

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN QUÁ TRÌNH LÊN MEN BIA NỒNG ĐỘ CAO.

STUDY OF INFLUENCE OF SOME TECHNOLOGICAL FACTORS ON HIGH GRAVITY BREWING.

Lại Quốc Đạt, Lê Văn Việt Mẫn, Võ Thị Luyên

Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Khoa Công nghệ Hóa học, ĐH Bách Khoa Tp HCM, Việt Nam

TÓM TẮT

Nghiên cứu này khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến quá trình lên men bia nồng độ cao. Với dịch nha 20°Bal được nấu từ 80% malt và 20% gạo, pH 5.4 – 5.6, khi bổ sung amonium sulphate (90mg nitơ/l) hay sục không khí vô trùng trong 12 giờ lên men đầu tiên, tốc độ và hàm lượng cơ chất sử dụng của nấm men sẽ gia tăng, thời gian lên men sẽ rút ngắn, nồng độ etanol trong bia non có thể đạt trên 10%(v/v).

ABSTRACT

This research focused on the influence of some technological factors on the high gravity brewing. With the 20°Bal wort prepared from 80% malt and 20% rice, pH 5.4 – 5.6, amonium sulphate addition (90mg nitrogen/l) or medium aeration for the first 12 fermenting hours increased the substrate assimilation rate and decreased the fermentation time. The ethanol concentration in the green beer can reach above 10%(v/v).

1. GIỚI THIỆU

Do nhu cầu của người tiêu dùng ngày càng tăng cao, việc sản xuất bia đòi hỏi phải đạt được yêu cầu về chất lượng và năng suất. Trên thế giới hiện nay vẫn tồn tại song song hai phương pháp sản xuất bia: phương pháp cổ điển và phương pháp hiện đại. Điểm khác biệt chính của hai phương pháp này là cách thực hiện quá trình lên men bia. Trong phương pháp cổ điển, hai quá trình lên men chính và phụ được thực hiện ở hai thiết bị riêng biệt, còn ở phương pháp hiện đại thì hai quá trình lên men đó được thực hiện trong cùng một thiết bị.

Ưu điểm của phương pháp hiện đại là ít tổn thất bị lên men, ít tổn chi phí năng lượng và thời gian lên men ngắn, do đó nâng cao năng suất sản xuất.

Một trong những giải pháp nhằm nâng cao năng suất của quá trình sản xuất bia là nâng cao nồng độ etanol và các sản phẩm trao đổi chất khác của nấm men trong dịch lên men. Để thực hiện điều này, các nhà sản xuất sẽ lên men dịch nha có nồng độ chất khô ban đầu cao hơn thông thường (lớn hơn 13%). Sau đó, dịch lên men sẽ được pha loãng với nước bão hòa CO₂ theo một tỷ lệ nhất định để thu được sản phẩm bia có nồng

độ các chất hòa tan như bia được sản xuất theo những phương pháp truyền thống. Một số nhà máy bia tại Việt Nam cũng đã áp dụng công nghệ sản xuất bia nồng độ cao (Sài Gòn, Foster), tuy nhiên, hàm lượng chất khô ban đầu trong dịch nha ban đầu không thể vượt quá 16°Bal.

Nghiên cứu này bước đầu khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình lên men chính, sử dụng dịch nha 20°Bal nhằm nâng cao nồng độ etanol trong bia non.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Malt: Malt vàng được nhập từ Australia, độ ẩm 10%.
- Houblon: dạng viên, được nhập từ Australia, hàm lượng alpha acid đáng 12%.
- Thê liệu: gạo, độ ẩm 12%.
- Glucose, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, hoá chất phân tích: do Trung Quốc sản xuất.
- Nấm men: *Saccharomyces cerevisiae* do Công ty TNHH Foster Tiền Giang cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chúng tôi tiến hành chuẩn bị dịch lên men theo phương pháp đun sôi một lần, thành phần nguyên liệu ban đầu theo bảng 1. Sau khi nấu dịch nha xong, bổ sung glucose để dịch nha có nồng độ chất khô là 20°Bal, tiệt trùng dịch nha ở 121°C, 20 phút rồi sục không khí vô trùng để bão hòa oxy, điều chỉnh pH dịch lên men về giá trị 5.4-5.6. Tiến hành cấy nấm men với số lượng 20 triệu tế bào nấm men/ml. Quá trình lên men được thực hiện ở 17°C trên thiết bị lên men BIOSTAT của hãng BRAUN (Đức).

Bảng 1: Thành phần nguyên liệu chuẩn bị dịch nha.

Nguyên liệu	Số lượng
Malt	1.5kg
Gạo	0.375kg
Nước	7 lít
Hoa houblon	0.4g

Hai yếu tố khảo sát:

- Tiến hành sục khí liên tục trong 12 giờ đầu tiên của quá trình lên men với lưu lượng 0.2NI/phút.
- Bổ sung amonium sulphate $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ vào dịch lên men ban đầu với hàm lượng 90mg nitơ/l.

Chúng tôi cũng thực hiện quá trình lên men không có hai yếu tố trên để làm mẫu kiểm chứng.

2.3. Các phương pháp phân tích

- Xác định số lượng tế bào nấm men: bằng phương pháp đếm trên buồng đếm **Thoma**.
- Xác định tế bào nấm men chết: bằng cách nhuộm tế bào bằng dung dịch xanh metylen.
- Xác định hàm lượng chất khô: bằng Balling kế.
- Xác định hàm lượng đường khử: bằng phương pháp so màu, sử dụng thuốc thử dinitrosalisilic acid, đo độ hấp thụ trên máy quang phổ.
- Xác định hàm lượng etylic: chưng cất mẫu để thu hồi rượu etylic, xác định tỷ trọng của dịch cất bằng tỷ trọng kế, từ tỷ trọng có được xác định hàm lượng rượu etylic.
- Xác định hàm lượng diacetyl: Chưng cất mẫu bằng hơi nước lôi cuốn để thu hồi diacetyl. Sau đó, cho phản cất phản ứng

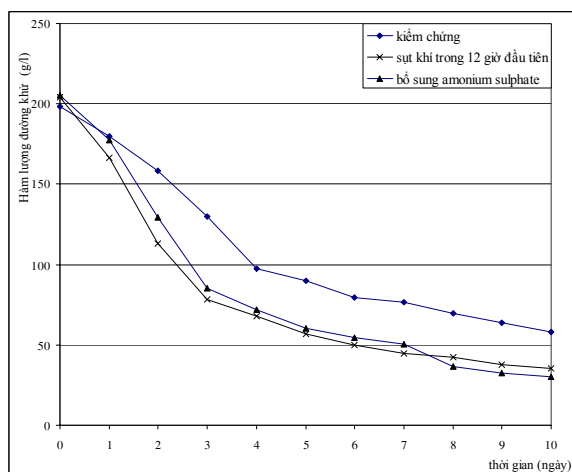
với dung dịch o-phenylendiamin để tạo dẫn xuất quinoxalin, axit hóa và đo độ hấp thụ trên máy quang phổ để xác định hàm lượng diacetyl.

- Xác định pH: bằng pH kế **Mettler Toledo**.

3. KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM VÀ BÀN LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến quá trình sử dụng cơ chất của nấm men

Qua kết quả thí nghiệm, chúng tôi thấy rằng, việc sục khí trong 12 giờ lên men đầu tiên hoặc bổ sung amonium sulphate ảnh hưởng lớn đến động học quá trình sử dụng cơ chất của nấm men (hình 1). Hàm lượng đường khử giảm nhanh hơn so với mẫu đối chứng. Điều này có thể được giải thích là do trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, việc bổ sung khí O₂ hay amonium sulphate vào dịch nha sẽ làm cho nấm men hoạt động tốt hơn, do đó, tốc độ sử dụng cơ chất là nhanh hơn. Theo lý thuyết, lượng cơ chất này được nấm men sử dụng để thực hiện quá trình trao đổi chất, phục vụ cho sự phát triển sinh khối cũng như tạo ra các sản phẩm lên men như etanol, CO₂...



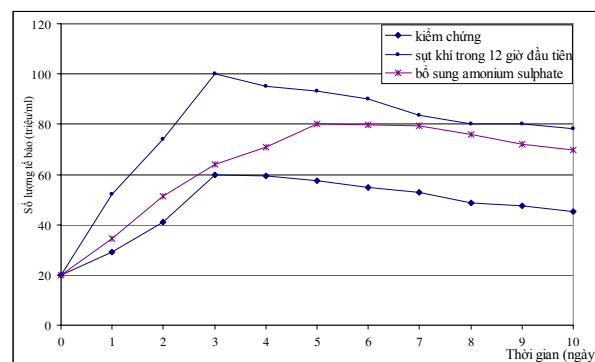
Hình 1: Biến đổi của hàm lượng đường khử trong quá trình lên men

Khi đạt đến giai đoạn ổn định, tốc độ sử dụng cơ chất là như nhau trong cả 3 trường hợp mà chúng tôi khảo sát. Kết quả khảo sát cũng cho thấy rằng, ở giai đoạn cuối của quá trình lên men, hàm lượng đường sót trong trường hợp có sục khí hay bổ sung amonium sulphate đều thấp hơn so với mẫu đối chứng. Qua đó, chúng ta có thể kết luận rằng khi có bổ sung hàm lượng oxy trong giai đoạn đầu của quá trình lên men hoặc bổ sung amonium sulphate sẽ làm tăng khả năng sử dụng cơ chất của nấm men, rút ngắn thời gian lên men. Kết quả này cho phép làm tăng năng suất của nhà máy.

Chúng tôi cũng tiến hành khảo sát sự biến đổi hàm lượng chất khô của dịch nha trong quá trình lên men, kết quả có được cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả khảo sát đối với đường khử.

Mẫu bia non được bổ sung amonium sulphate vào thời điểm đầu của quá trình lên men có nồng độ đường sót là thấp nhất. Như vậy, việc bổ sung thêm muối amonium sulphate vào dịch nha được xem như là giải pháp thích hợp nhất để rút ngắn thời gian lên men chính trong kỹ thuật lên men bia nồng độ cao.

3.2. Ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến quá trình sinh trưởng của tế bào nấm men.



Hình 3: Biến đổi số lượng tế bào nấm men trong quá trình lên men

Bảng 2: Hiệu suất sinh tổng hợp sinh khối tính theo đường khử (triệu tế bào/g)

Mẫu	Kiểm chứng	Sục khí	Bổ sung (NH ₄) ₂ SO ₄
Hiệu suất	180.5	345.4	285.1

Để đánh giá quá trình tăng sinh khối của nấm men, chúng tôi tiến hành khảo sát số lượng tế bào nấm men trong quá trình lên men. Qua kết quả khảo sát, chúng tôi thấy rằng khi có sục khí hay bổ sung amoniusulfate thì sinh khối của nấm men tăng rất nhanh trong 3 ngày lên men đầu tiên (hình 3). Điều đó được giải thích là do khi bổ sung khí O₂ hoặc bổ sung amonium sulphate sẽ thúc đẩy quá trình phát triển sinh khối, đặc biệt là trong trường hợp bổ sung O₂. Như ta đã biết, khi bổ sung O₂, sẽ làm tăng cường quá trình hô hấp hiếu khí, do đó, làm tăng khả năng tổng hợp sinh khối của vi sinh vật. Nấm men sử dụng được nitơ dạng NH₄⁺. Việc bổ sung amonium sulphate sẽ cung cấp chất dinh dưỡng cho quá trình sinh tổng hợp sinh khối nấm men, do đó, làm tăng tốc độ sinh trưởng của tế bào trong giai đoạn đầu của quá trình lên men. Từ hình 3, ta nhận thấy: tốc độ sinh trưởng của nấm men trong mẫu dịch nha được sục khí trong 12 giờ lên men đầu tiên là cao nhất

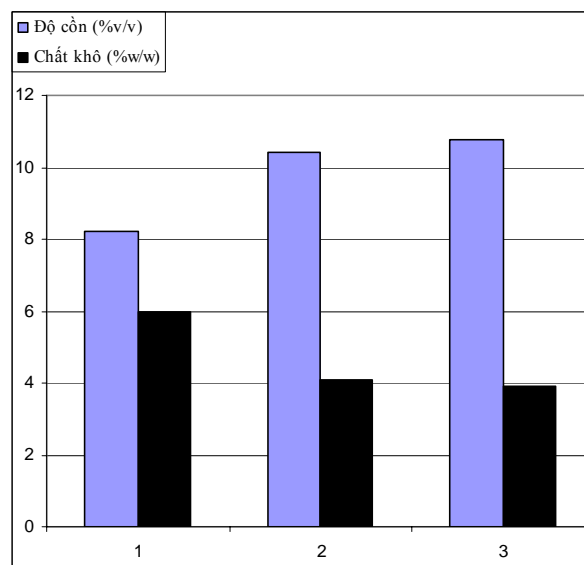
Khi bổ sung amonium sulphate, ta thấy pha cân bằng sẽ trễ hơn so với hai trường hợp còn lại, đồng thời, thời gian duy trì ở trạng thái cân bằng cũng dài hơn. Điều này là do khi bổ sung thêm nitơ, các thành phần dinh dưỡng trong môi trường sẽ cân đối hơn, đảm bảo cho nấm men duy trì ở trạng thái cân bằng trong thời gian dài hơn.

Trong giai đoạn cuối của quá trình lên men, tốc độ thoái hóa giống của cả ba trường hợp là như nhau (thể hiện qua mức độ giảm số lượng tế bào nấm men).

Kết quả khảo sát cũng cho thấy rằng, hiệu suất sinh tổng hợp sinh khối khi có bổ sung O₂ hay amonium sulphate là cao hơn so với mẫu kiểm

chứng. Điều này phù hợp với kết quả đã khảo sát ở phần 3.1. Cần lưu ý rằng, hiệu suất tổng hợp sinh khối khi sục O₂ vào dịch nha trong 12 giờ lên men đầu tiên là cao hơn khi bổ sung amonium sulphate.

3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến nồng độ sản phẩm chính



Hình 4: Hàm lượng etanol và chất khô trong bia non khi kết thúc quá lên men chính. (1: kiểm chứng, 2: sục khí trong 12 giờ đầu tiên, 3: bổ sung amonium sulphate)

Bảng 3: Hiệu suất sinh tổng hợp etanol tính theo đường khử (%)

Mẫu	Kiểm chứng	Sục khí	Bổ sung (NH ₄) ₂ SO ₄
Hiệu suất	46.5	49.5	49.2

Theo kết quả khảo sát, việc bổ sung amonium sulphate hay sục khí trong giai đoạn đầu của quá trình lên men đều làm tăng nồng độ etanol trong bia non (hình 4). Có lẽ đó là do sự gia tăng hoạt tính của nấm men nên khả năng tổng hợp sản phẩm sẽ cao hơn. Từ bảng 3, ta nhận thấy: cả hai yếu tố khảo sát đều làm tăng

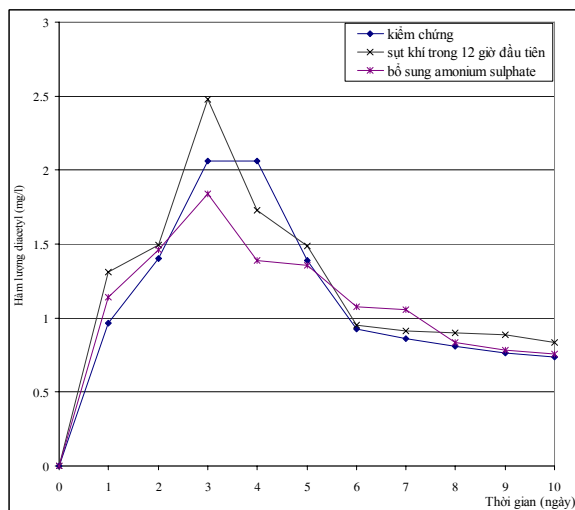
nhẹ hiệu suất sinh tổng hợp etanol so với mẫu đối chứng. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với hiện tượng tăng nồng độ etanol trong các mẫu bia non mà chúng tôi đã đề cập đến ở trên.

3.4. Ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến quá trình hình thành các sản phẩm phụ

3.4.1. Hàm lượng diacetyl

Trong các sản phẩm phụ của quá trình lên men etanol, diacetyl là một trong những sản phẩm ảnh hưởng nhiều nhất đến chất lượng bia.

Theo Kunz W (1999), ở giai đoạn đầu của quá trình lên men, khi nấm men sinh trưởng mạnh, diacetyl trong dịch lên men tăng nhanh. Sau đó, một phần diacetyl bị khử bởi hệ enzym oxi hoá - khử (diacetyl vẫn tiếp tục được tạo thành từ quá trình trao đổi chất của nấm men nhưng tốc độ khử thì nhanh hơn tốc độ tạo thành) [3].



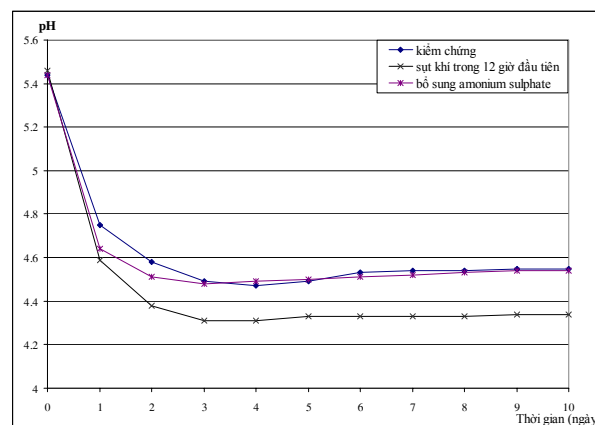
Hình 5: Biến đổi của hàm lượng diacetyl trong quá trình lên men

Kết quả nghiên cứu trên hình 5 hoàn toàn phù hợp với quy luật trên. Khi bổ sung O₂ trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, nấm men phát triển sinh khối rất mạnh nên hàm lượng diacetyl tạo thành cao hơn so với hai trường hợp còn lại. Tuy nhiên, trong giai đoạn sau của quá trình lên men, tốc độ giảm diacetyl cũng nhanh hơn do lượng

sinh khối nấm men nhiều hơn, vì vậy, hàm lượng diacetyl trong giai đoạn cuối của quá trình lên men trong cả 3 trường hợp gần như tương đương nhau.

3.4.2. pH

Trong quá trình lên men, sự biến đổi của pH phản ánh quá trình tạo thành các acid hữu cơ, sản phẩm phụ của quá trình lên men etanol.



Hình 6: Biến đổi của pH trong quá trình lên men

Kết quả nghiên cứu cho thấy, bổ sung O₂ trong giai đoạn đầu của quá trình lên men làm giá trị pH giảm nhanh hơn. Theo Moll M (1992), việc sinh tổng hợp acid bởi nấm men liên quan mật thiết đến chu trình Crebs [6]. Như vậy, khi bổ sung O₂, quá trình sinh tổng hợp sinh khối trong giai đoạn đầu của quá trình lên men diễn ra nhanh hơn, acid hữu cơ tạo thành nhiều hơn nên làm giảm giá trị pH nhanh hơn. Vào giai đoạn cuối của quá trình lên men, pH có xu hướng tăng nhẹ trong cả 3 trường hợp. Có lẽ do những acid tạo thành đã phản ứng với các cấu tử khác trong dịch lên men như các loại rượu để tạo thành các ester. Thật ra, ở giai đoạn đầu của quá trình lên men, phản ứng ester hóa cũng có thể xảy ra nhưng do lượng acid tạo thành nhanh và hàm lượng rượu còn ít nên pH giảm.

4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả trên, chúng tôi nhận thấy rằng, bằng việc thay đổi một số yếu tố trong quá trình lên men chính có thể rút ngắn lên men và tăng nồng độ etanol trong bia non. Khi bổ sung $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ với hàm lượng 90mg nitơ/l hay sục không khí vô trùng liên tục trong 12 giờ lên men đầu tiên cho dịch nha 20°Bal (80% malt, 20% gạo), nồng độ etanol trong bia non có thể đạt trên 10%(v/v).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Anh Tuấn, Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng oxy hòa tan đến quá trình lên men bia nồng độ cao, Tạp chí đồ uống Việt Nam, Số 16, 2002.
2. Nguyễn Văn Việt – Trương Thị Thủy - Nguyễn Thị Thu Vinh, Ứng dụng công nghệ lên men trong sản xuất bia nồng độ cao, Tạp chí đồ uống Việt Nam, số 16, 2002.
3. Kunze. W, Technology Brewing and malting, VLB Berlin, 1999.
4. Casey. G.P – Magnus. C.A and Ingledew. W.M, High gravity Brewing: Effects of nutrition on yeast composition, fermentation ability and alcohol production, Journal of The Institute of Brewing, Vol.84 (3), 1984, pp. 639 – 646.
5. Cunningham. S and Stewart. G, Effect of high gravity and acid washing on brewer's yeast, Journal of the American Society of Brewing Chemists F, 1998, pp.12 – 18.
6. Moll M. Bière et coolers, Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1992.