cấp cho cơ thể sống hoạt động và một phần thải ra bên ngoài.

+ Sản phẩm trung gian ban đầu đều giống nhau, nghĩa là tạo ra acid pyruvic.

+ Quá trình chuyển hóa của 2 kiểu hô hấp đều có sự tham gia của những hệ enzym oxy hóa gần giống nhau.

- Khác nhau:

+ Hô hấp yếm khí là dạng hô hấp không có sự tham gia của oxy, vì thế chất tách ở đây không phải là oxy, còn hô hấp hiếu khí thì ngược lại.

+ Sản phẩm của quá trình hô hấp hiếu khí là CO_2 và H_2O , còn sản phẩm của quá trình hô hấp yếm khí là $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ và CO_2 . (Trần Thị Thùy Trang, 2003)

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

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

Protid 30 - 50%, trung bình 40%

Glucid 24 - 40%, trung bình 30%

Chất béo 2 - 5%, trung bình 4%

Chất khoáng 5 - 11%, trung bình 9%

- Protid chứa trong nấm men rượu thường có đủ các acid amin không thay thế được. Về giá trị dinh dưỡng thì protid nấm men tương đương protid động vật nhưng giá trị hơn protid thực vật. Ở nhiệt độ cao và bình thường, dưới tác dụng của protease có sẵn trong nấm men, protid sẽ biến thành pepton, peptit và acid amin.

- Glucid của nấm men chủ yếu là glucogen $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$, đây là chất dự trữ của tế bào, theo thành phần cấu tạo thì glucogen giống như amylopectin nhưng khác là khối lượng phân tử lớn hơn. Hàm lượng của nó trong tế bào men tùy thuộc trước hết vào môi trường dinh dưỡng.

Trong môi trường dư đường lượng glucogen tăng đáng kể. Trong giai đoạn đầu của lên men nồng độ đường còn cao, nên nấm men chứa nhiều glucogen. Khi

lượng đường giảm, nấm men sẽ sử dụng glucogen để duy trì sự sống. Dưới tác dụng của α -amylase glucogen sẽ biến thành maltose và dextrin.

- Chất béo là thức ăn dự trữ của nấm men và chứa chủ yếu trong nguyên sinh chất. Trong nấm men còn chứa các chất tương tự chất béo như loxitin và sterin. Trong số đó quan trọng hơn cả là ugosterin, chất này dễ biến thành vitamin D dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời và còn gọi là tiền vitamin D.

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

Để đảm bảo cho sự sống, nấm men cần các vitamin B_1 có trong thành phần của coenzym cacboxylase B_2 ở dạng este photphoric, acid nicotin có trong cozymase... Biotin và acid paraamino benzoic là những chất kích thích cho sinh trưởng của nấm men. Trong tế bào nấm men có nhiều loại vitamin và với hàm lượng khá lớn, nên hiện nay nấm men được xem là nguồn nguyên liệu quý trong sản xuất một số vitamin. (Nguyễn Đình Thường, 2000)

2.1.2.5. Cơ chế vận chuyển các chất dinh dưỡng vào trong tế bào nấm men

Nấm men hoàn toàn không có cơ quan dinh dưỡng riêng biệt, các chất dinh dưỡng mà chúng sử dụng chủ yếu được vận chuyển qua thành tế bào theo 2 con đường cơ bản sau:

- Con đường thứ nhất là thẩm thấu bị động: Trên thành tế bào nấm men có những lỗ nhỏ, những lỗ này có tác dụng làm cho các chất dinh dưỡng vận chuyển vào trong tế bào từ môi trường bên ngoài nhờ áp suất thẩm thấu. Ngược lại chất thải trong quá trình trao đổi chất cũng được thải qua những lỗ này.

- Con đường thứ hai là hấp thu thức ăn một cách chủ động: Các thành phần dinh dưỡng không có khả năng xâm nhập vào tế bào thì lập tức có hệ permease hoạt hóa. Permease là một protid hoạt động, chất này sẽ liên kết với chất dinh dưỡng hình thành hợp chất và hợp chất này chui qua thành tế bào vào trong, tại đây chúng tách ra và permease lại tiếp tục làm công việc vận chuyển.

2.1.2.6. Sinh dưỡng của tế bào nấm men

Nấm men tiếp nhận thức ăn bằng con đường hấp thu chọn lọc trên bề mặt của tế bào và sau đó khuếch tán vào bên trong. Màng và lớp bao bọc nguyên sinh chất của tế bào trong trường hợp này đóng vai trò là lớp màng bán thấm ngăn cách, điều khiển các chất dinh dưỡng vào tế bào và thải ra môi trường xung quanh những sản phẩm của hoạt động sống. Để cho tế bào dễ hấp thụ, các chất dinh dưỡng phải là những chất có nguyên tử lượng thấp và hòa tan vào trong nước, một phần các chất dinh dưỡng chuyển hóa các hợp chất cao phân tử như: protid, glucid, lipid... trong tế bào và xây dựng thành tế bào mới.

Nấm men cũng giống như các cơ thể thực vật khác cần oxy, cacbon, nitơ, kali, magie.

- Oxy, hydro, cacbon

Oxy, hydro cung cấp cho tế bào nước từ môi trường. Nguồn cung cấp cacbon là các loại đường khác nhau. Ở những giai đoạn nhất định, nấm men còn sử dụng nguồn cacbon của acid amin.

- Nitơ

Nấm men không có men ngoại phân giải protid, cho nên không thể phân cách albumin của môi trường thành chất có khả năng hấp thụ và phải cung cấp ở dạng hòa tan. Có thể là dạng vô cơ hoặc hữu cơ. Dạng hữu cơ thường được sử dụng là acid amin, pepton amid, ure. Dạng vô cơ là các muối amon khử nitrat, sulfat.

- Các vitamin

Sinh tố B₁ (thiamin), sinh tố B₂ (riboflavin), sinh tố B₃ (acid pentotenic), sinh tố B₅ (P.P acid nicotic).

- Chất khoáng có ảnh hưởng to lớn đến hoạt động sống của tế bào nấm men. Trước hết là photpho, có thành phần của nucleoprotein polyphosphate của nhiều enzym và của sản phẩm trung gian của quá trình lên men rượu. Chúng tạo thành mối liên kết có năng lượng hơn. Lưu huỳnh tham gia vào thành phần của một số acid amin, albumin, sinh tố và một số nguyên tố vi lượng như magie, sắt có ảnh hưởng đến quá trình sinh lý, sinh hóa của nấm men. Magie tham gia vào nhiều phản ứng trung gian của sự lên men. Sắt tham gia vào thành phần enzym của sự hô hấp và các quá trình khác.

Nấm men chứa nhiều kali, nó thúc đẩy sự phát triển của nấm men tham gia vào sự lên men rượu, tạo điều kiện hồi phục phosphoric hóa của acid pyruvic. Mangan đóng vai trò tương tự magie. (Nguyễn Văn Tùng, 2003)

2.1.2.7. Các hình thức sinh sản của nấm men

Nấm men sinh sản bằng nhiều hình thức khác nhau:

- Sinh sản bằng cách nảy chồi.
- Sinh sản bằng cách phân đôi.

2.1.3. NaHSO₃

Trong quá trình lên men có nhiều vi sinh vật tạp nhiễm sinh ra nhiều acid hữu cơ và các hợp chất khác, do đó việc sử dụng NaHSO₃ để sát khuẩn trước khi lên men là cần thiết, với hàm lượng cho phép < 450 ppm/kg. (Jim Smith, 1991)

2.1.4. Acid citric, Na₂CO₃

Sử dụng nhằm mục đích tạo pH thích hợp trong quá trình lên men.

2.1.5. Đường thốt lốt

Sử dụng nhằm để điều chỉnh độ Brix của dịch lên men.

Bảng 2: Thành phần hóa học của đường thốt lốt

Thành phần	Hàm lượng, %
------------	--------------

Sucrose	76,86
Đường khử	1,66
Đạm	1,04
Chất béo	0,19
Chất khoáng	3,15

(Hoàng Xuân Phương, 2004)

2.2. Khái quát về quá trình lên men rượu

Lên men là quá trình trao đổi chất dưới tác dụng của enzym tương ứng gọi là chất xúc tác sinh học. Tùy theo sản phẩm tích tụ sau quá trình lên men mà người ta chia làm nhiều kiểu lên men khác nhau. Tuy nhiên, có hai hình thức lên men chính: Lên men yếm khí và lên men hiếu khí.

Lên men rượu là quá trình lên men yếm khí với sự có mặt của nấm men, chúng sẽ chuyển hóa đường lên men thành ethanol và CO₂.

2.3. Cơ chế của quá trình lên men

Để lên men người ta cho vào môi trường một lượng tế bào nấm men nhất định. Tùy theo phương pháp lên men mà lượng nấm men cho vào khác nhau. Thông thường khi lên men, lượng tế bào nấm men phải đạt lớn hơn một trăm triệu tế bào trong một ml dịch lên men. Do diện tích bề mặt của tế bào nấm men lớn nên khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng mạnh. Đường lên men và các chất dinh dưỡng khác trong môi trường lên men trước tiên được hấp thụ trên bề mặt nấm men, sau đó được khuếch tán vào bên trong tế bào nấm men, rượu và CO₂ sẽ được tạo thành.

Rượu etylic tạo thành khuếch tán ra môi trường bên ngoài qua màng tế bào nấm men. Rượu hòa tan vô hạn trong nước nên khuếch tán rất mạnh vào trong môi trường. CO₂ cũng hòa tan vào trong môi trường nhưng sự hòa tan không lớn. Ở áp suất 800 mmHg, nhiệt độ 25 – 30°C thu được khoảng 0,837- 0,856 lít CO₂/lít nước. Vì thế CO₂ sinh ra trong quá trình lên men sẽ khuếch tán vào môi trường và nhanh chóng đạt được trạng thái bão hòa. Khi bão hòa CO₂ bám xung quanh tế bào nấm men hình thành những bọt khí. Tế bào nấm men thường dính liền với nhau, bọt khí sinh ra ngày càng nhiều và lớn dần lên hình thành túi lớn, đến lúc nào đó có sự chênh lệch giữa khối lượng riêng của môi trường và tế bào nấm men sẽ nổi trên bề

mặt. Khi đến bề mặt, do có sự thay đổi đột ngột sức căng bề mặt nên chúng bị vỡ ra làm cho khí CO₂ phóng thích ra ngoài. Lúc này do khối lượng của tế bào nấm men đủ lớn trở lại nên chúng sẽ bị chìm xuống. Quá trình diễn ra liên tục nên tế bào nấm men chuyển từ trạng thái tĩnh sang trạng thái chuyển động, làm gia tăng khả năng sự tiếp xúc giữa các tế bào nấm men và môi trường điều này làm cho quá trình trao đổi chất diễn ra nhanh hơn, mạnh mẽ hơn, khi đó sẽ làm gia tăng quá trình lên men.

Khí CO₂ ức chế quá trình lên men, nhưng trong quá trình thoát khí CO₂ làm tăng khả năng lên men của nấm men. Kích thước, vật liệu chế tạo của thiết bị lên men, các chất hòa tan mang điện tích các vật lơ lửng khác hiện diện trong dịch lên men khi lên men đều ảnh hưởng đến quá trình thoát khí CO₂ nên cũng ảnh hưởng đến quá trình lên men.

2.4. Động học của quá trình lên men

Tốc độ của quá trình lên men có thể quan sát được bằng cách theo dõi sự thay đổi của hàm lượng đường trong dịch lên men, quan sát bằng cách theo dõi sự thay đổi hàm lượng rượu và CO₂ tạo thành cũng như sự thay đổi trị số của nồng độ dịch lên men.

Quá trình lên men chia làm 3 thời kỳ chính:

+ Thời kỳ đầu: Khoảng 60 giờ kể từ khi cho nấm men tiếp xúc với dịch lên men. Sự lên men xảy ra rất chậm, đường lên men không đáng kể.

+ Thời kỳ 2: Đây là thời kỳ lên men chính. Chiếm khoảng 60 – 120 giờ sau thời kỳ đầu. Sự phát triển của nấm men và sự lên men sau mỗi giờ tăng nhanh đáng kể và đạt đến trị số cực đại.

+ Thời kỳ cuối: Đây là giai đoạn lên men phụ xảy ra rất chậm đồng thời là thời kỳ ổn định tạo mùi cho sản phẩm. Tùy theo phương pháp lên men, loại sản phẩm mà thời gian lên men phụ kéo dài khác nhau không quan sát được.

Thời kỳ lên men chính là thời kỳ biến đổi sâu sắc các thành phần trong dịch lên men. Chúng ảnh hưởng đến kết quả của quá trình lên men. Trong giai đoạn này, trong điều kiện bình thường, sau mỗi giờ nồng độ đường trong dịch lên men giảm đi khoảng 1 độ (Brix) tùy loại sản phẩm, dây chuyền sản xuất.

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

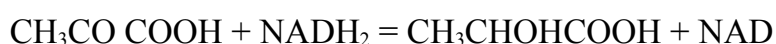
2.5.1. Sự tạo thành acid

Trong quá trình lên men rượu luôn tạo các acid hữu cơ bao gồm: Acetic, lactic, citric, pyrovic và succinic nhưng nhiều hơn cả là acetic và lactic.

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



* Acid lactic được tạo bởi pyrovat dehydronase theo phản ứng:



* Acid citric theo Lapphon được tạo từ aldehyt acetic phản ứng này được biểu diễn tổng quát như sau:



* Acid succinic được tạo thành có thể theo hai con đường: dehydro và trùng hợp hai phân tử acid acetic với một aldehyt acetic:

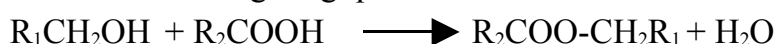


2.5.2. Sự tạo thành alcol cao phân tử

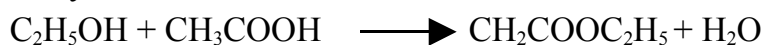
Một trong những sản phẩm phụ quan trọng được tạo thành trong quá trình lên men rượu là các rượu có số nguyên tử carbon lớn hơn hai (gọi chung là alcol cao phân tử). Các alcol này tuy ít nhưng lẫn vào cồn etylic sẽ gây ảnh hưởng xấu tới chất lượng sản phẩm. Đó là các alcol propylic, izoamylic, amylic...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

2.5.3. Sự tạo thành ester

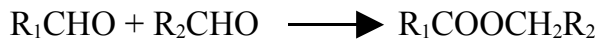
Song song với việc tạo ra acid và alcol, dưới tác dụng của enzym esterase của nấm men, các acid và alcol sẽ tác dụng lẫn nhau để tạo ra những este tương ứng. Có thể viết dưới dạng tổng quát sau:



Ví dụ: khi alcol etylic kết hợp với acid acetic là sẽ nhận được este etylic hay acetat etyl:

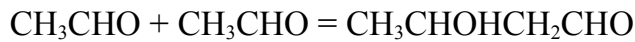


Sự tạo thành este sẽ dễ dàng hơn khi các cấu tử tham gia phản ứng là các aldehyt:

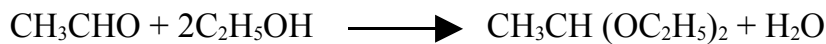


Khi đó tất cả biến đổi của aldehyt sẽ được thực hiện mà không cần tiêu tốn năng lượng.

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



Khi tác dụng với alcol etylic, aldehyt acetic sẽ biến thành dietylacetat:



Dựa vào các kết quả thu được trong phòng thí nghiệm cũng như trên thực tế sản xuất, người ta nhận thấy rằng, lượng sản phẩm phụ và sản phẩm trung gian tạo thành trong các quá trình lên men, phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố, chúng thay đổi theo nhiệt độ, pH, mức độ sục khí cũng như chủng giống nấm men và cả nguồn nguyên liệu. (Nguyễn Đình Thường, 2000)

2.6. Các vi khuẩn có hại cho nấm men

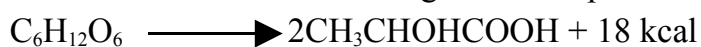
Dịch lên men không chỉ là một môi trường dinh dưỡng tốt cho nấm men mà còn cho các vi sinh vật khác. Trong nước, trong không khí cũng như các nguồn nguyên liệu tham gia vào thành phần môi trường luôn chứa một lượng vi sinh vật có hại cho lên men rượu. Các vi sinh vật nếu lẫn vào dung dịch đường, chúng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

Trong điều kiện lên men rượu, thường gặp nhất các loại vi sinh vật sau đây:

2.6.1. Vi khuẩn lactic

Đây là loại vi khuẩn yếm khí, chúng gồm có 2 loại: Lactic điển hình và lactic không điển hình.

Lactic điển hình sẽ biến đường thành sản phẩm duy nhất là acid lactic



Vi khuẩn lactic không điển hình sẽ sử dụng đường và tạo ra acid lactic, ngoài ra còn tạo ra một lượng đáng kể các chất khác như: Alcol, acid acetic, cacbonic, diacetyl và aceton. Các sản phẩm được tạo ra phụ thuộc rất nhiều vào nhiệt độ, độ pH, mức độ yếm khí... Vì vậy các sản phẩm tạo thành không ổn định.

Lactic điển hình có nhiệt độ tối ưu trong khoảng 49 - 51°C, còn lactic không điển hình có nhiệt độ tối ưu trong khoảng 37 - 38°C.

2.6.2. Vi khuẩn acetic

Vi khuẩn axetic là loại vi khuẩn hiếu khí cũng không tạo thành bào tử, có nhiệt độ tối ưu trong khoảng 20 -35°C, tối đa 42°C chúng phát triển tốt trong môi trường có alcol thấp, oxy hóa alcol thành acid acetic

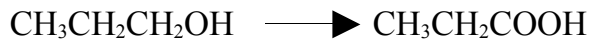


Trong môi trường không có alcol, vi khuẩn acetic sẽ oxy hóa đường thành acid gluconic.

Các vi khuẩn acetic không chỉ oxy hóa alcol acetylic mà còn oxy hóa các alcol khác. Ví dụ như dưới tác dụng của oxy hóa của vi khuẩn acetic, alcol butylic sẽ biến thành acid butyric:



và alcol propylic sẽ biến thành acid propylic:



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

2.6.3. Vi khuẩn butylic và các vi sinh vật khác

Nếu lấy dịch quả chưa lên men đem cấy trên hộp đĩa petri trong môi trường thích hợp sẽ phát triển nhiều vi khuẩn có khả năng tạo bào tử. Chúng gồm vi khuẩn butylic, aceton butylic, subtilis... nhưng điều kiện lên men rượu, tất cả các vi khuẩn này không phát triển vì pH tối thích của chúng đều nằm trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu. Vì vậy, nhiễm khuẩn chủ yếu trong lên men rượu chủ yếu là vi khuẩn lactic. (Nguyễn Đình Thường, 2000)

2.7. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men

2.7.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ có ảnh hưởng rõ rệt đến hoạt động sống của nấm men, cụ thể là nấm men *Saccharomyces Cerevisiae* trong quá trình lên men rượu. Nấm men phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 30 – 33°C, nhiệt độ tối đa 38°C, tối thiểu là 5°C. Nấm men được nuôi cấy ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ tối ưu, thường ở 17 – 22°C có hoạt lực lên men rất lớn. Đối với quá trình lên men thì nấm men sẽ chịu được nhiệt độ khá rộng từ 1 – 45°C, nếu nhiệt độ quá 50°C thì nấm men sẽ chết.

2.7.2. Ảnh hưởng của acid (pH)

Nấm men có thể phát triển trong môi trường pH từ 2 - 8 nhưng thích hợp nhất là 4 - 4,5. Vi khuẩn bắt đầu phát triển ở pH = 4,2 và cao hơn, khi thấp hơn mức này chỉ có nấm men có thể phát triển được. Vì vậy trong quá trình lên men rượu nên thực hiện pH 3,8 - 4,0. Tuy nhiên có những loài vi khuẩn do quen dần (thuần hóa) với độ pH thấp nên ngoài việc ứng dụng điều chỉnh pH thích hợp còn phải kết hợp sử dụng các chất sát trùng. Khi pH = 8 thì nấm men phát triển rất

kém, ngược lại vi khuẩn phát triển rất mạnh. Ở pH = 3,8 nấm men phát triển mạnh thì hầu như vi khuẩn chưa phát triển.

Để tạo pH thích hợp trong môi trường nuôi cấy nấm men (kể cả lên men) người ta có thể bổ sung vào môi trường lên men bất cứ một loại acid nào, miễn là anion của acid không gây ảnh hưởng mạnh mẽ đến trung tâm hoạt động của nấm men.

2.7.3. Ảnh hưởng của nồng độ rượu

Quá trình nuôi cấy nấm men chủ yếu là tạo môi trường thích hợp cho nấm men phát triển sinh khối, đạt số lượng theo yêu cầu. Song nấm men cũng thực hiện một quá trình lên men rượu đáng kể (còn phụ thuộc vào không khí).

Thường trong dịch nấm men có khoảng 4 - 6% rượu. Nồng độ rượu sinh ra có ảnh hưởng đến tốc độ và khả năng phát triển của nấm men. Điều này còn phụ thuộc vào thời gian, môi trường nuôi cấy, số lượng tế bào nấm men và nguyên liệu chuẩn bị môi trường nuôi cấy. Cùng một môi trường nuôi cấy, số lượng tế bào nấm men cho vào bằng nhau, điều kiện nuôi cấy giống nhau thì nồng độ rượu ban đầu 1% có ảnh hưởng đến tốc độ và khả năng phát triển của nấm men, từ 4 - 6% có ảnh hưởng xấu.

2.7.4. Ảnh hưởng của số lượng tế bào nấm men

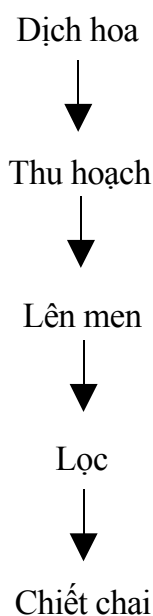
Số lượng tế bào nấm men cho vào dịch lên men ảnh hưởng rất lớn đến quá trình lên men. Nếu số lượng tế bào nấm men cho vào thích hợp thì quá trình lên men diễn ra tốt và hiệu suất thu hồi cao, chất lượng sản phẩm cũng tốt hơn. Nếu lượng tế bào nấm men cho vào quá ít thì tốc độ lên men chậm, sinh khối tế bào nấm men quá nhiều thì môi trường dịch lên men không đủ cho nấm men phát triển, tế bào nấm men sẽ chết dần, sản phẩm sinh ra mùi lạ, vị lạ đồng thời phí đi một lượng đáng kể men không có ích.

2.7.5. Ảnh hưởng của việc thông khí và đảo trộn

Oxy là thành phần không thể thiếu được ở giai đoạn phát triển sinh khối. Tuy nhiên nó lại là nguyên nhân gây hư hỏng cho rượu trong các giai đoạn chế biến còn lại.

Mặc dù quá trình lên men rượu là một quá trình lên men yếm khí, nhưng khi lên men nhất thiết trong giai đoạn đầu phải cho dịch lên men tiếp xúc với oxy không khí để cho nấm men sinh trưởng và phát triển (tăng số lượng). Tuy nhiên oxy chỉ có ít trong giai đoạn đầu, khi số lượng tế bào nấm men tăng đến mức độ thích hợp thì phải ngăn cản dịch lên men tiếp xúc với oxy không khí để nấm men có thể chuyển hóa đường có trong môi trường thành sản phẩm rượu.

2.8. Qui trình lên men rượu ngọt và rượu cọ tham khảo



Dịch hoa (tiếng Anh gọi là sap) được thu hoạch bằng cách cắt cách đầu hoa từ 10 – 15 cm để cho dịch chảy xuống, và dùng bình nhựa để hứng dịch, dịch hoa được thu hoạch mỗi ngày.

Ở qui trình này vi sinh vật lên men chủ yếu là: *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Lactobacillus plantarum* và *Lactobacillus mesenteroides*, sản phẩm tạo thành có pH = 4 và độ cồn từ 4,5 – 5,2. Tuy nhiên các sản phẩm này thường được bán ngay sau khi sản xuất vì thời gian sử dụng rất ngắn. Ngoài ra quy trình này còn được áp dụng để sản xuất một số sản phẩm như: Pulque, ulanzi (bamboo wine), basi (sugar cane wine), muratina. (Internet, 2005)

Chương 3 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Phương tiện và phương pháp nghiên cứu

3.1.1. Địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm Bộ Môn Công Nghệ Thực Phẩm, Khoa Nông Nghiệp – Tài Nguyên Thiên Nhiên, Trường Đại Học An Giang.

3.1.2. Thời gian thực hiện

Đề tài được thực hiện trong thời gian 3 tháng, từ tháng 02 năm 2005 đến tháng 5 năm 2005.

3.1.3. Thiết bị và dụng cụ

Các thiết bị thí nghiệm bao gồm:

- Chiết quang kế (Hiệu ATAGO, 0-32 °Brix, Made in Japan)
- Máy đo pH với độ chính xác 0,01
- Cân điện tử với độ chính xác 0,0001g
- Các bình lên men
- Dụng cụ chung cất cồn
- Cồn kè
- Các dụng cụ cần thiết trong phòng thí nghiệm.

3.1.4. Hoá chất sử dụng

- Hoá chất phân tích đường
- + HCl dd, 1N
- + NaOH 30%, 1N, 0,1N
- + Phenoltalein
- + Dung dịch chì acetat 30%
- + Na₂SO₄ bão hoà
- + Dung dịch Feling A: CuSO₄ tinh thể (69,28g) + nước cất (vừa đủ 1 lit)
- + Dung dịch Feling B: Kalinatritactrat (34,6g) + NaOH (100g) + Nước cất (vừa đủ 1 lit)

+ Dung dịch sắt (II) sunfat: $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (50g) + $\text{H}_2\text{SO}_{4\text{dd}}$ (200g) + nước cất (vừa đủ 1 lit)

- Hoá chất xác định hàm lượng aldehyt

+ Dung dịch A: K_2HPO_4 (3,35 g) + KH_2PO_4 (15g) + nước cất (vừa đủ 1 lit)

+ Dung dịch B: Na_2SO_3 (18g) + H_2SO_4 1N (150 ml) + nước cất (vừa đủ 1 lit)

+ Dung dịch C: Acid Boric (17,5g) + NaOH 1N (800 ml) + nước cất (vừa đủ 2 lit)

+ Dung dịch Iot 0,1N, 0,01N

+ Hồ tinh bột 1%

- Nguyên liệu : Nước thốt lốt, đường thốt lốt, nấm men.

3.2. Phương pháp thí nghiệm

3.2.1. Phân tích thành phần nguyên liệu

3.2.1.1. Mục đích

Phân tích thành phần nguyên liệu là cơ sở để xây dựng phương pháp thực hiện các thí nghiệm tiếp theo sau.

3.2.1.2. Phương pháp thực hiện

Nước thốt lốt được mua vào buổi sáng ở Tri Tôn, ngay tại nơi thu hoạch và vận chuyển đến phòng thí nghiệm, sau đó đem đi lọc rồi tiến hành phân tích.

Thí nghiệm được tiến hành 2 lần lặp lại và kết quả được tính theo giá trị trung bình.

3.2.1.3. Các chỉ tiêu phân tích

- Hàm lượng đường tổng số
- Hàm lượng acid toàn phần
- pH
- Độ Brix

Các chỉ tiêu được phân tích theo các phương pháp ở phần phụ chương.

3.2.2. Khảo sát sự ảnh hưởng của pH, độ Brix và tỉ lệ nấm men bổ sung đến quá trình lên men.

3.2.2.1. Mục đích

Thí nghiệm được tiến hành ở các giá trị pH, độ Brix khác nhau, qua đó chọn ra thông số tối ưu cho nấm men phát triển cũng như hàm lượng cồn sinh ra là cao nhất.

3.2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên theo thể thức thừa số 3 nhân tố, 2 lần lặp lại .

Nhân tố A: Sự thay đổi pH ở 3 mức độ:

A1: pH = 4,5

A2: pH = 5,5

A3: pH = 6,5

Nhân tố B: Sự thay đổi độ Brix ở 3 mức độ:

B1: Brix = 18 %

B2: Brix = 20 %

B3: Brix = 22 %

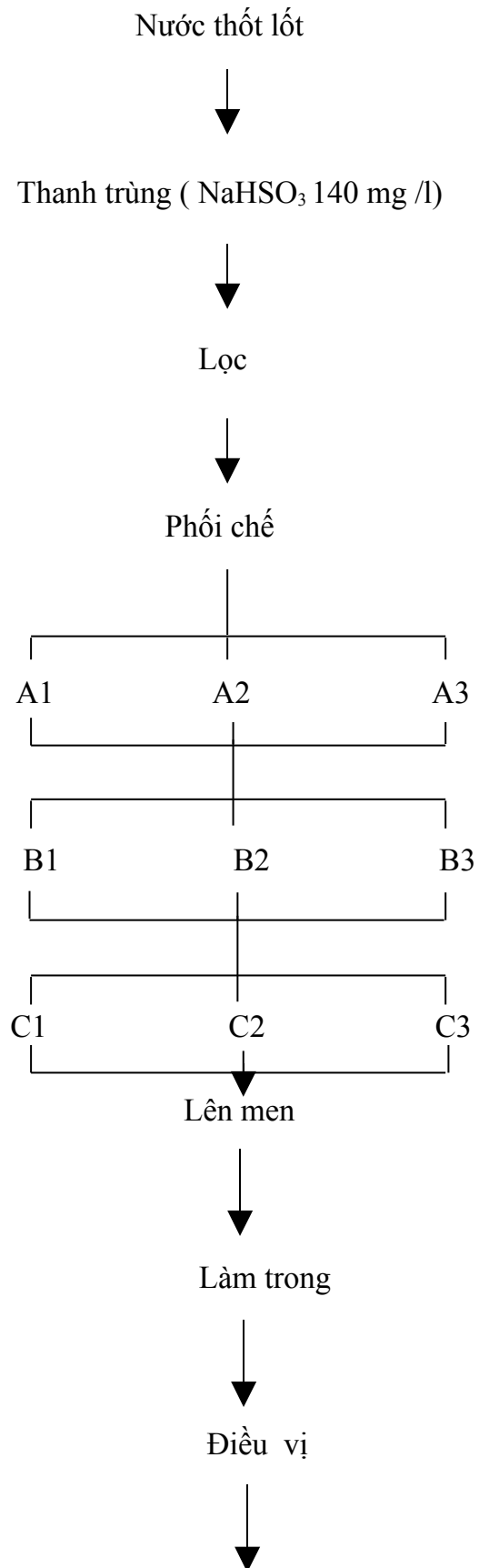
Nhân tố C: Hàm lượng nấm men bổ sung vào ở 3 tỉ lệ:

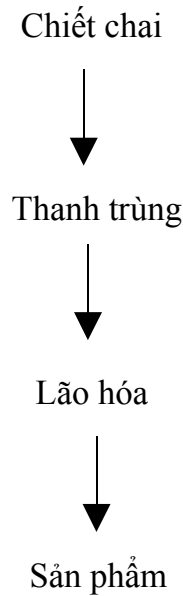
C1: Nấm men = 0%

C2: Nấm men = 0,1%

C3: Nấm men = 0,2%

Sơ đồ bố trí thí nghiệm





Hình 1: Sơ đồ bố trí thí nghiệm khảo sát sự ảnh hưởng của pH, độ Brix và tỉ lệ nấm men bổ sung đến quá trình lên men

3.2.2.3. Phương pháp thực hiện

Nước thốt lốt được mua vào buổi sáng ở Tri Tôn tại nơi thu hoạch, sau đó được thanh trùng bằng hoá chất NaHSO_3 với hàm lượng 140 mg/l và vận chuyển đến nơi nghiên cứu, sau đó nước thốt lốt được lọc sạch các tạp chất có trong nước thốt lốt bằng vải lọc, rồi phối chế bằng cách sử dụng acid citric hoặc Na_2CO_3 để điều chỉnh pH của dịch ban đầu ở các giá trị khác nhau, bổ sung đường thốt lốt để dung dịch đạt độ Brix theo yêu cầu thí nghiệm. Đồng thời bổ sung nấm men với các hàm lượng khác nhau vào dịch ban đầu và khuấy đều để nấm men phân tán đều trong dịch lên men, đây nắp lại và để lên men ở nhiệt độ thường.

Trong thời gian lên men tiến hành đo đạc các thông số như: Độ cồn, độ Brix đến khi quá trình lên men kết thúc.

3.2.2.4. Yếu tố khảo sát

- Hàm lượng cồn sinh ra: Sau 2 ngày ghi nhận kết quả 1 lần.
- Sự thay độ Brix: Sau 2 ngày ghi nhận kết quả 1 lần.

Từ kết quả thu được từ đó chọn ra thông số tối ưu để nghiên cứu thí nghiệm tiếp theo.

Các chỉ tiêu được phân tích theo các phương pháp ở phần phụ chương .

3.2.3.Thí nghiệm về điều vị sản phẩm

3.2.3.1.Mục đích

Tìm ra hàm lượng đường thích hợp bổ sung vào dịch đã lên men để tạo ra sản phẩm có giá trị cảm quan cao về mùi vị.

3.2.3.2.Bố trí thí nghiệm.

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên 1 nhân tố, với 2 lần lặp lại.

Nhân tố D: Hàm lượng đường kem bổ sung (dưới dạng dịch sirô).

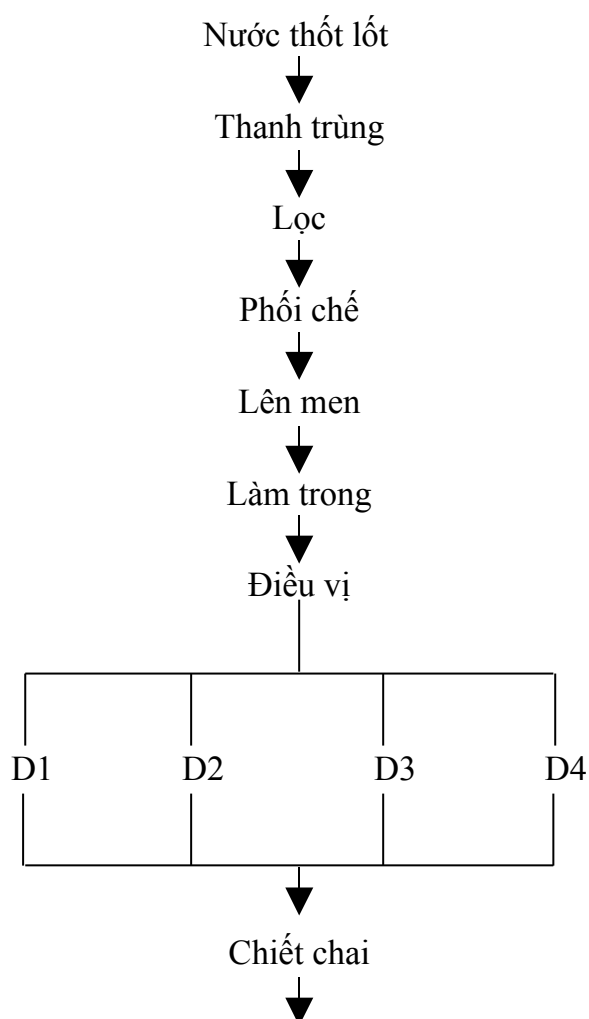
D1 = 0%

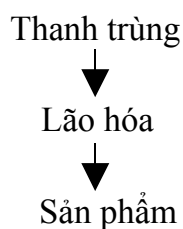
D2 = 1%

D3 = 2%

D4 = 3 %

Sơ đồ bố trí thí nghiệm





Hình 2: Sơ đồ bố trí thí nghiệm điều vị

3.2.3.3. Phương pháp thực hiện

Nước thốt lốt sau khi lên men, tiến hành làm trong bằng cách lọc, sau đó tiến hành điều vị bằng đường kem (dưới dạng dịch sirô) bổ sung vào với các hàm lượng khác nhau, tiếp theo đó tiến hành rót chai và thanh trùng ở 70°C trong thời gian 15 phút. Để sản phẩm ổn định 3 ngày rồi tiến hành đánh giá cảm quan.

3.2.3.4. Ghi nhận kết quả

Hàm lượng đường thích hợp nhất cho sản phẩm có mùi vị được ưa chuộng nhất. Kết quả được ghi nhận qua bảng nhận xét đánh giá cảm quan.

Bảng 3: Bảng đánh giá cảm quan sản phẩm nước thốt lốt lên men

Chỉ tiêu	Mức độ yêu cầu	Điểm
Mùi Vị	Thích cực độ	5
	Thích vừa phải	4
	Không thích, không chán	3
	Chán vừa phải	2
	Chán cực độ	1

Chương 4 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Phân tích thành phần nguyên liệu nước thốt lốt

Thành phần của nước thốt lốt được trình bày ở bảng 4:

Bảng 4: Thành phần nguyên liệu

Chỉ tiêu	Kết quả	Ghi chú
pH	5,25	
Độ Brix (%)	14	
Acid toàn phần (%)	0,126	Tính dựa vào acid acetic
Hàm lượng đường tổng số (%)	12,6	

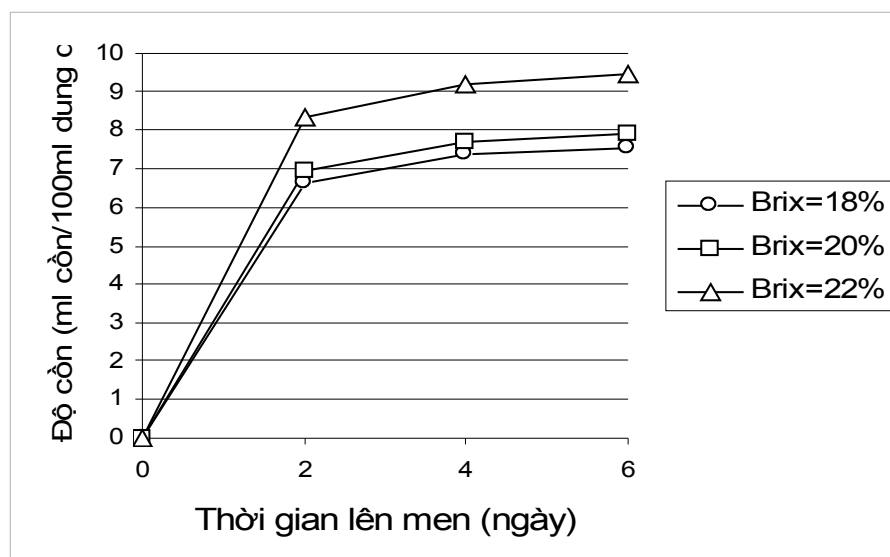
4.2. Ảnh hưởng của pH, độ Brix và tỉ lệ nấm men bổ sung vào đến quá trình lên men

Ảnh hưởng của độ Brix ban đầu đến độ còn sinh ra thể hiện ở bảng sau:

Bảng 5: Ảnh hưởng của độ Brix ban đầu đến hàm lượng còn sinh ra

Brix, %	Độ còn, ml còn / 100ml dung dịch			
	Ngày 0	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
18	0	6,639 ^a	7,389 ^a	7,556 ^a
20	0	6,944 ^a	7,694 ^a	7,917 ^a
22	0	8,361 ^b	9,194 ^b	9,444 ^b

Các số liệu thống kê chỉ có ý nghĩa theo cột, các nghiệm thức có ghi chữ giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 3: Đồ thị biểu diễn độ còn tăng theo thời gian lên men ở các nghiệm thức có độ Brix ban đầu khác nhau

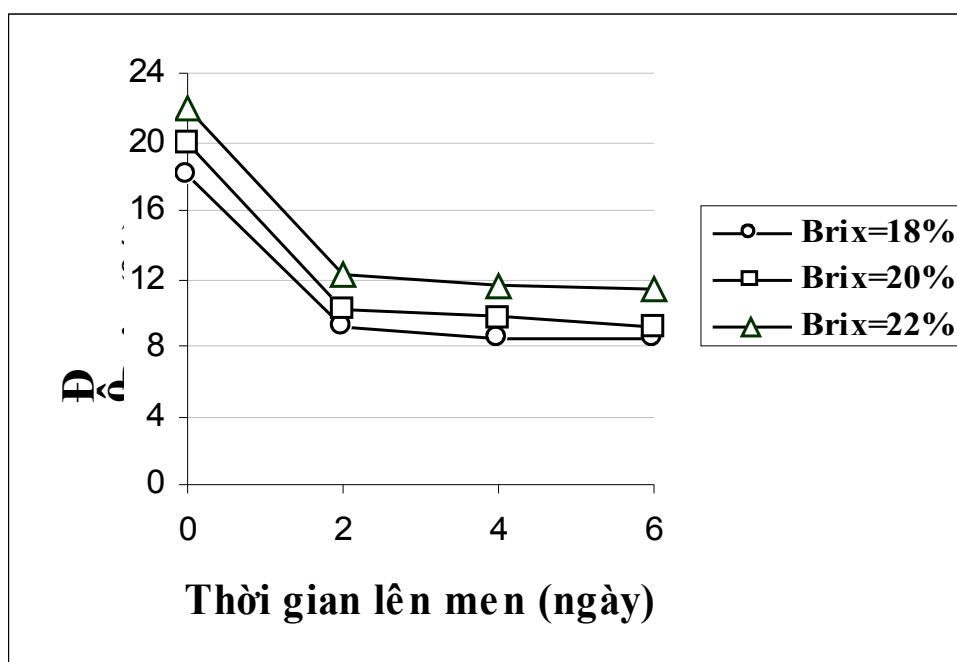
Từ kết quả thống kê ở bảng 5 và hình 3 cho thấy ứng với độ Brix ban đầu cao thì hàm lượng còn sinh ra cao. Cụ thể ở độ Brix ban đầu là 18% thì hàm lượng còn sinh ra là thấp nhất, còn ở độ Brix ban đầu là 20% tuy hàm lượng còn sinh ra cao hơn so với ở độ Brix ban đầu 18% nhưng sự khác biệt ở đây không có ý nghĩa về mặt thống kê, còn đối với ở độ Brix là 22% thì hàm lượng còn sinh ra là cao nhất, việc này chứng tỏ ở độ Brix ban đầu 22% thì thích hợp hơn cho quá trình lên men, điều này cũng tương đối hợp lý, bởi vì dựa vào bảng 6 và hình 4 thì ở độ Brix ban đầu là 18% và 22% thì sau 2 ngày lên men, cũng như sau giai đoạn phát triển sinh khối thì hàm lượng đường còn lại rất thấp do tế bào nấm men sử dụng đường để phát triển sinh khối nên đến khi chuyển sang giai đoạn lên men chính thì hàm lượng đường không còn đủ để cho nấm men hoạt động, nên tốc độ lên men giảm và hàm lượng còn sinh ra thấp. Ngược lại ở độ Brix ban đầu là 22% thì sau giai đoạn phát triển sinh khối, hàm lượng đường còn lại tương đối cao so với ở độ Brix là 18% và 20%, nên đến giai đoạn lên men chính thì quá trình lên men vẫn tiếp tục diễn ra mạnh, kết quả là hàm lượng còn sinh ra cao hơn so với độ Brix ban đầu là 18% và 20% và sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 95%. Do đó chúng tôi quyết định chọn độ Brix ban đầu cho dịch lên men là 22%.

Song song với sự biến đổi hàm lượng cồn sinh ra là sự biến đổi độ Brix theo thời gian lên men và được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 6: Sự biến đổi độ Brix theo thời gian lên men ở các nghiệm thức có độ Brix ban đầu khác nhau

Brix, %	Độ Brix, %			
	Ngày 0	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
18	18	9,211 ^a	8,589 ^a	8,478 ^a
20	20	10,222 ^b	9,689 ^b	9,159 ^b
22	22	12,322 ^c	11,633 ^c	11,478 ^c

Các số liệu thống kê chỉ có ý nghĩa theo cột, các nghiệm thức có ghi chữ giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ ý nghĩa 5%



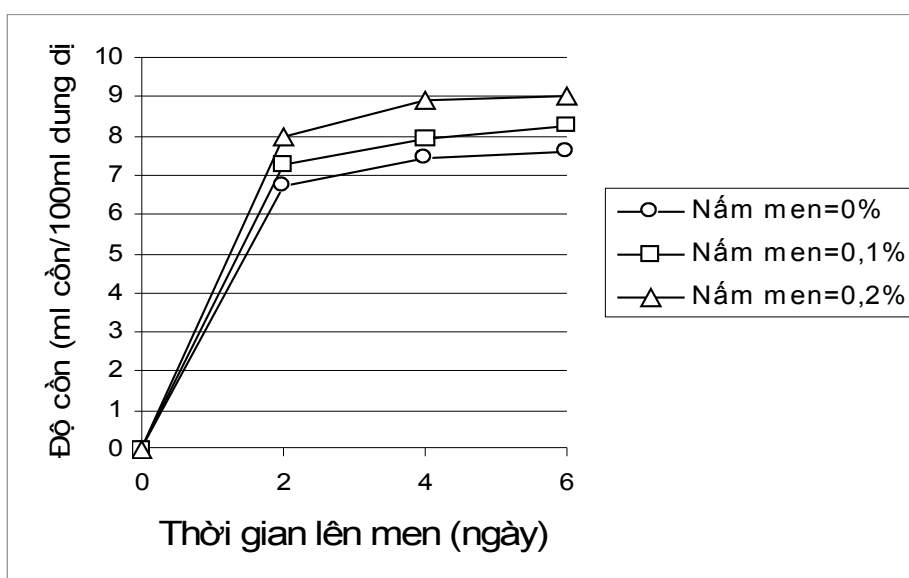
Hình 4: Đồ thị biểu diễn sự thay đổi độ Brix theo thời gian lên men

Ngoài độ Brix ra thì tỉ lệ nấm men cũng ảnh hưởng đến quá trình lên men, cũng như là độ cồn sinh ra và sự ảnh hưởng này được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 7: Ảnh hưởng của các tỉ lệ nấm men bổ sung vào đến hàm lượng cồn sinh ra theo thời gian

Nấm men, %	Độ cồn, ml cồn/ 100ml dung dịch			
	Ngày 0	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
0	0	6,694 ^a	7,417 ^a	7,583 ^a
0,1	0	7,25 ^b	7,917 ^a	8,25 ^b
0,2	0	8,00 ^c	8,917 ^b	9,028 ^c

Các số liệu thống kê chỉ có ý nghĩa theo cột, các nghiệm thức có ghi chữ giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 5: Đồ thị biểu diễn sự biến đổi độ cồn theo thời gian lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau

Dựa vào bảng 7 và hình 5 cho thấy khi tăng hàm lượng nấm men bổ sung vào dịch lên men thì hàm lượng cồn sinh ra cũng tăng. Cụ thể là khi không bổ sung nấm men (0%) thì hàm lượng cồn sinh ra là thấp nhất, còn đối với tỷ lệ nấm men 0,2% thì hàm lượng cồn sinh ra là cao nhất. Điều này dễ hiểu bởi vì dựa vào bảng 8 và hình 6 cho thấy ở tỉ lệ nấm men 0,2%, hàm lượng tế bào nấm men cao, sinh khối tế bào tăng nhanh, quá trình lên men diễn ra mạnh làm cho độ Brix cũng giảm nhanh sau 4 ngày lên men và giảm rất ít ở ngày thứ 6, nên ở tỉ lệ nấm men này thì quá trình lên men kết thúc sớm hơn so với tỉ lệ nấm men là 0% và 0,1%. Ở tỉ lệ nấm men là 0,1% và không bổ sung (0%) thì tế bào nấm men ít, sinh khối tế bào tăng chậm, hàm lượng cồn sinh ra thấp và quá trình lên men kéo dài nên hàm

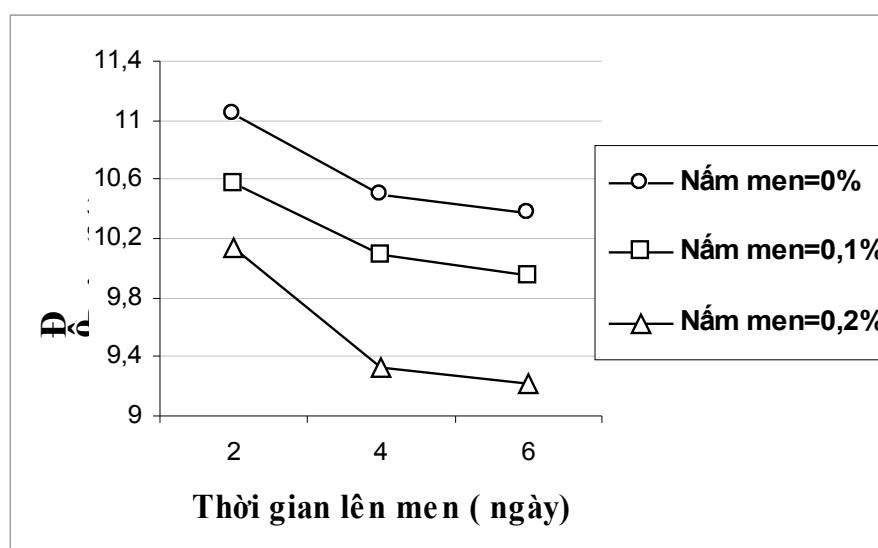
lượng còn sinh ra ở ngày thứ 6 vẫn còn tăng so với ngày thứ 4. Cũng ở tỉ lệ nấm men này, quá trình lên men dễ bị ảnh hưởng của sự tấn công bởi vi sinh vật khác, đặc biệt là vi khuẩn lactic. Do đó, trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi quyết định chọn tỉ lệ nấm men bổ sung là 0,2% để làm cơ sở cho các thí nghiệm tiếp theo.

Đồng thời với sự biến đổi hàm lượng còn sinh ra là sự biến đổi độ Brix theo thời gian lên men và được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 8: Sự biến đổi độ Brix ở các tỉ lệ nấm men khác nhau theo thời gian

Nấm men , %	Độ Brix, %		
	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
0	11,044 ^a	10,500 ^a	10,367 ^a
0,1	10,578 ^b	10,089 ^b	9,956 ^b
0,2	10,133 ^c	9,322 ^c	9,222 ^c

Các số liệu thống kê chỉ có ý nghĩa theo cột, các nghiệm thức có ghi chữ giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về thống kê ở mức độ ý nghĩa 5%



Hình 6: Đồ thị biểu diễn sự thay đổi độ Brix theo thời gian lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau

pH của dịch ban đầu cũng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình lên men, cũng như hàm lượng còn sinh ra, và sự ảnh hưởng này được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 9: Ảnh hưởng của pH ban đầu đến hàm lượng còn sinh ra theo thời gian

PH	Độ cồn, ml cồn / 100ml dung dịch			
	Ngày 0	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
4,5	0	7,556 ^a	8,778 ^a	8,917 ^a
5,5	0	7,222 ^a	8,000 ^b	8,222 ^b
6,5	0	7,167 ^a	7,500 ^c	7,722 ^c

Các số liệu thống kê chỉ có ý nghĩa theo cột, các nghiệm thức có ghi chữ giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 7: Đồ thị biểu diễn sự biến đổi độ cồn theo thời gian lên men ở các pH ban đầu khác nhau

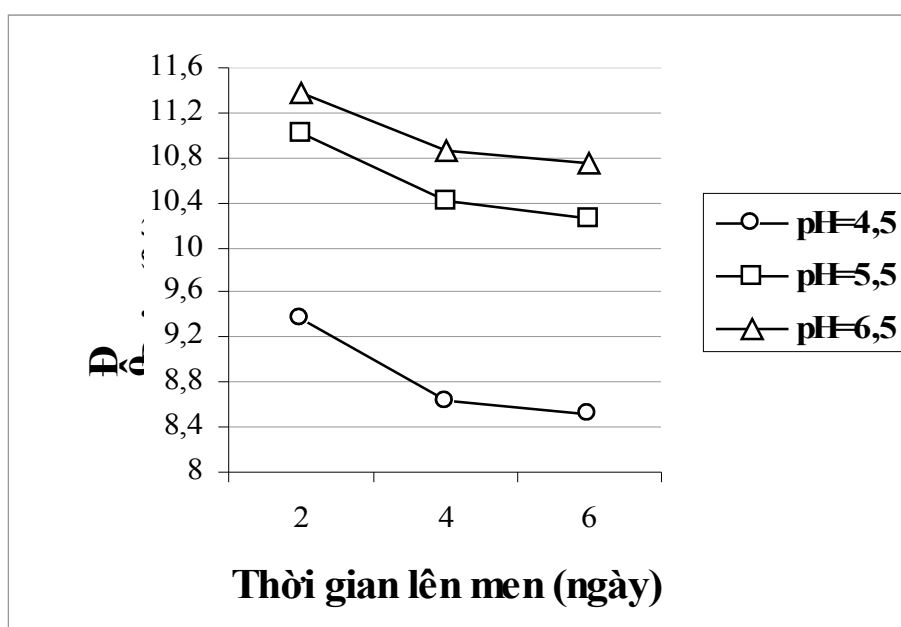
Mỗi loại nấm men chỉ hoạt động trong những giới hạn pH nhất định. Nấm men bắt đầu lên men từ ngày thứ 2 trở đi, sản sinh ra rượu và một lượng acid hữu cơ làm cho pH môi trường giảm xuống. Kết quả bảng 9 và hình 7 cho thấy, khi tăng pH của dịch ban đầu thì hàm lượng cồn sinh ra giảm xuống. Ở giá trị pH ban đầu là 4,5 thì hàm lượng cồn sinh ra nhanh và đạt trị số cao nhất, còn ở giá trị pH= 6,5 thì hàm lượng cồn sinh ra là thấp nhất, ở pH = 5,5 tuy hàm lượng cồn sinh ra cao hơn so với ở pH = 6,5 nhưng lại thấp hơn so với ở pH = 4,5, và sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê.

Sự biến đổi độ Brix theo thời gian lên men ở các pH ban đầu khác nhau được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 10: Sự thay đổi độ Brix ở các pH ban đầu khác nhau theo thời gian lên men

pH	Độ Brix , %		
	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6
4,5	9,367 ^a	8,622 ^a	8,522 ^a
5,5	11,011 ^b	10,422 ^b	10,266 ^b
6,5	11,378 ^c	10,867 ^c	10,756 ^c

Các số liệu thống kê chỉ có ý nghĩa theo cột, các nghiệm thức có ghi chữ giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 8: Đồ thị biểu diễn sự thay đổi độ Brix theo thời gian lên men ở các pH khác nhau

Kết quả ở bảng 10 và hình 8 cho thấy ở giá trị pH = 5,5 và pH = 6,5 thì nấm men phát triển sinh khối không tối đa, lên men chậm, hàm lượng cồn sinh ra không cao. Mặt khác, ở pH = 5,5 và pH = 6,5 khi lên men thường bị nhiễm vi sinh vật, đặc biệt là vi khuẩn lactic.

Ở giá trị pH = 4,5 thì thích hợp hơn cho sự phát triển của nấm men, cho nên ở điều kiện pH này, quá trình lên men xảy ra nhanh, hàm lượng cồn sinh ra cao. Đồng thời ở giá trị pH = 4,5 hạn chế được sự phát triển của vi khuẩn lactic và nấm men hoang dại. Do đó, từ kết quả trên chúng tôi quyết định chọn giá trị pH = 4,5 cho dịch lên men ban đầu và để làm cơ sở cho thí nghiệm tiếp theo.

4.3. Điểm cảm quan sản phẩm ở thí nghiệm điều vị

Điểm cảm quan sản phẩm sau khi điều vị được thống kê như sau:

Bảng 11: Điểm cảm quan sản phẩm nước thốt lốt lên men của các thành viên

Hàm lượng đường, %	Điểm
0	3,05 ^{ab}
1	2,9 ^a
2	4,45 ^c
3	3,45 ^b

Qua kết quả cảm quan ở bảng 11 cho thấy sản phẩm điều vị ở 2% hàm lượng đường kem (dưới dạng dịch sirô) được đánh giá cảm quan là tốt nhất có vị hài hòa. Đối với sản phẩm điều vị ở hàm lượng đường 3% tuy có số điểm cảm quan cao hơn không bổ sung (0%) nhưng sự khác biệt này lại không có ý nghĩa về mặt thống kê, bởi vì ở cả 2 hàm lượng đường này đều cho sản phẩm chưa có vị hài hòa, do sau khi lên men hàm lượng đường còn lại rất ít, lại không bổ sung thêm đường nên sản phẩm rất nhạt, tương tự ở hàm lượng đường 1% tuy có bổ sung đường nhưng ở hàm lượng thấp nên sản phẩm vẫn còn nhạt. Ngược lại ở hàm lượng đường 3% thì hàm lượng đường bổ sung tương đối nhiều nên sản phẩm hơi ngọt, từ kết quả trên cho thấy ở cả 3 hàm lượng đường 3%, 1% và không bổ sung đường đều cho sản phẩm có vị không hài hòa, giá trị cảm quan thấp. Do đó chúng tôi quyết định chọn hàm lượng đường 2% để điều vị cho sản phẩm.

4.4. Kết quả phân tích sản phẩm nước thốt lốt lên men

Kết quả phân tích nước thốt lốt lên men thành phẩm như sau:

Bảng 12: Kết quả phân tích nước thốt lốt lên men thành phẩm so với tiêu chuẩn rượu uống của TCVN 5013 - 89

Chỉ tiêu	Kết quả	Tiêu chuẩn
----------	---------	------------

	phân tích	
Độ rượu (%)	10	Không quy định
Andehyt (mg acetaldehyt/ lit rượu 100°)	40	≤ 50
Ester (mg etyl acetat / lit rượu 100°)	180	≤ 200
Furfural	Không có	Vết

So sánh kết quả phân tích nước thốt lốt lên men thành phẩm và bảng chỉ tiêu của rượu cho thấy, các chỉ tiêu của nước thốt lốt lên men đều nằm trong giới hạn của tiêu chuẩn rượu, từ đó cho thấy sản phẩm nước thốt lốt lên men là sản phẩm đạt chất lượng.

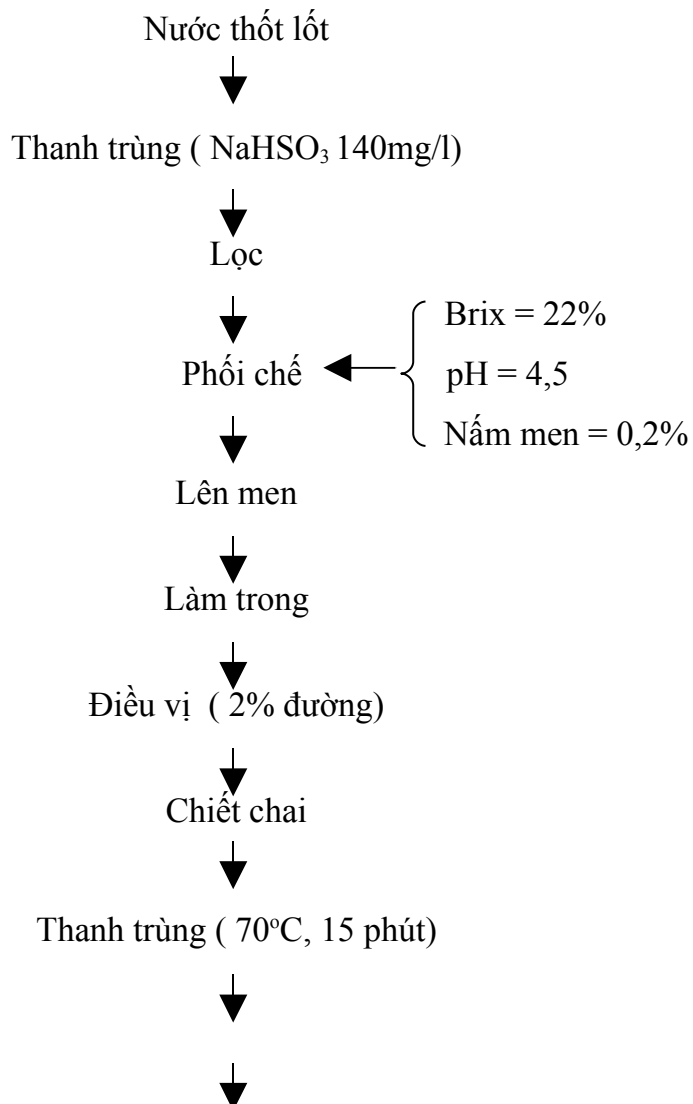
Chương 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1. Kết luận

Sau khi tiến hành các thí nghiệm và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men nước thốt lốt chúng tôi rút ra được những thông số thích hợp như sau:

- Tỷ lệ nấm men cấy bổ sung vào dịch thốt lốt đã xử lý là: 0,2%
- Độ Brix ban đầu của dịch lên men cần chỉnh để đạt 22%
- pH ban đầu thích hợp cho quá trình lên men là 4,5
- Thời gian kết thúc quá trình lên men là 6 ngày.
- Sản phẩm được điều vị ở 2% đường kem (dưới dạng dịch sirô) để đạt chất lượng cảm quan của sản phẩm.

Quy trình đề nghị



Đề ổn định



Sản phẩm

Hình 9: Sơ đồ qui trình đề nghị

5.2. Đề nghị

Do chưa có điều kiện nghiên cứu hoàn chỉnh sản phẩm nước thốt lốt lên men chúng tôi đề nghị dựa trên các thông số tìm được tiếp tục bố trí thí nghiệm nghiên cứu thêm:

- Ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình lên men.
- Nồng độ chất sát khuẩn thích hợp.
- Các biện pháp và điều kiện bảo quản nước thốt lốt lên men.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Công Hậu. 1983. Chế biến rượu vang trái cây gia đình. TP Hồ Chí Minh. NXB Nông Nghiệp.
2. Nguyễn Văn Long. 2002. Nghiên cứu ảnh hưởng của các tác động trong qui trình thu hoạch và chế biến đến chất lượng sản phẩm nước thốt lốt. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư ngành Công Nghệ Thực Phẩm. Khoa Nông Nghiệp, Đại học Cần Thơ.
3. Lương Đức Phẩm. 1998. Công nghệ vi sinh vật. Hà Nội. NXB khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
4. Hoàng Xuân Phương. 2004. Thốt lốt trong kinh tế nông thôn miền núi. Tạp chí khoa học công nghệ, Sở khoa học công nghệ môi trường An Giang. Số 5/2004.
5. Smith Jim. 1991. Food Additive User's Handbook. New York.
6. Trần Minh Tâm. 2000. Công nghệ vi sinh ứng dụng. TP Hồ Chí Minh. NXB Nông Nghiệp.
7. Trần Thị Thanh. 2001. Công nghệ vi sinh. NXB Giáo Dục.
8. Nguyễn Đình Thương. 2000. Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic. Hà Nội. NXB Khoa học và kỹ thuật.
9. Nguyễn Văn Tùng. 2003. Nghiên cứu chế biến rượu mạn. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư ngành Công Nghệ Thực Phẩm. Khoa Nông Nghiệp, Đại học Cần Thơ.
10. Trần Thị Thùy Trang. 2003. Nghiên cứu lên men rượu sori. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư ngành Công Nghệ Thực Phẩm. Khoa Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ.
11. Toddy and Palm wine – Fermented plant saps. Đọc từ: <http://www.itdg.org/docs/technical.Information-service/toddy-palm-wine.pdf>. (đọc ngày 21. 06.2005)

PHỤ CHƯƠNG

1. HÌNH ẢNH



Hình 10: Nguyên liệu nước thốt lốt



Hình 11: Nước thốt lốt đang lên men



Hình 12: Kết thúc quá trình lên men nước thốt lốt



Hình 13: Sản phẩm nước thốt lốt lên men

2. PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH

2.1. Phương pháp phân tích đường tổng số bằng phương pháp Bertrand

2.1.1. Nguyên lý

Glucid trực tiếp khử oxy có tính khử $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ở môi trường kiềm mạnh, làm cho nó kết tủa dưới thể Cu_2O màu đỏ gạch, số lượng Cu_2O tương ứng với số lượng glucit khử oxy.

Phương trình phản ứng:



Cu_2O có tính chất khử oxy, chuyển muối sắt (III) thành muối sắt (II) ở môi trường axit. Dùng KMnO_4 để chuẩn độ FeSO_4 ở môi trường axit. Từ số ml KMnO_4 0,1N dùng để chuẩn độ FeSO_4 hình thành, tra bảng tính hàm lượng đường cần phân tích.

2.1.2. Chuẩn bị mẫu

- Dùng pipet hút 10 ml dung dịch cần phân tích cho vào bình tam giác, tiếp tục cho thêm 50 ml nước cất vào bình.
- Cho vào 5 ml acid HCl đậm đặc, đem đi thủy phân.
- Trung hoà mẫu bằng dung dịch NaOH có nồng độ giảm dần: 30%, 10%, 1N, 0,1N với chất chỉ thị là phenolphthalein.
- Khử tạp chất bằng 7 ml chì acetat 70%. Sau 5 phút cho tiếp từ 18- 20 ml Na_2SO_4 vào để kết tủa lượng chì acetat dư.
- Lọc lấy phần nước trong và lấy dịch lọc để chuẩn độ.

2.1.3. Các bước chuẩn độ

- Hút 20 ml hỗn hợp Fehling (10 ml Fehling A + 10 ml Fehling B) cho vào bình tam giác. Cho tiếp 10 ml dịch lọc đã chuẩn bị và 20 ml nước cất, đặt lên bếp điện đun sôi. Đun sôi đúng 2 phút kể từ khi xuất hiện bọt đầu tiên.
- Lấy bình ra và để nghiêng cho cặn đồng (Cu_2O) lắng xuống. Gạn lấy phần nước bên trên và rửa kết tủa Cu_2O vài lần bằng nước đã đun sôi. Quá trình lọc và rửa được tiến hành trên phễu lọc chân không.
- Sau khi gạn hết nước cho vào bình tam giác 20 ml dung dịch sắt (III) sunfat để hoà tan kết tủa Cu_2O , thay bình hút lọc cũ bằng bình mới, đổ dung dịch

trong bình tam giác lên lớp cặn còn lại trên phễu, tráng bình và phễu bằng $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ cho đến khi không còn vết Cu_2O .

- Lấy bình lọc ra và chuẩn độ bằng dung dịch KMnO_4 0,1N cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt vững bền trong 15 giây.

- Từ thể tích KMnO_4 0,1N đã dùng tra bảng tính hàm lượng đường theo công thức:

$$X = \frac{G1 * 100 * \text{HSPL}}{G * 1000}$$

Trong đó:

G1: Số tra bảng

G : Khối lượng mẫu

2.2. Phương pháp xác định độ cồn bằng phương pháp chưng cất

Rượu thử sau khi chưng cất được đem định lượng ethanol theo phương pháp sau:

- Đổ dung dịch cần đo vào ống đong.

- Thả từ từ rượu kế vào ống đong và để yên cho rượu kế ổn định vị trí đứng yên cân bằng.

- Nhìn giới hạn tiếp xúc giữa rượu kế và bề mặt dung dịch rồi đọc số đo trên rượu kế và đọc nhiệt độ. Tra bảng nhiệt độ và độ rượu tương ứng ta sẽ biết được nồng độ ethanol của dung dịch ở điều kiện chuẩn (% thể tích cồn ở 20°C).

2.3. Phương pháp xác định hàm lượng ester theo TCVN 378 - 36

- Hút 10 ml rượu cho vào bình tam giác + 3 giọt phenolphthalein, lắc đều.

- Trung hoà bằng NaOH 0,05N.

- Thêm 10 ml NaOH 0,1N.

- Lắp ống làm lạnh, đặt vào nồi nước đang sôi, đun sôi trong 1 giờ. Lấy ra làm lạnh ngay.

- Thêm chính xác 10 ml dung dịch H_2SO_4 0,1N.

- Chuẩn axit dư bằng dung dịch NaOH 0,05N đến màu phớt hồng.

- Làm tương tự đối với mẫu trắng.

Công thức kết quả:

Hàm lượng ester tính bằng số ml metyl acetat có trong 1 lít rượu 100°

$$X = \frac{8,8 * (V2 - V1) * 1000 * 100}{V * 2 * C}$$

V: Thể tích rượu đem phân tích.

V1: Thể tích NaOH 0,05N tiêu tốn chuẩn mẫu trắng.

V2: Thể tích NaOH 0,05N tiêu tốn chuẩn mẫu thử.

8,8: Số mg etyl acetat ứng với 1 ml NaOH 0,1N.

1000: Hệ số tính chuyển ra lít.

100/C: Hệ số chuyển độ rượu từ C độ về 100 độ.

2.4. Phương pháp xác định hàm lượng aldehyt theo TCVN 378 - 36

- Lấy V thể tích rượu mẫu cho vào bình tam giác 500 ml + 50 ml dung dịch A + 50 ml dung dịch B, để yên trong 20 phút, thêm nước cất đủ 270 ml

- Thêm 10 ml NaOH để dung dịch trong bình có pH bằng 2.

- Oxy hoá sunfit dư bằng Iot 0,1N với chỉ thị hồ tinh bột đến mức phát xanh.

- Thêm từ từ dung dịch C đến khi pH trong bình có pH = 9,5.

- Chuẩn độ sunfit thoát ra bằng dung dịch Iot 0,01N đến màu phát xanh.

- Làm tương tự đối với mẫu trắng.

- Tính kết quả:

Hàm lượng andehyt tra bằng số mg axetatdehyt trong 1lit rượu 100° theo công thức:

$$X = \frac{22 * (a - b) * N * 1000 * 100}{V * C}$$

a: Thể tích dung dịch Iot 0,01N tiêu tốn khi chuẩn mẫu thử.

b: Thể tích dung dịch Iot 0,01N tiêu tốn khi chuẩn mẫu trắng.

N: Nồng độ đương lượng của dung dịch Iot.

V: Thể tích rượu mẫu.

22: Đương lượng gam của acetaldehyt

1000: Hệ số tính chuyển ra lít.

100/C: Hệ số chuyển độ rượu từ C độ về 100 độ

2.5. Phương pháp định tính furfurool

10 ml rượu chung cất + 1ml acid acetic đậm đặc, lắc đều, sau đó cho tiếp 10 giọt anilin, để yên khoảng 20 phút, nếu không thấy xuất hiện màu hồng thì không có sự hiện diện của furfurool, nếu dung dịch có màu hồng thì có sự hiện diện của furfurool.

3. XỬ LÝ THỐNG KÊ

3.1. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 2 ngày lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau.

Analysis of Variance for Con ngày 2 - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Nam men	15.4537	2	7.72685	15.32	0.0000
B:pH	1.59259	2	0.796296	1.58	0.2169
C:Brix	30.3981	2	15.1991	30.14	0.0000
RESIDUAL	23.7037	47	0.504334		
TOTAL (CORRECTED)	71.1481	53			

Multiple Range Tests for Con ngày 2 by Nam men

Method: 95.0 percent LSD

Nam men	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	18	6.69444	X
0.1	18	7.25	X
0.2	18	8.0	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 0.1	*-0.555556	0.476223
0 - 0.2	*-1.30556	0.476223
0.1 - 0.2	*-0.75	0.476223

3.2. Sự biến đổi độ Brix sau 2 ngày lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau.

Multiple Range Tests for Brix ngày 2 by Nam men

Method: 95.0 percent LSD

Nam men	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0.2	18	10.1333	X
0.1	18	10.5778	X
0	18	11.0444	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 0.1	*0.466667	0.312825
0 - 0.2	*0.911111	0.312825
0.1 - 0.2	*0.444444	0.312825

3.3. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 2 ngày lên men ở các độ Brix ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Con ngày 2 by Brix

Method: 95.0 percent LSD

Brix	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
18	18	6.63889	X
20	18	6.94444	X
22	18	8.36111	X

Contrast	Difference	+/- Limits
18 - 20	-0.305556	0.476223
18 - 22	*-1.72222	0.476223
20 - 22	*-1.41667	0.476223

3.4. Sự biến đổi độ Brix sau 2 ngày lên men ở các độ Brix ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Brix ngày 2 by Brix

Method: 95.0 percent LSD

Brix	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
18	18	9.21111	X
20	18	10.2222	X
22	18	12.3222	X

Contrast	Difference	+/- Limits
18 - 20	*-1.01111	0.312825
18 - 22	*-3.11111	0.312825
20 - 22	*-2.1	0.312825

3.5. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 2 ngày lên men ở các pH ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Con ngày 2 by pH

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
pH          Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
6.5          18          7.16667      X
5.5          18          7.22222      X
4.5          18          7.55556      X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----
4.5 - 5.5                0.333333      0.476223
4.5 - 6.5                0.388889      0.476223
5.5 - 6.5                0.055556      0.476223
-----

```

3.6. Sự biến đổi độ Brix sau 2 ngày lên men ở các pH ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Brix ngày 2 by pH

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
pH          Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
4.5          18          9.36667      X
5.5          18          11.0111      X
6.5          18          11.3778      X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----
4.5 - 5.5                *-1.64444      0.312825
4.5 - 6.5                *-2.01111      0.312825
5.5 - 6.5                *-0.36667      0.312825
-----

```

3.7. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 4 ngày lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau.

Analysis of Variance for Con ngày 4 - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Nam men	20.3426	2	10.1713	19.80	0.0000
B:Brix	33.6204	2	16.8102	32.72	0.0000
C:pH	14.9259	2	7.46296	14.53	0.0000
RESIDUAL	24.1481	47	0.51379		
TOTAL (CORRECTED)	93.037	53			

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

Multiple Range Tests for Con ngày 4 by Nam men

Method: 95.0 percent LSD

Nam men	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	18	7.44444	X
0.1	18	7.91667	X
0.2	18	8.91667	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 0.1	-0.472222	0.480667
0 - 0.2	*-1.47222	0.480667
0.1 - 0.2	*-1.0	0.480667

3.8. Sự biến đổi độ Brix sau 4 ngày lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau.

Multiple Range Tests for Brix ngày 4 by Nam men

Method: 95.0 percent LSD

Nam men	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0.2	18	9.32222	X
0.1	18	10.0889	X
0	18	10.5	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 0.1	*0.411111	0.324435
0 - 0.2	*1.17778	0.324435
0.1 - 0.2	*0.766667	0.324435

3.9. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 4 ngày lên men ở các độ Brix ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Con ngay 4 by Brix

Method: 95.0 percent LSD

Brix	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
18	18	7.38889	X
20	18	7.69444	X
22	18	9.19444	X

Contrast	Difference	+/- Limits
18 - 20	-0.305556	0.480667
18 - 22	*-1.80556	0.480667
20 - 22	*-1.5	0.480667

3.10. Sự biến đổi độ Brix sau 4 ngày lên men ở các độ Brix ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Brix ngay 4 by Brix

Method: 95.0 percent LSD

Brix	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
18	18	8.58889	X
20	18	9.68889	X
22	18	11.6333	X

Contrast	Difference	+/- Limits
18 - 20	*-1.1	0.324435
18 - 22	*-3.04444	0.324435
20 - 22	*-1.94444	0.324435

3.11. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 4 ngày lên men ở các pH ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Con ngay 4 by pH

Method: 95.0 percent LSD			
pH	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
6.5	18	7.5	X
5.5	18	8.0	X
4.5	18	8.77778	X
Contrast			Difference +/- Limits
4.5 - 5.5			*0.77778 0.480667
4.5 - 6.5			*1.27778 0.480667
5.5 - 6.5			*0.5 0.480667

3.12. Sự biến độ Brix sau 4 ngày lên men ở các pH ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Brix ngay 4 by pH

Method: 95.0 percent LSD			
pH	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
4.5	18	8.62222	X
5.5	18	10.4222	X
6.5	18	10.8667	X
Contrast			Difference +/- Limits
4.5 - 5.5			*-1.8 0.324435
4.5 - 6.5			*-2.24444 0.324435
5.5 - 6.5			*-0.444444 0.324435

3.13. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 6 ngày lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau.

Analysis of Variance for con ngay 6 - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Nam men	18.8148	2	9.40741	21.78	0.0000
B:Brix	37.7315	2	18.8657	43.68	0.0000
C:pH	12.9537	2	6.47685	14.99	0.0000
RESIDUAL	20.3009	47	0.431935		
TOTAL (CORRECTED)	89.8009	53			

Multiple Range Tests for con ngay 6 by Nam men

Method: 95.0 percent LSD

Nam men	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	18	7.58333	X
0.1	18	8.25	X
0.2	18	9.02778	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 0.1	*-0.666667	0.440718
0 - 0.2	*-1.44444	0.440718
0.1 - 0.2	*-0.777778	0.440718

4.14. Sự biến đổi độ Brix sau 6 ngày lên men ở các tỉ lệ nấm men khác nhau

Multiple Range Tests for Brix ngay 6 by Nam men

Method: 95.0 percent LSD

Nam men	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0.2	18	9.22222	X
0.1	18	9.95556	X
0	18	10.3667	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 0.1	*0.411111	0.275647
0 - 0.2	*1.14444	0.275647
0.1 - 0.2	*0.733333	0.275647

3.15. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 6 ngày lên men ở các độ Brix ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for con ngày 6 by Brix

Method: 95.0 percent LSD			
Brix	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
18	18	7.5	X
20	18	7.91667	X
22	18	9.44444	X
Contrast			Difference +/- Limits
18 - 20			-0.416667 0.440718
18 - 22			*-1.94444 0.440718
20 - 22			*-1.52778 0.440718

3.16. Sự biến đổi độ Brix sau 6 ngày lên men ở các độ Brix ban đầu khác nhau.

Multiple Range Tests for Brix ngày 6 by Brix

Method: 95.0 percent LSD			
Brix	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
18	18	8.47778	X
20	18	9.58889	X
22	18	11.4778	X
Contrast			Difference +/- Limits
18 - 20			*-1.11111 0.275647
18 - 22			*-3.0 0.275647
20 - 22			*-1.88889 0.275647

3.17. Sự biến đổi hàm lượng rượu sinh ra sau 6 ngày lên men ở các pH ban đầu khác nhau

Multiple Range Tests for con ngay 6 by pH

 Method: 95.0 percent LSD

pH	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
6.5	18	7.72222	X
5.5	18	8.22222	X
4.5	18	8.91667	X

Contrast	Difference	+/- Limits
4.5 - 5.5	*0.694444	0.440718
4.5 - 6.5	*1.19444	0.440718
5.5 - 6.5	*0.5	0.440718

3.18. Sự biến đổi độ Brix sau 6 ngày lên men ở các pH ban đầu khác nhau

Multiple Range Tests for Brix ngay 6 by pH

 Method: 95.0 percent LSD

pH	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
4.5	18	8.52222	X
5.5	18	10.2667	X
6.5	18	10.7556	X

Contrast	Difference	+/- Limits
4.5 - 5.5	*-1.74444	0.275647
4.5 - 6.5	*-2.23333	0.275647
5.5 - 6.5	*-0.488889	0.275647
