

2.3.2.2.3. Phương pháp nấu liên tục

-Ưu điểm:

-Tận dụng được nhiều hơi

-Cho phép nấu ở t⁰ thấp hoặc thời gian ngắn làm giảm được lượng đường bị cháy (nếu cháy sẽ tạo thành melanoidin)

-Hiệu suất tăng 5 lít so với nấu bán liên tục và 12 lít / tấn tinh bột, so với nấu gián đoạn.

-Lượng kim loại dùng để chế tạo thiết bị giảm khoảng 50% so với bán liên tục.

-Dễ cơ khí hóa và tự động hóa

-Tốn ít diện tích đặt thiết bị

-Nhược điểm:

-Nguyên liệu phải nghiền thật nhỏ

-Điện, hơi, nước phải ổn định.

-Đang cố gắng vận dụng vào thiết bị tại Việt Nam.

2.3.2.2.4. Phương pháp ứng dụng chủ yếu tại Việt Nam

Các sơ đồ nấu được trình bày ở trên vẫn tồn tại nhược điểm. Lượng đường khi nấu và lượng tinh bột chưa hòa tan vẫn chiếm tỷ lệ khá cao (3 – 5%). Do đó tại các nhà máy sản xuất cồn lớn tại Việt Nam đã nghiên cứu và ứng dụng phương pháp sau:

- *Tại thùng nấu nguyên liệu:* Bột sắn được nghiền mịn tới kích thước là 1mm, hòa với nước ở 30 – 40°C theo tỷ lệ nước : bột là 4 : 1. Sau đó khuấy đều, cho 80% lượng α - amylaza chịu nhiệt (thường sử dụng Termamyl 120L của hãng Novo – Đan mạch) vào với tỷ lệ 0,02 – 0,03% so với khối lượng tinh bột. Đun trong 40 – 50 phút, đạt tới 85 – 87°C. Giữ ở nhiệt độ này 15 – 20 phút. Đun sôi trong vòng 50 – 60 phút nhằm hòa tan các hạt tinh bột có kích thước lớn chưa kịp hồ hóa hết. Sau đó chuyển sang thùng đường hóa.
- *Tại thùng đường hóa:* dịch bột được làm nguội đến 90 – 93°C rồi cho nốt 20% lượng enzym còn lại vào. Làm nguội đến 55 – 56°C, để yên trong 30 phút. Lúc này pH của dịch cháo sẽ là: 5,2 – 5,4; lượng đường khử tính theo glucoza tăng 3 – 3,5g / 100ml. Dịch đường sau khi lên men đạt hiệu suất 93.4% so với lý thuyết.

Ưu điểm:

- Hiệu suất tăng đạt khoảng 93% so với lý thuyết.
- Tiết kiệm được enzym trong quá trình đường hóa.
- Giảm được lượng hơi sử dụng do không cần đưa nhiệt độ lên quá cao.
- Giảm được lượng bột chưa hòa tan xuống còn khoảng 0,2 – 0,25 g / 100ml

2.3.3. Đường hóa dịch cháo

Tinh bột sau khi được nấu đã chuyển từ trạng thái không hòa tan sang hòa tan, nhưng vẫn chưa thể lên men được, mà ta phải dùng amylaza để chuyển hóa thành đường. Quá trình này gọi là quá trình đường hóa.

Quá trình đường hóa đóng vai trò quan trọng trong việc sản xuất cồn, quyết định phần lớn hiệu suất thu hồi rượu. Trước kia người ta dùng HCl hoặc H_2SO_4 để thủy phân tinh bột, nhưng nay rất ít dùng vì giá cao mà hiệu suất thấp.

Hiện tại sử dụng amylaza. Có 2 loại amylaza: từ mầm đại mạch và từ vi sinh vật.

Tại Việt Nam, chủ yếu phải nhập từ nước ngoài (amylaza từ nấm mốc). Đã có nhà máy tự sản xuất amylaza thô tuy nhiên chất lượng chưa cao (ví dụ: nhà máy rượu Hà Nội)

2.3.3.1. Chức năng của enzym trong quá trình thủy phân tinh bột

Dưới tác dụng của enzym thuộc họ amylaza và nước, tinh bột sẽ dần dần bị chuyển hóa thành các sản phẩm đường. Nấm men chỉ có khả năng lên men đường, do đó chỉ sau quá trình đường hóa, quá trình lên men mới bắt đầu được tiến hành.

2.3.3.1.1. α - amylaza: (enzym dịch hóa)

Có tác dụng lên nối $\alpha - 1,4$ glucozit ở vị trí bất kỳ, nhưng tập trung vào giữa mạch amyloza và amylopectin. Dưới tác dụng của enzym, tinh bột

chuyển hóa thành dextrin + maltoza + 1 ít glucoza. Lúc này độ nhớt của tinh bột giảm nhanh.

Nhiệt độ hoạt động của enzym:

- α - amylaza của vi khuẩn hoạt động tốt ở t° tối ưu = 95– 100 $^{\circ}$ C

- α - amylaza của nấm mốc hoạt động tốt ở: t° tối ưu = 73– 76 $^{\circ}$ C

- α - amylaza của *Asp.oryzae* hoạt động tốt ở: t° tối ưu = 50–55 $^{\circ}$ C

pH của môi trường và t° tối ưu cũng phụ thuộc vào nhau: t° tăng \rightarrow pH tăng)

t° (C)	pH tối ưu
30 – 40	4,5 - 5
50	4,6 – 5
60	5,2 – 5,5
70	5,3 – 5,8

2.3.3.1.2. β - amylaza (enzym đường hóa)

Có tác dụng lên nối α - 1,4 – glucozit, nhưng bắt đầu từ vòng không có nhóm khử và cắt theo 2 gốc glucoza một trong phân tử của amyloza và amylopectin. Sản phẩm tạo thành là maltoza nên β - amylaza còn được gọi là enzym đường hóa. β - amylaza có khả năng biến đổi amyloza hoàn toàn thành maltoza, còn với amylopectin chỉ cắt được 50 – 55%.

PH tối ưu = 4,8 (β - amylaza của mốc nấm)

Ph
thu c Vô
n ng

Dưới tác dụng của α và β - amylaza ta thu được dịch chứa 78 – 80% maltoza và glucoza, 22 – 20% dextrin

2.3.3.1.3. Các enzym khác:

Amylaza của nấm mốc còn chứa một lượng glucoamylaza, isomaltaza và oligo – 1,6 – glucosidaza. Trong đó:

- Glucoamylaza có khả năng cắt tại α –1,4 và α –1,6– glucoza và biến 100% tinh bột thành glucoza.
- Isomaltaza chỉ phân cắt nối α –1,6 trong phân tử isomaltoza.
- Oligo – 1,6 – glucosidaza (có trong nấm mốc) cắt nối α –1,6 trong phân tử dextrin

Ngoài ra còn có thể thấy maltaza, pectinaza, hemicelluloza, proteaza (proteinaza, peptidaza) trong chế phẩm enzym.

2.3.3.1.4. Sự biến đổi của một số chất khác trong quá trình đường hóa:

Phụ thuộc vào nguồn amylaza sử dụng mà các chất có trong dịch cháo sẽ bị đường hóa khác nhau:

Nếu dùng amylaza của nấm mốc, thì:

- pectin dưới tác dụng của pectinaza sẽ chuyển hóa thành acid pectic và metanol;
- hemicelluloza dưới tác dụng của hemicellulaza sẽ chuyển hóa thành dextrin, glucoza và đường pentoza, trong đó dextrin tiếp tục bị phân giải thành maltoza;

-
- protein dưới tác dụng của proteaza thì chuyển thành các acid amin là nguồn dưỡng chất cho nấm men sử dụng. Tuy nhiên Việt Nam dùng nguồn nguyên liệu là sắn và rỉ đường (ít N nên không đủ lượng N cần thiết cho nấm men dùng, nên cần bổ sung thêm $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, ure, $(\text{NH}_4)_2 \text{PO}_4$.

2.3.3.2. Sơ đồ thiết bị và thao tác trong quá trình đường hóa:

Có 2 phương pháp: gián đoạn, liên tục

Sơ đồ chung:



2.3.3.2.1. Đường hóa liên tục:

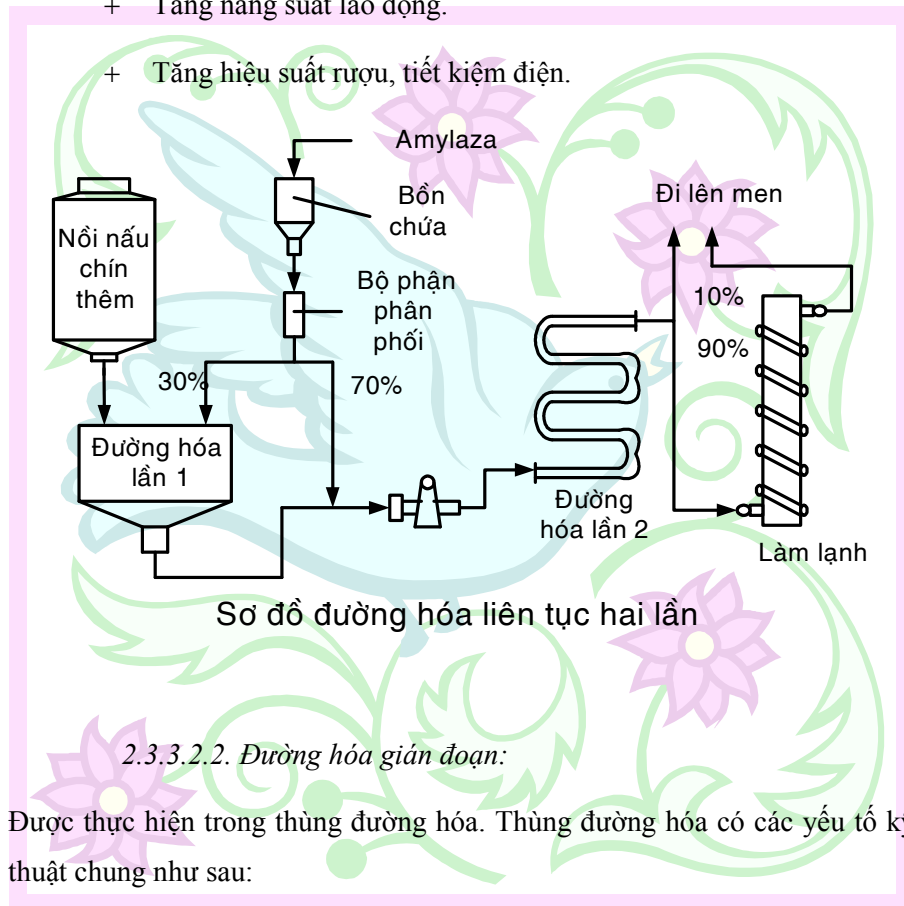
Đường hóa liên tục 2 lần trong quá trình này cần chú ý tới :

- Phương pháp làm lạnh bằng chân không
- Dịch cháo được nấu trong môi trường áp suất thấp ($0,2 \text{ kg/cm}^2$) nên t^0 nấu chỉ còn là $58 - 59^0\text{C}$.
- Ưu điểm của phương pháp:
 - + Hạn chế được sự lão hóa tinh bột
 - + Dùng áp suất chân không nên hơi nước sẽ kéo theo: metanol, furfurol và các mùi lạ do đó nâng chất lượng nguyên liệu.

+ Thời gian đường hóa ngắn chỉ khoảng 10 –15 phút nên giảm diện tích cho thiết bị, hạn chế được sự mất hoạt tính của amylaza.

+ Tăng năng suất lao động.

+ Tăng hiệu suất rượu, tiết kiệm điện.



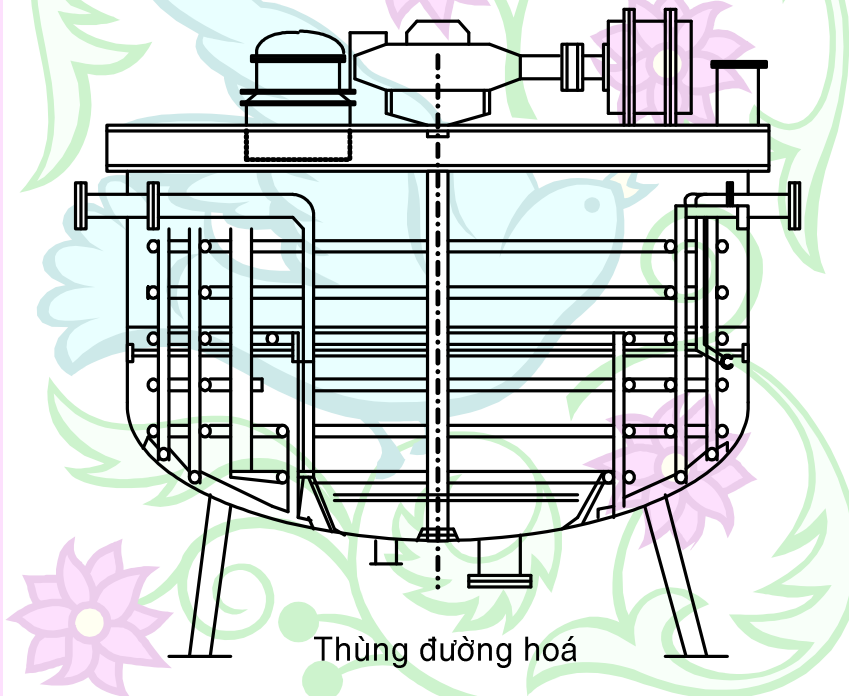
2.3.3.2.2. Đường hóa gián đoạn:

Được thực hiện trong thùng đường hóa. Thùng đường hóa có các yếu tố kỹ thuật chung như sau:

- Dung tích thùng được tính dựa vào thể tích của mẻ nấu và theo tỷ lệ: $1,3\text{m}^3$ thùng / lm^3 dịch cháo
- Chiều cao bằng 0,5 – 0,6 so với đường kính

- Bên trong có cánh khuấy với tốc độ 50 – 60 vòng/ phút có tác dụng giúp cho quá trình làm lạnh được nhanh
- Truyền nhiệt bằng ống đồng đỏ
- Dịch đường được bơm ra khỏi thùng trong 10 – 15' và bơm phải được đặt thấp hơn đáy thùng 0,6 – 0,8 m.

Cấu tạo của thùng đường hóa:



Dưới đây trình bày một số phương pháp đường hóa thường sử dụng:

- Phương pháp 1:

-
- Cho 13 – 15% dịch amylaza của một mẻ vào. khuấy đều, mở nước làm lạnh
 - Cho cháo vào từ từ với tốc độ sao cho khi hết cháo thì t^0 đạt 60^0C
 - Sau đó cho hết dịch amylaza còn lại vào. t^0 lúc này sẽ là $57 - 58^0C$
 - Ngừng khuấy. Đóng van làm lạnh, để yên 10 – 15' (amylaza chuyển hóa tinh bột thành đường).
 - Sau đó cho cánh khuấy làm việc, mở nước làm lạnh tới $t^0 = 28 - 30^0C$ rồi bơm sang hệ thống lên men.
 - Ưu điểm: Cháo được dịch hóa.
 - Nhược điểm:
 - Thời gian kéo dài.; Làm mất hoạt tính của 13 – 15 % amylaza.
 - Giảm năng suất của thiết bị
 - Phương pháp 2:
 - Cho toàn bộ amylaza vào, bật cánh khuấy, mở nước làm lạnh cho cháo vào với tốc độ nhanh hơn nhưng vẫn phải khống chế $t^0 = 57 - 58^0C$.
 - Khi cho hết cháo vào, ngừng khuấy, đóng van làm lạnh, để yên 10 – 15'.
 - Bật cánh khuấy, mở nước làm lạnh đến $28 - 30^0C$ rồi bơm sang hệ thống lên men.
 - Ưu điểm: Dịch cháo được làm loãng nhanh do đó tránh sự lão hóa tinh bột.
 - Nhược điểm:
-

- Hoạt tính của amylaza dễ bị mất nhiều.
- Mất nhiều công theo dõi quan sát t^0 của quá trình
- Phương pháp 3: (Thường được áp dụng tại Việt Nam)

- Cho toàn bộ dịch cháo vào.
 - Bật cánh khuấy. Mở nước làm lạnh đến 70^0C .
 - Cho fluosilicat natri 2‰ vào để sát trùng.
 - Cho 5 – 10% amylaza vào để dịch hóa. Làm lạnh đến 60^0C .
 - Cho nốt 90 – 95% amylaza còn lại vào
 - Thời gian đường hóa: 4h
 - Sau đó làm lạnh đến t^0 lên men.
 - Ưu điểm: Hoạt động của enzym giảm không đáng kể.
 - Nhược điểm:
 - Tinh bột bị lão hóa nhiều dịch đặc, độ nhớt cao làm ảnh hưởng đến tốc độ của cánh khuấy
 - Một phần hoạt tính của amylaza vẫn bị giảm.
- Trước 1992 người ta thường cho amylaza vào thẳng không qua sát khuẩn nên bị nhiễm khuẩn làm tăng độ chua do đó giảm hiệu suất lên men.

2.3.4. Tiền xử lý rỉ đường:

Công nghệ sản xuất cồn từ rỉ đường cũng tương tự như sản xuất cồn từ khoai mì thường phải qua các bước sau:

- Chuẩn bị dịch đường lên men.
- Nuôi men giống, lên men dịch đường.
- Xử lý dịch lên men (chung luyện)

Tại phần này chúng ta sẽ chú trọng đến những đặc thù riêng của quá trình xử lý dịch đường, đó là:

- Pha loãng sơ bộ; Xử lý dịch pha loãng.
- Bổ sung nguồn dinh dưỡng.
- Tạo nồng độ lên men.

2.3.4.1. Pha loãng và xử lý dịch mật ri:

Trong mật ri chứa khoảng

- + 100.000 – 500.000 tạp khuẩn không nha bào trong 1g
- + 15.000 – 50.000 tạp khuẩn có nha bào trong 1g

Lúc đầu mật ri có nồng độ đường cao nên vi sinh vật chưa phát triển

Trước khi lên men cần phải pha loãng mật ri làm 2 lần, sau đó để diệt khuẩn có thể xử lý như sau:

- 110⁰C / 30'
- hoặc 120⁰C / 10'
- hoặc 85 – 90⁰C / 45 – 50'

Tại Việt Nam thường làm như sau:

- Pha loãng 50%

- H_2SO_4 cho vào theo tỉ lệ 0,4 – 0,6% (tùy theo độ chua của rỉ đường)
- Cho chất sát trùng vào: fluosilicat natri (2‰ trong tổng số).

- Nguồn ni tơ theo tỷ lệ 1g $(NH_4)_2SO_4$ hoặc 0,4 – 0,5g ure trong 1 lít dịch lên men
- Sau đó khuấy trộn đều, để yên 1 – 4h.
- Ròi lọc loại tạp chất (chủ yếu là $CaSO_4$, keo tụ).
- Cho vào thùng chứa giữ ở nhiệt độ 85 – 90°C trong 1 giờ, với mục đích $CaSO_4$ kết tủa nhiều hơn, giúp cho hiệu suất lên men tăng khoảng 1%
- pH = 4,5 – 5 tương đương độ chua: 1 – 1,5 g H_2SO_4 / lít

2.3.4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến lên men rỉ đường:

Giống như tinh bột, chỉ khác là có sục khí 2 – 3m³ khí trong 1 m³ canh trường trong 1 giờ.

2.4. LÊN MEN DỊCH ĐƯỜNG:

Sau khi đường hóa, dịch đường được làm lạnh tới 28 – 32°C và được bơm vào thùng lên men (thùng ủ). Đường hexoza ($C_6H_{12}O_6$) dưới tác dụng của nấm men sẽ chuyển hóa thành rượu etylic, khí carbonic ($2C_2H_5OH + 2CO_2$) và tạo thành một ít glycerin, acid succinic và 1 số sản phẩm khác.

Sự lên men rượu là một quá trình sinh học có liên hệ mật thiết tới hoạt động của tế bào men. 1g men ướt (có độ ẩm khoảng 70 – 75%) chứa 14 tỷ tế bào.

2.4.1. Cơ chế lên men:

Đường và các chất dinh dưỡng được hấp thụ qua bề mặt tế bào rồi thẩm thấu vào bên trong. Tại đó các enzym sẽ tác dụng qua nhiều giai đoạn trung gian để tạo ra rượu và CO₂. Hai chất này khuếch tán và tan nhanh vào môi trường xung quanh. Rượu tan nhanh hơn CO₂. Lúc đầu hòa tan hoàn toàn, sau tạo thành bọt khí bám quanh tế bào. Khi bọt khí quanh tế bào lớn dần đến một lúc nào đó khiến tế bào và bọt khí nổi dần lên bề mặt, tới đây các bọt khí sẽ tan vỡ tạo thành tiếng rào rào (quen gọi là men ăn). Bọt khí tan, tế bào men lại chìm xuống; tiếp tục hấp thụ đường và các chất dinh dưỡng, lặp lại quá trình trên.

Khi đường và chất dinh dưỡng còn ít, các tế bào sẽ lắng xuống đáy thùng dịch lên men sẽ trong dần.

2.4.2. Môi trường dinh dưỡng:

Môi trường dinh dưỡng có nồng độ đường khoảng 15 –18% . Nếu ít hơn thì sẽ giảm năng suất của thiết bị, làm tổn thất rượu. Trong trường hợp nhiều hơn sẽ dẫn đến áp suất thẩm thấu tăng làm quá trình lên men kéo dài, còn sót đường lại. Sau khi lên men khoảng 95% đường sẽ chuyển hóa thành rượu và CO₂ ; 5% còn lại là đường sót và các sản phẩm khác.

Nhiệt độ lên men trong khoảng 28 – 32⁰C ; pH = 4,5 – 5,2 (tại nhà máy tính theo độ chua: 1 t⁰ chua = 2,45g H₂SO₄/l)

- Nếu nhiệt độ lên men cao hơn sẽ dẫn đến tạp khuẩn dễ phát triển do đó tạo nhiều ester và aldehyd
- Nếu nhiệt độ lên men thấp hơn thì nấm men sẽ phát triển chậm.

- Nếu pH cao sẽ làm cho tổn thất tăng nhanh

Hàm lượng Ni tơ khoảng 0,35 – 0,4 g/l với nguyên liệu sắn và với rỉ đường sẽ khoảng 0,15 – 0,2 g/l

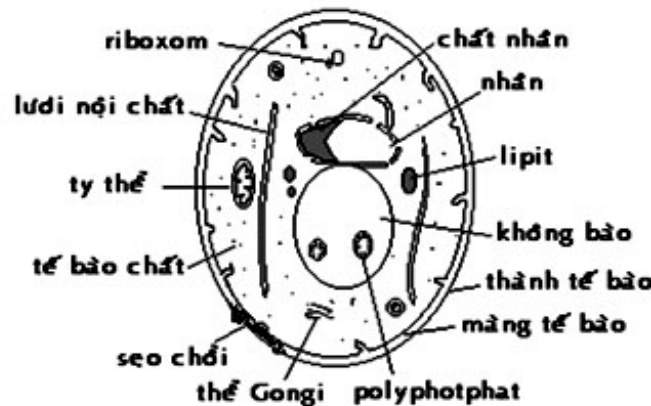
2.4.3. Cấu tạo của nấm men:

Thành phần của nấm men:

- H₂O : 75% - Chất khô: 25%
- Protid: 30 – 50% - Glucid : 24 – 40%
- Lipid : 2 – 5% - Khoáng : 5 – 11%
- Vit : B₁, B₂, Bionin

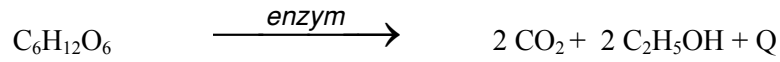
Loại nấm men thường dùng: *Saccharomyces*. Có hai loại:

- Nấm men nổi: thường dùng *Saccharomyces cerevisiae*
- Nấm men chìm: thường dùng *Saccharomyces carlsbergensis*



Cấu tạo tế bào nấm men

2.4.4 Cơ chế sinh học (chu trình phân giải tinh bột)



- Sản phẩm phụ: acid acetic, acid lactic, acid citric, acid succinic; alcol cao phân tử (0,4 – 0,5%) bao gồm: propanol, isobulatanol, isoamylic, có mùi hôi, khó chịu (tên chung là dầu fusel)
- Nguyên liệu tinh bột tạo nhiều dầu fusel hơn ri đường. Lượng dầu fusel hình thành phụ thuộc vào, t^0 , pH, lượng khí sục vào, giống men, nguyên liệu.

2.4.5. Các vi khuẩn có hại cho nấm men

- Vi khuẩn lactic có tác dụng lên men đường thành acid lactic, ancal, CO_2 , diacetyl, acetone
- Vi khuẩn acetic lên men rượu thành acid acetic. Đây là loại vi khuẩn hiếu khí, rất có hại cho quá trình sản xuất.
- Vi khuẩn butyric và một số loại khác: điều kiện lên men cồn không thích hợp lắm với sự phát triển của chúng.

2.4.6. Nuôi cấy nấm men giống

2.4.6.1. Nhân giống trong phòng thí nghiệm

Môi trường: gồm nước và malt đại mạch nghiền nhỏ theo tỷ lệ 5:1

- Giai đoạn 1: $t^0 = 48 - 53^0C$. Thời gian = 20 –30'. Chuyển hóa protein thành aminoacid dưới tác dụng của proteaza

- Giai đoạn 2: $t^0 = 60 - 62^{\circ}\text{C}$. Thời gian = 30'. Dưới tác dụng của amylaza, tinh bột được chuyển hóa thành đường
- Giai đoạn 3: $t^0 = 70 - 72^{\circ}\text{C}$ quá trình đường hóa xảy ra hoàn toàn

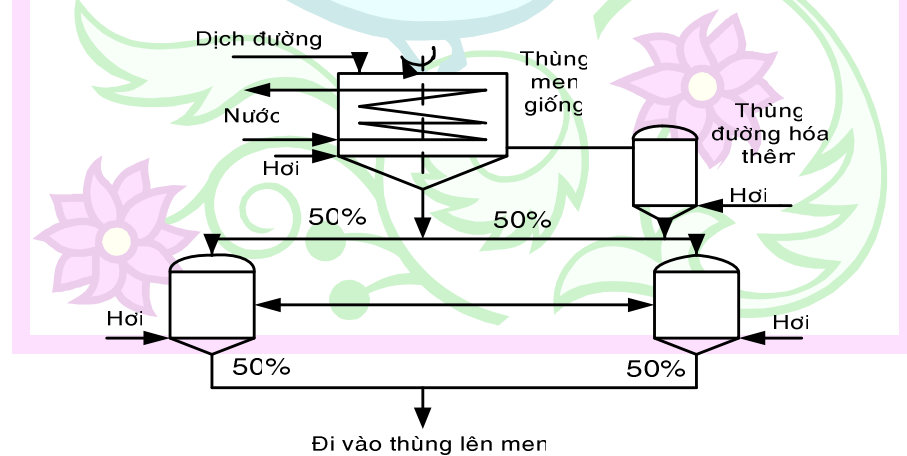
Sau đó lọc qua vải. Rồi dùng acid sulfuric 13 – 16% điều chỉnh pH đến 4,5 – 5,0. Phân phối vào ống nghiệm (10ml), erlen 250 (90ml), bình cầu 2000 (900ml). Thanh trùng ở áp suất thêm 0,5 – 0,7 kg/cm² trong 30'

2.4.6.2. Nhân giống trong sản xuất:

Dịch đường từ thùng đường hóa chuyển qua có hàm lượng 60g đường/l, dịch đường này sẽ được dùng làm môi trường nhân giống vi sinh vật trong sản xuất công nghiệp.

Nhân giống trong sản xuất có thể theo phương pháp gián đoạn, bán liên tục, liên tục

Hệ thống bán liên tục được sử dụng nhiều nhất:



Hình: Sơ đồ nuôi cấy men giống bán liên tục

Chất lượng men giống đạt yêu cầu:

- Số tế bào trong 1ml: 100 – 120 triệu
- Số tế bào nảy chồi: 10 – 15%
- Số tế bào chết <5%
- Độ chua: pH = 4
- Mức độ nhiễm khuẩn ≤1

Quy trình nuôi cấy theo các bước như sau:

1. Dịch đường hóa được cho vào thùng đường hóa thêm, rồi được duy trì đường hóa tiếp khoảng 1,5 – 2 giờ.
2. Sau đó dùng H₂SO₄ điều chỉnh pH đến 4,0 – 3,8, rồi thanh trùng trong 1 giờ ở nhiệt độ 85 – 86⁰C bằng hơi nước.
3. Làm lạnh dịch xuống 30⁰C rồi đưa xuống hai thùng nhân giống nấm men. Cùng lúc đó nấm men từ thùng men giống cũng được tháo xuống hai thùng này. Lượng dịch đường và nấm men chiếm khoảng 40 – 50% thể tích mỗi thùng. Tại đây nấm men sẽ phát triển gián đoạn trong 15 – 18 giờ.
4. Trong quá trình phát triển, nhiệt độ được điều chỉnh bằng cách dội nước lạnh ở bên ngoài thùng..
5. Song song với việc nấm men phát triển trong thùng nhân giống nấm men, tại thùng đường hóa thêm người ta tiếp tục cho dịch đường hóa vào và xử lý như trên (bước 1).

6. Sau 15 – 18 giờ, cho dịch đường ở thùng đường hóa thêm xuống thùng nhân giống nấm men. Rồi trộn đều.
7. Để nấm men phát triển thêm trong vòng 5 – 8 giờ. Rồi tháo 50% lượng men ở hai thùng nhân giống nấm men vào thùng lên men.

8. Song song với bước 4, lại cho dịch đường vào thùng đường hóa thêm và tiến hành như bước 1.

Và cứ thế tiếp tục. Sau mỗi chu kỳ phải làm vệ sinh sạch thiết bị.

2.4.7. Tiến hành lên men:

2.4.7.1. Lên men gián đoạn:

Quá trình lên men này diễn ra trong một thùng

Thùng lên men có tính chất chung như sau:

- Thể tích : 10 m³ – 200 m³
- Độ dày: 3 – 10 ly
- Có hệ thống ruột gà làm sạch
- Có nhiệt kế, ống thoát CO₂

Quy trình lên men:

- Vệ sinh thùng, ống dẫn, van.
- Thanh trùng bằng hơi nước ở nhiệt độ 95 – 100⁰C trong 50 – 60 phút.
- Sau đó làm lạnh đến 30⁰C

- Lúc này men giống và dịch đường được đổ song song vào.
- Thời gian cho vào khoảng 6–8h thì đầy thùng. Nhiệt độ lên men nhỏ hơn 33°C

- Quá trình lên men về cuối có nhiệt độ phải là 28°C

Quy trình lên men này có ưu điểm là dễ xử lý khi bị nhiễm, tuy nhiên năng suất thấp.

Thời gian lên men:

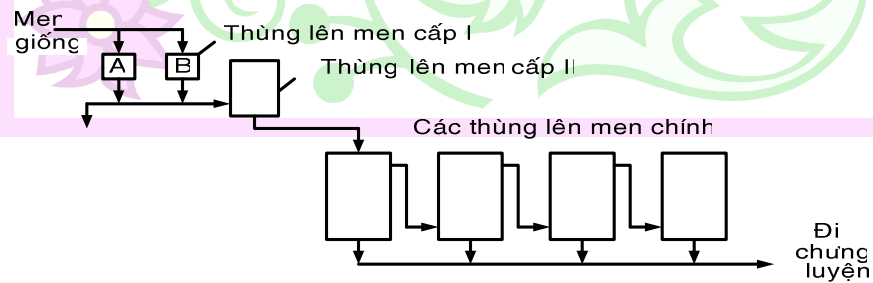
- Tinh bột : 3 ngày
- Ri đường : 2 ngày

Kiểm tra chất lượng: Cứ 8 h lấy mẫu 1 lần

- Đo độ Brix để đảm bảo lượng đường sót ít nhất.
- Độ chua phải nhỏ hơn 0,8g H₂SO₄/l so với dịch lên men
- Độ lên men còn lại càng thấp càng tốt
- Độ cồn: 6 – 9,5% V

2.4.7.2. Lên men liên tục

Quá trình lên men liên tục được biểu hiện theo sơ đồ dưới đây



Hình: Sơ đồ lên men liên tục

- Lên men cấp 1 (2 thùng) → Lên men cấp 2 → Lên men chính từ 8 – 10 thùng
- Thùng lên men cấp I có dung tích bằng 25 – 30% so với thùng lên men cấp II.

- Thùng lên men cấp II có dung tích bằng 30 – 60% so với thùng lên men chính.
- Các thùng lên men cấp I được đặt phía trên thùng cấp II để tự chảy.
- Thùng lên men cấp II được đặt cao hơn thùng lên men chính (ít nhất là 1m), do quá trình lên men chính xảy ra mạnh, lượng bọt nhiều.

Dưới đây là quy trình lên men:

- Giai đoạn 1:
 - + Chuẩn bị men giống tại 2 thùng lên men cấp 1 (thùng A và B) trong 3 – 4 giờ.
 - + Khi đạt yêu cầu tháo giống ở thùng A xuống thùng cấp 2.
 - + Lúc này vệ sinh thùng A (thanh trùng, tẩy acid (1,8 – 2,4g H₂SO₄ trong lít nước), làm lạnh)
 - + Tiếp tục lên men ở thùng A bằng cách lấy 25 – 30% men giống tại thùng B trộn tiếp với dịch đường.
 - + Lượng men từ thùng B còn lại được cho xuống thùng cấp 2.
 - + Lúc này vệ sinh thùng B (thanh trùng, tẩy acid (1,8 – 2,4g H₂SO₄ trong lít nước), làm lạnh)

- + Tiếp tục lên men ở thùng B bằng cách lấy 25 – 30% men giống tại thùng A trộn tiếp với dịch đường.
- + Lượng men từ thùng A còn lại được cho xuống thùng cấp 2

+ Lặp lại quy trình.

Giai đoạn 2:

- + Tại thùng lên men cấp 2: cho đầy dịch đường, acid hóa (1 – 1,25g/l) để lên men được 5 – 6% (độ lên men).
- + Sau đó được tháo xuống thùng lên men chính.

Giai đoạn 3:

- + Tại thùng lên men chính thứ nhất, khi trào đầy sẽ tràn sang thùng thứ 2, cứ thế tiếp tục
- + Các thùng lên men chính được sử dụng luân phiên nhau để có thể làm vệ sinh (24 – 30h/lần)
- + Số tế bào ở thùng lên men chính được khống chế nằm trong khoảng 100 – 120 triệu/ ml
- + Thùng lên men chính thứ nhất giữ ở nhiệt độ 25 – 27⁰C
- + Thùng lên men chính thứ 2 và 3 giữ ở nhiệt độ 27 – 30⁰C
- + Các thùng lên men chính còn lại giữ ở nhiệt độ 27 – 28⁰C

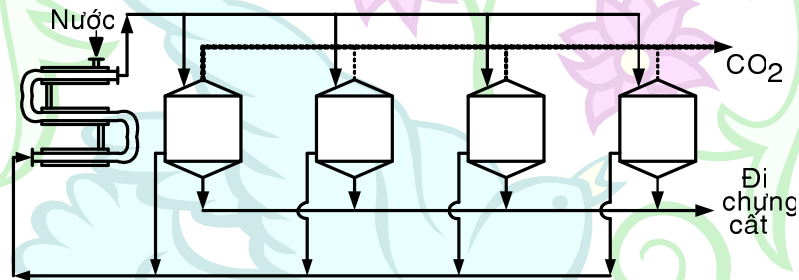
Quy trình này kết thúc sau 60 – 62 h

2.4.7.3. Lên men cải tiến – bán liên tục

Nhiệt độ môi trường: 35 – 37°C (max: 40°C). Thông thường chỉ tưới nước lạnh để làm mát

Cải tiến:

- Đặt thêm thiết bị truyền nhiệt kiểu ống lồng ống còn lại quá trình lên men được tiến hành như lên men gián đoạn.



- Điểm khác biệt: Khi giai đoạn lên men chính tỏa nhiệt nhiều → ta mở các van cho dịch chảy qua thiết bị làm sạch và cho chảy ngược vào thùng. Thao tác được kéo dài cho đến khi chất lượng dịch đạt yêu cầu.

2.4.8. Vệ sinh:

Các dung dịch thường sử dụng để làm vệ sinh thiết bị: Formalin; Clorua vôi; Fluosilicat natri 1 – 2‰; Ngoài ra cần thanh trùng bằng hơi nước (100°C, 30'), lượng hơi sử dụng khoảng 10 – 12kg/m³/thùng

Nếu không có điều kiện dùng hơi có thể đốt lưu huỳnh với hàm lượng 10g/m³/ thùng. Khi đốt cần đậy kín thiết bị.