

## **QUÁ TRÌNH VÀ THIẾT BỊ LÊN MEN CÔNG NGHIỆP**

### **Phân lêmen men bia:**

Câu 1: Khái niệm lêmen men bia. thành phần nguyên liệu và yêu cầu nguyên liệu?

#### **Trả lời:**

- Lêmen là quá trình biến đổi của nguyên liệu dưới tác động của vi sinh vật để tạo ra sản phẩm
- Lêmen bia: là sự biến đổi đường trong malt đại mạch dưới tác dụng của nấm men tạo ra bia và sản phẩm phụ
- Nguyên liệu: Malt đại mạch, hoa bia, men bia, nước
- Yêu cầu nguyên liệu:
  - Nước chiếm 90 -95% khối lượng bia
  - Malt đại mạch: nguồn cung cấp đường, protein, chất béo, các loại vitamin cho sản xuất bia
    - Tinh bột trong Malt bị thủy phân ( hệ enzyme amylase) thành đường lêmen được Nấm men sử dụng đường →  $\text{CO}_2 + \text{cồn}$
  - Hoa bia: Hoa houblon nguyên liệu cơ bản sau Malt (chỉ sử dụng hoa cái chưa thụ phấn) làm tăng khả năng tạo và giữ bọt, làm tăng độ bền keo và ổn định thành phần sinh học thực phẩm
  - Nấm men: chuyển hóa các hợp chất lêmen được trong dịch sau nấu thành cồn

Câu 2: Mục đích của lêmen men bia?

#### **Trả lời:**

Nhờ tác động của các enzyme trong nấm men chuyển các chất trong dịch lêmen thành rượu,  $\text{CO}_2$  cùng những sản phẩm khác góp phần tạo nên mùi vị đặc trưng cho bia

Câu 3: Các quá trình biến đổi trong quá trình lêmen men bia?

#### **Trả lời:**

##### **Biến đổi trong lêmen men bia:**

- Biến đổi sinh lý: Trong thời kỳ đầu của lêmen men chính xảy ra đồng thời sự sinh sản của nấm men và sự lêmen men. Có sự sinh tổng hợp lượng lớn enzyme zimaza trong tế bào nấm men
- Biến đổi sinh hóa: là quá trình cơ bản trong lêmen men để hình thành nên các sản phẩm chính và phụ của bia

Phần lớn chất chiết trong dịch lêmen men là hydrocacbon cụ thể là đường lêmen men được:

+ maltose 38 -50%

Mantotriose 11-19%

Glucose 3-8%

Saccharose 2-6%

Fructose 1-3%

Phần không lên men được là dextrin bậc cao, protein, chất khoáng

- Biến đổi hóa lý:

+ Có sự thay đổi lớn về độ chua do tạo thành CO<sub>2</sub> và các acid hữu cơ

+ Thé oxi hóa khử bị biến đổi đáng kể do hàm lượng oxi giảm dần và tạo thành chất khử. Cường độ màu giảm do polyphenol dễ bị oxy hóa khử và sau đó bị kết lỏng

+ Sự tạo bọt: CO<sub>2</sub> sinh ra sẽ được hòa tan vào bia. Khi lượng CO<sub>2</sub> tạo ra nhiều và được thoát ra ngoài dưới dạng bong bóng nhỏ li ti. Từ đó hình thành lớp căng bề mặt mà nhờ đó CO<sub>2</sub> không thoát ra ngoài và liên kết với nhau tạo bọt

+ Sự kết màng của tế bào nấm men: xảy ra trong suốt quá trình lên men chính. Khi kết tủa, các tế bào nấm men sẽ kéo theo làm bia trong hơn

+ Hệ enzyme: aldolaza, cacboxylaza, triozophosphatede hydrogenaza, phosphoglyceromutaza, enolaza

Câu 4: Các giai đoạn lên men bia?

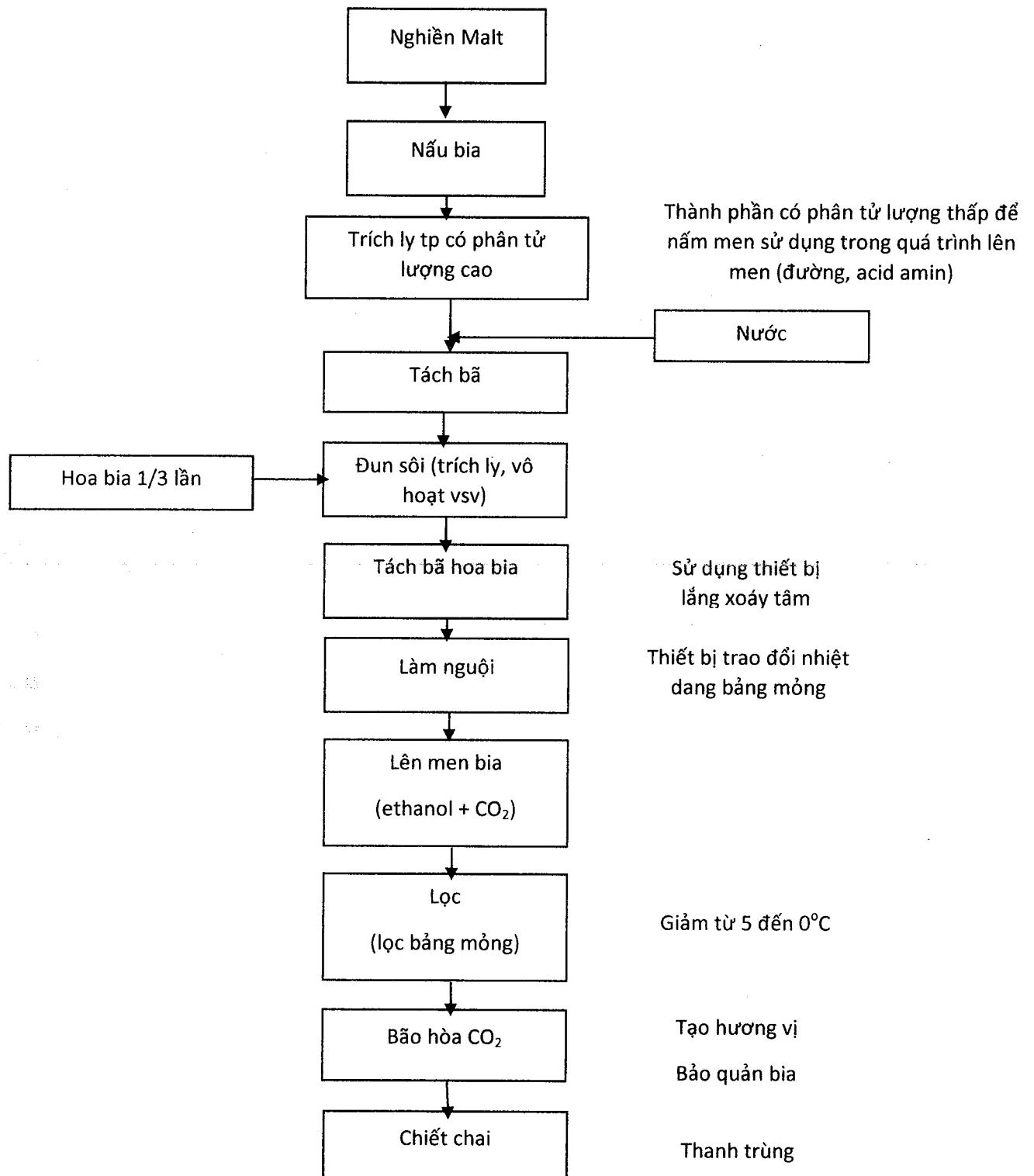
**Trả lời:** Gồm 2 giai đoạn lên men chính và lên men phụ

Lên men chính: là giai đoạn đặc trưng bằng tốc độ lên men cao có sự thay đổi nhanh chóng thành phần hóa học dịch lên men, tạo nhiều rượu etylic và CO<sub>2</sub>, nhiệt độ cao hơn lên men phụ (10-25°C)

Lên men phụ: Chủ yếu làm ổn định bia, bao hòa CO<sub>2</sub>, tạo hương vị thơm ngon cho bia. Giai đoạn này được tiến hành ở 0-5°C. Tốc độ lên men thay đổi thành phần hóa học không cao như lên men chính. Tiến hành trong thiết bị kín

Câu 5: Quy trình lên men bia tổng quát?

**Trả lời:**



Câu 7: Các sản phẩm của quá trình lên men bia?

**Trả lời:**



Sản phẩm phụ

Glycerin

Rượu bậc cao

Acid hữu cơ

Ester

Aldehyde

Acetol

Hydro sulfua

Diacetyl

Mercaptan

**Phần câu hỏi các buổi:**

**Buổi 1:**

Câu 1: Thực phẩm: khái niệm, chức năng và cho ví dụ về các chức năng của thực phẩm? Mục đích lên men thực phẩm?

**Trả lời:**

- Thực phẩm là tất cả các vật chất ăn được nhằm nuôi dưỡng cơ thể. Thực phẩm có thể ở dạng rắn hoặc lỏng
- Chức năng của thực phẩm:
  - Sinh lý: cung cấp năng lượng, tăng trưởng và phát triển, duy trì, điều hòa, bảo vệ
  - Tâm lý: Thực phẩm thể hiện cảm xúc, tình cảm
  - Xã hội: Thực phẩm mang ý nghĩa xã hội

Ví dụ:

- Cung cấp năng lượng cho cơ thể, các cơ quan của cơ thể
- Kiểm soát thân nhiệt, việc bài tiết, điều hòa
- Mục đích lên men thực phẩm là chuyển hóa cơ chất trong môi trường dinh dưỡng thành các sản phẩm cần thiết nhò vi sinh vật

Câu 2: Vi sinh vật (VSV): khái niệm, phân loại vi sinh vật và cho biết đặc điểm của mỗi loại? Khuẩn lạc là gì?

**Trả lời:**

- VSV là những sinh vật đơn bào hoặc đa bào, nhân sơ hoặc nhân thực có kích thước rất nhỏ, không quan sát được bằng mắt thường mà phải sử dụng kính hiển vi
- Phân loại và đặc điểm từng loại:

- Siêu vi trùng (virus): kích thước khoảng 20nm đến 200nm. Không có cấu tạo tế bào. Có đời sống ký sinh bắt buộc. Chỉ có RNA hoặc DNA mà không có cả hai. Không có hệ giải mã và dịch mã
  - Vi khuẩn: Sinh vật đơn bào, có kích thước nhỏ. Có cấu tạo tế bào nhưng chưa có nhân chuẩn. Chỉ sinh sản vô tính
  - Vi nấm (nấm men và nấm mốc): có kích thước nhỏ, có cấu tạo nhân điền hình, cấu trúc đơn bào và cấu trúc đa bào. Hình thức sinh sản vô tính và hữu tính
  - Vi tảo: Kích thước hiển vi, cơ thể đơn bào hoặc đa bào. Tế bào có roi hoặc không có roi. Tế bào nhân chuẩn, thành cellulose dạng sợi mảnh. Lục lạp có sắc tố quang hợp, có khả năng tự dưỡng, phân bố rộng sống trôi nổi trong nước. Sinh sản vô tính hoặc hữu tính
  - Nguyên sinh động vật: Kích thước 0,01-0,05mm, là sinh vật đơn bào, dinh dưỡng bằng hình thức dị dưỡng. Thực hiện đầy đủ hoạt động sống như cơ thể đa bào
- Khuẩn lạc: một cụm sinh khối của vi khuẩn phát triển trên bề mặt của một giá thể cứng mà chúng ta có thể nhìn thấy được

Câu 3: Hãy vẽ hình cấu trúc tế bào vi khuẩn. vi khuẩn ( $G^-$  và  $G^+$ )? Hãy trình bày quy trình nhuộm Gram?

#### **Trả lời:**

Hình tự vẽ

Quy trình nhuộm Gram:

B1: Làm tiêu bản, hơ khô trên lửa đèn cồn

B2: Nhuộm bằng Crystal Violet để 1 phút

B3: Rửa lại bằng nước, rửa nhanh

B4: Nhuộm Lugol (1%Iot, 5%KI)

B5: Rửa nhanh bằng cồn

B6: Nhỏ thuốc nhuộm Fuchsin 1 phút

B7: Tẩy nhanh 30s

KQ: Gram +: màu tím hoặc xanh đậm

Gram -: màu hồng

Câu 4: Hãy trình bày đặc điểm chung của VSV? Vai trò của VSV trong tự nhiên và trong CNTP?

#### **Trả lời:**

- Đặc điểm chung của VSV:
  - Kích thước nhỏ bé
  - Hấp thụ nhiều, chuyển hóa nhanh
  - Sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh
  - Năng lực thích ứng mạnh, dễ phát sinh biến dị
  - Phân bố rộng, chủng loại nhiều
- Vai trò của VSV:
  - Trong tự nhiên: phân giải xác hữu cơ, tạo chất mùn, sản xuất năng lượng sinh học
  - Trong thực phẩm: Các sản phẩm lên men, sản phẩm trao đổi chất

Câu 5: Nấm men: hình thái, cấu tạo? Sản phẩm của nấm men? Vai trò của nấm men trong CNTP?

#### **Trả lời:**

- Hình thái: có nhiều hình dạng khác nhau: tròn, oval, hình quả chanh, hình chùy, hình thoi, hình lưỡi liềm,... Kích thước tế bào nấm men thay đổi tùy thuộc vào từng giống, loài, môi trường nuôi cấy, thường khoảng  $(3-5) \times (5-10) \mu\text{m}$
- Cấu tạo: vách tế bào, màng tế bào chất, chất tế bào, nhân tế bào
- Sản phẩm:
  - Sản phẩm vô tính thông qua mọc chồi
  - Sản phẩm hữu tính thông qua sự hình thành nang bào tử
- Vai trò: Sử dụng rộng rãi trong công nghiệp lên men để sản xuất cồn, rượu bia, rượu vang, men bánh mì, men thức ăn chăn nuôi, đồ uống,... phối hợp với nhiều vi sinh khác để tạo hương cho sản phẩm là thực phẩm, dược phẩm

Câu 6: Cơ chất là gì? Sinh khối là gì?

#### **Trả lời:**

- Cơ chất là chất tham gia phản ứng được enzyme xúc tác
- Sinh khối là tổng trọng lượng của sinh vật sống trong sinh quyển và số lượng sinh vật sống trong một đơn vị diện tích, thể tích vùng

Câu 7: Enzyme vi sinh vật và công nghệ lên men: Định nghĩa? Phân loại? Tính chất của enzyme? Những yếu tố ảnh hưởng tới hoạt lực của enzyme? Enzyme trong sản xuất lên men?

#### **Trả lời:**

- Enzyme VSV là những chất xúc tác sinh học có bản chất là những protein tự nhiên do các tế bào sống sản sinh ra, nhưng hoạt động của enzyme lại không phụ thuộc vào tế bào

- Công nghệ lên men là các quá trình sản xuất nhờ vi sinh vật hoặc là cơ sở của công nghệ vi sinh vật
- Phân loại enzyme:
  - Enzyme oxy hóa – khử
  - Traferaza
  - Hydrolaza
  - Lyaza
  - Izomenaza
  - Ligaza
- Tính chất của enzyme
  - T/d thuận nghịch của enzyme
  - Tính đặc hiệu của enzyme
  - Hoạt lực xúc tác của enzyme
- Yếu tố ảnh hưởng đến hoạt lực của enzyme
  - Nồng độ enzyme và nồng độ cơ chất
  - Chất kìm hãm
    - + Chất ức chế cạnh tranh
    - + Chất ức chế không cạnh tranh
  - Nhiệt độ
  - pH

Câu 8: Tính đặc hiệu của enzyme? Ứng dụng của enzyme trong CNTP?

**Trả lời:**

- Tính đặc hiệu của enzyme: Mỗi enzyme có tính đặc hiệu riêng: nó chỉ tác dụng đến một chất hoàn toàn xác định hoặc trên một mối liên kết hóa học nhất định trong phân tử
- Ứng dụng của enzyme trong CNTP: không thể thiếu trong công nghiệp thịt, chế biến cá, chế biến sữa, bánh mì, bánh kẹo, công nghiệp bia, rượu,...

**Buổi 2:**

Câu 1: Hãy trình bày khái niệm về lên men và công nghệ lên men?

**Trả lời:**

- Lên men là quá trình nuôi cấy VSV để tạo ra sinh khối hoặc thúc đẩy VSV tạo ra sản phẩm trao đổi chất
- Công nghệ lên men: là một thành phần của công nghệ sinh học, trong đó những tác nhân sinh học được sử dụng là các VSV. Như vậy ta có thể xem lên men là sự biến đổi của nguyên liệu dưới tác động của VSV

Câu 2: Hãy trình bày ngắn gọn lịch sử lên men?

**Trả lời:**

- Khoảng 9500 năm TCN rượu lên men làm từ ngũ cốc được làm ra tại vùng Fertile Crescent
- Khoảng 7000 năm TCN rượu vang bắt đầu được sản xuất
- Khoảng 5000 năm TCN người Ai Cập biết sản xuất bia từ nấm men
- Khoảng 3500 năm TCN lên men sữa sản xuất sữa chua xuất hiện ở Babylon
- Khoảng 3000 năm TCN sử dụng nấm men để lên men bột nhào. Người Ai Cập bắt đầu sử dụng giấm
- Khoảng 200 năm TCN và đến năm 200 nhiều sản phẩm lên men ra đời
- Năm 1836, Theodore Schawnn khám phá ra nguyên nhân lên men rượu là nấm đường (*Saccharomyces*)
- Năm 1854, Louis Pasteur tìm ra mối liên hệ giữa lên men và nấm men, kỹ thuật xử lý nhiệt: Thanh trùng
- Năm 1897, Edward Buchner khám phá ra nguyên nhân sâu xa hơn của sự lên men; enzyme chuyển hóa đường thành rượu
- Năm 1917, James Curries khám phá ra một số chủng nấm mốc *Aspergillus niger* có khả năng sinh acid citric rất tốt
- Năm 1919 thuật ngữ “biotechnology” được sử dụng bởi Kanoly Ereky
- Năm 1928, Alexander Fleming khám phá ra chất tiết ra từ nấm mốc *Penicillium* có khả năng tiêu diệt một số VSV gây bệnh
- Năm 1940, penicilin chất kháng sinh đầu tiên được sản xuất
- Năm 1957, bột ngọt Ajinomoto đưa vào sản xuất bằng phương pháp lên men
- Từ những năm 1960, tạo ra những VSV có tính chất công nghệ tốt, kỹ thuật lên men càng phát triển mạnh, ứng dụng lên men được mở rộng

Câu 3: Hãy vẽ sơ đồ và diễn giải quy trình tổng quát của lên men?

**Trả lời:**

Sơ đồ: sách trang 6

Điễn giải:

- Chuẩn bị trước lên men (Upstream): gồm 2 nhóm công đoạn: chuẩn bị nguyên liệu và chuẩn bị vi sinh vật
  - Đối với nguyên liệu thô, ta cần phải làm sạch, nghiền nhỏ, chuyển thành dạng dung dịch. Nếu nguyên liệu đã được tinh chế ở dạng rắn, ta cần chuyển sang dạng dung dịch. Nếu có yêu cầu khắt khe, ta còn cần phải tiệt trùng nguyên liệu
  - Đối với VSV, ta cần phải chuẩn bị lượng phù hợp với thể tích làm việc của thiết bị lên men. Điều này gồm nhân giống qua một số bước. Các bước đầu tiên được

thực hiện trong phòng thí nghiệm. Bước cuối cùng có thể phải thực hiện tại các thiết bị lén men cỡ nhỏ (pilot)

- Lén men thực hiện trên một thiết bị lén men chuyên dụng.
- Xử lý sau lén men (Downstream): Sau khi kết thúc quá trình lén men, ta thu nhận được dịch lén men. Dịch này sẽ được tiếp tục xử lý qua một số công đoạn như:
  - Lọc: để loại tạp chất không tan
  - Chuyển về dạng phù hợp (thí dụ chuyển từ dạng acid về dạng muối)
  - Tinh chế: loại các tạp chất tan trong dịch lén men
  - Kết tinh: chuyển sản phẩm từ dạng tan sang dạng không tan
  - Ly tâm: tách riêng sản phẩm (ở dạng rắn) khỏi dịch lén men
  - Sấy: tách bớt nước có trong sản phẩm
  - Trích ly, chưng cất, ...

Câu 4: Hãy phân tích một số đặc điểm của lén men?

**Trả lời:**

- Biến đổi cơ chất do tác động của các enzyme do VSV tạo ra. Thế mà VSV thường không tạo ra một enzyme mà nhiều enzyme khác nhau. Do đó sản phẩm của quá trình lén men gồm nhiều thành phần, bên cạnh thành phần chính còn có một số thành phần phụ. Điều này làm cho mỗi một sản phẩm lén men sẽ có những nét đặc trưng khác nhau
- Nếu trong dịch lén men tồn tại nhiều pha, thí dụ như lỏng-khí, thì VSV thường hoạt động ở bề mặt giao tiếp giữa các pha. Như vậy việc làm gia tăng diện tích tiếp xúc giữa các pha là một yêu cầu quan trọng
- Nồng độ cơ chất và sản phẩm trong thiết bị lén men thường không cao. Một trong các lý do quan trọng là nồng độ cao của các chất này có thể ức chế quá trình lén men. Một lý do khác là nồng độ tối ưu của cơ chất và sản phẩm cho sự hoạt động của VSV thường trong một khoảng tương đối hẹp
- VSV cũng có thể điều chỉnh (trong một phạm vi nhất định) các tiến trình bên trong cơ thể mình để đáp ứng với môi trường bên ngoài. Một mặt, quá trình lén men có tính linh hoạt để đáp ứng với một số biến động của môi trường lén men, nhưng mặt khác, môi trường lén men có thể có những tác động đáng kể đến sản phẩm thu được
- Các chủng VSV dùng trong công nghiệp lén men thường khá nhạy cảm với môi trường (pH, nhiệt độ, lượng oxy, ...). Do đó việc duy trì môi trường và điều kiện lén men tối ưu là công việc rất quan trọng
- Sự thoái hóa của VSV: sau khi hoạt động một thời gian, tính chất của VSV bị thay đổi theo chiều hướng xấu đi, năng suất chất lượng của sản phẩm bị giảm đi. Nếu sử dụng các phương pháp lén men liên tục thì thời gian hoạt động liên tục cũng bị hạn chế, không thể dài như nhiều ngành công nghiệp khác

Câu 5: Hãy phân loại các kỹ thuật lên men?

**Trả lời:**

Ta có thể phân loại các kỹ thuật lên men theo một số cách dựa vào các tiêu chí sau:

- Dựa vào loại VSV dùng để lên men, ta có thể lên men bằng vi khuẩn, bằng nấm men hay bằng nấm mốc. Cũng có khi người ta sử dụng phối hợp hai loại VSV hay thậm chí nhiều hơn nữa
- Tùy theo vai trò của oxy khi lên men, ta có thể lên men hiếu khí và lên men kỵ khí. Tuy vậy cũng có trường hợp, trong quá trình lên men, có giai đoạn hiếu khí và cũng có giai đoạn kỵ khí
- Dựa vào tính liên tục của quá trình lên men: ta có thể tiến hành lên men từng mẻ hoặc liên tục. Một dạng lên men liên tục đặc biệt là cơ chất không được bổ sung một cách liên tục mà được đưa vào môi trường lên men theo từng đợt (fed-batch)
- Sản phẩm chính thu được từ quá trình lên men có thể là sinh khối của VSV (như nấm men), có thể là sản phẩm của quá trình trao đổi chất của VSV (etanol), cũng có thể là sự chuyển hóa của nguyên liệu ban đầu (steroid, xử lý nước thải)

Câu 6: Hãy trình bày các yêu cầu cho quá trình lên men và ứng dụng của lên men nhất là trong ngành CNTP?

**Trả lời:**

- Yêu cầu của quá trình lên men:
  - Chủng VSV dùng trong lên men phải có hoạt tính mạnh, ổn định. Thông thường đó là các VSV đã được tuyển chọn, thuần hóa và cải biến để phù hợp với điều kiện sản xuất
  - VSV cần được cung cấp đầy đủ các dưỡng chất cho sự sinh sản, phát triển và hoạt động. Các dưỡng chất này gồm các nguồn cung cấp carbon, nito, vitamin, khoáng cũng như các nguyên tố vi lượng khác
  - Môi trường lên men cần được duy trì thường xuyên ở điều kiện tối ưu. Các thông số như nhiệt độ, áp suất, pH, lượng oxy phải được thường xuyên theo dõi và không chế ở giá trị tối ưu
  - Cần phải có những biện pháp để có sự đồng nhất trong toàn bộ môi trường lên men. Điều này đặc biệt quan trọng khi thùng lên men có kích thước lướn, các thành phần của môi trường lên men có khối lượng riêng chênh lệch đáng kể
  - Cần hạn chế sự nhiễm tạp đến mức thấp nhất. Môi trường lên men, thùng lên men, các thiết bị phụ trợ, không khí cần được tiệt trùng một cách nghiêm ngặt
- Ứng dụng trong ngành CNTP  
Thực phẩm được xem là ứng dụng truyền thống của lên men. Với phương pháp này ta có thể tạo ra nhiều loại thực phẩm khác nhau. Các nhóm sản phẩm chính là:

- Thức uống có alcol như rượu, bia
- Các sản phẩm sữa: Sữa chua, phô mai
- Các sản phẩm từ đậu nành: tương, chao, tempeh, miso, nước tương
- Các sản phẩm rau: rau muối chua, kimchi
- Các sản phẩm từ thịt, cá: nem, salami, nước mắm
- Chế biến trà, cacao

### Buổi 3:

Câu 1: Hãy trình bày các nhóm thiết bị lên men trong quy trình lên men?

#### Trả lời:

- Nhóm các trang thiết bị chuẩn bị
  - Các trang thiết bị chuẩn bị nguyên liệu: dùng để chuyển đổi các nguyên liệu thô mua ngoài thị trường thành cơ chất và dưỡng chất, có các tính chất thích hợp cho quá trình lên men như kích thước, độ tinh khiết, độ nhót, nồng độ. Nhóm này gồm các trang thiết bị làm sạch (loại tạp chất, rửa), làm nhỏ (cắt, nghiền), phân loại (sàng), khuấy trộn, xử lý nhiệt (thanh trùng, tiệt trùng)
  - Các trang thiết bị chuẩn bị vi sinh vật: dùng để nuôi cây, nhân giống vi sinh vật cho đến khi đạt số lượng cần thiết cho quá trình lên men. Việc nhân giống thường gồm một số bước, các bước đầu thường dùng trang thiết bị phòng thí nghiệm như các dụng cụ thủy tinh cỡ nhỏ hay vừa, máy khuấy từ, máy lắc. Các bước sau có thể thực hiện ở các thiết bị lên men cỡ nhỏ hoặc cỡ pilot
  - Các trang thiết bị chuẩn bị cho thiết bị lên men như làm sạch, tiệt trùng. Hiện nay, người ta có xu hướng tích hợp các trang bị này thành một bộ phận của thiết bị lên men, thí dụ CIP (clean in place) hay SIP (sterilization in place)
- Thiết bị lên men
 

Dùng để chuyển cơ chất và dưỡng chất thành thành phẩm hay bán thành phẩm
- Nhóm các trang thiết bị xử lý sau lên men:
  - Các trang thiết bị dùng để loại bỏ các tạp chất dạng thô như lăng, lọc, ly tâm
  - Các trang thiết bị dùng để tinh luyện sản phẩm như cô đặc, kết tinh, sấy, chưng cất

Phần lớn các trang thiết bị của nhóm này tương tự như các trang thiết bị có cùng chức năng của cá ngành công nghiệp khác như thực phẩm hay hóa chất

Câu 2: Hãy trình bày cấu tạo chung (vẽ hình, chú thích, nguyên tắc hoạt động) của thiết bị lên men?

#### Trả lời:

## Hình vẽ trang 31

Chú thích:

- 1: đưa canh trường vào thùng
- 2: đưa dưỡng chất và cơ chất vào thùng
- 3: đưa dịch lên men ra khỏi thùng
- 4: đưa khí vào thùng
- 5: đưa khí ra khỏi thùng
- 6: đưa dung dịch acid hay kiềm vào thùng để điều chỉnh pH cho môi trường lên men
- 7: đưa nước hay hơi nước vào và ra thùng để gia nhiệt, làm lạnh hay điều hòa nhiệt độ cho môi trường lên men
- 8: đưa hơi nước vào thùng để thanh trùng hay tiệt trùng rồi sau đó dẫn nước ngưng ra khỏi thùng. Thông thường các đường ống này được nối với hệ thống CIP hay SIP
- 9: dùng để lấy mẫu để theo dõi hay kiểm tra. Mẫu này có thể được đưa trở lại thùng lên men hay không
- KT: xác định thành phần khí thoát khỏi thùng
- N: đo vận tốc quay của cánh khuấy
- V: đo mức của dịch lên men, qua đó ta có thể xác định được thể tích của dịch lên men
- X: đo hàm lượng sinh khối khô
- T: đo nhiệt độ môi trường lên men
- pH: đo pH của dịch lên men
- Oxy: đo hàm lượng Oxy hòa tan trong dịch lên men
- LL: đo lưu lượng dòng khí vào thùng

Câu 3: Hãy trình bày phân loại và yêu cầu của thiết bị lên men?

Trả lời:

- Phân loại thiết bị lên men: thiết bị lên men có 3 loại chính
  - Không khuấy trộn, không xục khí
  - Không khuấy trộn, có xục khí
  - Có khuấy trộn và xục khí

Qua đó ta thấy khuấy trộn và xục khí là một đặc điểm quan trọng của thiết bị lên men. Trên cơ sở này, theo cách phân loại chi tiết hơn, ta có các loại sau:

- Loại không khuấy trộn
- Loại khuấy trộn bằng phương pháp cơ học, có thể bằng cánh khuấy hoặc cho thùng lên men quay hay sử dụng các cơ cấu tạo rung hay bằng cách đưa thùng lên men
- Loại khuấy trộn bằng khí động với các bọt khí có vận tốc tương đối lớn hay tạo ra các dòng tuần hoàn trong thùng lên men
- Loại khuấy trộn bằng thủy lực với các phun tia hay tạo ra dòng tuần hoàn

Trong kỹ thuật lên men bằng các tế bào được cố định, ta có những thiết bị sau:

- Loại lốp: tế bào được cố định trong các viên và ta đặt các viên này vào thùng lên men. Các viên này có thể không di chuyển (lớp tĩnh) hay chuyển động (lớp sôi)
- Loại màng: tế bào được cố định trong các màng mỏng và đặt trong thùng lên men

- Yêu cầu đối với thiết bị lên men:

- Có năng suất phù hợp
- Tạo được sự phân tán, hòa trộn đồng đều của các thành phần trong thùng lên men
- Luôn đảm bảo được môi trường lên men tối ưu
- Đảm bảo không bị lây nhiễm từ môi trường bên ngoài
- Bên bỉ, tin cậy, chính xác
- Linh hoạt, mềm dẻo, cơ động
- Thao tác, vận hành thuận tiện, an toàn
- Đầu tư và chi phí vận hành thấp

Câu 4: Hãy cho biết một số đặc điểm của thùng lên men và chi tiết liên quan?

**Trả lời:**

- Vật liệu chế tạo

Khi chế tạo thùng lên men và các chi tiết có tiếp xúc với dịch lên men như cánh khuấy, ống dẫn, co nối, van ta nên lưu ý một số điểm sau:

- Trong trường hợp không yêu cầu quá cao về khả năng chịu ăn mòn, ta có thể sử dụng thép không rỉ SS304 hay SS304L. Với thành phần của crom khoảng 18-20% và của nickel khoảng 8-10% loại vật liệu này có thể đáp ứng tốt cho các yêu cầu thông thường
- Khi phải chịu sự ăn mòn mạnh của một số muối và các nguyên tố thuộc nhóm halogen, ta nên dùng thép không rỉ SS316 hay SS316L. Ngoài thành phần của crom và nickel gần tương đương với SS304, SS316 được bổ sung khoảng 2-

3% molipden. Chính thành phần này làm tăng khả năng chịu ăn mòn của thép một cách đáng kể

- Khi môi trường lén men có pH thấp, khoảng 1 đến 2 (thí dụ trong lén men citric), nên dùng thép không rỉ SS317 hay SS317L. Loại thép này được bổ sung nhiều molipden hơn so với SS316 khoảng 3-4%
- Trong các loại thép trên, ký hiệu "L" là loại thép có hàm lượng cacbon thấp. Các loại thép có ký hiệu này nên dùng cho các chi tiết được gia công bằng phương pháp hàn

Sau khi được gia công, ta cần xử lý lại bề mặt để đạt độ bóng cao, nhờ vật VSV không có điều kiện thuận lợi để bám lên bề mặt. Chiều cao các nhấp nhô tế vi phải bé hơn  $0,6\mu\text{m}$

- Một số kích thước chính

D là đường kính thùng, H là chiều cao định mức dịch lén men, d là đường kính mép ngoài của cơ cấu khuấy, h là khoảng cách từ cơ cấu khuấy đến đáy thùng, b là chiều rộng của các tấm chắn. Một số điểm lưu ý có liên quan đến các kích thước này:

- Khi ta xét về mối tương quan giữa D và H thì khi hai kích thước này xấp xỉ bằng nhau, thùng lén men thuộc loại bình thường, khi ấy ta chỉ cần dùng một cánh khuấy. Khi tỉ số  $H/D$  lớn hơn 3, thùng lén men thuộc loại cao, ta cần dùng nhiều cánh khuấy hơn để đảm bảo sự đồng nhất trong thùng lén men hoặc khuấy trộn bằng khí động hay thủy lực
- Trong trường hợp thùng lén men thuộc loại bình thường, khuấy trộn bằng cánh khuấy thì:  
 $d = (0.3 \div 0.5) D$   
 $b = 0,1D$   
Số tấm chắn phụ thuộc đường kính thùng  
 $h = (0.5 \div 1) d$

Câu 5: Hãy so sánh các thiết bị lén men?

**Trả lời:**

- Các thiết bị lén men dùng để khuấy trộn cơ học có ưu thế khi:
  - Thể tích dịch lén men không lớn ( $<500\text{m}^3$ )
  - Độ nhớt của dịch cao ( $>100\text{cP}$ )
  - Có chế độ hoạt động mềm dẻo
- Các thiết bị sử dụng phương pháp xục khí thông thường có ưu thế khi:
  - Độ nhớt của dịch thấp
  - Nhu cầu oxy lớn

- Thể tích trung bình lớn ( $50 - 500\text{m}^3$ )
- Các thiết bị xục khí có dùng ống tuần hoàn có ưu thế khi:
  - Độ nhớt của dịch thấp
  - Thể tích của dịch lớn hơn ( $>200\text{m}^3$ )

#### Buổi 4:

Câu 1: Hãy nêu một số thông số đặc trưng cho sự tăng trưởng của VSV trong quá trình lên men? Nêu định nghĩa (nếu có) và cho biết vai trò của từng thông số đó trong quá trình lên men?

#### Trả lời:

- Hàm lượng sinh khối khô X

Trong khi lên men có sự thay đổi cả về số lượng VSV lẫn khối lượng của từng VSV. Nếu ta chỉ dùng một trong hai thông số thì sẽ có thiếu sót, ngược lại nếu dùng cả hai thông số thì việc khảo sát sẽ trở nên phức tạp. Vì vậy ta kết hợp cả hai thông số này bằng “hàm lượng sinh khối khô X”. X được định nghĩa là khối lượng sinh khối khô của một đơn vị thể tích của dịch lên men. Đơn vị thông dụng của X là g/L hay kg/L

- Vận tốc tăng trưởng

Thông số này cho ta biết tốc độ tăng trưởng của VSV trong khi lên men là nhiều hay ít. Vận tốc tăng trưởng thường được định nghĩa như sau:

$$\text{Vận tốc tăng trưởng} = \frac{dx}{dt}$$

Khi tính toán vận tốc tăng trưởng, đơn vị thời gian được tính bằng giờ (h)

- Vận tốc tăng trưởng riêng  $\mu$

Vận tốc tăng trưởng riêng được định nghĩa là vận tốc tăng trưởng tương ứng với một đơn vị sinh khối khô

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dx}{dt}$$

đơn vị thông dụng của  $\mu$  là 1/h hay  $\text{h}^{-1}$

Đây là thông số quan trọng nhất khi khảo sát động học của quá trình lên men vì nó sẽ ảnh hưởng đến nhiều mặt, không riêng sự tăng trưởng mà còn có cả sự tạo thành sản phẩm và sự sử dụng cơ chất

Câu 2: Trình bày sự tăng trưởng của VSV trong điều kiện nuôi cấy tĩnh (có vẽ sơ đồ tăng trưởng)?

#### Trả lời:

Sơ đồ hình 1 trang 12

- Giai đoạn tiềm phát OA (hay pha lag): trong giai đoạn này, VSV tìm cách tự điều chỉnh để thích ứng với điều kiện lén men, với môi trường. Trong giai đoạn này gần như không có sự thay đổi của X
- Giai đoạn tăng trưởng logarit AB (hay giai đoạn tăng trưởng theo hàm số mũ): hàm lượng sinh khối X tăng rất nhanh theo quy luật hàm số mũ. Khi biểu diễn trên đồ thị trực X được chia độ theo thang logarit thì giai đoạn này được biểu diễn bằng đường thẳng AB. Trong phần lớn các quá trình lén men, đây chính là giai đoạn tạo ra sản phẩm
- Giai đoạn cân bằng BC (hay pha ổn định): hàm lượng sinh khối X không thay đổi. Nguyên nhân chủ yếu là do thiếu hụt dưỡng chất làm VSV không còn khả năng tăng trưởng tiếp tục, hoặc lượng sinh khối được tạo ra chỉ vừa đủ bù đắp cho lượng sinh khối bị tiêu hủy
- Giai đoạn tiêu vong CD: VSV bị tiêu hủy do dưỡng chất bị cạn kiệt và/ hay các chất độc hại trong môi trường tăng lên. Sự suy giảm của X cũng rất nhanh theo quy luật của hàm số mũ

Câu 3: Hãy trình bày các phương pháp tiến hành quá trình lén men (lén men từng mẻ, lén men có bổ sung cơ chất và dưỡng chất, lén men liên tục)?

#### Trả lời:

##### - Lén men từng mẻ

Trong phương pháp lén men từng mẻ, toàn bộ cơ chất, dưỡng chất và VSV được đưa vào ngay từ đầu quá trình lén men. Trong quá trình lén men chỉ có sự cung cấp và lấy đi các khí (nếu có) và các dung dịch để duy trì pH của dịch lén men. Như vậy ta có thể xem như thể tích dịch lén men là không thay đổi theo thời gian.

##### - Lén men theo mẻ có bổ sung cơ chất và dưỡng chất

Trong một số trường hợp, việc đưa toàn bộ cơ chất và dưỡng chất vào thiết bị lén men không có lợi hay thậm chí không thể thực hiện được vì nồng độ cao của các chất này sẽ ức chế hoạt động của VSV. Khi đó người ta chọn phương án bổ sung dần cơ chất và dưỡng chất trong quá trình lén men. Điều này còn có lợi điểm là ta có thể duy trì nồng độ các chất ấy ở giá trị tối ưu, làm tăng hiệu quả của sự lén men

##### - Lén men liên tục

Trong phương pháp lén men liên tục, VSV, cơ chất và dưỡng chất được liên tục đưa vào nồi lén men, đồng thời dịch lén men cũng liên tục được lấy ra ngoài. Các hệ số tự động sẽ điều khiển các quá trình nạp vào, lấy ra này cũng như các thông số khác để giữ cho chúng không thay đổi theo thời gian. Khi ấy trạng thái nồi lén men là ổn định

Câu 4: Hãy cho biết mục đích của khuấy trộn và sục khí trong lén men? Trình bày ngắn gọn các phương pháp khuấy trộn?

### **Trả lời:**

- Mục đích của khuấy trộn và sục khí trong lén men:

Trong thùng lén men là hỗn hợp của một số thành phần khác nhau: cơ chất, VSV, oxy, sản phẩm,... Các thành phần này có trạng thái khác nhau (rắn, lỏng, khí), có khối lượng riêng khác nhau, có các tính chất bề mặt khác nhau và nhiều tính chất khác không giống nhau. Do đó chúng sẽ có sự phân phối khác nhau tại những vị trí khác nhau trong thùng lén men. Vì vậy, cần có những biện pháp khuấy trộn phù hợp để tạo sự đồng nhất của các thành phần trong toàn bộ nồi lén men. Mặt khác khuấy trộn còn hỗ trợ cho các quá trình truyền nhiệt và truyền chất giúp quá trình lén men đạt hiệu quả cao

- Các phương pháp khuấy trộn:

- Loại sử dụng biện pháp cơ học, có thể khuấy bằng cánh khuấy hoặc cho thùng lén men quay hay sử dụng các cơ cấu tạo rung hay bằng cách đùa đưa thùng lén men
- Loại khuấy trộn bằng khí động với các bọt khí có vận tốc tương đối lớn hay tạo ra các dòng tuần hoàn bên trong hoặc bên ngoài thùng lén men
- Loại khuấy trộn bằng thủy lực với cách phun tia hay tạo ra dòng tuần hoàn

Câu 5: Xử lý nhiệt trong quá trình lén men (thanh trùng và tiệt trùng/nguyên liệu, thiết bị, sản phẩm...); đặc điểm, mục đích?

### **Trả lời:**

Câu 5: Hãy trình bày khái quát về: lén men với VSV cố định và lén men trên môi trường rắn? Cho biết các phương pháp lén men với VSV cố định và lén men trên môi trường rắn?

### **Trả lời:**

- Lén men VSV cố định

- “Cố định” VSV là giữ chúng ở một vị trí nhất định nào đó bằng cách bao bọc gắn trên chất mang, hay bằng biện pháp khác. Ta cũng cần lưu ý là quá trình cố định ấy không được làm suy giảm hoạt tính của chúng

- Ưu điểm:

- + Do sản phẩm khô sau khi được lén men thường được ở dạng hòa tan hay dạng lỏng nên khi lén men bằng phương pháp này, việc phân riêng sản phẩm khô được dễ dàng, thuận tiện hơn

- + Việc thực hiện lén men liên tục dễ dàng hơn một cách đáng kể, dòng sản phẩm ra hâu như không có VSV nên việc xử lý đơn giản hơn nhiều

- + Có thể nâng cao mật độ VSV trong thiết bị lên men, qua đó nâng cao được năng suất thiết bị
- + Thời gian sử dụng VSV dài hơn do được sử dụng lại nhiều lần, điều này giúp khôi lượng công việc về nhân giống VSV được giảm nhẹ
- Nhược điểm:
  - + Các phương tiện dùng để cố định VSV như vỏ bọc, giá mang, làm tăng trở lực khi truyền chất, cường độ truyền chất giảm đi nên năng suất riêng giảm đi (năng suất riêng: lượng sản phẩm tạo ra bởi một đơn vị khôi lượng sinh khôi)
  - + Khuyết điểm trên có thể được khắc phục phần nào khi tăng hàm lượng của cơ chất và dưỡng chất, nhưng khi ấy chi phí cho các thành phần này lại tăng lên và có thể đặt ra một số vấn đề khi xử lý sau lên men
  - + Việc theo dõi và điều khiển vi môi trường (vùng gần bề mặt VSV) khó khăn hơn
- Một số phương pháp lên men với VSV cố định:
  - + Sử dụng các thiết bị lên men thông thường như thùng lên men có cơ chất khuấy
  - + Chất đầy VSV cố định trong một cột rồi cho dịch lên men chảy qua. Phương pháp này thường áp dụng cho lên men liên tục
  - + Sử dụng các thiết bị tầng sôi: dịch lên men được bơm đưa vào thùng từ dưới lên tới tốc độ cao nên giá thể có chuyển động như chất lỏng sôi
  - + Cho dịch lên men chảy qua các tấm đã cố định VSV. Phương pháp này thường áp dụng cho lên men liên tục
- Lên men trên môi trường rắn:
  - Trong phương pháp lên men này, ta cấy VSV lên bề mặt của vật thể rắn ẩm. Vật thể này có thể là dưỡng chất, cơ chất hay giá thể đã được tẩm, thâm cơ chất, dưỡng chất
  - Khi ấy chuyển biến chính của quá trình lên men: VSV tiêu thụ dưỡng chất để sinh trưởng, sự trao đổi chất trong cơ thể VSV, chuyển hóa cơ chất thành sản phẩm,... đều xảy ra trên bề mặt vật rắn ấy. Vì thế phương pháp này thích hợp hơn cho các quá trình lên men hiếu khí. Và nấm sợi là nhóm VSV phù hợp hơn cả với phương pháp lên men này
  - Ưu điểm:
    - + Có thể tạo được sản phẩm ở dạng rắn. Đây là trường hợp của nhiều sản phẩm thực phẩm truyền thống như tương, phô mai
    - + Năng suất sản phẩm đạt được cao hơn
    - + Việc cung cấp oxy VSV thuận tiện hơn, do hàm lượng oxy trong không khí cao hơn nhiều so với hàm lượng oxy hòa tan trong dịch lên men, diện tích tiếp xúc của VSV với không khí trong môi trường rắn cũng cao hơn sự tiếp xúc VSV với bọt khí trong môi trường lỏng

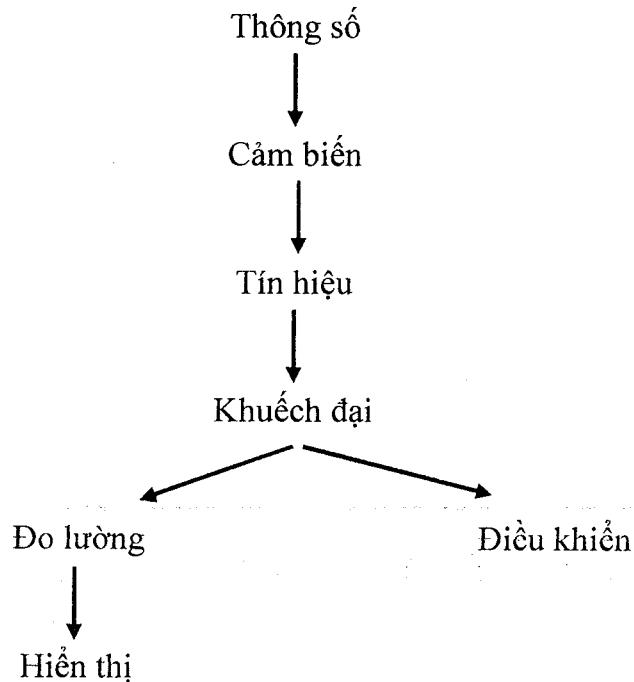
- + Chi phí cho cơ chất, dưỡng chất cũng thấp hơn. Ta có thể tận dụng nguồn nguyên liệu hay phế liệu của sản xuất nông lâm ngư nghiệp
- + Trang thiết bị đơn giản hơn, đầu tư ít tốn kém hơn
- + Chi phí năng lượng giảm hơn
- + Vận hành quy trình lên men cũng đơn giản hơn, không đòi hỏi trình độ chuyên môn cao
- Hạn chế:
  - + Các thông số trong quá trình lên men khó theo dõi và không chế hơn. Vì thế việc duy trì chế độ lên men tối ưu trong suốt thời gian lên men khó thực hiện được
  - + Sự đảo trộn khó, dẫn đến việc khó duy trì sự đồng nhất trong toàn vùng không gian lên men
  - + Trong trường hợp, xử lý sau thu hoạch khó khăn hơn so với lên men trong môi trường lỏng
  - + Sự hiểu biết của chúng ta về phương pháp lên men này còn hạn chế
- Phương pháp lên men trong môi trường rắn
  - + Không đảo trộn và không thổi không khí
  - + Không đảo trộn và thổi không khí
  - + Đảo trộn và không thổi không khí
  - + Đảo trộn và thổi không khí

Câu 6: Hãy cho biết các thông số của thiết bị lên men? Nếu các yêu cầu đối với đo lường và nguyên lý do lường?

#### Trả lời:

- Các thông số trạng thái của thiết bị lên men:
  - Các thông số cơ lý như nhiệt độ, áp suất, thể tích dịch lên men, vận tốc quay của cơ cấu khuấy. Trong nhóm này bao gồm cả các thông số đặc trưng cho tính lưu biến của dịch lên men như độ nhớt, ứng suất cắt
  - Các thông số hóa học như pH, hàm lượng oxy hòa tan, hàm lượng CO<sub>2</sub> hòa tan, hàm lượng sản phẩm, thể oxy hóa
  - Các thông số sinh học như hàm lượng sinh khối, vận tốc tăng trưởng, hoạt tính VSV, thương số hô hấp
- Các yêu cầu đối với đo lường:
  - Chính xác: sai số giữa giá trị chỉ thị và giá trị thực thấp
  - Tin cậy: với cùng một đối tượng, khi đo ở các thời điểm khác nhau hay ở các vùng không gian khác nhau phải có cùng một giá trị đo
  - Nhạy: có khả năng phát hiện được các độ chênh lệch nhỏ của thông số đo
  - Thời gian đáp ứng phải ngắn

- Lắp đặt, sử dụng, hiệu chỉnh dễ dàng thuận tiện
  - Bền bỉ, tuổi thọ lớn
  - Giá thành phải chăng
- Nguyên lý đo lường:



Câu 7: Điều khiển là gì? Các hoạt động điều khiển? Các thành phần của hệ điều khiển? Các dụng cụ điều khiển?

### Trả lời:

- Điều khiển có thể được định nghĩa là:
  - Toàn bộ hoạt động có ý thức
  - Nhằm khởi động, duy trì, thay đổi hay chấm dứt
  - Một đặc tính và/hay một quá trình
  - Theo các yêu cầu xác định
- Hoạt động điều khiển
  - Quan sát: để thu thập các thông tin về đối tượng được điều khiển như vị trí, mức nước, mức độ sử dụng nước, lưu lượng nước cung cấp. Trong các hệ thống điều khiển, hoạt động này được thực hiện thông qua các cơ cấu đo lường, các cảm biến
  - Nhận định: đánh giá chung về hoạt động của đối tượng. Trong hệ thống điều khiển, đây là nhiệm vụ xử lý các thông tin đã nhận: so sánh với các giá trị cơ sở, lấy vi phân tính tốc độ thay đổi, tính tích phân. Hiện nay, việc xử lý này thường được thực hiện bởi các vi mạch điện tử

- Tác động: trên cơ sở các nhận định, thực hiện hành động phù hợp. Trong các hệ điều khiển, các cơ cấu tác động sẽ đảm nhiệm việc này
- Các thành phần của hệ điều khiển: hình 14 trang 80
- Các dạng điều khiển:
  - Điều khiển dạng đóng/mở
  - Điều khiển dạng tỷ lệ
  - Điều khiển dạng vi phân
  - Điều khiển dạng tích phân
  - Điều khiển phối hợp

Câu 8: Hãy trình bày khái quát về môi trường lén men? Các loại môi trường lén men và thành phần của môi trường lén men?

### Trả lời:

- Môi trường gồm có:
  - Dưỡng chất: là những thành phần dùng để duy trì sự sống cho VSV và giúp chúng phát triển cũng như duy trì hoạt tính
  - Cơ chất: là các thành phần sẽ bị biến đổi trong quá trình lén men để tạo ra sản phẩm. Nếu sản phẩm là sinh khối VSV thì cơ chất cũng là dưỡng chất
  - Chất mang: khi lén men trong môi trường lỏng, chất mang chủ yếu là nước. Khi lén men trên môi trường rắn, chất mang là các giá thể rắn như rơm rạ, bã mía, mạt cua,
  - Phụ gia: là các thành phần giúp quá trình lén men đạt hiệu quả hơn, xúc tiến một số quá trình có lợi, ngăn ngừa hay hạn chế các quá trình có hại.
- Yêu cầu đối với môi trường lén men:
  - Đổi với dưỡng chất, phải có đầy đủ các thành phần cần thiết cho sự sinh trưởng của VSV. Các thành phần này phải cân đối, hài hòa và phải dễ hấp thu, dễ chuyển hóa
  - Cần có tính công nghệ cao: dễ tìm, dễ vận chuyển, dễ bảo quản, dễ tiệt trùng, dễ tinh chế
  - Không hay ít có ảnh hưởng đến sinh trưởng và hoạt tính của VSV
  - Không hay ít có ảnh hưởng đến sản phẩm và quá trình xử lý sau lén men
  - Giá thành hợp lý. Điều này đặc biệt quan trọng khi sản xuất những sản phẩm thông dụng
- Các loại môi trường:
  - Môi trường tổng hợp:
    - + đơn giản, dễ thực hiện, không đòi hỏi nhiều công sức chuẩn bị
    - + thành phẩm xác định đúng như yêu cầu đã đề ra và ổn định
    - + chất lượng cao

+ do đó làm việc tiến hành quá trình lên men tương đối dễ dàng chất lượng sản phẩm cũng ổn định

- Môi trường tự nhiên:

- + là hỗn hợp của nhiều thành phần nên có thể đáp ứng nhiều yêu cầu về dưỡng chất như nguồn C, nguồn N, vitamin, khoáng + giá thành hạ

Tuy nhiên thành phần của môi trường tự nhiên thường không cân đối, hài hòa theo yêu cầu sinh trưởng của VSV. Thành phần và chất lượng không ổn định gây khó khăn cho sản xuất. Khi sử dụng môi trường tự nhiên ta thường phải bổ sung thêm các thành phần còn khiếm khuyết

- Thành phần của môi trường:

- Nguồn C: có thể dùng các loại đường như glucose hay saccharose, maltose, lactose, các loại polysaccharide như tinh bột, cellulose để làm nguồn C cho quá trình lên men
- Nguồn N: Các muối amôn, các muối nitrat hay ure được sử dụng làm nguồn N. Ta cũng có thể dùng các nguyên liệu tự nhiên giàu đạm như bánh dầu các cây họ đậu, dịch chiết nấm men. Trong một số trường hợp sục  $\text{NH}_3$  cũng là một giải pháp để cung cấp nito cho VSV
- Thành phần công nghệ: các thành phần công nghệ để hỗ trợ cho quá trình lên men xảy ra dễ dàng hơn theo chiều hướng thuận lợi hay ngăn cản một số hiện tượng, tiến trình có hại. Một số thành phần công nghệ chính là: chất đệm, chất chống tạo bọt, chất tạo phức, các chất định hướng, các chất cảm ứng, các chất xúc tiến.