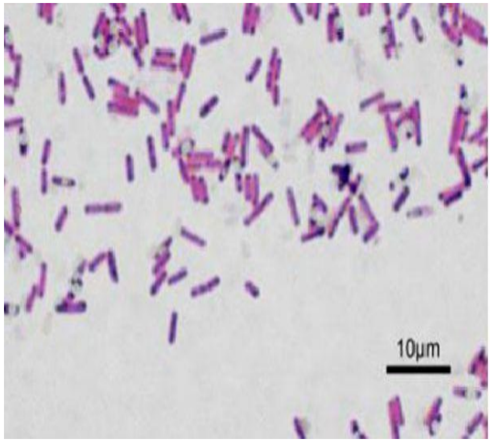
Chương 3:

CÔNG NGHỆ SINH HỌC VI SINH (Microbial Biotechnology)

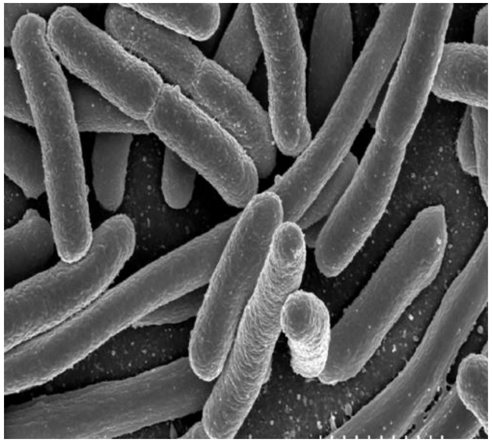
I. Mở đầu - Introduction
II. Đặc điểm chung của vi sinh vật - General chracteristics of microorganisms
III. Kỹ thuật vô trùng - Aseptic techniques
IV. Giống vi sinh vật - Microorganisms
V. Sơ lược công nghệ lên men - Fermentation technology
VI. Các sản phẩm của công nghệ lên men - Products of fermentation technology

I. Mở đầu

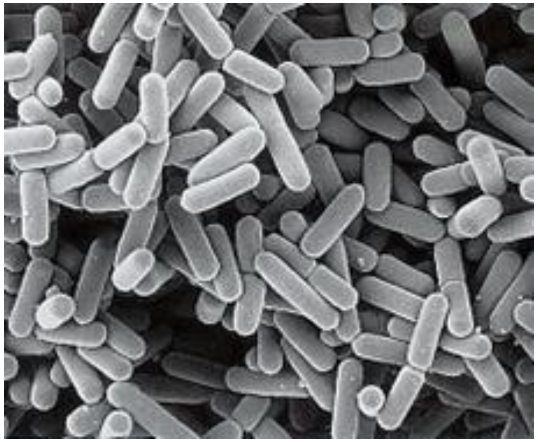
- Vi sinh vật (microorganism)



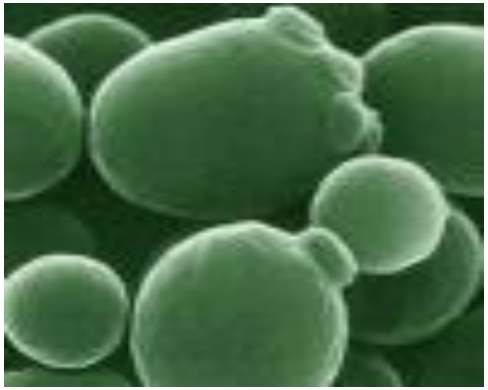
Bacillus subtilis dưới KHV quang học



E.coli dưới KHV tử

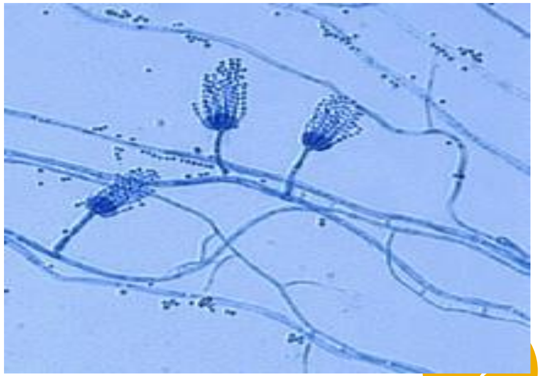


Lactobacillus dưới KHV tử



Saccharomyces cerevisiae dưới KHV tử

Aspergillus dưới KHV quang học



Penicillium dưới KHV quang học

I. Mở đầu (Introduction)

- Vi sinh vật (microorganism)

Là những SV có kích thước nhỏ bé không thể nhìn thấy được bằng mắt thường. Muốn quan sát phải sử dụng KHV - Is organisms that can not be seen by naked eyes. To observe must use a microscope

- Các nhóm vi sinh vật (Groups of microorganisms)

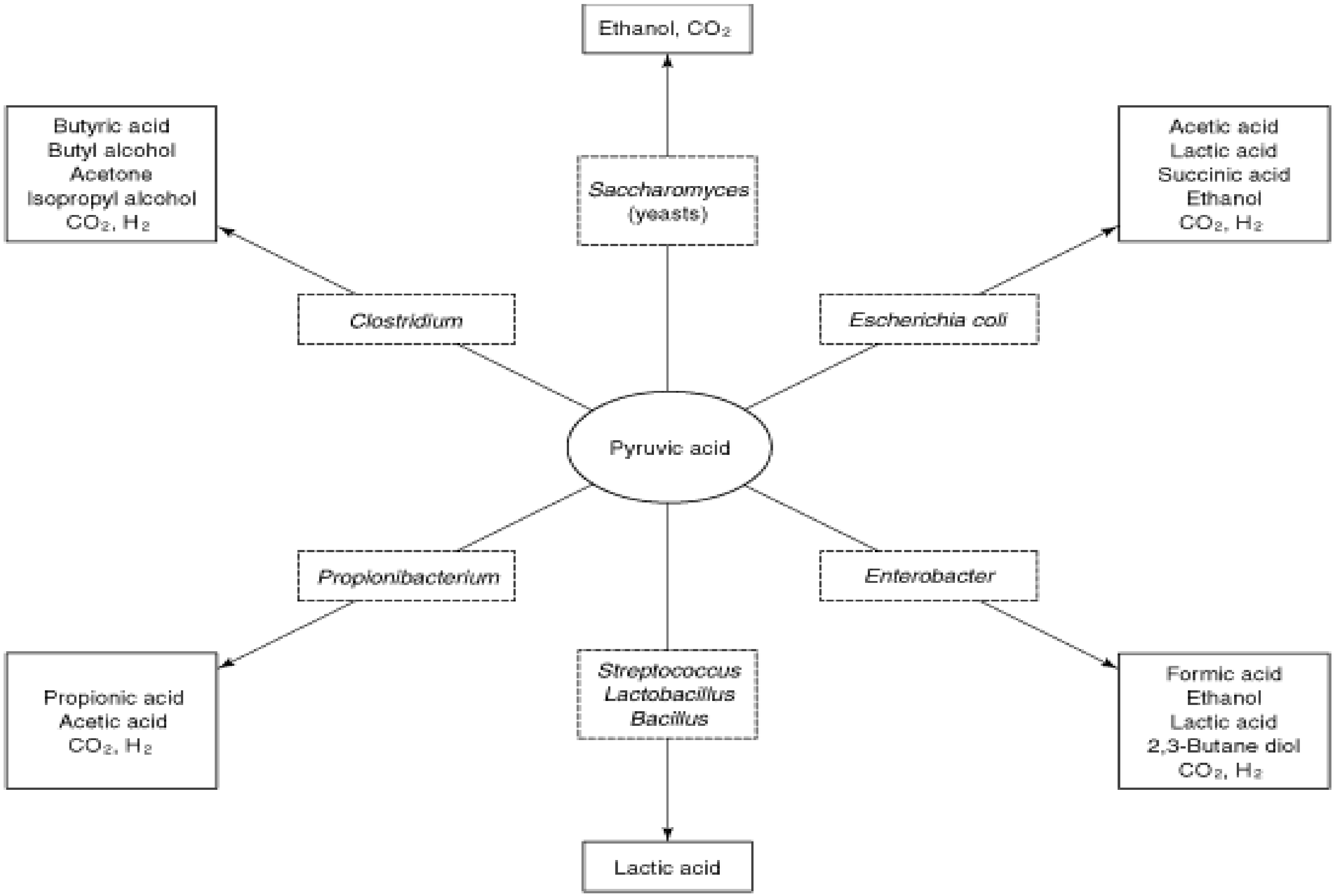
+ Nhóm nhân nguyên thủy (Prokaryote)
+ Nhóm nhân thật (Eukaryote)
+ Virut (Virus)

II. Đặc điểm chung của vi sinh vật (General characteristics of microorganisms)

- Kích thước nhỏ bé (Small size)
- Hấp thu nhiều chuyển hóa nhanh (Absorbs many rapid metabolism)
- Sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh (Growing fast, thriving)
- Năng lực thích ứng mạnh và dễ phát sinh biến dị (Strong adaptive capacity and easy to change)
- Phân bố rộng, nhiều chủng loại (Wide distribution, many types)
- Đa dạng các phản ứng hóa học (Chemical reaction variety)

II. Đặc điểm chung của vi sinh vật (General characteristics of microorganisms)

Trong điều kiện không có oxy, xảy ra các quá trình lên men (In the absence of oxygen, fermentation processes take place)



III. Kỹ thuật vô trùng (Aseptic technique)

Tại sao phải vô trùng trong lên men
(Why must sterile in fermentation)

Sự nhiễm của VSV gây nhiều hậu quả (Microbial contamination has many consequences)

- Chủng VSV sản xuất không thuần chủng (Non-pure production of microbial strains)
- Cạnh tranh dinh dưỡng và biến đổi môi trường nuôi cấy, gây bất lợi cho chủng VSV sản xuất (Competing for nutrition and changing the culture environment, is detrimental to the production microorganism strains).
- Tạo độc tố (Creates toxins)

→ Năng xuất giảm hoặc buộc ngừng sản xuất
(Productivity decreased or forced to stop production)

III. Kỹ thuật vô trùng (Aseptic technique)

1. Thiết bị vô trùng (Sterile equipment)

2. Các phương pháp khử trùng (Disinfection methods)

III. Kỹ thuật vô trùng (Aseptic technique)

Phòng thí nghiệm vi sinh (Microbiology laboratory)

PTN vi sinh

III. Kỹ thuật vô trùng (Aseptic technique)

Phòng thí nghiệm vi sinh (Microbiology laboratory)

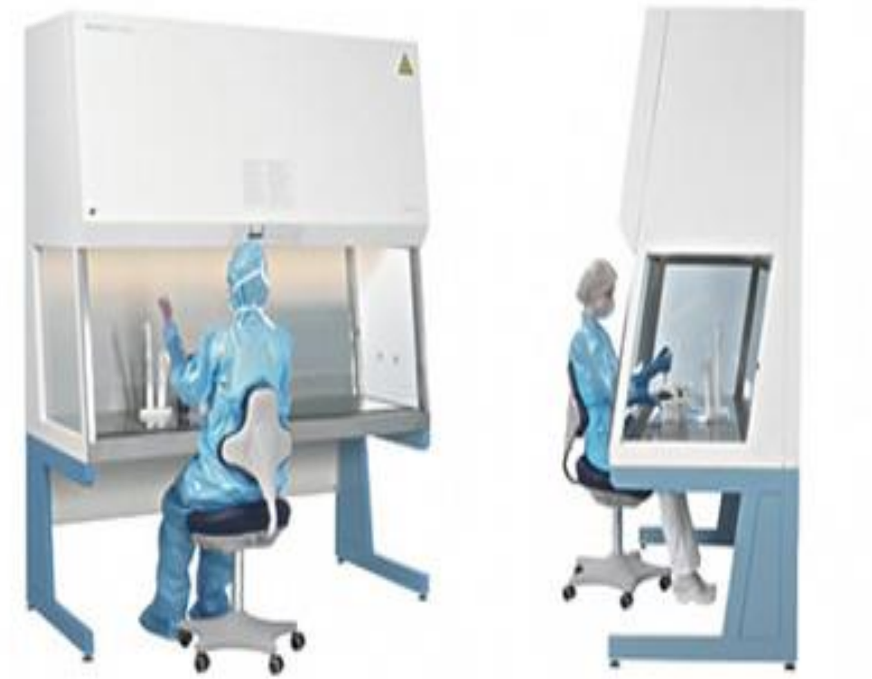
PTN vi sinh

III. Kỹ thuật vô trùng (Aseptic technique)

Designing and constructing today's finest labs

Thiết bị vô trùng (Sterile equipment)

Tủ cấy vô trùng (A sterile culture cabinet)



Tủ cấy vô trùng

Thiết bị vô trùng (Sterile equipment)

Tủ cấy vô trùng (A sterile culture cabinet)

- Vỏ tủ được sơn tĩnh điện chất lượng cao, bền đẹp, (Cabinet shell is powder coated, high quality, durable,)

- Các bảng điều khiển được thiết kế ngang tầm mắt quan sát dễ sử dụng, (The control panels are designed at eye level for easy use,)

- Một bộ điều khiển từ xa. (One remote controller.)

- **Hiệu quả lọc đạt 99,999%/0.3 micron (**Filtration efficiency reaches 99.999% / 0.3 micron)

[Tủ cấy vô trùng (Clean Bench), Model HPH/ Thermo Heraeus]()

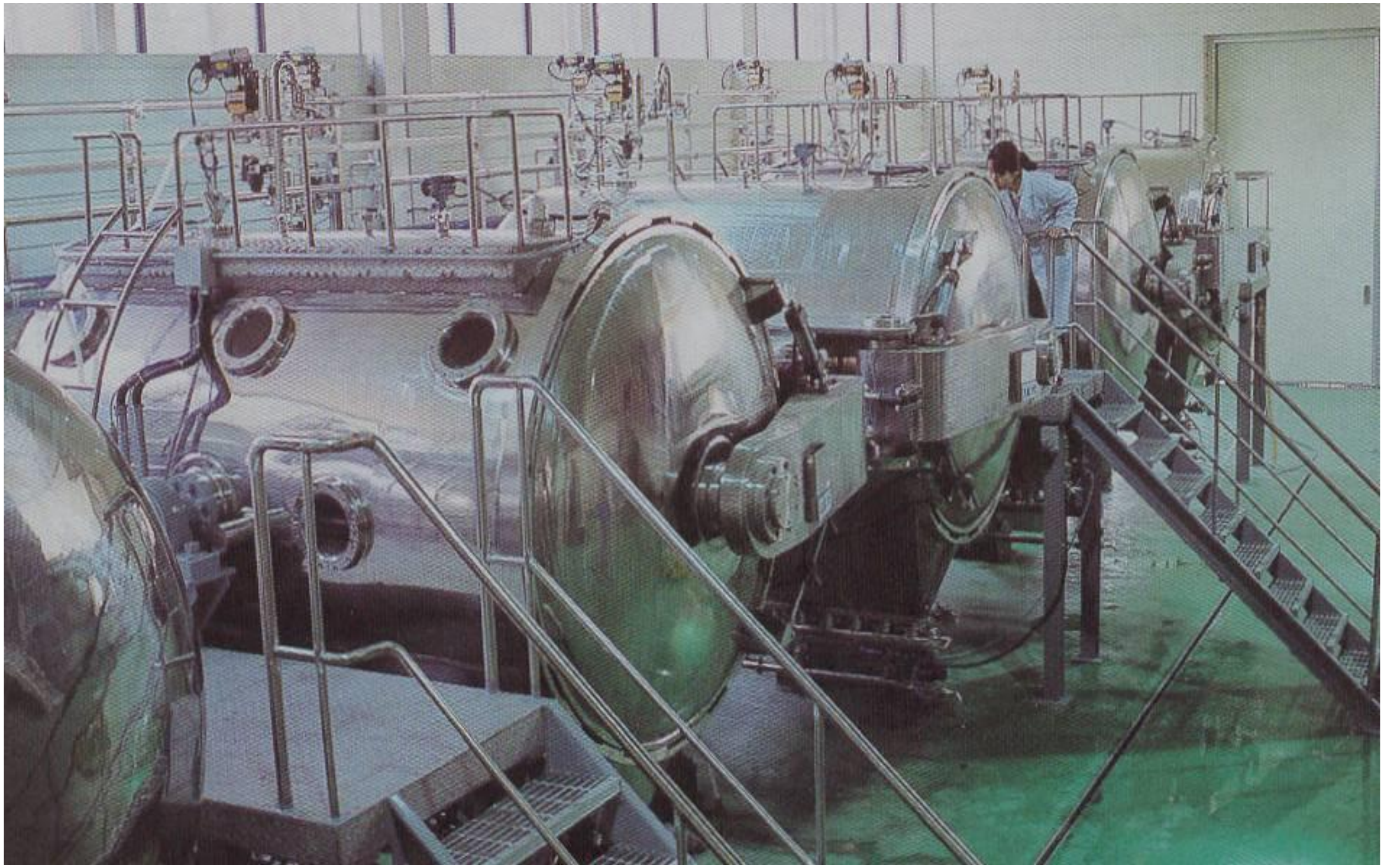
Thiết bị vô trùng (Sterile equipment)

Nồi hấp vô trùng (Sterile autoclave)

Áp suất pressure (atm)	Nhiệt độ Temperature (^{0}C)
0	100
0,5	112
1,0	121
1,5	128
2,0	134

Autoclave TomMy- Nhật bản

Thiết bị vô trùng (Sterile equipment)



Nồi hấp vô trùng - công nghiệp (Autoclave – industry)

Các phương pháp khử trùng (Disinfection methods)

a/ Nhiệt độ cao (High temperature)

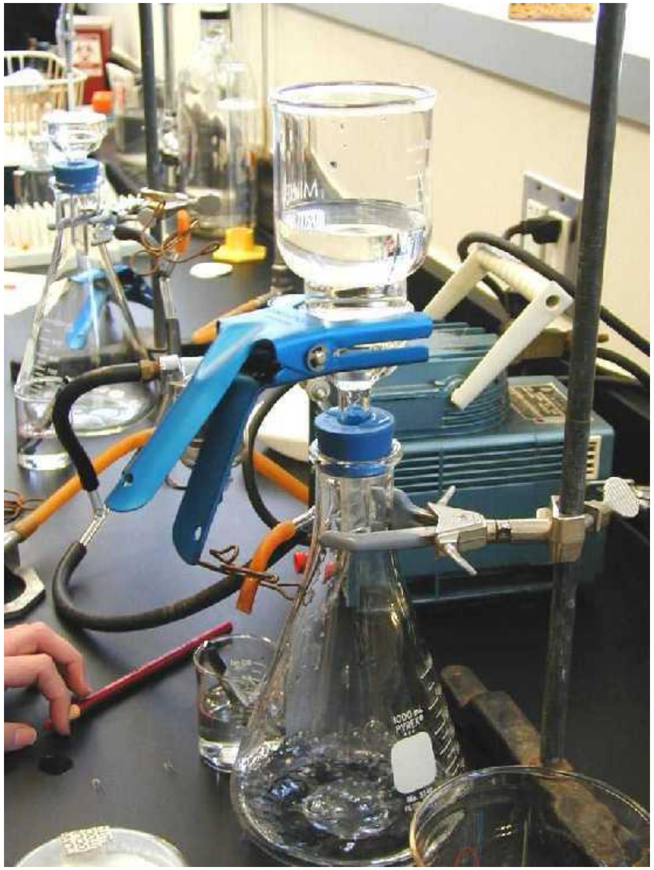
Đèn cồn – dụng cụ vô trùng que cấy
(Alcohol lamp - sterile instrument implant)

Autoclave TomMy- Nhật bản

FIREBOY PLUS
Có thể bật/ tắt bằng tay bất cứ lúc nào.
(Manual on/off at any time.)

Áp suất (atm)	Nhiệt độ (^{0}C)
0	100
0,5	112
1,0	121
1,5	128
2,0	134

b/ Phương pháp lọc (Filtration)



Bình lọc vô trùng

(Sterile filter)

Các phương pháp khử trùng (Disinfection methods)

b/ Phương pháp lọc (Filtration)

Bộ lọc chân không tiệt trùng
Ứng dụng: Dược phẩm, Mỹ phẩm, nuôi cấy tế bào gốc, tế bào người và động vật
Hãng: **Membrane Solution - USA**
Tiệt trùng hoàn toàn
Vật liệu: PES
Phễu lọc: 250 ml
Bình hứng: 500 ml
Kích thước lọc: 0,22

http://www.thietbisinhhoc.com/2013/12/bo-loc-chan-khong-tiet-trung-membrane.html

Các phương pháp khử trùng (Disinfection methods)

c/ Diệt trùng bằng bức xạ (Sterilized by radiation)

Đèn UV diệt khuẩn
(UV sterilizer)

Các phương pháp khử trùng (Disinfection methods)

c/ Phương pháp hóa học (Chemical method)

- Cồn 70°: Dùng sát trùng ngoài da
  (Alcohol 70°: Use antiseptic on skin)

- Oxyde ethylene khử trùng các dụng cụ làm bằng plastic
  (Ethylene oxyde disinfects tools made of plastic)

- Phenol, formaline, …

IV. Giống vi sinh vật (microorganisms strains)

1. Các yêu cầu về giống VSV trong công nghệ lên men (Requirements for strains of microorganisms in fermentation technology)

2. Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

3. Các phương pháp cải tạo và tạo giống mới (New methods of improvement and breeding)

4. Các phương pháp giữ giống (Methods of maintain varieties)

Các yêu cầu về giống VSV trong công nghệ lên men
(Requirements for strains of microorganisms in fermentation technology)

1. Cho ra sản phẩm mà ta mong muốn
   (For the product that we want)

2. Cho năng suất sinh học cao
   (For high biological productivity)

3. Có khả năng đồng hóa các nguyên liệu rẻ tiền và dễ kiếm (Able to assimilate inexpensive and easy to obtain ingredients)

Các yêu cầu về giống VSV trong công nghệ lên men
(Requirements for strains of microorganisms in fermentation technology)

4. Dễ dàng tách SP ra khỏi MTr và sinh khối
(Easily separate the product from the environment and biomass).

5. Thuần khiết, phải ổn định về phenotype và genotype
(Pure and stable in both phenotype and genotype)

6. Thích nghi cao với điều kiện SX (Highly adaptable to production conditions)

Các yêu cầu về giống VSV trong công nghệ lên men
(Requirements for strains of microorganisms in fermentation technology)

7. Có tốc độ sinh sản và phát triển rất mạnh trong điều kiện SX (Has a very strong reproduction and growth rate in production conditions).

8. Tốc độ TĐC mạnh để nhanh tạo ra SP mong muốn (Strong metabolic rate to quickly produce the desired product).

9. Phải ổn định và bảo tồn đặc tính di truyền (Must be stable and preserve genetic properties).

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- **Nguồn phân lập** (Sources of isolation)

- **Phương pháp phân lập** (Isolation method)

Mục đích:

Có được giống thuần (Get pure breeds)

⇒ Nghiên cứu về hình thái, sinh lý, sinh hóa hoặc sử dụng vào thực tiễn sản xuất... (Research on biochemical morphology or use in production practice,..)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

Nguyên tắc:

Tách rời các tế bào VSV, nuôi cấy chúng trên MT đặc trưng để cho khuẩn lạc mọc riêng rẽ, cách biệt nhau (Separate microbial cells, cultivate them on a specific medium for the separate and separate colonies).

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- **Nguồn phân lập** (Sources of isolation)

1. Từ tự nhiên (From nature)

2. Phân lập giống trong điều kiện SX
(Isolation of varieties under production conditions)

3. Từ những ống giống đã thoái hóa
(From degenerated seed tubes)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- **Nguồn phân lập** (Sources of isolation)

1. Từ tự nhiên **(**From nature)

Nguyên tắc (rule): ở đâu tồn tại một cơ chất nào đó thì ở đó có nhiều vsv phân hủy cơ chất đo (Where there is any substrate, there exist microorganisms that decompose that substrate).

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

Phân lập nấm men
(Isolation of the yeast)

→

Đất trồng nho, hoặc từ các trái nho chín rụng, hoặc từ các loại trái cây có đường khác (Vineyard soil either from ripe grapes or from other ripe fruit)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- **Nguồn phân lập** (Sources of isolation)

2. Phân lập giống trong điều kiện SX (Isolation of varieties under production conditions)

Giống SX cellulase → Nơi SX phân hữu cơ

(Varieties of cellulase production) → (Place of production of organic fertilizers)

Giống SX bia → Nơi SX bia (Place of production of beer)

(Varieties of beer production)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

Ưu điểm (Advantages)

- Thích ứng với điều kiện sản xuất (Adapt to production conditions)
- Đã qua biến đổi gen, có các đặc điểm sinh học cao hơn chủng ban đầu (Has been genetically modified, has higher biological characteristics than the original strain)
- Tồn tại nhiều VSV cần phân lập (There exist many microorganisms that need isolation)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- **Nguồn phân lập** (Sources of isolation)

3. Từ những ống giống đã thoái hóa
(From degenerated seed tubes)

Tuyển chọn lại giống từ các ống giống có chất lượng tốt → duy trì được giống tốt cho sản xuất.

Re-selecting seeds from good quality tubes → to maintain good seed for production

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

Nguyên tắc (rule):

Tách rời các tế bào vsv, nuôi cấy trên trong mt dd đặc trưng để cho khuẩn lạc mọc riêng rẽ, cách biệt nhau (Separation of microbial cells, culturing in a typical solution medium to allow colonies to grow individually and apart from each other.)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Bước 1 (step 1): Thu mẫu, pha loãng mẫu (Sample collection and dilution)

+ Bước 2 (step 2): Cấy lên MT đặc trưng (Inoculate characteristic medium)

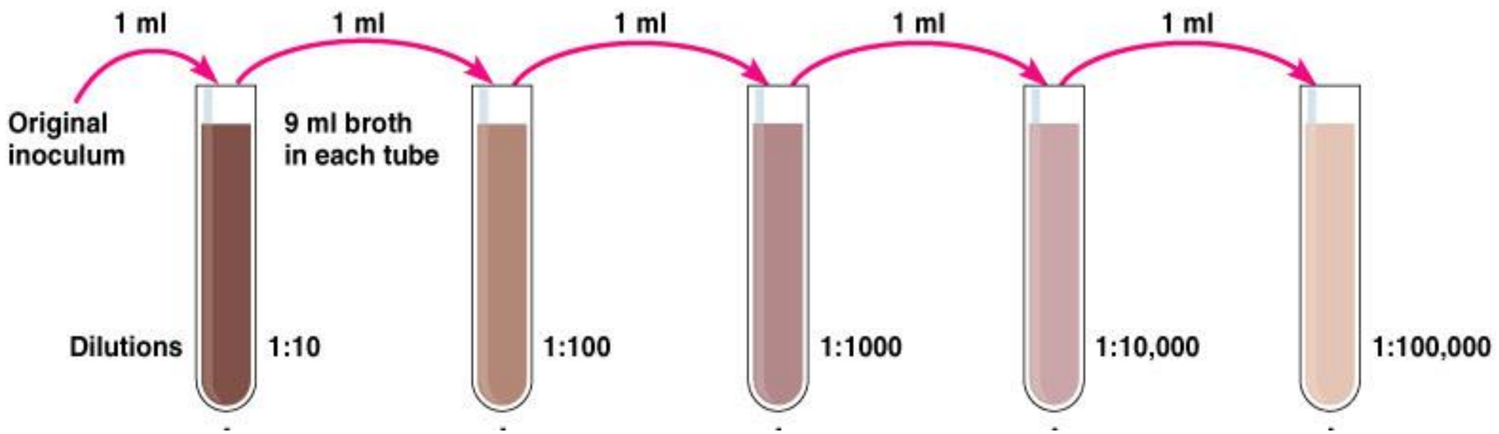
+ Bước 3 (step 3): Chọn khuẩn lạc và làm thuần (Select colonies and purify)

+ Bước 4 (step 4): Kiểm tra độ thuần khiết (Check for purity)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Bước 1: thu mẫu, pha loãng mẫu (Sample collection and dilution)

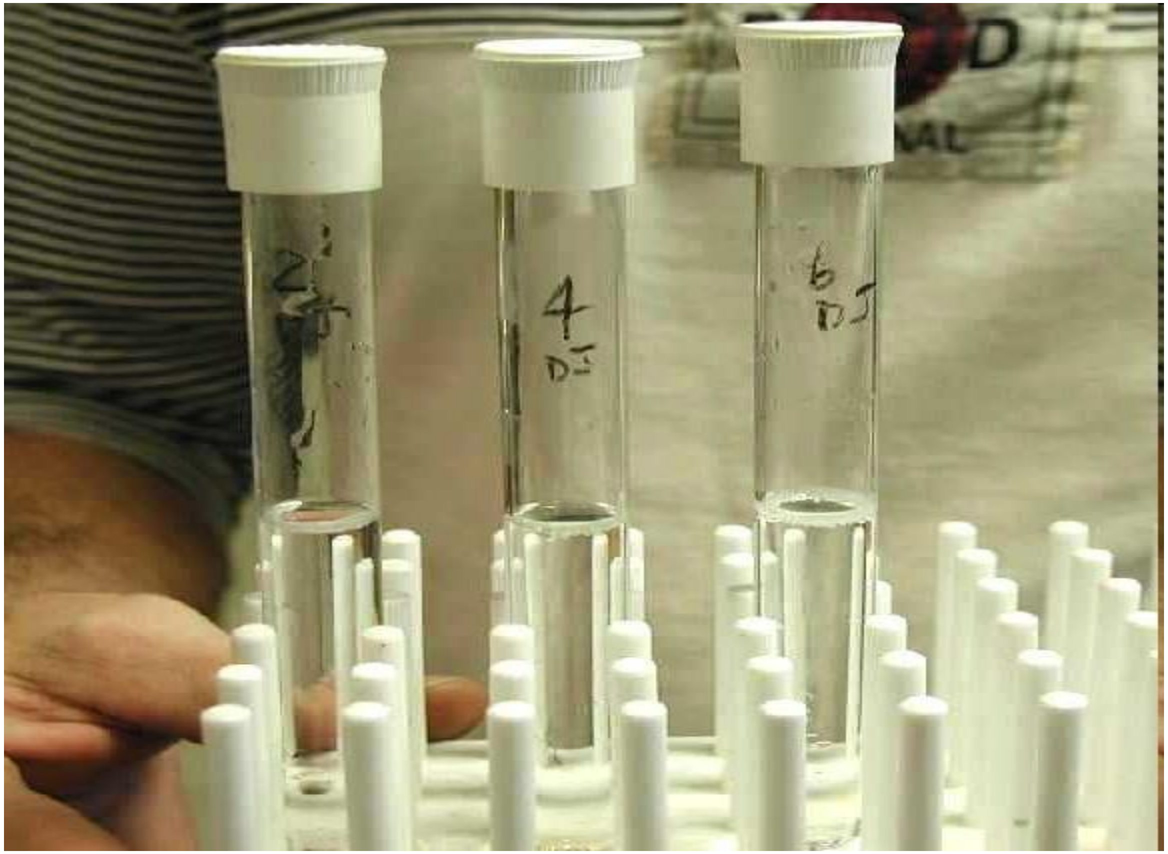


Pha loãng mẫu lỏng (Sample dilution)

→ Làm giảm mật độ VSV ⇒ để các khuẩn lạc mọc tách rời nhau (Reducing microbial density to separate colonies)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)



Chuẩn bị các ON nước cất (hoặc nước muối 0,85%) vô trùng
(Prepare test tubes of sterile distilled water (or 0.85% salt water))

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

Thực hiện pha loãng mẫu
(Perform sample dilution)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

Vortex mẫu
(Vortex sample)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Bước 2 (step 2): Cấy lên MT đặc trưng và nuôi trong điều kiện thích hợp để VSV phát triển (Inoculate a characteristic medium and cultivate under the right conditions for the growth of microorganisms)

- KT hộp trãi (Dùng que gạt) (Sputtering technique (using a stick)):

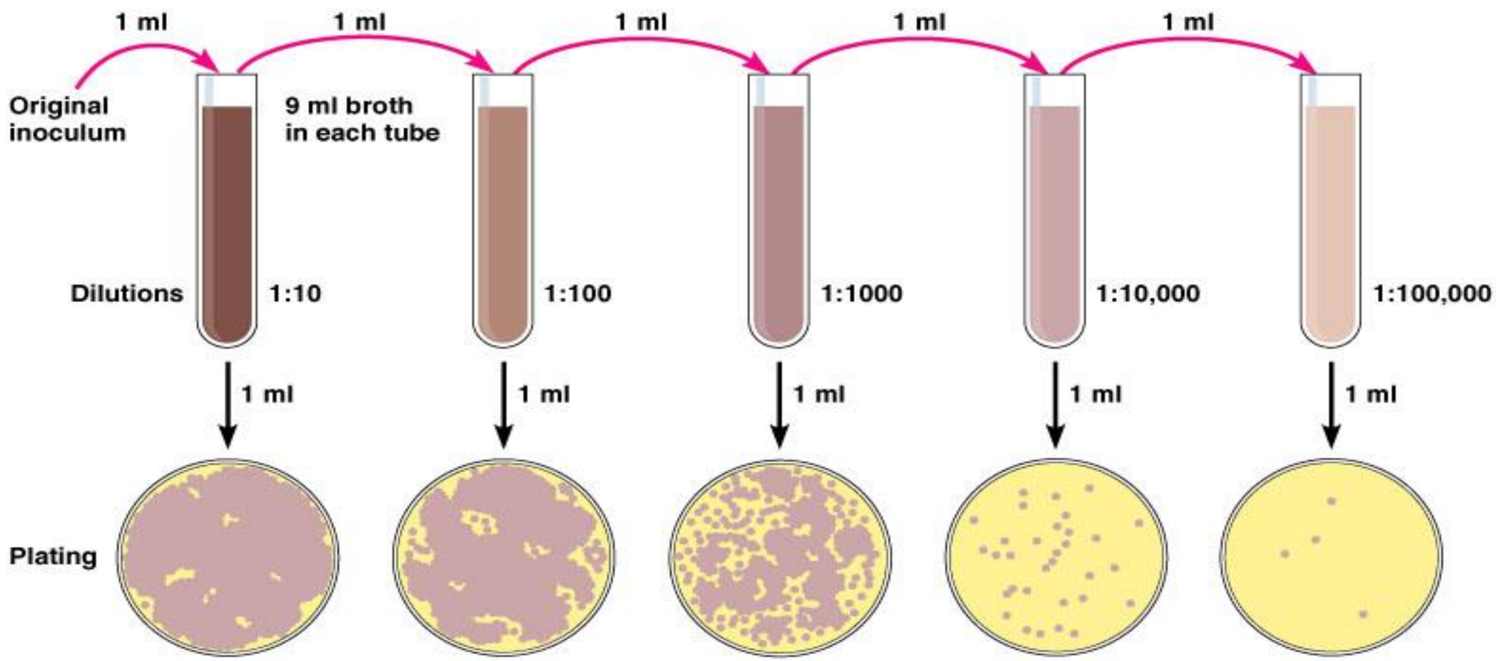
Bơm mẫu vào môi trường (Inject the sample into the medium)

Dùng que gạt dàn đều mẫu trên bề mặt MT (Use the spatula to evenly distribute the sample on the surface of the medium)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

- KT hộp trãi (Dùng que gạt) (plating) (Sputtering technique (using a stick)):

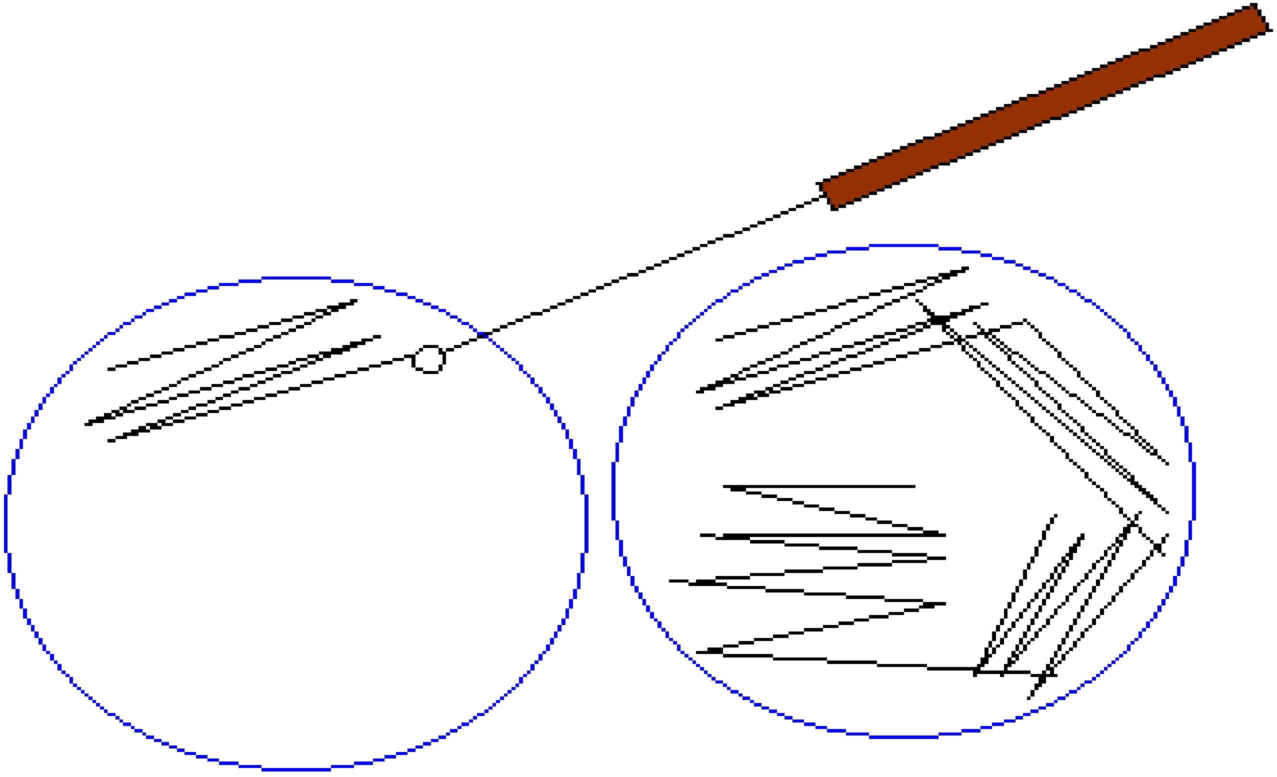


Khuẩn lạc được hình thành trên các đĩa môi trường (Colonies are formed on the plates of the medium)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

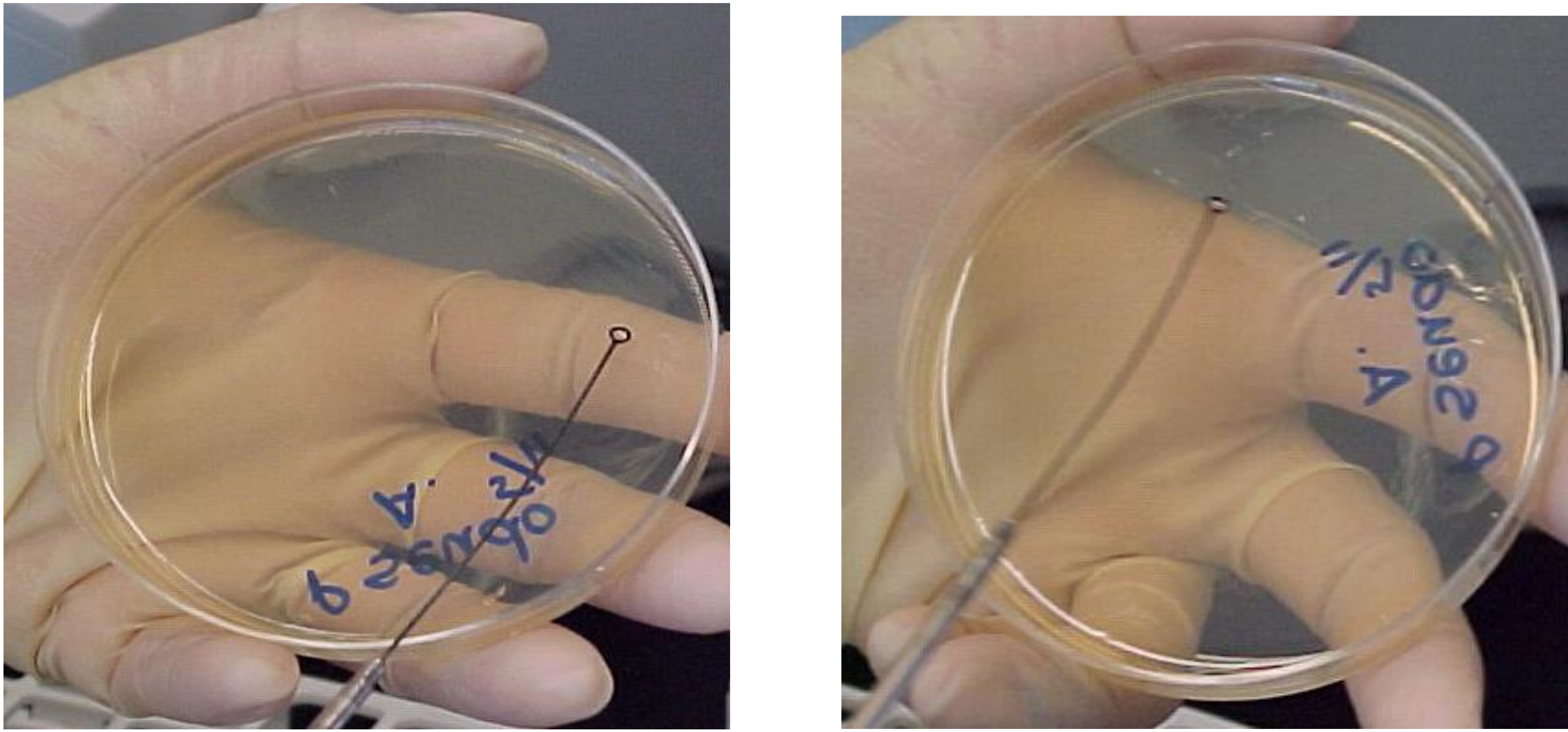
- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ KT hộp ria (Dùng que cấy vòng) (Streaking):



Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)



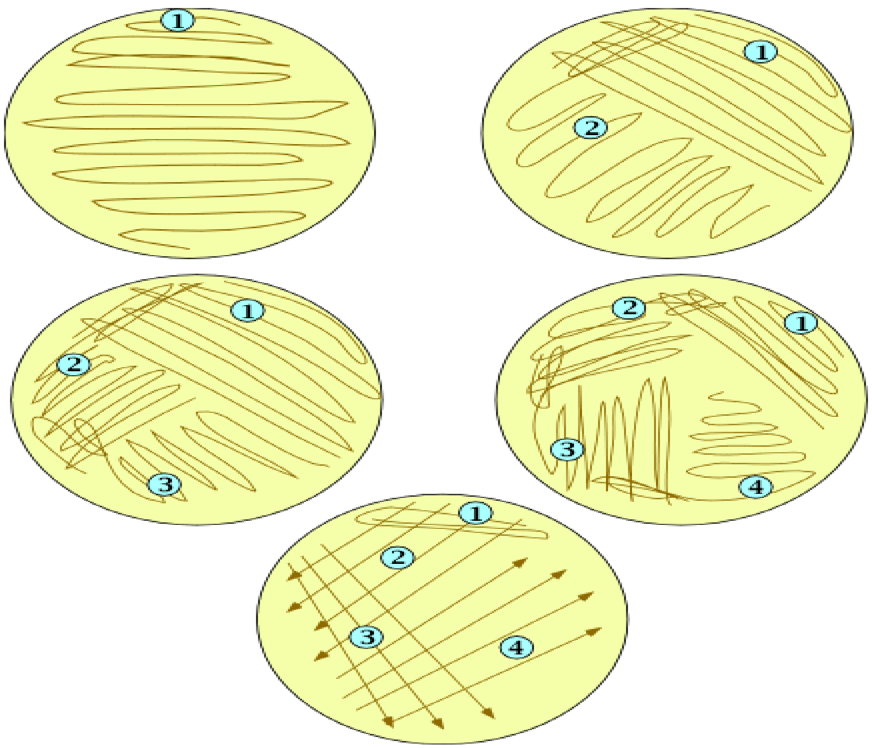
Cấy ria trên môi trường thạch

(Streak on agar medium)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ KT hộp ria (Dùng que cấy vòng) (Streaking)

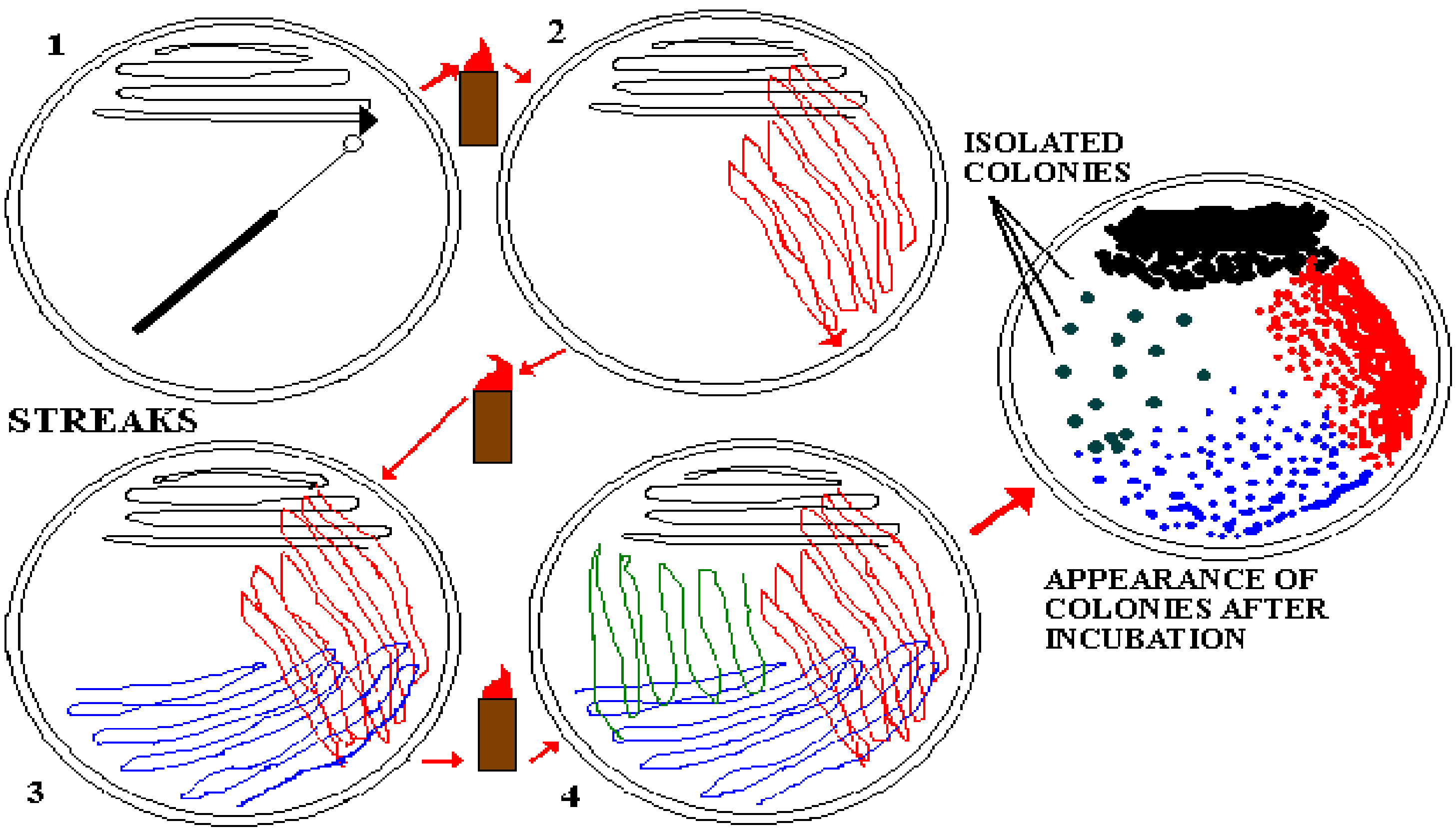


Các đường ria trên môi trường thạch
(The mustache lines on agar medium)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ KT hộp ria (Dùng que cấy vòng) (Streaking)

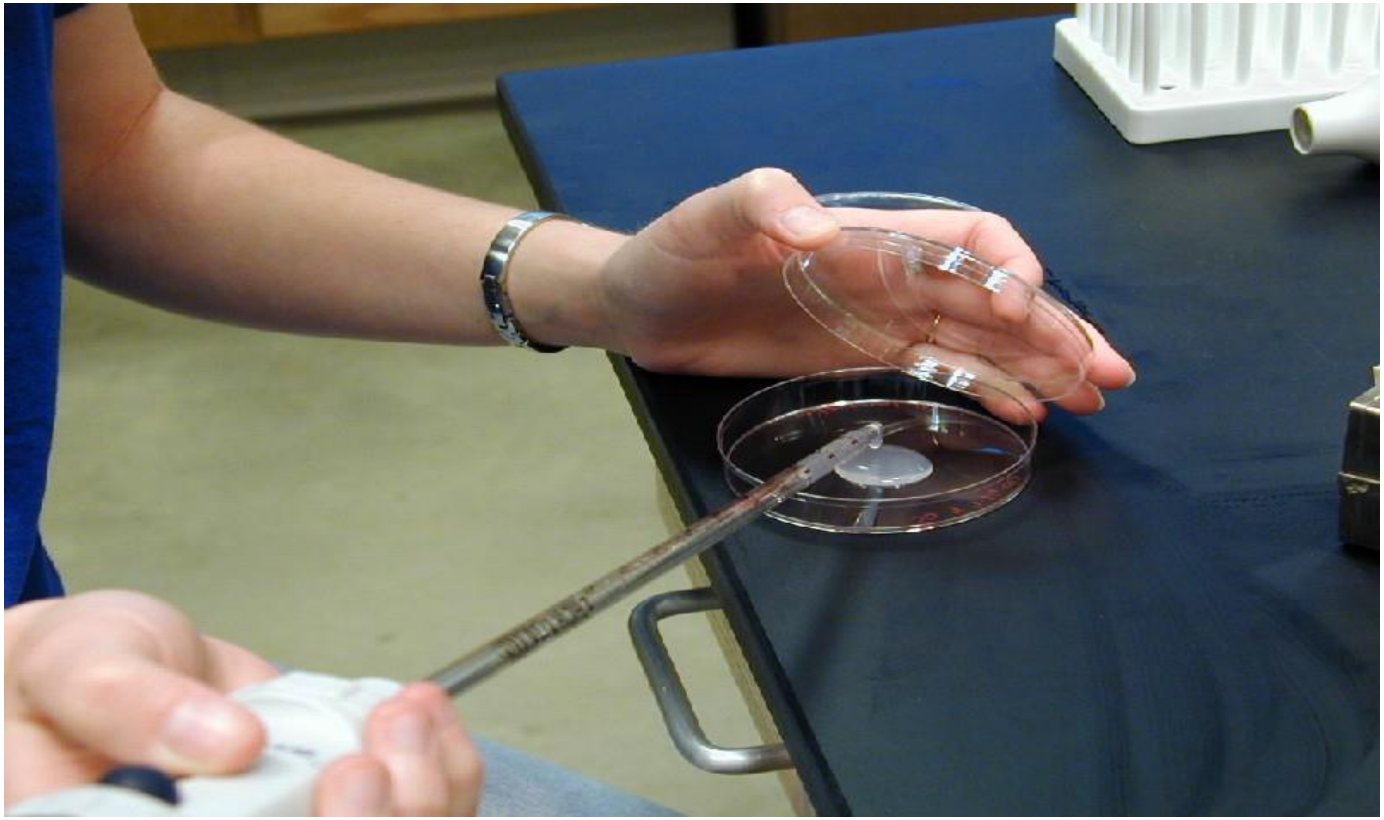


Các đường ria trên môi trường thạch
(The mustache lines on agar medium)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Kỹ thuật hộp đổ (Pouring)

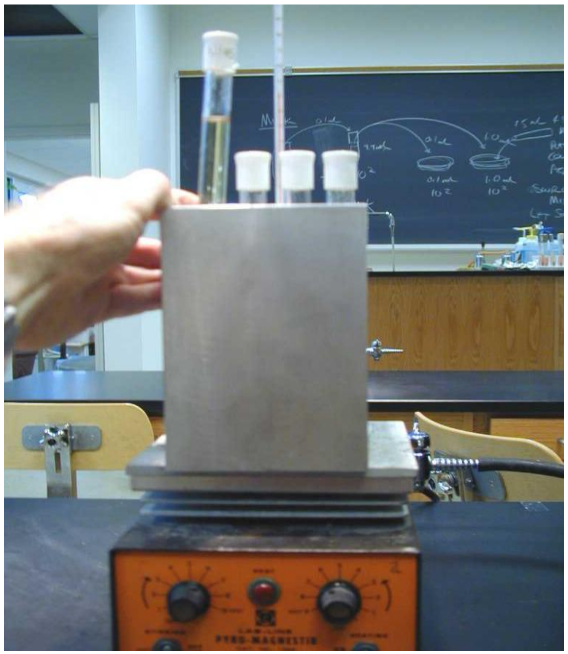


Cho mẫu vào đĩa petri vô trùng
(Place the sample in a sterile Petri dish)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Kỹ thuật hộp đổ (Pouring)



Giữ ấm môi trường
(Keep the medium warm)

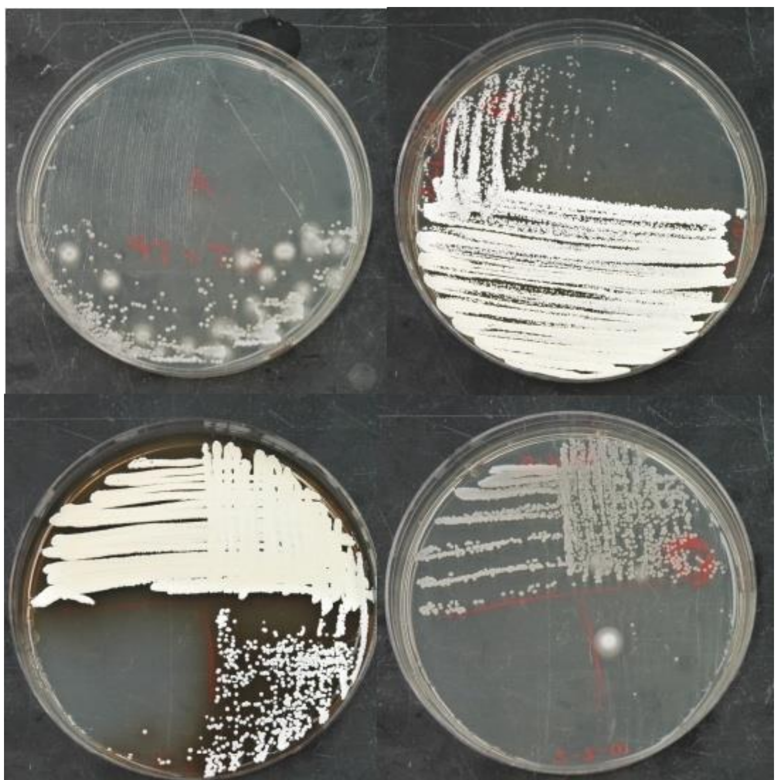
Đổ MT vào đĩa đã cấy mẫu
(pour the medium into the inoculated petri dish)

Chờ MT đặc và đem ủ
(Wait for the medium to thicken and incubate)

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Bước 3 (step 3): chọn khuẩn lạc mong muốn và tiếp tục làm thuần (Select the desired colony and continue purification)



Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Bước 4: kiểm tra độ thuần khiết bằng mắt hoặc bằng KHV (Check purity visually or with a microscope)

Khuẩn lạc của vi khuẩn
(Colonies of bacteria)

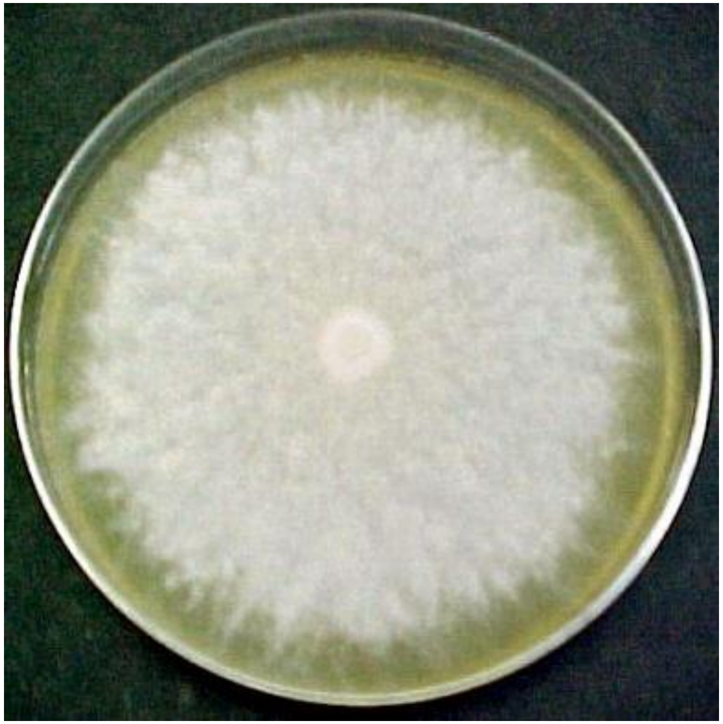
Candida

Phân lập giống vi sinh vật (Isolation of microorganisms)

- Phương pháp phân lập (Isolation method)

+ Bước 4: kiểm tra độ thuần khiết bằng mắt hoặc bằng KHV (Check purity visually or with a microscope)

Penicillium



Mucor

Các phương pháp cải tạo và tạo giống mới
(New methods of improvement and breeding)

1. Phương pháp huấn luyện thích nghi
   (Adaptive training methods)

2. Phương pháp biến đổi hệ thống di truyền
   (Methods of altering the genetic system)

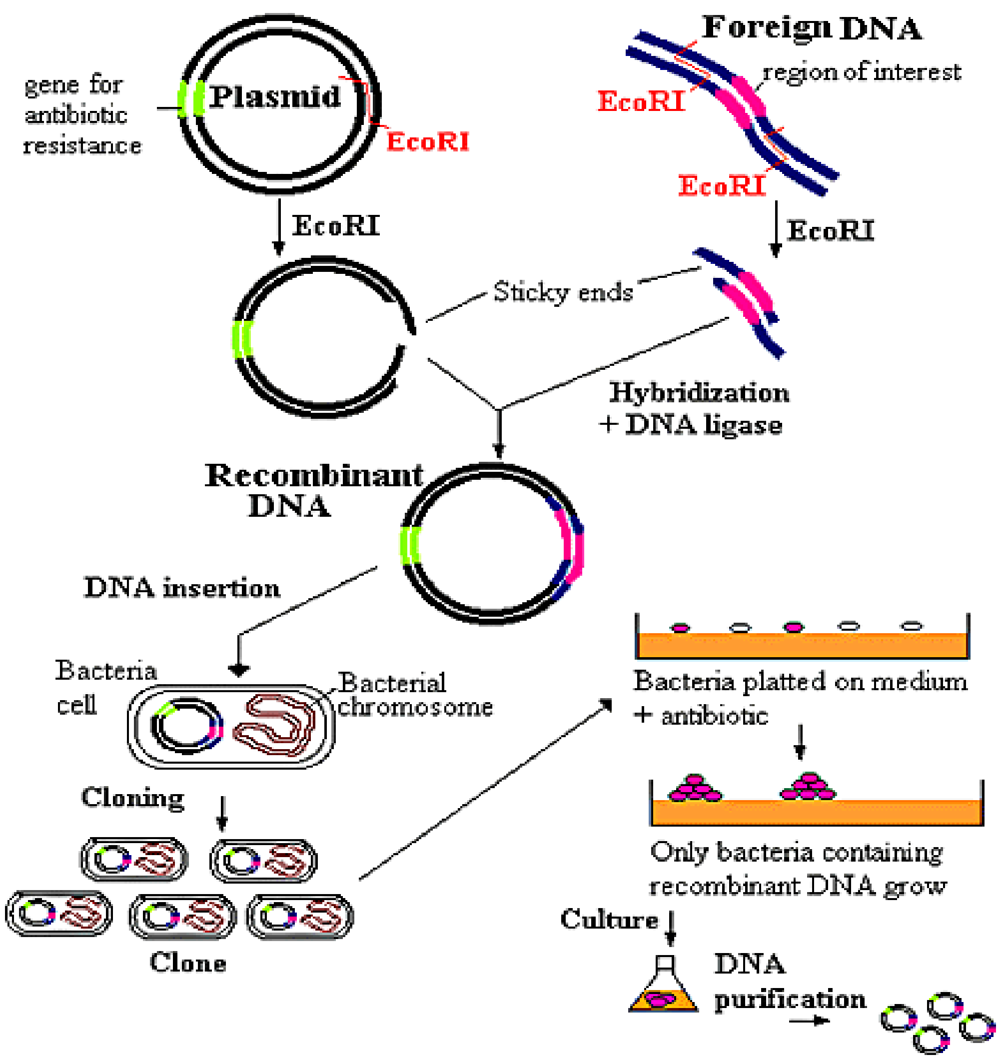
   + Kỹ thuật di truyền cổ điển
   (Classic genetic engineering)

      Kỹ thuật lai giống (Crossbreeding techniques)

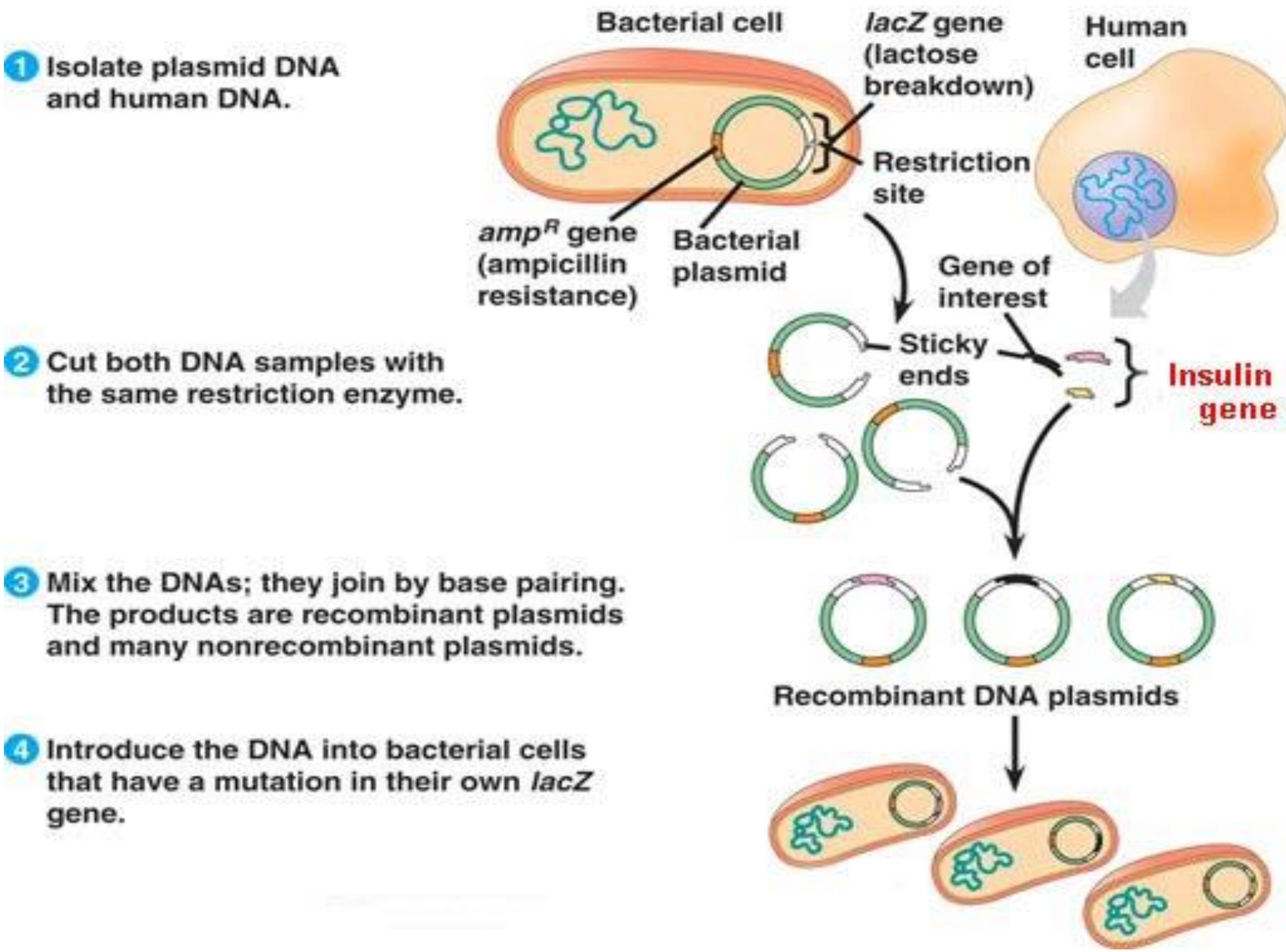
      Kỹ thuật gây đột biến nhân tạo
      (Techniques of artificial mutation)

   + Kỹ thuật di truyền hiện đại
   (Modern genetic engineering)

+ Kỹ thuật di truyền hiện đại (Modern genetic engineering)



+ Kỹ thuật di truyền hiện đại (Modern genetic engineering)



CÁC PHƯƠNG PHÁP GIỮ GIỐNG
(MAINTAIN STRAINS METHODS)

I. Ý NGHĨA CỦA CÔNG TÁC GIỮ GIỐNG VSV
(THE MEANING OF THE WORK OF MICROBIOLOGY MAITAIN)

Giữ được những đặc tính quý (không bị thoái hóa) của vi sinh vật và bảo đảm cung cấp giống cho các quá trình sản xuất (Preserves precious (no degradation) properties of microorganisms and ensures seed supply for production processes)

Nhiệm vụ của việc giữ giống (The job of keeping the breed)

Sử dụng các kỹ thuật cần thiết để giữ cho vsv có tỷ lệ sống cao, các đặc tính di truyền không bị biến đổi và không bị tạp nhiễm (Use the techniques needed to keep vsv high, its genetic traits unaltered and free from adulteration).

CÁC PHƯƠNG PHÁP GIỮ GIỐNG
(MAINTAIN STRAINS METHODS)

II. CÁC PHƯƠNG PHÁP GIỮ GIỐNG VI SINH VẬT (METHODS TO KEEP MICROBIOLOGY)

2.1. Giữ giống trên môi trường thạch (Keep strains on agar medium)

2.2. Giữ giống trên môi trường thạch dưới lớp dầu khoáng (Keep the same on the agar medium under the mineral oil layer)

2.3. Giữ giống trên cát, đất, hạt (Keep strains on sand, soil, seed)

2.4. Phương pháp đông lạnh (Frozen method)

2.5. Giữ giống bằng phương pháp đông khô (Keep varieties by freeze-drying method)

Các công tác chính trong chuẩn bị giống cho sản xuất (Main tasks in preparing strains for production)

+ Kiểm tra độ thuần khiết của giống trong lên men (Check the purity of the variety in fermentation).

+ Kiểm tra khả năng hồi biến của giống (Check the breed's ability to reproduce).

+ Hoạt hóa giống sau một thời gian sử dụng (Activate the same after a period of use).

+ Giữ giống bằng PP thích hợp (Keep varieties by appropriate methods).

IV. Công nghệ lên men

5.1. Khái quát về sự lên men

a/ Khái quát lên men

b/ Ưu thế của tế bào VSV công nghiệp

c/ Sơ đồ tổng quát

5.2. Hê thống thiết bị

5.3. Vận hành quy trình lên men

5.1. Khái quát về sự lên men

a/ Khái quát lên men

Theo L. Pasteur lên men là sự sống thiếu không khí (Kỵ khí)

Khái niệm lên men (fermentation): tất cả các quá trình biến đổi do VSV thực hiện trong điều kiện yếm khí (thiếu O_2) hay hiếu khí.

→ Tích lũy các sản phẩm trao đổi chất hữu ích cho người trong quá trình nuôi cấy VSV.

Lên men công nghiệp (industrial fermentation): 10 – 1.000.000 lít

5.1. Khái quát về sự lên men

b/ Ưu thế của tế bào VSV công nghiệp

- Hấp thu dinh dưỡng nhanh và đồng hóa ở mức độ cao
- Nguyên liệu nuôi đơn giản, rẻ tiền
- Thích ứng với nhiều loại môi trường
- Thực hiện nhiều phản ứng hóa sinh khác nhau
- Dễ ứng dụng công nghệ di truyền tạo chủng VSV mới năng suất cao.

5.1. Khái quát về sự lên men

Qui trình lên men được tiến hành theo các giai đọan cơ bản sau

Giống VSV

↓

Nhân giống cấp 1,2…

→

Nguyên liệu

↓

Chuẩn bị MTr và hấp KTr

↓

Trộn giống với MTr

↓

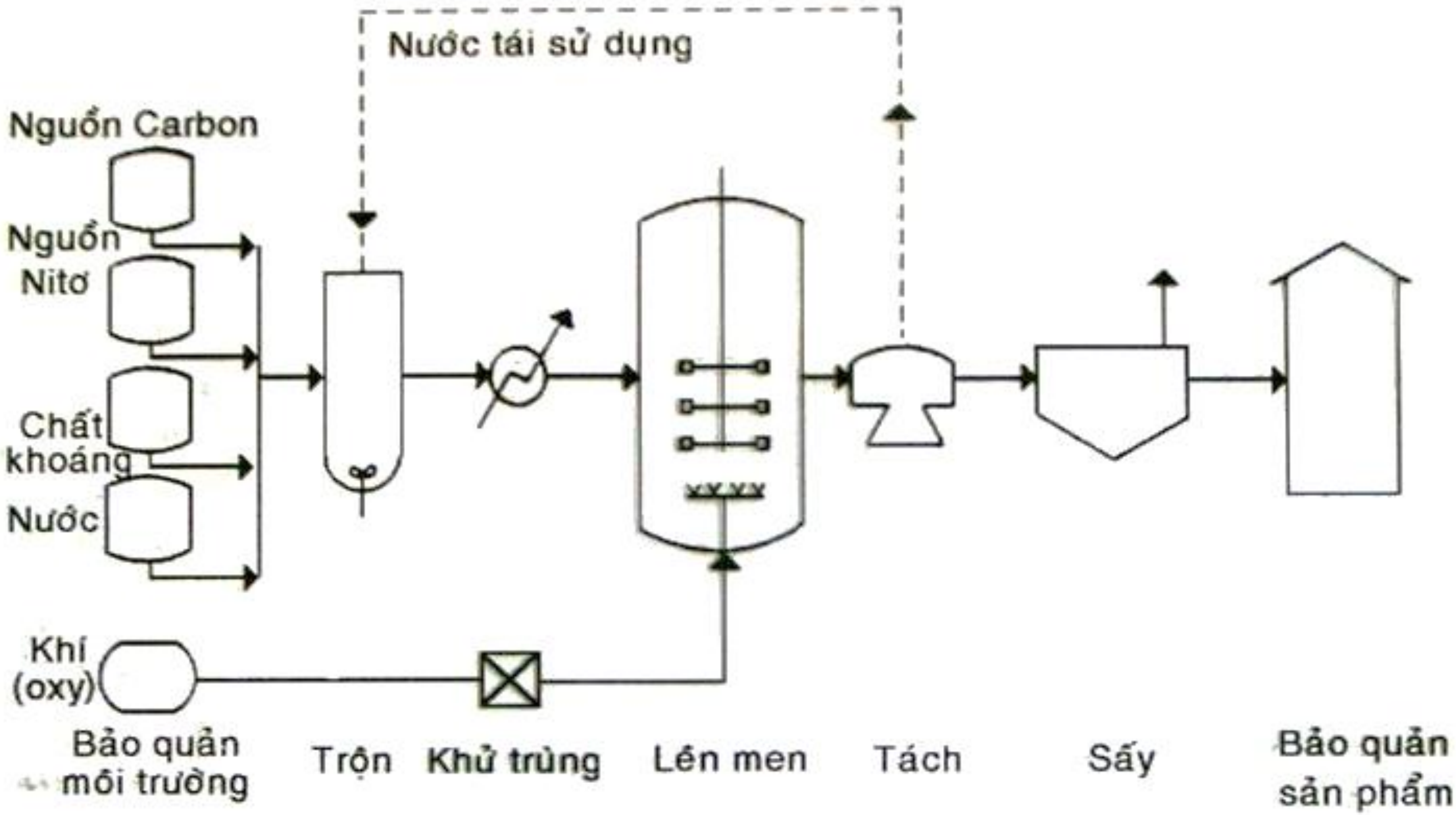
Lên men trong điều kiện thích hợp

↓

Thu hồi sản phẩm

5.1. Khái quát về sự lên men

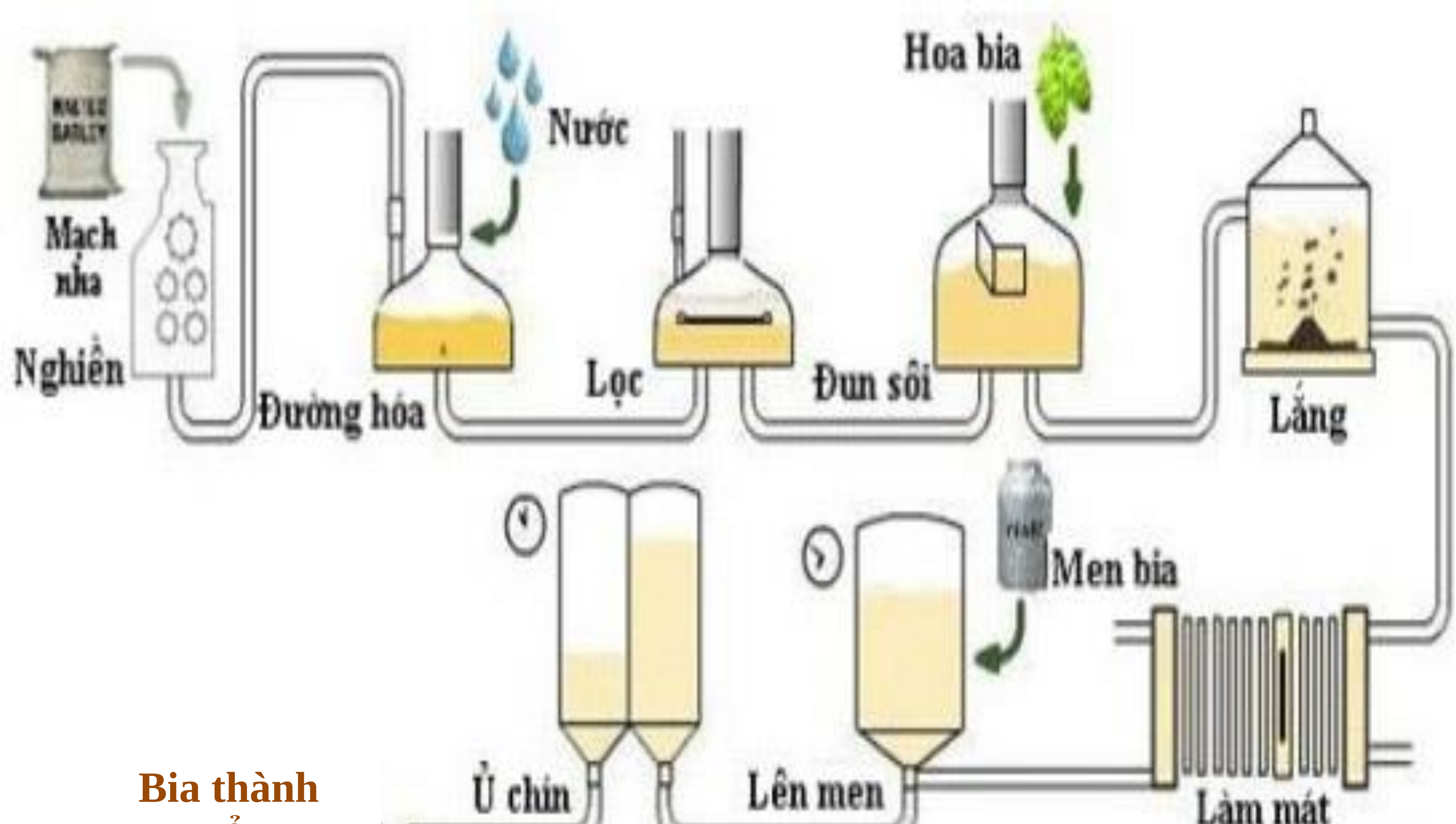
c/ Sơ đồ tổng quát



Sơ đồ khái quát quá trình lên men công nghiệp

5.1. Khái quát về sự lên men

c/ Sơ đồ tổng quát



Bia thành phẩm

Sơ đồ khái quát quá trình lên men bia

5.2. Hệ thống thiết bị

a/ Các thiết bị trước lên men

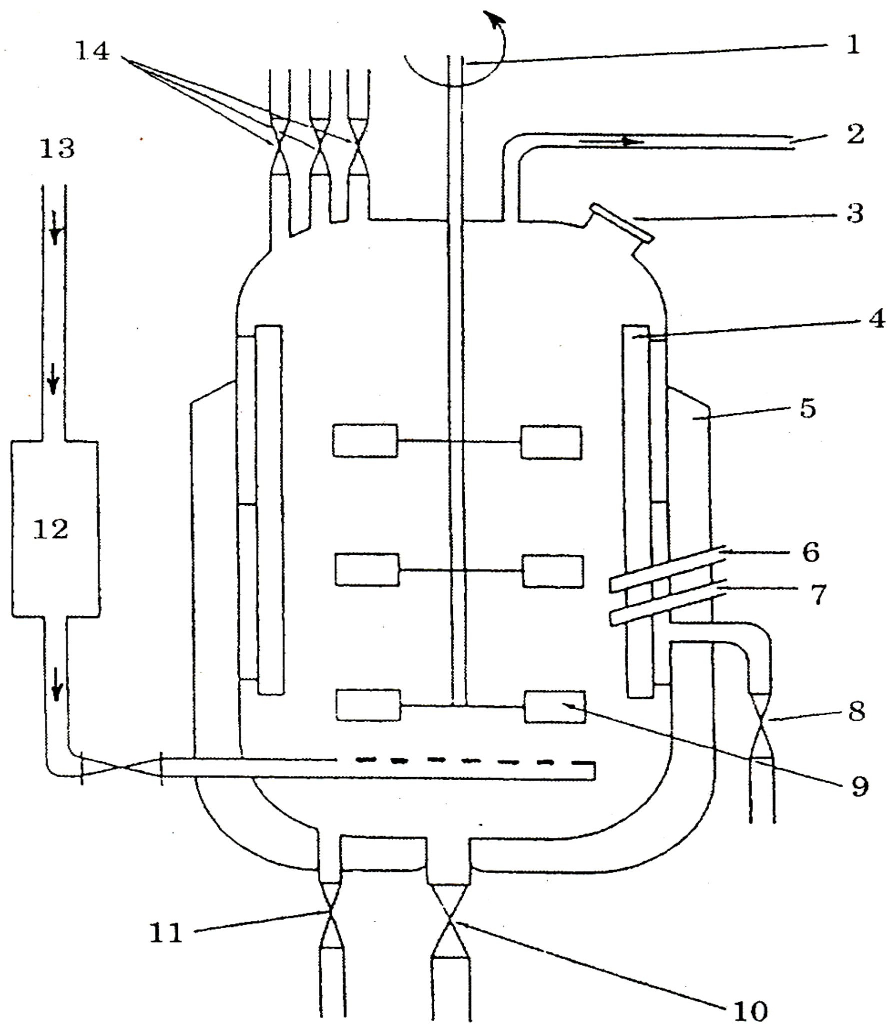
b/ Các kiểu lên men

c/ Bioreactor (Bồn lên men - fermentor)

d/ Các thiết bị sau lên men

5.2. Hệ thống thiết bị

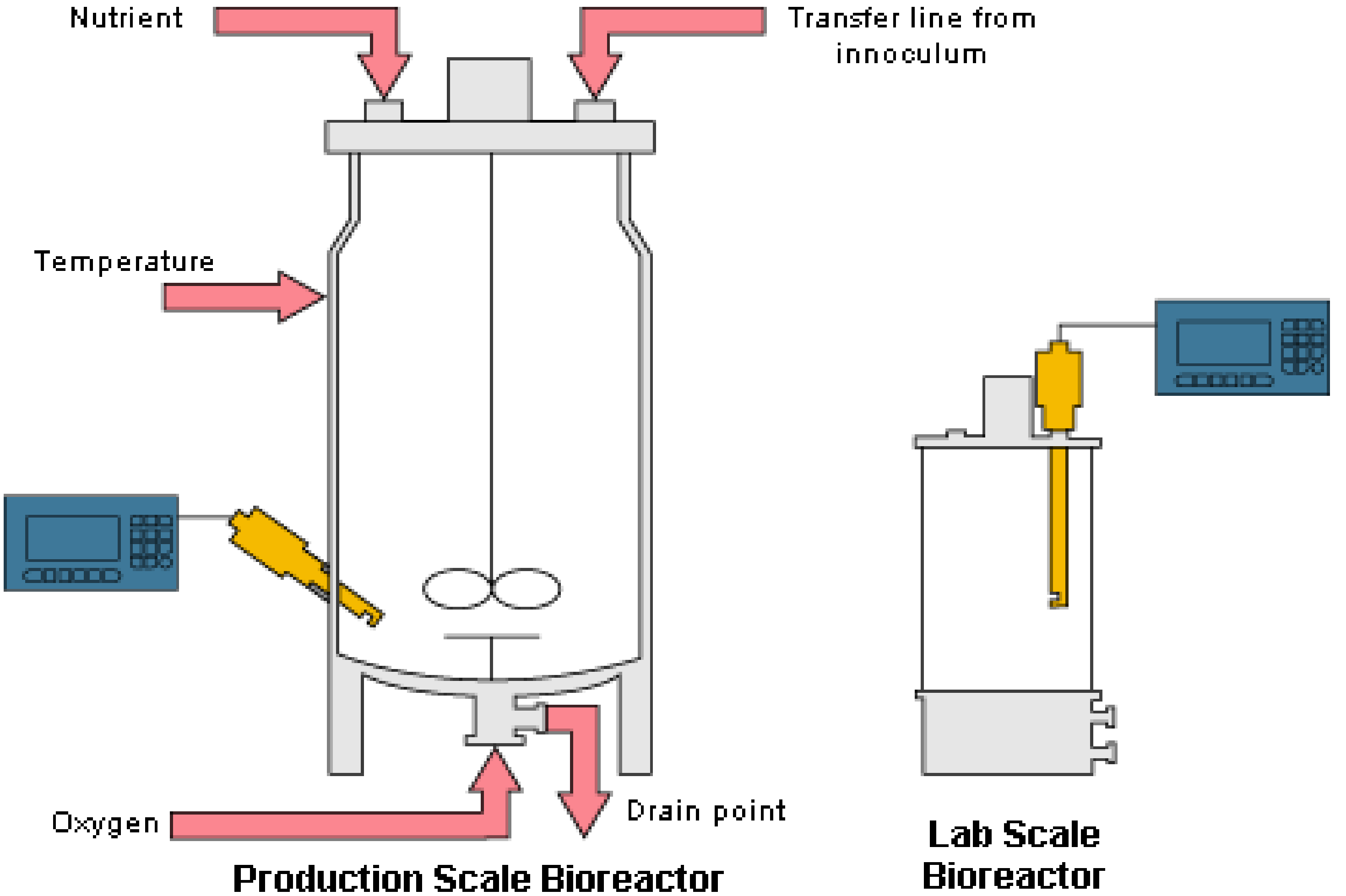
a/ Các thiết bị trước lên men



1. Trục khuấy.
2. Không khí đi ra.
3. Nắp phía trên với kính nhìn.
4. Tấm thép giúp gia, giảm nhiệt nhanh.
5. Lớp nước để làm nguội và làm nóng.
6. Nơi đo pH và nồng độ O_2.
7. Nơi đo và điều chỉnh nhiệt độ.
8. Van lấy mẫu.
9. Cánh khuấy.
10. Van xả dung dịch sau lên men.
11. Van điều chỉnh hơi nước để khử trùng
12. Bộ phận lọc không khí.
13. Đường vào của không khí.
14. Các van của đường nạp môi trường lên men, giống vi sinh vật và chất phá bọt.

5.2. Hệ thống thiết bị

a/ Các thiết bị trước lên men



Mô hình thiết bị lên men

5.2. Hệ thống thiết bị

Laboratory scale bioreactor

5.2. Hệ thống thiết bị

Pilot scale bioreactor

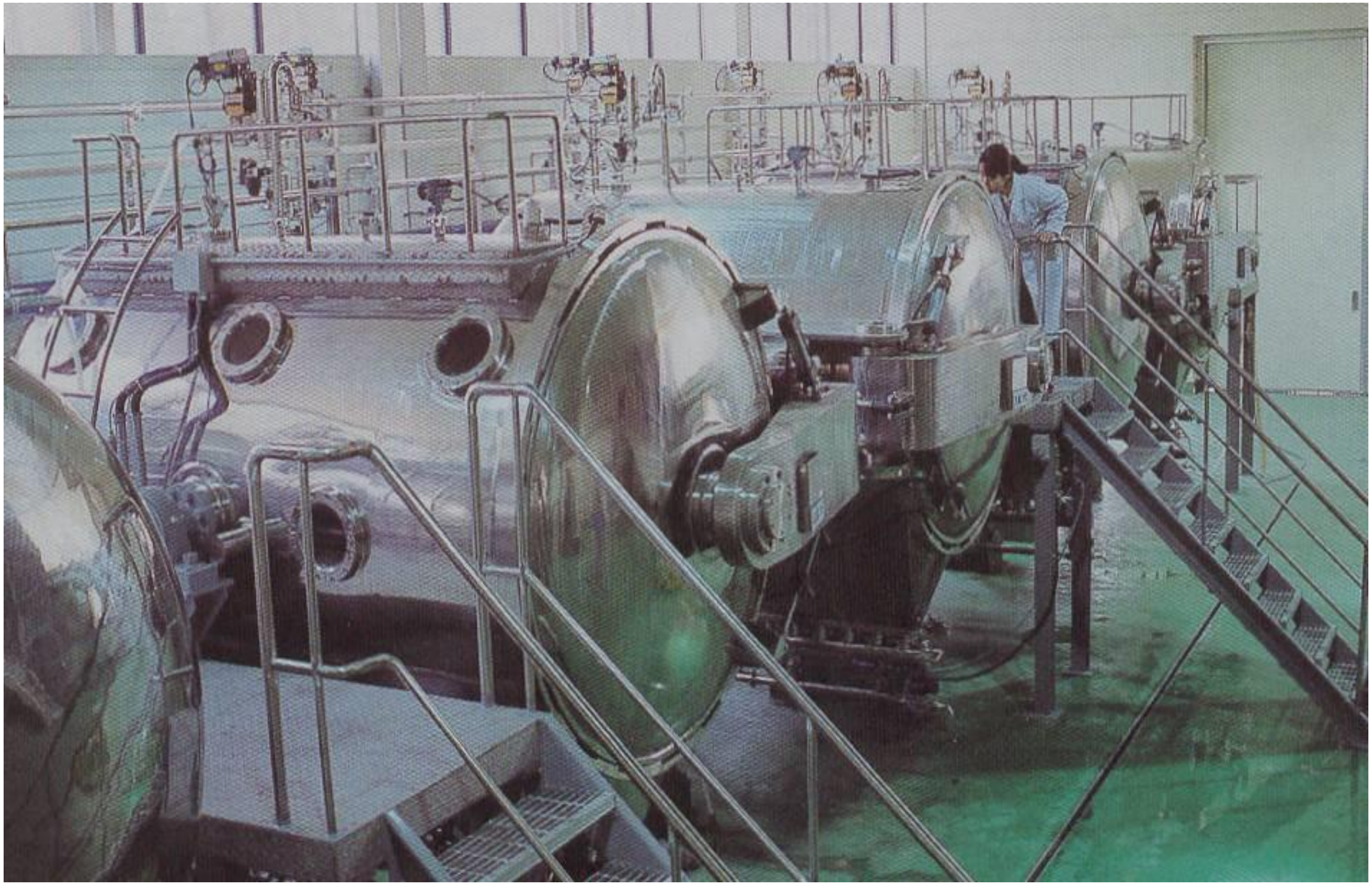
5.2. Hệ thống thiết bị

Pilot scale bioreactor

5.2. Hệ thống thiết bị

Pilot scale bioreactor

5.2. Hệ thống thiết bị



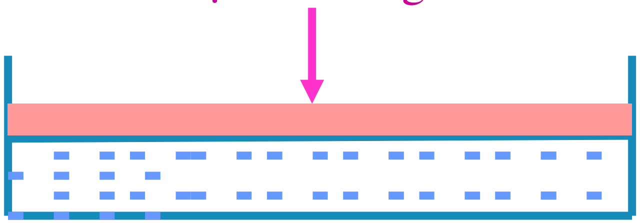
Industrial scale bioreactor

b/ Các kiểu lên men

- **Lên men bề mặt**: Môi trường lỏng chứa trong khay với với chiều sâu không quá 5cm và tế bào mọc lớp trên bề mặt tiếp xúc trực tiếp với không khí.

Cột MT cao 3-5cm, bề mặt thoáng rộng

VSV phát triển trên bề mặt MT lỏng



PP dùng cho nấm mốc, XK, VK

Sản xuất axit hữu cơ, thu sinh khối…

PP đơn giản, cần diện tích lớn, khó tự động hóa

Ít được sử dụng

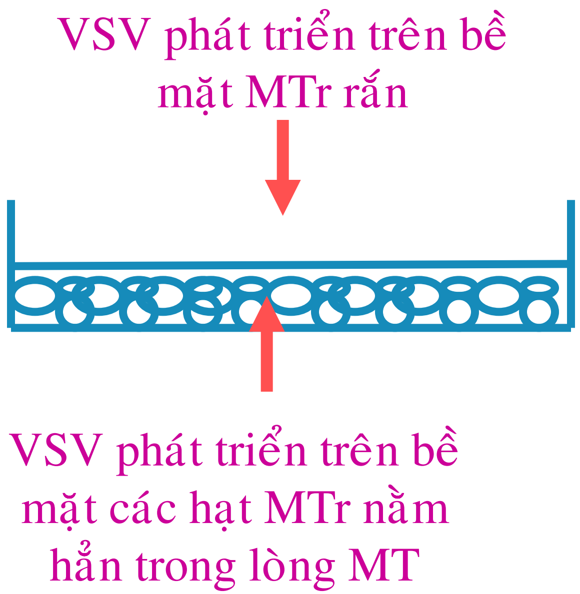
b/ Các kiểu lên men

- **Nuôi cấy lắc** dùng trong PTN, oxygen cung cấp cho môi trường bị khuấy trộn nhờ máy lắc.

Máy lắc

b/ Các kiểu lên men

- **Lên men bán rắn**: Cơ chất rắn ẩm để lớp mỏng trên khay



Thích hợp cho nuôi cấy nấm mốc, XK ít dùng cho VK.

PP này được sd nhiều trong:

+ SX kháng sinh

+ SX enzym

+ Làm tương, chao…

b/ Các kiểu lên men

- **Lên men chìm** (submerged fermentation) là kiểu lên men chủ yếu trong công nghiệp.

Laboratory scale bioreactor

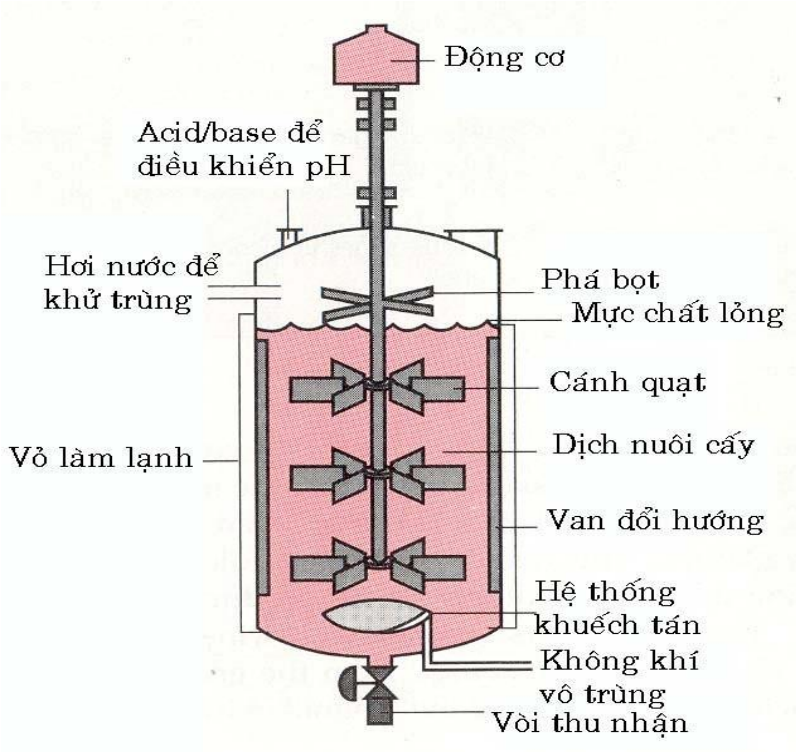
5.2. Hệ thống thiết bị

c/ Bioreactor

Bioreactor (fermenter) là vật chứa (vessel) các tế bào, chiết xuất tế bào hay các enzyme thực hiện phản ứng sinh học

Thiết bị có dung tích từ 10-100 -100.000 lít, được làm bằng thép không rỉ, có hệ thống đo lường và điều chỉnh nhiệt độ, pH và oxygen.

Bioreactor thường có hình trụ với một hệ thống cánh quạt như chân vịt tàu thủy nhằm trộn đều và cung cấp oxygen.



Thiết bị lên men - Bioreactor

5.2. Hệ thống thiết bị

c/ Bioreactor

- Bioreactor phải đảm bảo độ vô trùng
- Có bộ cảm biến (sensor) để giám sát nhiều thông số (PH, nhiệt độ, oxy) và có thể tự điều chỉnh
- Đảm bảo các điều kiện tối ưu cho sự phát triển của VSV

Mẫu bioreactor phải thỏa mãn các đòi hỏi khác như sau:

- Các vật cản: làm tăng hiệu quả khuấy,
- Kiểm soát phá bọt: tự động việc phá bọt,
- Kiểm soát nhiệt độ: mật độ tb tăng lên, nhiệt tỏa ra và nước lạnh được lưu thông trong các vòng trao đổi nhiệt /vỏ bọc bồn lên men,
- Kiểm soát pH: giữ pH ổn định,
- Các cửa phụ: bổ sung tế bào nuôi và các chất môi trường.

5.2. Hệ thống thiết bị

d/ Các thiết bị sau lên men

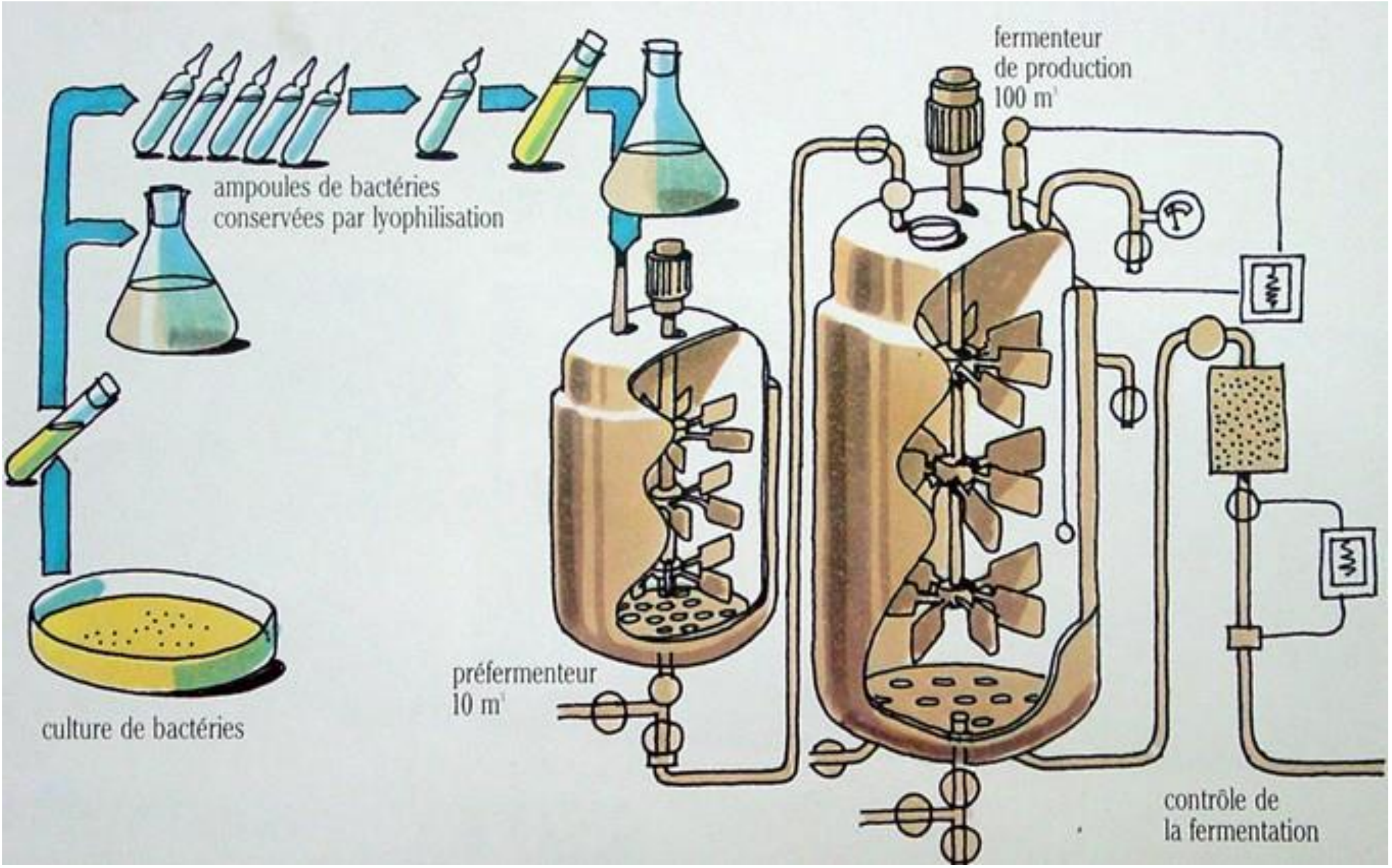
- Thiết bị tách tế bào: Các bồn lắng, các loại máy li tâm, bộ lọc ép hoặc lọc chân không trống quay. Đây là các thiết bị thường sử dụng trong công nghệ thực phẩm;
- Thiết bị phá vỡ tế bào: Dùng thu nhận các sản phẩm nội bào;
- Thiết bị cô đặc: Làm bốc hơi, lọc màng, trao đổi ion, hấp thu;

- Thiết bị dùng cho phản ứng tạo sản phẩm;
- Thiết bị kết tinh dùng cho một số sản phẩm như bột ngọt (monosodium glutamate – MSG), citric acid;
- Sắc kí dùng cho tinh chế sản phẩm;
- Thiết bị sấy;
- Các thiết bị để chế biến và bảo quản sản phẩm như rửa, sấy....

5.3. Vận hành quy trình lên men

a/ Nhân giống

Hệ thống nhân giống trong PTN với các bioreactor 10 lít - 20 lít



Sơ đồ hệ thống nhân giống trong lên men công nghiệp

5.3. Vận hành quy trình lên men

b/ Các thông số kỹ thuật của bioreactor

Điều cần thiết là phải theo dõi và kiểm soát các thông số nuôi cấy như lượng oxygen hòa tan, pH, nhiệt độ và sự khuấy trộn trong quá trình nuôi cấy. Sự thay đổi các thông số này có ảnh hưởng lớn đến quá trình tạo thành sản phẩm và ổn định hoạt tính sản phẩm.

- Oxy hòa tan
- Nhiệt độ
- pH
- Khuấy trộn

5.3. Vận hành quy trình lên men

c/ Các phương thức lên men

Cung cấp MT dinh dưỡng theo nhiều phương thức khác nhau

- **Lên men gián đoạn hay từng mẻ** (Bath fermentation). Đây là dạng lên men được sử dụng đầu tiên khi bắt đầu có công nghiệp lên men. Môi trường nuôi cho một lần vào bồn lên men, cấy giống và thực hiện lên men đến thu sản phẩm. Xong một mẻ hay một đợt như vậy, làm lại mẻ mới.

- **Lên men gián đoạn bổ sung** (fed-bath fermentation) dinh dưỡng: Khi dinh dưỡng giảm, có thể bổ sung thêm

5.3. Vận hành quy trình lên men

c/ Các phương thức lên men

- Lên men liên tục (Continuous fermentation):

Trong quá trình lên men, nguồn dinh dưỡng đầu vào được *bổ sung liên tục và dịch lên men được lấy bớt ra liên tục*

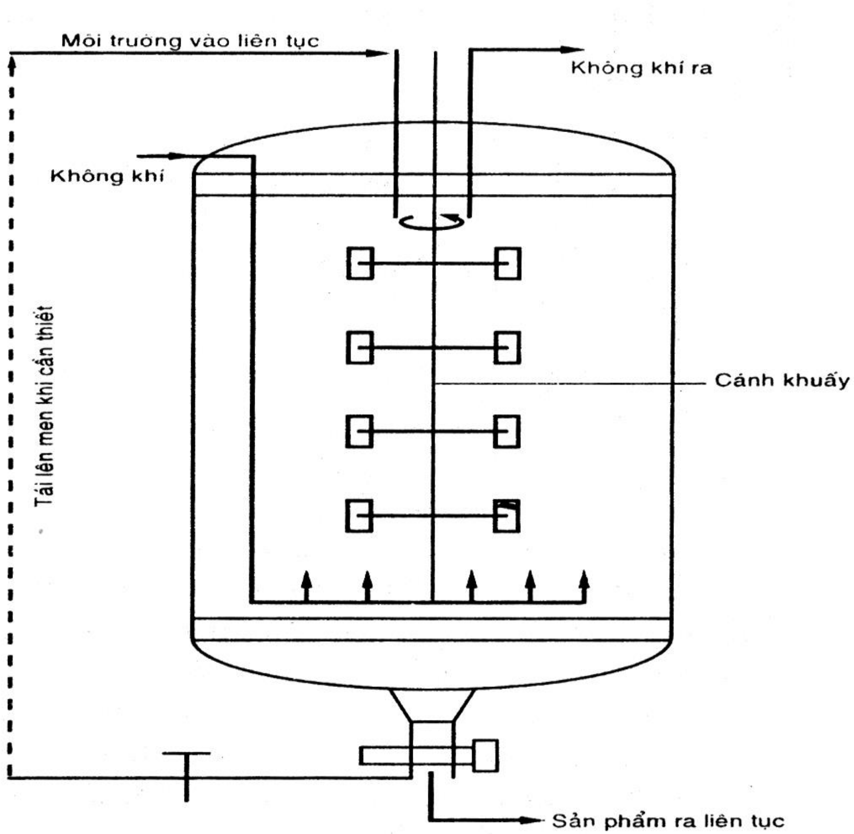
→ Bioreactor luôn ở trạng thái ổn định, sản phẩm tạo ra tốt hơn. Môi trường đi ra có thể để lắng tế bào rồi lấy bổ sung lại.

→ Cho sản phẩm nhiều hơn

→ Không phải nhân giống lại sau mỗi mẻ và *thời gian lên men có thể kéo dài hơn*

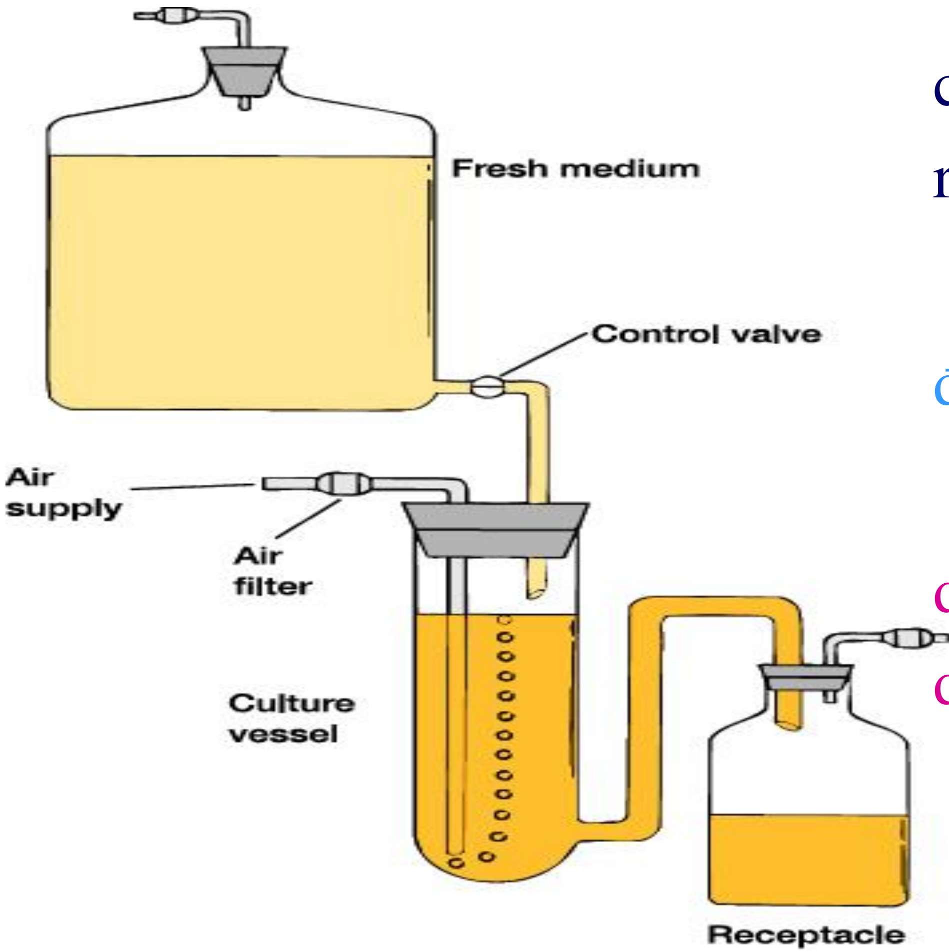
5.3. Vận hành quy trình lên men

➢**Nuôi cấy liên tục (continuous fermentation):** có thể được thực hiện trong một thiết bị, cũng có thể được thực hiện trong nhiều thiết bị.



Lên men liên tục trong một thiết bị lên men

5.3. Vận hành quy trình lên men



Nếu chất lượng sp cuối cùng chưa đáp ứng được nhu cầu đặt ra, có hai cách khắc phục:

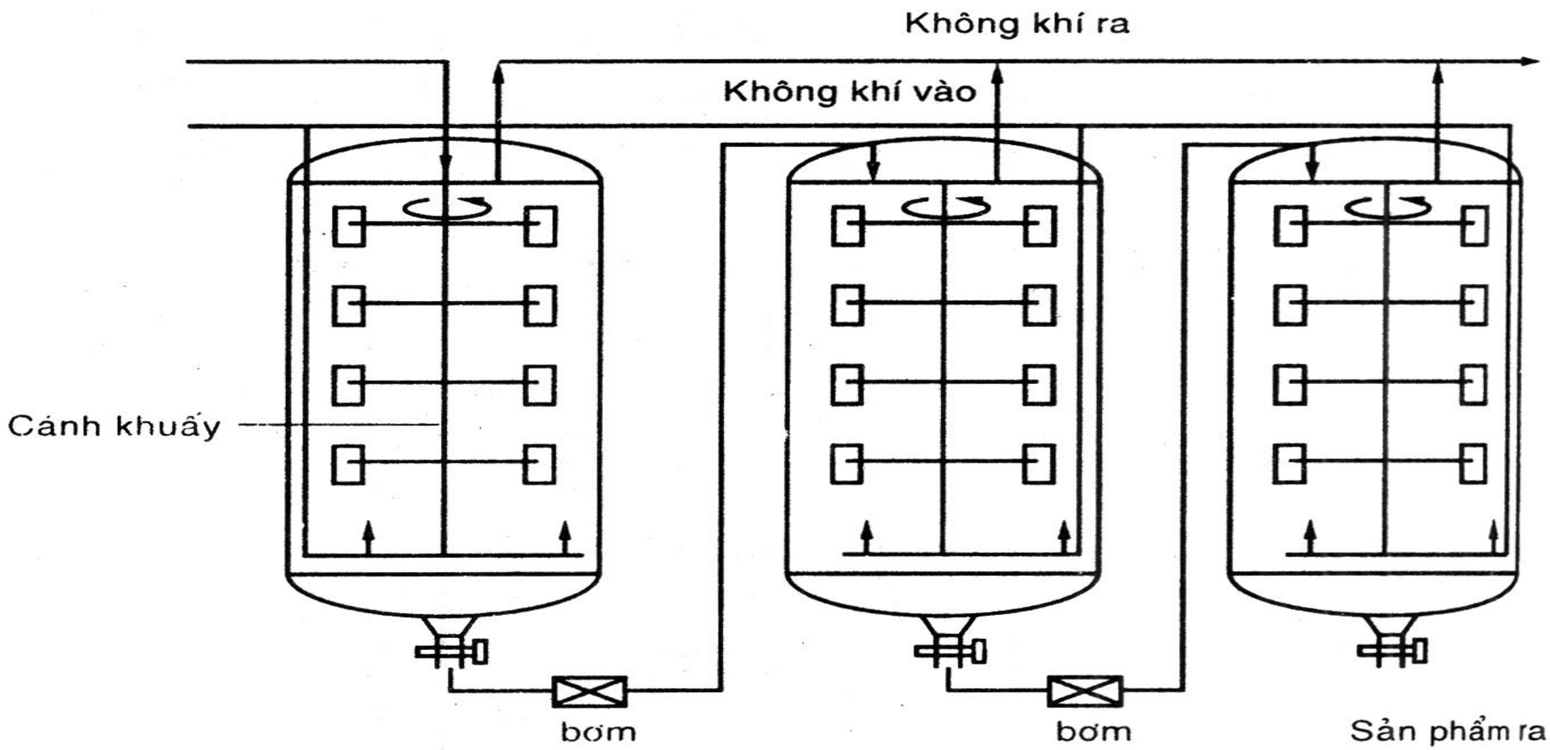
C1: cho tốc độ MT vào và tốc độ sản phẩm ra chậm lại

C2: tiến hành hoàn lưu dung dịch lên men hòa chung với dòng MT để tái lên men.

+ Nhược điểm: tốc độ dòng chảy chậm, mất nhiều thời gian.

5.3. Vận hành quy trình lên men

Để khắc phục nhược điểm trên, người ta đặt các thiết bị lên men liên tục nhau, có cùng tốc độ dòng MT vào và sản phẩm lên men ra. Tuy nhiên hệ thống này có nhược điểm khá lớn – là chi phí rất cao.



Hệ thống len men liên tục nhiều thiết bị lên men

5.3. Vận hành quy trình lên men

d/ Điều khiển phản ứng sinh học

Quá trình nuôi trải qua 2 giai đoạn:

- Giai đoạn đầu cần các điều kiện cho tế bào sinh sản nhanh, nhiều để tạo sinh khối (biomass) lớn.

- Giai đoạn sau các tế bào được khống chế để thực hiện tối đa các phản ứng mong muốn.

5.3. Vận hành quy trình lên men

e/ Thu sản phẩm và tinh chế

Thu sản phẩm là công việc tốn kém. Chi phí này chiếm tới 50% giá thành hoặc cao hơn. Các kỹ thuật của công nghệ hoá học, công nghệ thực phẩm được sử dụng chủ yếu ở bước này. Khó khăn lớn đầu tiên là tách nước của tế bào ra khỏi sản phẩm. Tiếp theo, từ dịch lên men thu đúng sản phẩm mong muốn.

Tất cả các bước liên quan chặt chẽ với nhau, nhưng các bước đầu đa dạng, biến hoá và khó kiểm soát, vì tế bào rất nhạy với những thay đổi của ngoại cảnh.

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.1 Các nhóm sản phẩm căn bản

5.2. Sản xuất sinh khối vi sinh vật

5.3. Sản xuất vaccine

5.4. Protein đơn bào (SCP)

5.5. Rượu bia và cồn nguyên liệu

5.6. Metabolite sơ cấp

5.7.Các chất kháng sinh

5.8. Biopolymer và biosurfactant

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.1. Các nhóm sản phẩm căn bản

- Sinh khối vi sinh vật,
- Enzyme vi sinh vật,
- Sản phẩm TĐC vsv: các chất trao đổi sơ cấp và thứ cấp,
- Sản phẩm tái tổ hợp nhờ kỹ thuật di truyền,
- Sản phẩm của chuyển hóa sinh học,
- Các biopolymer và biosurfactant.

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.2. Sản xuất sinh khối vi sinh vật

- Giống: men bia, giống nấm trồng và dược liệu,
- Men bánh mì,
- Phân vi sinh (Microbial Fertilizer),
- Insecticides,
- Probiotic.

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.3. Sản xuất vaccine

- Vaccin cổ điển,
- Vaccin công nghệ gene,
- Quy trình sản xuất vaccine.

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.4. Protein đơn bào (SCP)

Sinh khối vi khuẩn, nấm men, nấm sợi, vi tảo có nhiều protein nên gọi là protein đơn bào (Single cell protein – SCP).

Khái niệm protein đơn bào hiểu theo 2 nghĩa:

- Gồm cả sinh khối của tế bào với nhiều chất chứ không chỉ protein.

- Không chỉ sinh vật đơn bào, mà có thể là nấm sợi đa bào

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.5. Rượu bia và cồn nguyên liệu

- Sản xuất ethanol

Các giống vi sinh vật: nấm men (*S. cerevisiae*), vi khuẩn Zymommonas mobilis, vi nấm chịu nhiệt...

Sự tham gia của Kỹ thuật di truyền: phân lập và cải tiến các chủng VSV có khả năng sử dụng các loại đường từ các nguồn phụ phẩm khác như sữa, xylose, pentose.

Sản xuất cellulase giá rẻ.

- Chuyển sinh khối thực vật thành ethanol đang được tập trung nghiên cứu và sản xuất.

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.6. Metabolite

a/ Metabolite sơ cấp

- Tổng hợp amino acid sử dụng trong thực phẩm: L – glutamic acid

Amino acid	Ứng dụng
Glutamid acid	Tăng hương
Glycine	Tổng hợp chất làm ngọt
Phenylalanin	Chất làm ngọt, dịch truyền
Tryptophan	Dịch tryền tĩnh mạch, chống oxy hóa.
Isoleucin, Leucin	Dịch truyền tĩnh mạch

- Sản xuất axit hữu cơ: citric acid, lactic acid…
- Các vitamin: B2, B12, Biotin…

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.6. Metabolite

a/ Metabolite thứ cấp

Các chất kháng sinh, enzyme, alkaloid, các chất tăng trưởng và chất có hoạt tính sinh học

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.7. Các chất kháng sinh

- Penicillin
- Neomycin
- Penicillamine
- Cyclosporin
- Streptomycin

V. Các sản phẩm của công nghệ lên men

5.8. Biopolymer và biosurfactant

Đối tượng	Tác dụng
Công nghệ giấy	Làm ẩm, trải màu đều
Sơn	ổn định dịch sơn, chậm đóng cặn...
Nông nghiệp	Bảo quản tránh vón cục, tăng tính thấm
Kiến trúc, xây dựng	Tăng liên kết giữa sỏi đá và cát
Thực phẩm	Bảo quản, chống ôi thiu...
Thuộc da	Làm ẩm, tăng tính thấm