

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA**

**BÀI GIẢNG MÔN HỌC
CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PROTEIN,
AXIT AMIN VÀ AXIT HỮU CƠ**

**BIÊN SOẠN: TRƯƠNG THỊ MINH HẠNH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM – SINH HỌC**

ĐÀ NẴNG, NĂM 2006

MỤC LỤC

PHẦN I: CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PROTEIN TỪ VI SINH VẬT

Mở đầu

- Giới thiệu chung về đường hướng sản xuất protein
- Nhu cầu protein và khả năng sản xuất protein trên thế giới

Chương 1: Khái niệm chung về vi sinh vật

- 1.1. Các vi sinh vật tổng hợp protein và axit amin
 - Tảo
 - Nấm men và vi khuẩn
 - Nấm mốc và xạ khuẩn
- 1.2. Quá trình dinh dưỡng ở tế bào vi sinh vật
- 1.3. Cơ chế sinh tổng hợp protein
- 1.4. Các yếu tố tổng hợp protein

Chương 2: Sơ đồ dây chuyền công nghệ thu nhận các sản phẩm protein

- 2.1. Nguyên liệu và phương pháp xử lý
- 2.2. Nuôi cấy vi sinh vật
- 2.3. Tách protein, cô đặc và sấy

Chương 3: Sản xuất protein từ các nguồn hydrat cacbon

- 3.1. Nuôi cấy vi sinh vật trên dịch thủy phân các nguyên liệu thực vật
- 3.2. Nuôi cấy vi sinh vật trên dịch thủy phân than bùn
- 3.3. Nuôi cấy vi sinh vật trên dịch thủy phân gỗ
- 3.4. Nuôi cấy vi sinh vật trên nguyên liệu polysaccharit chưa thủy phân
- 3.5. Nuôi cấy vi sinh vật trên bã rượu từ nguyên liệu hạt và rỉ đường
 - Đặc tính nguyên liệu
 - Xử lý nguyên liệu
 - Sơ đồ dây chuyền công nghệ

Chương 4: Công nghệ sản xuất protein từ nguồn cacbua dầu mỡ, khí đốt

- 4.1. Nuôi cấy vi sinh vật trên nguyên liệu cacbua hydro lỏng
- 4.2. Nuôi cấy vi sinh vật trên khí cacbua hidro

Chương 5: Sản xuất thức ăn protein từ vi sinh vật

- 5.1. Protein từ nấm men
- 5.2. Protein từ tảo và vi khuẩn
- 5.3. Protein từ nấm sợi

PHẦN II: CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CÁC AXIT AMIN

Chương 1: Khái quát chung về axit amin

- 1.1. Đặc tính của các axit amin, vai trò và ứng dụng
- 1.2. Cơ chế điều chỉnh sinh tổng hợp các axit amin
- 1.3. Các phương pháp sản xuất các axit amin

Chương 2: Sản xuất lizin

- 2.1. Tổng hợp lizin từ tế bào vi sinh vật
- 2.2. Nguyên liệu và phương pháp xử lý
- 2.3. Quá trình sinh tổng hợp lizin
- 2.4. Tách và sấy lizin
- 2.5. Sơ đồ công nghệ sản xuất lizin

Chương 3: Sản xuất axit glutamic

- 3.1. Một số phương pháp sản xuất axit glutamic
- 3.2. Tổng hợp axit glutamic từ vi sinh vật
- 3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp axit glutamic từ rỉ đường

Chương 4 : Sản xuất valin và triptophan

- 4.1. Nguồn nguyên liệu
- 4.2. Nguồn vi sinh vật tổng hợp
- 4.3. Sơ đồ dây chuyền công nghệ

PHẦN III: CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CÁC AXIT HỮU CƠ

Mở đầu

Chương 1: Axit xitric

- 1.1. Một số khái niệm chung
- 1.2. Cơ sở lý thuyết của quá trình lên men axit xitric
- 1.3. Giống vi sinh vật và phương pháp nuôi cấy
- 1.4. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy
- 1.5. Lên men
 - 1.5.1. Phương pháp lên men bề mặt
 - 1.5.2. Phương pháp lên men bề sâu
- 1.6. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình
- 1.7. Xử lý dịch lên men bằng phương pháp hóa học và thu nhận sản phẩm L: Trung hòa - Phân giải xitrat canxi - Lọc - Kết tinh - Sấy

Chương 2: Axit lactic

- 2.1. Khái niệm chung
- 2.2. Vi sinh vật và nguyên liệu
- 2.3. Cơ sở lý thuyết của quá trình lên men lactic
- 2.4. Sơ đồ công nghệ sản xuất axit lactic
 - 2.4.1. Lên men lactic
 - 2.4.2. Xử lý dịch lên men - lọc
 - 2.4.3. Phân giải lactac canxi
 - 2.4.4. Cô đặc

Chương 3: Axit axetic

- 3.1. Mở đầu - Khái niệm chung
- 3.2. Nguyên liệu và vi sinh vật

- 3.3. Cơ sở lý thuyết của quá trình lên men axetic
- 3.4. Các phương pháp lên men axetic
- 3.5. Chung cất axit axetic
- 3.6. Sơ đồ công nghệ sản xuất axit axetic

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đức Lượng, Công nghệ vi sinh tập 2, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, 2002
2. **Lương Đức Phẩm, Hồ Xưởng, Vi sinh tổng hợp, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, Hà Nội, 1978**
3. TS Nguyễn Hữu Phúc, Giáo trình công nghệ vi sinh, Thành phố Hồ Chí Minh, 2001
4. PGS. TS Trần Minh Tâm, Công nghệ vi sinh ứng dụng, Nhà xuất bản nông nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh, 2000
5. Robert Noyes , Protein food supplement, Noyes Development corporation, Park Ridge, New Jerbey, USA (1969)
6. Richard I Matelles and Steven, Single - Cell Protein, R. Tannebaum Editors, Cambrige, Massachusettes and London, England (1978)

PHẦN 1

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PROTEIN

MỞ ĐẦU

1. Vai trò của protein đối với con người:

- Cơ thể người và động vật thường xuyên đòi hỏi cung cấp các chất dinh dưỡng có trong thức ăn để có thể tiến hành trao đổi chất, trước hết nhằm duy trì sự sống, tăng cường sinh trưởng và phát triển.

- Thức ăn, ngoài nước còn gồm những nhóm chất: protein, chất béo, glucit, vitamin, muối khoáng, các chất gia vị, trong đó phần quý hiếm nhất là protein.

- Protein là nguồn nitơ duy nhất cho người và động vật. Trong quá trình tiêu hoá của người và động vật, protein phân giải thành khoảng 20 axit amin thành phần, trong đó có 8 axit amin không thay thế (hoặc 9 đối với trẻ em, 10 đối với lợn và 11 đối với gia cầm) cần phải có sẵn trong thức ăn. Nếu không nhận được các axit amin này cơ thể sẽ bị bệnh hoặc chết.

- Thiếu protein sẽ dẫn đến nhiều bệnh tật hết sức hiểm nghèo:

+ Bệnh thiếu protein lần đầu tiên được phát hiện ở Châu Phi, có tên gọi quốc tế là Kwashiorkor, hiện này là bệnh phổ biến ở nhiều vùng trên thế giới. Trẻ em mắc bệnh này chậm lớn, còi cọc, kém phát triển về trí tuệ. Bệnh này có thể điều trị bằng cách thêm vào khẩu phần bệnh nhân một lượng thích đáng các loại protein có phẩm chất tốt như casein. Tuy nhiên nhiều tài liệu cho thấy sự kém phát triển về trí tuệ vì bệnh này không phục hồi được và ảnh hưởng đến toàn bộ cuộc đời của bệnh nhân.

+ Về mặt sinh lý, thiếu protein dẫn đến giảm thể trọng. Hàng ngày cơ thể người trưởng thành có tới 100 tỉ tế bào chết và cần thay thế. Thiếu protein thì trước hết protein của gan, máu và chất nhày niêm mạc, ruột được huy động để bù đắp. Và như vậy sẽ dẫn đến suy gan, số lượng kháng thể trong máu giảm đi, sức đề kháng của cơ thể đối với bệnh bị yếu.

+ Về nhu cầu protein của người, nhiều nhà nghiên cứu cho biết dao động trong khoảng 80 – 120g/ngày.

2. Định nghĩa về sinh khối:

Sinh khối là toàn bộ tế bào vi sinh vật (biomas) thu nhận được trong quá trình lên men. Nó được sử dụng như một nguồn dinh dưỡng protein cho người và động vật, đôi khi đồng nghĩa với protein đơn bào (single cell protein – SCP).

3. Protein đơn bào và đa bào:

Cụm từ “ protein đơn bào” được dùng để chỉ nguồn protein mới tìm ra từ những cơ thể đơn bào (từ vi sinh vật), phân biệt nó với protein từ động vật và thực vật (protein đa bào và protein truyền thống).

3.1. Protein đa bào: là nguồn dinh dưỡng quan trọng nuôi sống loài người từ trước tới nay. Đây là nguồn cung cấp protein quan trọng nhất.

Tuy nhiên, do tốc độ phát triển dân số quá nhanh nên nguồn protein này không còn đủ để cung cấp cho nhu cầu ngày càng tăng của con người. Hiện nay trên thế giới có khoảng 2/3 dân số đang đứng trước thực trạng thiếu và đói protein, còn 1/3 dân số lại được cấp số lượng protein dư thừa so với nhu cầu. Nguyên nhân:

- Sự phân phối không đồng đều nguồn protein đa bào giữa các quốc gia và giữa các vùng dân cư trong một quốc gia.

- Trình độ kỹ thuật về phát triển nguồn protein đa bào không đồng đều.

- Sự khác nhau về điều kiện địa lý: những vùng sa mạc tự nhiên hoặc vùng có điều kiện khí hậu không thuận lợi cho trồng trọt và chăn nuôi.

- Do chính con người gây ra như tình trạng ô nhiễm môi trường, ô nhiễm nguồn nước, rừng thưa, đồi trọc, sông con, sự khai thác thiếu khoa học làm các nguồn thủy hải sản ngày càng cạn kiệt v .v..

Các giải pháp tăng nhanh nguồn protein đa bào:

- Cải biến hệ thống di truyền của cây trồng và vật nuôi: thực phẩm được chế biến từ nguồn động vật và thực vật biến đổi gen gọi là thực phẩm biến đổi gen. Chương trình GMO (chương trình cơ thể biến đổi gen) gặp nhiều ý kiến phản đối chỉ trích vì cho rằng thực phẩm biến đổi gen có thể tạo ra những bệnh tật cho người và

động vật. Tuy nhiên cho đến nay nhiều nước như Mỹ, Trung Quốc và một số nước vẫn phát triển mạnh các loại đậu, cà chua, bắp biến đổi gen.

- Phát triển kỹ thuật di truyền nhưng vẫn không ngừng nghiên cứu nâng cao hơn nữa kỹ thuật truyền thống trong trồng trọt và chăn nuôi.

3.2. Protein đơn bào:

Protein đơn bào là thuật ngữ chỉ một loại chất dinh dưỡng có trong tế bào và chỉ được sản xuất từ vi sinh vật. Thuật ngữ này không chỉ đơn giản là protein từ tế bào của cơ thể đơn bào, vì rất nhiều vi sinh vật không phải là cơ thể đơn bào mà vẫn khai thác chúng. Do đó, thuật ngữ này nên hiểu là nguồn dinh dưỡng chứa nhiều protein từ vi sinh vật (từ vi khuẩn, nấm men, nấm sợi và tảo).

Protein đơn bào là hướng nghiên cứu mạnh mẽ hiện nay để giải quyết vấn đề thiếu hụt protein.

3.2.1. Lịch sử phát triển:

Thuật ngữ protein đơn bào có từ những năm 50 của thế kỷ 20 nhưng thực tế loài người đã biết sử dụng loại protein này và các chất có trong tế bào vi sinh vật từ rất lâu: làm bánh mì, sữa chua, phomat, bia bằng hoạt động sống của vi sinh vật dù không hiểu vi sinh vật là gì. Mãi đến thế kỷ 17, người ta mới biết đến vi sinh vật là một sinh vật thứ ba sau động vật và thực vật.

Trước thế kỷ 20, việc sử dụng vi sinh vật trong các quá trình chế biến thực phẩm hoàn toàn mang tính truyền thống và ở điều kiện tự nhiên. Việc nghiên cứu và sản xuất protein đơn bào còn xa lạ với loài người, nhất là với qui mô công nghiệp.

Đầu thế kỷ thứ I, nhà máy sản xuất sinh khối nấm men được coi là nhà máy đầu tiên sản xuất protein đơn bào tại Đức với phương pháp nuôi *Candida utilis* còn gọi là “nấm men Torula”. Sau đó, mối quan tâm của Đức giảm đi nhưng đến năm 1930, Đức mở phục hồi và mở rộng sản xuất, năng suất nấm men là 15.000 Tấn/năm, trên cơ sở nuôi trên dịch kiềm sunfit, dịch thải của công nghiệp xenluloza, làm thực phẩm phục vụ trong quân đội và dân thường, chủ yếu là nấu canh và làm xúc xích. Sau năm 1950, phong trào sản xuất SCP lan rộng khắp Châu Âu, Mỹ. Tuy nhiên tất cả vẫn ở qui mô vừa và nhỏ, chủ yếu cho chăn nuôi và có thể chiết tách tinh sạch protein để làm thức ăn nhân tạo hoặc bổ sung vào các nguồn chế biến TP. Vào lúc diễn ra hội nghị lần thứ I về SCP tại Viện Kỹ thuật Massachusetts (MIT) năm 1967, đa số các dự án chỉ mới nằm trong thực nghiệm, chỉ số hãng British Petroleum (BP) là có báo cáo về những kết quả của quá trình lên men SCP ở qui mô công nghiệp (CÔNG NGHIỆP). Nhưng đến hội nghị lần thứ II họp vào năm 1973 thì nhiều hãng của nhiều nước khác nhau đã bắt đầu sản xuất SCP ở qui mô CÔNG NGHIỆP. Cũng bắt đầu từ năm 1973, CÔNG NGHIỆP sản xuất SCP đã có những bước phát triển nhảy vọt do việc sử dụng hidrocarbon của dầu mỏ, khí đốt làm nguồn carbon và năng lượng rất có hiệu quả. Vậy nguyên nhân nào dẫn đến việc nhiều nước phải sản xuất SCP? Sản xuất SCP là nguồn protein có chất lượng cao thay thế các loại bột dinh dưỡng làm từ các hạt chứa dầu như đậu tương hoặc bột cá dành cho động vật sẽ giải quyết được 2 vấn đề:

+ Tăng nguồn đậu tương cá, và cả ngũ cốc cho dinh dưỡng người.

+ Các nước Châu Âu, Nga, Nhật và một số vùng khác không trồng được đậu tương, do đó SCP sẽ giúp cho nước đó không phụ thuộc vào việc nhập khẩu protein.

+ Trong tế bào vi sinh vật, ngoài hàm lượng protein tương đối lớn còn có chất béo, vitamin và các chất khoáng, năng suất của vi sinh vật vượt xa năng suất cây trồng và vật nuôi trong công nghiệp nhiều lần.

3.2.2. Đặc điểm của sản xuất Protein đơn bào:

- Chi phí lao động ít hơn nhiều so với sản xuất nông nghiệp.
- Có thể sản xuất ở bất kỳ địa điểm nào trên trái đất, không chịu ảnh hưởng của khí hậu thời tiết, các quá trình công nghiệp, dễ cơ khí hoá và tự động hoá.
- Năng suất cao: vi sinh vật có tốc độ sinh sản mạnh, khả năng tăng trưởng nhanh. Chỉ trong một thời gian ngắn có thể thu nhận được một khối lượng sinh khối rất lớn; thời gian này được tính bằng giờ, còn ở động vật và thực vật, tính bằng tháng hoặc hàng chục năm.
- Sử dụng các nguồn nguyên liệu rẻ tiền và hiệu suất chuyển hoá cao. Các nguyên liệu thường là phế phẩm, phụ phẩm của các ngành khác như rỉ đường, dịch kiềm sunfit, parafin dầu mỏ v.v., thậm chí cả nước thải của một quá trình sản xuất nào đó. Hiệu suất chuyển hoá cao: hydrat cacbon được chuyển hoá tới 50%, cacbuahidro tới 100% thành chất khô của tế bào.
- Hàm lượng protein trong tế bào rất cao: ở vi khuẩn là 60 -70%, ở nấm men là 40-50% chất khô v.v... Hàm lượng này còn phụ thuộc vào loài và chịu nhiều ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy. Cần chú ý rằng hàm lượng protein ở đây chỉ bao hàm protein chứ không gồm cả thành phần nitơ phi protein khi xác định theo phương pháp nitơ tổng số của Kjeldal, như axit nucleic, các peptit của thành phần tế bào.
- Chất lượng protein cao: Nhiều axit amin có trong vi sinh vật với hàm lượng cao, giống như trong sản phẩm của thịt, sữa và hơn hẳn protein của thực vật. Protein vi sinh vật đặc biệt giàu lizin, là một lợi thế lớn khi bổ sung thức ăn và chăn nuôi, vì trong thức ăn thường thiếu axit amin này. Trái lại, hàm lượng các axit amin chứa lưu huỳnh lại thấp.
- Khả năng tiêu hoá của protein: có phần hạn chế bởi thành phần phi protein như axit nucleic, peptit của thành tế bào, hơn nữa, chính thành và vỏ tế bào vi sinh vật khó cho các enzym tiêu hoá đi qua.
- An toàn về mặt độc tố: Trong sản xuất protein đơn bào không dùng vi sinh vật gây bệnh cũng như loài chứa thành phần độc hoặc nghi ngờ. Vì vậy đến nay hầu như SCP chỉ dùng trong dinh dưỡng động vật.
- Những vấn đề kỹ thuật: Sinh khối vi sinh vật phải dễ tách và xử lý. Vấn đề này phụ thuộc chủ yếu vào kích thước tế bào. Sinh khối nấm men dễ tách bằng li tâm hơn vi khuẩn. Ngoài ra, vi sinh vật nào có khả năng sinh trưởng ở mật độ cao sẽ cho năng suất cao, sinh trưởng tốt ở nhiệt độ cao (có tính chất ưa nhiệt và chịu nhiệt) sẽ giảm chi phí về làm nguội trong sản xuất, ít mắc cảm với tạp nhiễm v.v.. sử dụng các nguồn cacbon rẻ tiền, chuyển hoá càng nhiều càng tốt .. thì sẽ được dùng trong sản xuất. Vì vậy nấm men được sử dụng chủ yếu trong sản xuất protein đơn bào.

Như vậy ưu điểm của sản xuất protein đơn bào là có thể phân lập và lựa chọn các chủng vi sinh vật có ích và thích hợp cho các qui trình công nghệ, cho từng nguyên liệu 1 cách tương đối nhanh và dễ dàng.

CHƯƠNG 1

KHÁI NIỆM CHUNG VỀ VI SINH VẬT

Protein của vi sinh vật chủ yếu được tổng hợp để hình thành các enzym. Vì vậy phần lớn nằm trong tế bào, một số rất ít được tách ra ngoài môi trường.

Yêu cầu của các chủng vi sinh vật dùng trong sản xuất:

- Thời gian nhân đôi ngắn.
- Có khả năng tạo thành 40-70% protein.
- Tiêu hoá tối đa các chất dinh dưỡng của môi trường.
- Không gây bệnh và đem vào môi trường độc tố.
- Có sức bền cao và chịu được ở điều kiện nuôi cấy không vô trùng.
- Dễ tách khỏi dịch nuôi cấy trong điều kiện tuyển nổi (flotation) và li tâm tách.

1. Các nhóm vi sinh vật tổng hợp protein:

1.1. Tảo đơn bào và đa bào

1.1.1. Vai trò của tảo trong đời sống

Tảo theo tiếng Latin là Algae có nghĩa là cỏ biển, nhưng thực ra trong nước ngọt cũng như trong đất, trong thân và lá cây, trong bèo hoa dâu v.v đều có tảo.

Trong tự nhiên có nhiều loại tảo có hàm lượng protein cao nhưng không sử dụng cho người và gia súc vì có độc tố. Một số tảo là món ăn dân gian ở nhiều địa phương như: Trung và Đông á, Nam Mỹ hay dùng tảo lam, Bolovi và một số nước Nam Mỹ dùng loài *Nostae commune* (*Sphaerionostos commune*), Trung Quốc dùng loài *Nematonostos Flagelliforme*, ở Châu Phi vớt loại tảo lam đa bào *Spirulina maxima* ở các ao hồ giàu muối canxi làm thức ăn bồi bổ và dùng làm một số thuốc chữa bệnh như phù chân, đau răng và đường tiêu hoá. Từ đó, tảo *Spirulina* được nhiều nước trên thế giới đưa vào sản xuất công nghiệp. Khoảng năm 1970, những nhà khoa học người Pháp phát hiện ra tảo có khả năng phát triển nhanh và có hàm lượng protein cao nên họ đã nghiên cứu và xây dựng được những qui định công nghệ sản xuất tảo.

Đến nay chỉ có 3 loại tảo đơn bào sản xuất qui mô lớn và có kinh tế cao là:

- + Chlorella
- + Spirulina
- + Scenedesmus.

trong đó hai loài Chlorella và Spirulina được sản xuất nhiều hơn cả.

1.1.2. Ưu điểm của tảo đơn bào:

- Giá trị dinh dưỡng của tảo cao và phạm vi ứng dụng rộng rãi:
 - + Tảo đơn bào có hàm lượng protein rất cao (chiếm khoảng 40-55% chất khô), riêng tảo Spirulina có chứa tới 70%.

+ Protein của tảo thuộc loại protein hoàn hảo và có chất lượng cao. Hàm lượng axit amin của những protein trong tảo gần với qui định protein tiêu chuẩn, đặc biệt là lizin trong protein của tảo cao hơn hẳn lizin của lúa mạch. Tổng số axit amin không thay thế trong protein rất cao, có khi lên đến 42% (bảng 1 và bảng 2).

+ Tảo chứa nhiều protein và vitamin (VTM) (nhất là VTM B₁₂ và C) nên được sản xuất làm thức ăn cho người, gia súc, gia cầm và tôm cá.

+ Giá trị dinh dưỡng của tảo còn thể hiện ở chất lượng và số lượng của các VTM có trong đó. Tảo Chlorella có nhiều VTM A, nhóm VTM B, trong tế bào tươi có rất nhiều VTM C. Ngoài ra có rất nhiều VTM B, K, axit aconitic, axit pantotenic, biotin, lencophorin trong các loại tảo.

- Cho đến nay chưa tìm thấy độc tố nào nguy hiểm tồn tại trong sinh khối tảo.

- Đặc điểm của tế bào các loài tảo là có chất diệp lục (chlorophyll). Chất này có vai trò quan trọng trong việc cố định năng lượng ánh sáng mặt trời của tảo. Vì vậy tảo là loài sinh vật tự dưỡng, chúng hoàn toàn có khả năng quang hợp mà các giới hiện vi sinh vật khác không có.

- Tảo có kích thước tế bào lớn, hoàn toàn có thể đáp ứng tới mọi yêu cầu kỹ thuật, đặc biệt thuận lợi trong giai đoạn thu nhận.

- Không bị virus tấn công, sống trong những điều kiện đơn giản.

- Tảo có khả năng làm sạch các nguồn nước bẩn, giữ vệ sinh môi trường. Tảo lam có thể tham gia quá trình cố định nitơ của không khí và nhờ những tính chất đặc biệt của mình, tảo lam đã lôi cuốn sự chú ý của các nhà khoa học trong lĩnh vực di truyền, tế bào, hoá sinh, lý sinh.

1.1.3. So sánh 2 loại tảo Chlorella và Spirulina

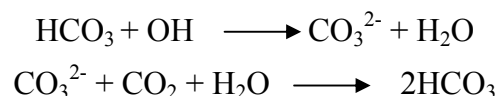
- Tảo Spirulina chứa VTM B₁₂, caroten nhiều hơn hẳn tảo Chlorella, chứa nhiều xantophin là chất rất cần thiết cho gia cầm (để gà CÔNG NGHIỆP cho trứng gà có lòng đỏ tươi, thịt gà vàng và ngon), Spirulina còn chứa nhiều loại chất kháng sinh chống vi khuẩn và các loại nấm, nên có thể bảo quản rất lâu mà không bị mốc.

- Hàm lượng protein trong tảo Spirulina cao hơn nhiều so với tảo Chlorella. Protein của tế bào Spirulina là 60-70%, Chlorella là 40-50%.

- Kích thước của tảo Spirulina lớn hơn kích thước của tảo Chlorella. Mặt khác, tảo Spirulina trong quá trình phát triển có xu hướng nổi lên bề mặt trong khi đó tảo Chlorella có kích thước nhỏ lại có xu hướng lắng chìm khi không khuấy trộn. Thu hoạch tảo Spirulina bằng những phương pháp đơn giản, trong khi với tảo Chlorella thì phức tạp giống như thu hoạch sinh khối nấm men hoặc sinh khối vi khuẩn.

- Thành tế bào tảo Spirulina mỏng, thành tế bào của Chlorella dày hơn. Do đó hệ số tiêu hoá khi ta dùng tảo Spirulina cao hơn tảo Chlorella. Tảo Spirulina phát triển trong môi trường kiềm còn Chlorella phát triển trong môi trường axit yếu.

- Khi dùng CO₂ như nguồn cacbon, mà nguồn cacbon này trong điều kiện kiềm đất dễ chuyển hoá sang dạng dễ hấp thụ theo phản ứng sau:



Spirulina hấp thụ CO₂ theo chiều hướng này tốt hơn tảo Chlorella.

Vì vậy, hiện nay trong sản xuất công nghiệp, tảo Spirulina đã chiếm một vị trí ưu thế.

1.2. Nấm men và vi khuẩn:

1.2.1. Nấm men:

- Trong các nguồn protein sản xuất bằng con đường vi sinh vật, nấm men được nghiên cứu sớm nhất và được áp dụng rộng rãi trên thế giới. Con người đã sử dụng nấm men hoặc các sản phẩm hoạt động sống của chúng từ hàng nghìn năm nay.

- Nấm men là tên chung để chỉ nhóm nấm có cấu tạo đơn bào, sinh sản bằng cách nảy chồi. Nấm men không có diệp lục và không thể sử dụng năng lượng mặt trời. Vì vậy chúng dinh dưỡng bằng các hydratcarbon, các hydrocacbua, trước hết là đường.

- Trong tế bào nấm men có chứa hầu hết các chất cần thiết cho sự sống (protein, glucit, lipit, các enzym, các VTM, các axit nucleic, các chất khoáng).

- Không một sản phẩm thực vật hoặc động vật nào có trong thành phần của mình một lượng các chất có tác dụng đặc hiệu như trong nấm men. Tuy nhiên thành phần các chất đặc hiệu của nấm men không phù hợp hoàn toàn với những nhu cầu sinh lý của động vật.

- Nấm men được chú ý nhiều, vì không những trong tế bào của chúng có nhiều chất dinh dưỡng có giá trị, mà chúng lại có khả năng tăng sinh khối và các đặc điểm sinh lý phù hợp với điều kiện sản xuất công nghiệp.

- Về đặc điểm lịch sử: Men gia súc được sản xuất đầu tiên ở Đức vào khoảng năm 1880. Lúc đó người ta dùng men bia (*Saccharomyces cerevisiae*). Trong thế chiến thứ I, men gia súc và men thực phẩm được sản xuất chủ yếu ở Đức là giống *Torula utilis*. Ở Mỹ, từ năm 1946 mới tổ chức sản xuất sinh khối nấm men.

Lúc đầu, người ta nuôi cấy nấm men trên sacaroza để thu hồi sinh khối làm thức ăn cho người. Sau đó vì lý do kinh tế, dần dần người ta thay sacaroza bằng dịch thủy phân từ tinh bột và xenlulza, phế liệu công nghiệp đường, bia, rượu ...

Năm 1968, Liên Xô là nước đầu tiên xây dựng nhà máy sản xuất nấm men từ paraphin dầu mỏ, sau đó Anh, Pháp, Nhật v...v.. đã tiến hành rất nhanh trong lĩnh vực sử dụng nguồn nguyên liệu dồi dào và rẻ tiền này vào mục đích thu protein của nấm men và đã đưa sản lượng nấm men trên thế giới ngày càng tăng.

- Về giá trị dinh dưỡng:

+ Nấm men rất giàu protein và VTM, đặc biệt là các VTM nhóm B.

+ Sinh khối nấm men chứa khoảng 75-80% nước, 20-25% chất khô trong đó: cacbon 45-50%, nitơ 7-10% (tương ứng với 40-60% protein, hydro 5-7%, oxy 25-30%, các nguyên tố vô cơ 5-10% (photpho và kali chiếm tới 95-97%) tổng lượng tro, số còn lại là canxi, magiê, nhôm, lưu huỳnh, clo, sắt, silic. Ngoài ra còn có một lượng rất nhỏ các nguyên tố mangan, kẽm, molipden, bo, cacbon ..).

+ Trong đó thành phần quý nhất là protein. Hàm lượng protein tùy thuộc vào từng loại giống, vào thành phần môi trường và điều kiện nuôi cấy. Dao động trong khoảng 40-60%.

+ Về tính chất protein của nấm men gần giống protein nguồn gốc động vật. Protein của nấm men chứa khoảng 20 axit amin không thay thế (bảng 5). Thành phần các axit amin của nấm men cân đối hơn so với lúa mì và các hạt ngũ cốc khác, kém chút ít so với sữa, bột cá, bột xương thịt và các sản phẩm động vật nói chung.

Sự thay đổi thành phần các axit amin trong thời gian nuôi cấy được nghiên cứu cho thấy thành phần của các axit amin thay đổi ở một giai đoạn phát triển: giai đoạn tiềm phát. Sau 3 giờ phát triển, tổng hàm lượng các axit amin trong protein tăng lên 17% so với thời điểm ban đầu. Sau đó tổng hợp axit amin giảm xuống và giữ ở mức độ trên 40%. Đến cuối, tế bào già, các chất dự trữ, trước hết là glucogen tiêu hao nhiều nên giảm trọng lượng, do đó tỉ lệ giữa các axit amin so với trọng lượng chung của các tế bào tăng lên gần 50% (tăng không thực chất).

- Các giống nấm men dùng làm thực phẩm cho người và thức ăn gia súc là:

Endomyces vernalis, Hansenula anomala, Hansenula suaveolens, Saccharomyces cerevisiae, Candida arbores, Candida tropicalis, Mycotorula lipolytica, Mycotorula japonica, Torulopsis utilis, Torulopsis utilis var, major, Torulopsis utilis var thermophilis, Monilia candida, Oidium lactis.

- Các tiêu chuẩn để lựa chọn giống nấm men để sản xuất protein từ các nguồn hydrocarbon:

+ Có khả năng đồng hoá nhiều nguồn cacbon khác nhau, nhất là các loại pentosa (xiloza, arabinoza) và các axit hữu cơ.

+ Có thể phát triển tốt trên môi trường có nồng độ chất khử cao.

+ Có khả năng phát triển nhanh, có sức đề kháng cao đối với nồng độ CO₂.

+ Sản lượng cao, sinh khối chứa nhiều chất dinh dưỡng có giá trị (hàm lượng protein cao, có nhiều axit amin không thay thế, vitamin ..)

+ Kích thước tế bào tương đối lớn để dễ tách bằng li tâm.

+ Chịu đựng được nhiệt độ tương đối cao, ít làm biến đổi pH môi trường.

- Trong sản xuất nấm men thường dùng các chủng thuộc ba giống *Saccharomyces, Candida* và *Torulopsis*. Khả năng chuyên hoá của ba giống này rất cao và đa dạng, qui trình công nghệ tương đối đơn giản.

1.2.2. Vi khuẩn:

- Vi khuẩn để sản xuất protein thường được nuôi trên cacbua hidro. Thường sử dụng các giống *Pseudomonas, Flavobacterium, Mycobacterium* và *Nocardia*.

- Các giống vi khuẩn này có khả năng đồng hoá các ankal (C₆-C₁₈) , cacbua hydro béo và thơm khác.

- Đối với nguyên liệu sử dụng là metan, sử dụng các giống *Methylomonas, Methylococcus capsulatus*.

- Ngoài ra nhiều nơi còn sử dụng vi khuẩn khí nở có các đại diện của giống *Hydrogenomonas* (*H. facilis, H. entrophia*).

- Đặc điểm của vi khuẩn:

+ Tốc độ sinh trưởng nhanh

- + Dùng được nhiều cơ chất.
- + pH cần giữ 5-7, nếu không có thể có nguy cơ nhiễm các vi khuẩn gây bệnh.
- + Thu hồi bằng li tâm: khó
- + Thành phần các axit amin cân đối nhưng hàm lượng các axit amin chứa S hơi thấp.
- + Khi dùng các vi khuẩn Gram âm để sản xuất SCP cần lưu ý khả năng sản sinh độc tố của chúng.

1.3. Nấm mốc và xạ khuẩn:

- Nói chung người ta ít dùng nấm mốc và xạ khuẩn để sản xuất protein. Về mặt dinh dưỡng, protein của các vi sinh vật này kém giá trị hơn so với protein của vi khuẩn, nấm men ... Về kỹ thuật nuôi cấy, do hệ sợi phát triển thành búi chằng chịt nên trở ngại đến việc sục khí và khuấy trộn.

- Nấm mốc là những cơ thể đa bào, giàu vitamin nhóm B, chứa chừng 30-60% protein. Hàm lượng metionin và tryptophan thấp, còn có các axit amin khác tương tự như protein tiêu chuẩn của FAO. Các giống nấm mốc có hàm lượng protein cao là *Fusarium*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*. Trong những nghiên cứu thu nhận protein từ nấm mốc, người ta chú ý nhiều đến công trình của B.Volesky và H.Zajic. Hai người này đã phân lập được từ nước từ chủng mốc thuộc *Graphium*, chủng này có chứa tới 52% protein, trong đó có 16 axit amin, metionin chiếm 1% so với protein thô, lizin chiếm đến 7,7%, các axit amin không thay thế khác đều có hàm lượng tương đương với protein tiêu chuẩn, trừ izoloxin. Chủng mốc này có khả năng đồng hoá etan, metan và đã được nuôi trong môi trường chứa hỗn hợp hai nguyên liệu này để thu sinh khối.

- Giá trị dinh dưỡng protein một số nấm mốc có thể xem ở bảng 14.

- Như đã nói, nấm mốc ít được dùng trong sản xuất protein. Hiện nay chỉ có một số cơ sở sản xuất như United Parer rills ở Phần Lan, công suất 10.000tấn/năm, nguyên liệu chính là nước sunfit, RHM Foods (10.000tấn/năm) và Tate anotty1 (4.000tấn/năm) đều ở Anh.

- Cho đến nay xạ khuẩn chưa được dùng trong sản xuất protein. Tuy vậy, người ta vẫn thường thu hệ sợi của chúng và của nấm mốc, trong quá trình sản xuất các chất kháng sinh, các enzym, axit xitric ... dưới dạng sản phẩm phụ của nhà máy, nhằm sử dụng protein, vitamin, enzym có trong đó vào những mục đích khác nhau. Nhược điểm của sinh khối xạ khuẩn và nấm mốc thu theo phương pháp này là chúng bị hư hỏng, vì vậy phải chú ý khâu sấy ngay sau khi đã tách sinh khối ra khỏi dây chuyền công nghệ. Trong công nghiệp kháng sinh, người ta có thể thu được sinh khối hệ sợi gần 17% các chất chứa nitơ, trong số đó các chất chứa nitơ đồng hoá khoảng 14%, gần 10% protein tiêu hoá, 2% chất béo, 2,5% chất xơ ... sinh khối này có thể sử dụng trong chăn nuôi.

2. Quá trình dinh dưỡng của tế bào vi sinh vật

Trong quá trình sống, tế bào vi sinh vật tiến hành trao đổi chất không ngừng với môi trường chung quanh. Các chất dinh dưỡng qua màng tế bào và được chuyển hoá để tạo thành những chất riêng biệt cần thiết để xây dựng tế bào. Các chất dinh dưỡng này khi đi qua màng tế bào sẽ tham gia vào hai loại phản ứng sinh hoá:

- Biến đổi dị hoá: làm xuất hiện những sản phẩm có cấu trúc đơn giản hơn, Một số được thải đi, một số khác làm vật liệu hoặc làm tiền chất cho các phản ứng đồng hoá. Những biến đổi này cung cấp cho vi sinh vật năng lượng chuyên hoá ở dạng ATP hoặc những hợp chất giàu năng lượng khác.

- Biến đổi đồng hoá: đảm bảo sự tổng hợp của thành phần mới có cấu trúc phức tạp hơn và phân tử lượng cao hơn. Quá trình này gọi là đồng hoá hoặc phản ứng sinh tổng hợp.

Khi trong môi trường có những hợp chất - vật liệu đó thì vi sinh vật sẽ trực tiếp sử dụng. Nhưng không phải bao giờ trong môi trường cũng có sẵn những hợp chất - vật liệu cần cho quá trình sinh tổng hợp. Muốn có tế bào vi sinh vật bắt buộc phải tự sản xuất bằng cách tự biến đổi dị hoá những thành phần có trong môi trường nuôi cấy.

Các chất dinh dưỡng của vi sinh vật chủ yếu lấy ở môi trường chung quanh các môi trường dinh dưỡng nhân tạo cần cung cấp đầy đủ năng lượng, các vật liệu xây dựng tế bào và đảm bảo hiệu suất sinh tổng hợp cao. Thành phần của môi trường gồm các nguồn thức ăn cacbon, nitơ, chất khoáng, các nguyên tố vi lượng và các chất kích thích sinh trưởng. Việc lựa chọn các nguồn dinh dưỡng và nồng độ của chúng trong môi trường phụ thuộc vào đặc tính sinh lý của từng chủng, từng loài vi sinh vật và điều kiện nuôi cấy chúng.

2.1. Dinh dưỡng cacbon:

Nguồn và số nguồn cacbon: Cacbon có trong tế bào chất, thành tế bào, trong tất cả các phân tử enzym, axit nucleic và các sản phẩm trao đổi chất. Số nguồn cacbon đối với sinh vật vô cùng lớn. Hầu như không có hợp chất cacbon nào (trừ kim cương, than chì) mà không có nhóm vi sinh vật nhất định sử dụng.

Giá trị dinh dưỡng và khả năng hấp thụ của các nguồn cacbon phụ thuộc vào:

- Thành phần và cấu tạo hoá học, đặc biệt là mức độ oxi hoá của nguyên tử cacbon.

- Đặc điểm sinh lý của vi sinh vật:

+ với các hợp chất có phân tử thấp như một số đường thì vi sinh vật có thể đồng hoá trực tiếp.

+ Với các hợp chất hữu cơ cao phân tử (tinh bột, protein ...) sẽ được phân huỷ nhờ các enzym tạo thành các hợp chất phân tử thấp mà vi sinh vật có thể đồng hoá được.

+ Với các hợp chất không tan trong nước (lipit, xenluloza, parafin ..) thì vi sinh vật hấp thụ quanh bề mặt của chúng và phân giải chúng dần dần.

Nguồn thức ăn cacbon chủ yếu của vi sinh vật: là hydrat cacbon trước hết phải kể đến glucoza. Trao đổi hydrat cacbon đáp ứng 3 nhu cầu của tế bào:

+ Sản sinh năng lượng

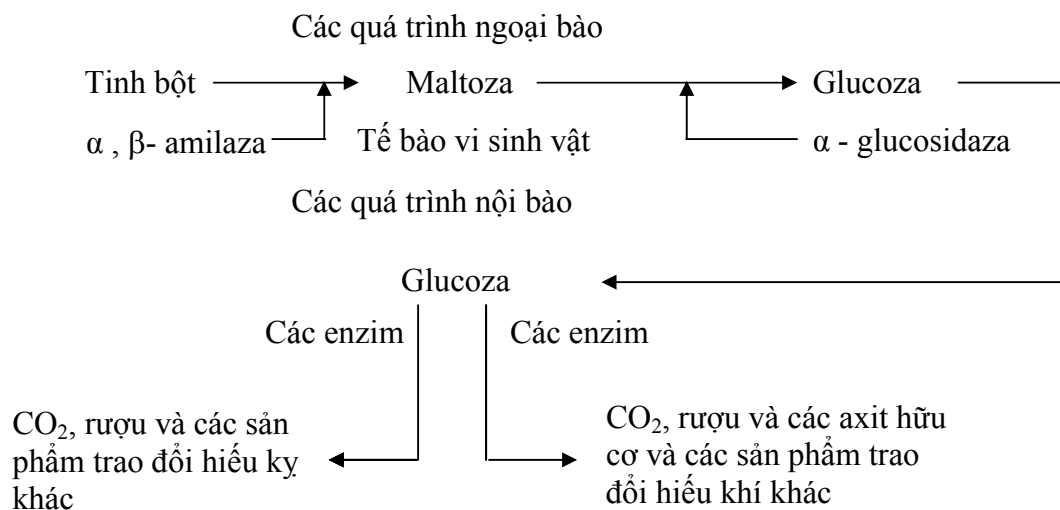
+ Tạo thành những tiền chất

+ Tạo ra các quá trình oxi hoá-khử để biến đổi những tiền chất này thành những sản phẩm trung gian hay sản phẩm cuối cùng để xây dựng tế bào, đồng thời tích tụ trong môi trường một hoặc vài sản phẩm sinh tổng hợp.

Trong công nghiệp lên men nói chung, trừ trường hợp thu sinh khối vi sinh vật đơn thuần, người ta cố gắng tạo điều kiện cho vi sinh vật có thể sử dụng nguồn dinh dưỡng cacbon để tổng hợp các sản phẩm cần thiết nhiều hơn là để tăng sinh khối và tạo thành CO₂.

Như vậy, cơ chất dinh dưỡng làm nguồn cacbon trong quá trình trao đổi chất và trong sản xuất lên men là các loại đường sacaroza, maltoza, lactoza, glucoza, các đường hexoza khác và các loại bột ngũ cốc như bột gạo, bột ngô, bột đại mạch ... chứa chủ yếu là tinh bột. Để đồng hoá được tinh bột, các vi sinh vật phải tiết vào môi trường các enzym amilaza như α -amilaza, β -amilaza, α -glucosidaza. Hệ enzym này được sinh ra trong tế bào rồi tiết ra ngoài môi trường để phân huỷ cơ chất cảm ứng là tinh bột.

Quá trình đồng hoá tinh bột ở vi sinh vật được giới thiệu trong sơ đồ sau (theo V.Lilli và G.Banettu, 1953):



2.2. Dinh dưỡng nitơ:

Vi sinh vật cũng như tất cả các cơ thể sống khác rất cần nitơ trong quá trình sống để xây dựng tế bào. Tất cả các loại protein đều cấu tạo từ axit amin. Các axit amin ở dạng tự do là nguyên liệu để tổng hợp các phân tử protein. Các axit amin được tạo thành do quá trình trao đổi cacbon và nitơ. Việc tổng hợp các axit amin trải qua những hàng loạt những phản ứng phức tạp với sự xúc tác của nhiều loại enzym khác nhau, nhưng có thể qui về hai phản ứng có trong tế bào vi sinh vật là phản ứng amin hoá và phản ứng chuyển amin.

Nguồn nitơ

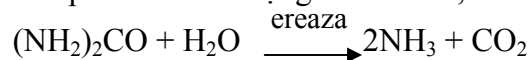
+ Nitơ trong không khí rất phong phú, song nó rất bền vững về mặt hoá học, khó bị oxi hoá hoặc khử. Chỉ có một số vi sinh vật cố định nitơ mới có khả năng đồng hoá nitơ trong không khí.

+ Trong tất cả các môi trường nuôi cấy cần thiết phải có các loại hợp chất nitơ mà vi sinh vật có thể đồng hoá được để đảm bảo hiệu suất lên men cao. Các nguồn nitơ dùng trong công nghiệp lên men là các hợp chất nitơ hữu cơ và vô cơ.

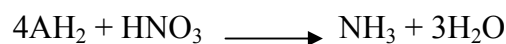
* Các axit amin có mặt trong môi trường thường không được vi sinh vật sử dụng trực tiếp mà phải tiến hành 2 loại phản ứng trao đổi chất: phản ứng khử amin và phản ứng khử cacboxyl.

* Các axit amin ở dạng hợp chất thường là các protein của đậu tương, khô lạc .. và pepton. Muốn đồng hoá được các hợp chất này, Vi sinh vật phải tiết vào môi trường hệ enzym proteaza để thủy phân các axit amin thành các axit amin. Rất nhiều loài nấm mốc, vi khuẩn, xạ khuẩn có hoạt tính proteaza cao: *Asperillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Actinomyces*, *Clostridium*, *Bacillus* ..v.v.. Những axit amin, purin và pirimidin là những thức ăn thích hợp hay được Vi sinh vật sử dụng. Sự dị hoá của purin và pirimidin là hai hợp chất được tạo thành trong quá trình thủy phân axit nucleic, nucleotit hoặc nucleozit thành cacbonic, amoniac, axit focmic, axetic hoặc lactic và chúng có thể tham gia vào các chuỗi chuyển hoá khác nhau.

* Urê được dùng trong công tổng hợp có hai tác dụng: Làm nguồn N và chất điều chỉnh pH. Dưới tác dụng của ureaza, uree phân huỷ thành CO₂ và NH₃.



* Nitrat: Vi sinh vật thường không trực tiếp đồng hoá được nitrat mà phải qua các quá trình biến đổi:



AH₂ - chất khử có trong môi trường.



Axit nitric Axit nitơ Hyponitrit Hydrolamin

Quá trình này thực hiện nhờ hệ enzym nitratreductaza.

Muối amon: Tất cả các loại vi sinh vật đều đồng hoá được muối amon.

Việc sử dụng nguồn N hữu cơ, ure và các muối amon đều gắn liền với việc tách NH₃ ra rồi hấp thụ vào tế bào. Như vậy, NH₃ là trung tâm của các con đường dinh dưỡng nitơ của Vi sinh vật.

Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh tổng hợp của vi sinh vật không những chỉ phụ thuộc vào các nguồn N mà còn phụ thuộc vào tỉ số C:N trong môi trường. Tỷ số này có nhiều ý nghĩa. Nó tạo cho vi sinh vật có khả năng trao đổi chất thích hợp, khả năng tích tụ cao các sản phẩm sinh tổng hợp và tạo thành các hệ enzym để tiến hành các phản ứng hoá sinh theo chiều hướng có lợi.

2.3. Dinh dưỡng khoáng

2.3.1. Các hợp chất photpho

Sự có mặt của các hợp chất photpho và nồng độ của chúng trong môi trường có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình trao đổi chất trong tế bào vi sinh vật. Ngoài ra, photpho trong môi trường còn có tác dụng điều chỉnh hoạt tính hệ enzym đồng hoá các loại thức ăn cacbon.

Nguồn photpho có mặt trong môi trường nuôi cấy vi sinh vật thường là các loại hợp chất photpho hữu cơ có trong bột đậu, cao ngô, bã rượu, khô dầu ... và các hợp chất photpho vô cơ, các muối photpho mono hoặc dibazic của K hoặc Na, amon và super photpho.

Yêu cầu về photpho của vi sinh vật phụ thuộc vào chủng loài, vào tỉ lệ thành phần môi trường trước hết là tỉ lệ C:N và điều kiện nuôi cấy. Nồng độ các nguồn photpho quá cao cũng làm cho vi sinh vật kém phát triển và giảm hiệu suất sinh tổng hợp.

Nếu trong môi trường có cacbonat canxi, khi thanh trùng, các chất photpho vô cơ kết hợp với ion Ca^{2+} và tạo thành kết tủa. Vi sinh vật thường sử dụng nhanh nhất các photpho vô cơ hoà tan, còn các hợp chất photpho vô cơ không tan trong môi trường thường sử dụng ít và chậm.

2.3.2. Các chất khoáng khác

Trong tế bào vi sinh vật có hàng loạt các chất khoáng khác như: magiê, natri, sắt, nhôm, kali, liti, rubidi, mangan, chì v.v.. Vi sinh vật lấy chất khoáng từ môi trường dinh dưỡng, có trường hợp phải bổ sung vào môi trường một số muối khoáng hoặc có khi chúng có sẵn trong nguyên liệu pha môi trường (đường, bột, cao ngô, ri đường, cacbonnat canxi...) và trong nước.

Những hợp chất khoáng trong môi trường có nhiều ý nghĩa sinh lý khác nhau:

- Làm thay đổi trạng thái hoá keo của các tế bào chất.
- Làm thay đổi tốc độ các phản ứng enzym trong tế bào chất.

Ví dụ như muối ăn (NaCl) trong môi trường lên men các chất kháng sinh, ngoài tác dụng cung cấp nguồn ion Cl^- , còn có tác dụng làm thay đổi sức thẩm thấu của tế bào, tạo điều kiện tiết chất kháng sinh từ các sợi mốc, xạ khuẩn vào môi trường dễ dàng.

Một số kim loại (kẽm, sắt, mangan, magiê...) là các chất hoạt hoá enzym. Một số kim loại như Zn, Cu, Mn, Mo, B, K, Mg, Ca... cũng có ảnh hưởng lớn đến hoạt tính sinh tổng hợp của vi sinh vật. Năm chất đầu cần với một lượng rất ít nên gọi là nguyên tố vi lượng và thường có sẵn trong các nguyên liệu pha trong môi trường. Có khi cần phải pha thêm vào trong môi trường này ở dạng muối.

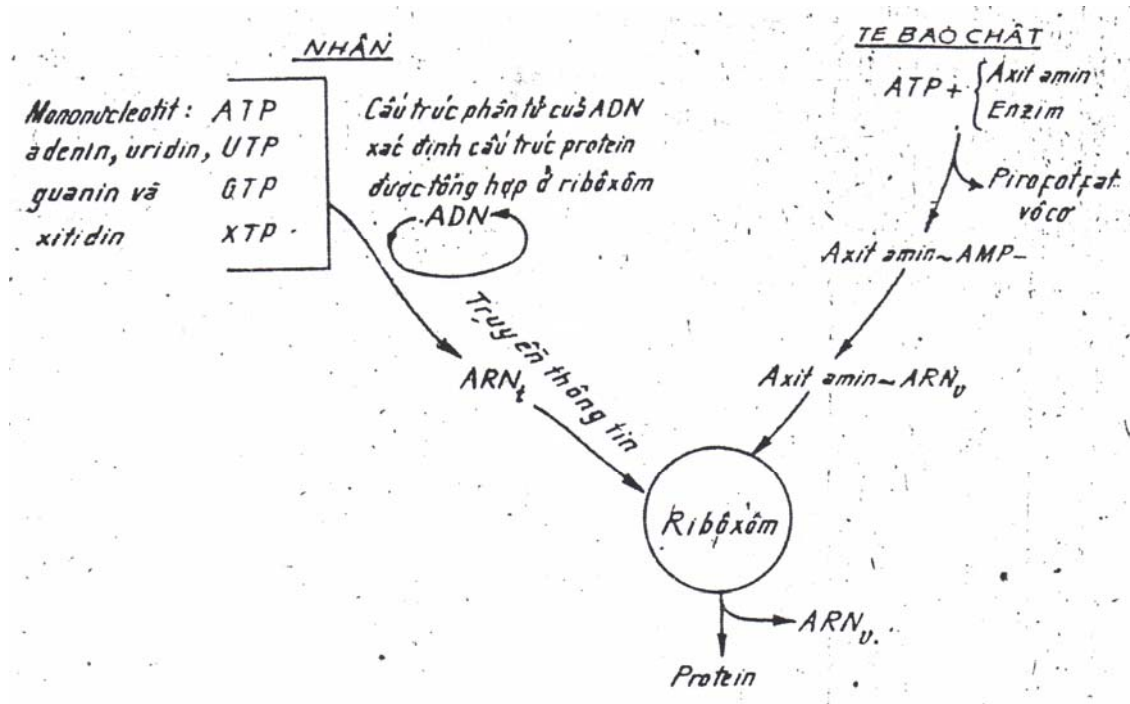
3. Cơ chế sinh tổng hợp protein

3.1. Vai trò điều khiển sự tổng hợp protein của ADN.

Protein có phân tử rất lớn, trong hoá học người ta gọi là đại phân tử. Đại phân tử protein được cấu tạo từ những phân tử đơn giản hơn là các axit amin đính kết kế tiếp nhau. Số lượng các axit amin trong phân tử protein có đến hàng trăm hoặc hàng nghìn đơn vị, nhưng tất cả cũng chỉ thuộc trong số 20 axit amin khác nhau. Một loại protein có thể không có đầy đủ cả 20 loại axit amin (thường là khoảng trên 10), do đó thành phần các protein của các vi sinh vật khác nhau thì khác nhau. Giá trị dinh dưỡng của các loại protein cũng hoàn toàn phụ thuộc vào thành phần và số lượng của các axit amin trong việc hình thành các chủng loại protein khác nhau. Do đó từ 20 axit amin, cơ thể sống có thể hình thành vô số các loại protein khác nhau.

Trong tế bào sống thường xuyên có 2 loại axit nucleic: Ribonucleic (ARN) và dexoxyribonucleic (ADN). Chúng khác nhau về thành phần, cấu tạo hóa học và vị trí của chúng trong tế bào. ADN chỉ có hoặc chủ yếu trong nhân còn ARN thường được thấy trong tế bào chất nhiều hơn trong nhân.

Theo các thuyết về sinh tổng hợp protein, các axit nucleic quyết định cấu trúc hoá học và xác định các vị trí các axit amin trong chuỗi protein tổng hợp trong đó vai trò của ADN rất quan trọng. Nó quyết định thành phần và cấu tạo các kiểu ARN đặc biệt gọi là ARN thông tin (ARN_t), do đó quyết định thành phần và cấu tạo phân tử protein. Những ARN đi vào riboxôm thực hiện chức năng làm khuôn mẫu. Các axit amin được xếp đặt vào phân tử protein theo trật tự phù hợp với cấu trúc của ARN_t . Quá trình điều khiển sinh tổng hợp protein của axit nucleic có thể trình bày ở sơ đồ hình 1.1 sau:



Hình 1.1. Sơ đồ tổng hợp protein và vai trò định hướng của axit dexoxyribonucleic (ADN)

Theo sơ đồ này sự tổng hợp protein xảy ra ở riboxôm. Ở đây có 2 dòng hoà lại với nhau: là dòng ARN_t từ nhân tới và dòng các axit amin được hoạt hoá và nhờ ARN_v vận tải (ARN_v), chuyển đến.

3.2. Cơ chế sinh tổng hợp protein

Sự tổng hợp protein có thể trình bày theo sơ đồ như sau:

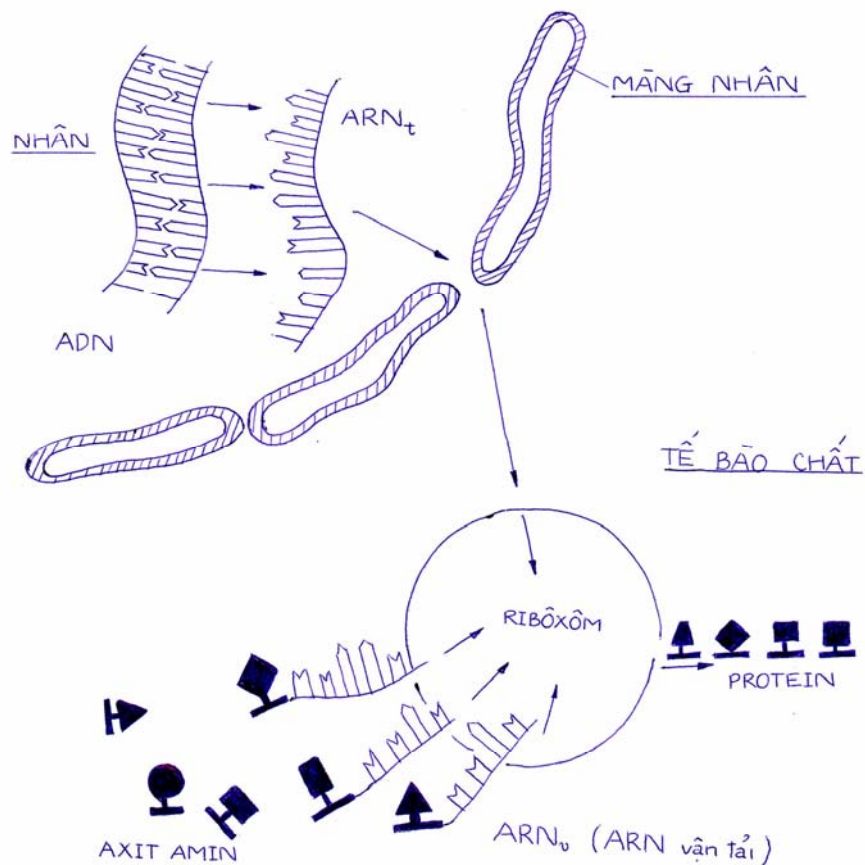
Theo sơ đồ này, từ nhân tế bào, ARN_t chui qua màng nhân mà đi vào tế bào chất và dính vào riboxôm. Các axit amin tồn tại tự do trong tế bào chất được gắn vào một loại ARN đặc biệt gọi là ARN vận tải (ARN_v), rồi ARN_v chuyển các axit amin vào một riboxôm. Tại đây, ARN_t đóng vai trò các khuôn mẫu. Trên các khuôn mẫu này, các axit amin dính vào một cách có lựa chọn tại các riboxôm này và quá trình tổng hợp protein được hoàn thành. Như vậy, cơ chế sinh tổng hợp protein có thể tóm tắt như sau:

- Nơi tổng hợp protein trong tế bào vi sinh vật (và cả tế bào động thực vật) là các riboxôm.

- Sự tổng hợp protein cần có sự tham gia của các enzym hoạt hoá và các ARN vận tải.

- Ở riboxôm xảy ra quá trình tổng hợp protein do ADN điều khiển, như vậy phải tồn tại một mắc xích trung gian giữa nhân và tế bào chất. Đó là các ARN_t.

- Trong tế bào vi khuẩn, ARN thông tin rất nhanh chóng bị phá huỷ, nó chỉ hoàn thành chức năng của mình trong một thời gian rất ngắn, nghĩa là xác định protein tổng hợp nên, sau đó các phân tử ARN_t khác lại đi vào riboxôm.



Hình 1.2. Sơ đồ tổng hợp protein trong tế bào (theo Lobasov)

4. Các yếu tố tổng hợp protein

4.1. Riboxôm

Trong tế bào chất của các vi sinh vật, có 1 loại hạt bé nhỏ nhất trong các thành phần cấu tạo nên tế bào chất, loại hạt này gọi là riboxôm, cơ quan trung tâm tổng hợp nên mọi loại protein. Riboxôm của vi khuẩn chứa khoảng 40-60% ARN và 60-40% protein. Ngoài ra, riboxôm còn chứa một ít lipid, một số enzym như ribonucleaza, lexinaminopeptidaza, B-galactozidaza... và chất khoáng (điểm đặc biệt của riboxôm là giàu magiê và ít canxi hơn các thành phần khác của tế bào).

Riboxôm là trung tâm tổng hợp protein của tế bào, nhưng không phải mọi riboxôm đều có khả năng tham gia vào quá trình này. Số riboxôm tham gia tổng hợp protein thường không quá 5-10% tổng số protein có trong tế bào. Những riboxôm hoạt

động này ở dạng những tập hợp gồm 1 số ribôxôm gọi là poliribôxôm hay là polixôm. Cấu trúc này không vững chắc vì các ribôxôm liên kết với nhau chỉ bằng một sợi ARN_t .

4.2. ARN thông tin

Đầu tiên trong nhân tế bào xảy ra hiện tượng “sao chép” những đoạn của phân tử ADN và nhờ sự sao chép này mà một loại ARN đặc biệt được hình thành. Sự sao chép thực hiện theo nguyên tắc bổ sung nhau, nhưng có một vài ngoại lệ: Chuỗi kép gồm 2 sợi ADN tách rời nhau, một trong 2 sợi đó được dùng làm khuôn để tổng hợp nên sợi ARN. Theo nguyên tắc bổ sung nhau, tương ứng với xitôzin (viết tắt là X) trong ADN là guanin (G) trong ARN. Tương ứng với timin (T) trong ADN là adenin (A) trong ARN, nhưng tương ứng với adenin trong ADN thì không phải là timin nữa mà là uraxin (U) trong ARN. Điều ngoại lệ này không quan trọng lắm vì về mặt hoá học thì uraxin và timin cũng tương tự nhau. Khác với ADN có cấu tạo chuỗi kép (gồm hai sợi) phân tử AND có cấu tạo chuỗi đơn (chỉ có một sợi). Vì ADN được sao chép lại theo trật tự của các nucleotit (các gốc kiềm) trong khuôn ADN, nên người ta nói rằng ADN đã truyền thông tin cho ARN, còn ARN thì giữ lấy thông tin di truyền đó của ADN để thay mặt ADN điều khiển sự tổng hợp protein. Vì thế loại ARN đặc biệt này gọi là ARN môi giới hay ARN thông tin.

4.3. ARN vận chuyển

ARN_v là một loại axit ribonucleic đặc biệt, có phân tử lượng thấp (khoảng 25.000 đến 30.000). Trong lúc đó, ARN_t có phân tử lượng cao hơn trên 10 lần (250.000 đến 500.000).

Mỗi một loại axit amin trong số 20 axit amin thông thường có ít nhất một kiểu ARN_v đặc thù cho mình, có khi có vài kiểu ARN_v . Mỗi một ARN_v , này có cấu trúc phân tử đặc biệt riêng, chỉ cho phép dính kết được với một axit amin thích hợp và mang nó đến ARN_t đặt nó vào một chỗ trên ARN_t dành sẵn cho axit amin đó (chứ không cho axit amin khác). Sau khi giao được axit amin này cho ARN_t , ARN_v tiếp tục làm nhiệm vụ vận chuyển lần khác và có thể vận chuyển axit amin một lần liên tiếp như vậy.

Trên khuôn mẫu (tức là ARN_t) đã được lấp đầy axit amin cần thiết thì một chuỗi các axit amin được hình thành. Đó chính là chuỗi polipeptit. Một protein có thể gồm một chuỗi polipeptit, nhưng thường thì protein gồm một số chuỗi polipeptit khác nhau.

(Sở dĩ ARN_v có khả năng chuyển các phân tử của một loại axit amin nhất định đến những nơi nhất định trên ARN_t là do trong ARN_t có những đơn vị mã riêng biệt tức là có những bộ ba của các gốc kiềm (nucleotit). Phân tử ARN_t là một chuỗi dài kế tiếp của những bộ ba như thế. Mỗi ARN_v cũng có một đơn vị bộ ba của các gốc kiềm đặc biệt. Các đơn vị bộ ba những gốc kiềm kế tiếp nhau trong phân tử ARN_t tương ứng theo nguyên tắc bổ sung (tức là A trong ARN này tương ứng với U trong ARN kia và ngược lại; G trong ARN này tương ứng với X trong ARN kia và ngược lại) với đơn vị bộ ba của những gốc kiềm của các ARN_v , nhờ thế mà ARN_v cùng với axit amin đã dính kết vào nó có thể tìm chỗ thích hợp trên ARN_t .

4.4. Sự hoạt hoá axit amin

Trước khi tham gia vào tổng hợp protein, axit amin phải được hoạt hoá, nghĩa là được liên kết với một ARN_v tương ứng. Chỉ sau đó axit amin này mới được vận chuyển đến ribôxôm. Quá trình hoạt hoá axit amin diễn ra qua 2 bước nhờ vào xúc tác của cùng một loại enzym axit amin – ARN_v – sintetaza đặc trưng đối với mỗi axit amin:

- Trước hết axit amin phản ứng với ATP thành phức hợp cao năng axit amin AMT.
- Tiếp đến axit amin phức hợp được chuyển đến ARN_v tương ứng.

CHƯƠNG 2

SƠ ĐỒ DÂY CHUYỂN CÔNG NGHỆ THU NHẬN CÁC SẢN PHẨM PROTEIN

1. Sản xuất sinh khối nấm men từ nguồn nguyên liệu thông thường

1.1. Nguyên liệu và xử lý nguyên liệu

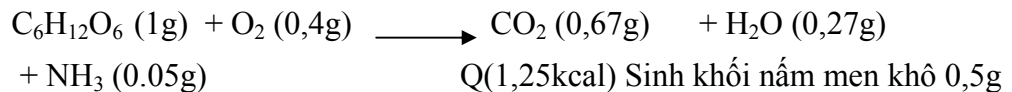
Các dạng nguyên liệu chứa hydrat cacbon thường là các phụ phẩm và phế phẩm sau:

- Các sản phẩm chứa sacaroza của công nghiệp chế biến đường (rỉ đường mía, rỉ đường củ cải, bã mía, cặn rỉ đường, nước rửa thô ..)
- Nước thải của nhà máy sữa còn chứa nhiều lactoza
- Dịch kiềm sunfit có chứa nhiều pentoza, hexoza, dịch thủy phân gỗ.
- Các nguyên liệu chứa tinh bột và xenluloza khác.

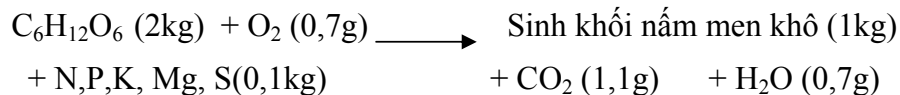
Điểm chung nhất dễ nhận thấy ở các dạng nguyên liệu trên là ngoài đường, chúng còn chứa nhiều axit hữu cơ, N,P,S và các chất khác. Sự phức tạp này nảy sinh hiện tượng sinh trưởng kép làm cản trở sử dụng chúng trong nuôi cấy liên tục một giai đoạn.

1.1.1. Rỉ đường

Về lý thuyết: Từ 1g $C_6H_{12}O_6$ có thể thu được 0,5 g sinh khối nấm men khô (theo nghiên cứu của A.J.Forage):



Hoặc theo nghiên cứu C.L Coorey



Các nguyên liệu chứa sacaroza (rỉ đường..) là dạng nguyên liệu lý tưởng nhất đến sản xuất protein đơn bào, vì các nguyên liệu này chứa nhiều yếu tố kích thích sinh trưởng, khí, biotin và sản phẩm protein thu được hầu như sạch, không độc.

Rỉ đường được dùng làm các cơ chất cho nhiều quá trình lên men vì:

- Giá thành rẻ hơn các nguyên liệu chứa đường khác.
- Ngoài đường sacaroza, rỉ đường còn chứa một số chất vô cơ, hữu cơ và vitamin có giá trị.

Thành phần của rỉ đường mía và rỉ đường củ cải có sự khác nhau được ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Thành phần của rỉ đường củ cải và rỉ đường mía chứa 75% chất khô

Thành phần		Rỉ đường củ cải	Rỉ đường mía
Đường tổng số	%	48 - 52	48 - 56
Chất hữu cơ không phải đường	%	12 - 17	9 - 12
Protein (Nx6,25)	%	6 - 10	2 - 4
K	%	2,0 - 7,0	1,5 - 5,0
Ca	%	0,1 - 0,5	0,4 - 0,8
Mg	%	0,09	0,06
P	%	0,02 - 0,07	0,6 - 2,0
Biotin	mg/kg	0,02 - 0,15	1,0 - 3,0
Axit pantothenic	mg/kg	50 - 110	15 - 55
Inozitol	mg/kg	5000 - 8000	2500 - 6000
Tiamin	mg/kg	khoảng 1,3	1,8

Sự khác biệt cơ bản giữa 2 loại nguyên liệu này là:

- Rỉ đường mía nói chung có pH thấp hơn (5,5 – 6,5) do sự có mặt của các axit béo và pH thấp dùng trong quá trình làm trong.

- Rỉ đường mía có màu tối hơn đường củ cải nên khi dùng không trộn với rỉ đường củ cải thì nấm men thu được sẽ có màu tối hơn.

- Rỉ đường củ cải chứa nhiều đường sacaroza hơn rỉ đường mía vì trong rỉ đường củ cải hầu như không có một loại đường chuyển hoá nào (có khi chỉ có khoảng 1%) trong khi rỉ đường mía có thể chứa tới 15-25% hidrat cacbon của nó dưới dạng đường chuyển hoá.

- Nói chung, rỉ đường củ cải chứa nitor hữu cơ năm lần cao hơn rỉ đường mía, nhưng một nửa là betain, một thành phần không được Saccharomyces đồng hoá, trong khi đó betain không có mặt trong rỉ đường mía.

- Sự khác biệt về hàm lượng vitamin trong rỉ đường mía và đường củ cải cũng là tiêu chuẩn quan trọng:

+ Các chất sinh trưởng có mặt trong rỉ đường mía với hàm lượng lớn: rỉ đường mía chứa khoảng 2,5 µg biotin/g gấp 20 lần hơn rỉ đường củ cải.

+ Trong khi đó rỉ đường mía nghèo các chất khoáng và axit amin: rỉ đường củ cải chứa axit pantothenic gấp 2-4 lần so với rỉ đường mía.

Như vậy, rỉ đường dùng nuôi cấy nấm men không những là nguồn đường mà còn cung cấp các hợp chất hữu cơ khác, các muối khoáng cần thiết và các nhân tố sinh trưởng.

Tuy nhiên, ngoài các thành phần có ích cho sự sinh trưởng của nấm men, rỉ đường cũng có thể chứa các hợp chất có hại có thể làm hư hỏng quá trình lên men: hàm lượng canxi cao nói lên chất lượng thấp của rỉ đường và có thể gây nên những khó khăn trong việc sản xuất nấm men. Rỉ đường cũng có thể dễ dàng nhiễm các vi sinh vật và gây nên những vấn đề không có lợi trong lên men.

Xử lý rỉ đường:

Rỉ đường cần được xử lý chút ít trước khi nuôi cấy. Thông thường nó được axit hoá bằng axit sunfuric tới pH = 4 và đun nóng tới 120-150⁰C trong 1 phút để kết tủa một số chất vô cơ và chất lơ lửng. Cần phải loại bỏ một phần các chất sinh trưởng, đồng thời bổ sung các muối khoáng cần thiết (như urê 0,15%, KH₂PO₄ 0,35%, Mg, Ca) và có thể phải thêm hỗn hợp các axit amin dạng protein thủy phân (dịch nấm men tự phân, dịch thải trong sản xuất nước chấm, dịch bã rượu ở giai đoạn nhân giống).

Khi chuẩn bị phối trộn, rỉ đường củ cải và rỉ đường mía phải được xử lý tách biệt trong các khâu pha loãng, điều chỉnh pH, đun nóng, làm trong, khử trùng rồi mới được phối trộn. Thường pha loãng đến nồng độ đường khoảng 5-6%.

Sau khi chuẩn bị xong môi trường dinh dưỡng, tiến hành thanh trùng ở nhiệt độ 120⁰C.

1.1.2. Các nguyên liệu khác:

- **Dịch kiềm sunfit:** Nước thải các nhà máy giấy xenluloza theo phương pháp sunfit gọi là dịch kiềm sunfit (SWL-Sunfit Waste Liquors) cũng là nguồn nguyên liệu tốt để sản xuất nấm men. Thành phần hydrocacbon của nó chủ yếu là đường pentoza, một loại đường chỉ có nấm men mới chuyên hoá tốt. Ngoài ra còn có linhin, phi xenluloza, một số axit hữu cơ ...

Khi sử dụng dịch kiềm sunfit cần phải được làm nóng và thông khí trước khi nuôi nấm men để loại bỏ các yếu tố kiềm hãm (SO₂ và furfural). Bổ sung chất dinh dưỡng vào dịch thải trên (như NH₄⁺ và PO₄⁻), điều chỉnh pH về khoảng 5 sẽ được môi trường nuôi cấy nấm men khá tốt và lượng sinh khối nấm men sinh ra sau quá trình lên men có chất lượng đáng kể với các thành phần như sau: protein (46% chất khô), lipit (7-8%), photpho (1,8%), axit nucleic (10%)...

Người ta tính rằng khoảng 5 tấn bột xenluloza để sản xuất giấy sẽ thải ra một lượng dịch kiềm sunfit chứa tới 180 kg đường. Dịch này hấp phụ nhiều O₂ nên khi nuôi cấy nấm men có thể giảm mức cung cấp oxi tới 60% so với bình thường.

- **Các nguồn xenluloza thực vật (gỗ, rơm, rạ bã mía, lõi ngô..)** được chú ý nhiều trong sản xuất nấm men. Trước hết cần phải thủy phân xenluloza bằng axit hoặc bằng enzym. Nếu dùng gỗ thì thường phải thủy phân bằng axit sunfuric.

- **Nước thải của nhà máy chế biến sữa**, còn gọi là nhũ thanh (lactoserum): trong quá trình lên men lactic để chế biến phomat, sau khi kết tủa casein ra khỏi sữa, phần còn lại gọi là nhũ thanh có chứa lactoza, protein, axit lactic, axit béo, một số vitamin và muối khoáng. Người ta chọn chủng nấm men thích hợp để có thể thủy phân được liên kết β-galactozidaza và thu được sinh khối nấm men dạng khô có thành phần protein thô khoảng 32%, lipit 4-5%, lacto khoảng 23%. Chủng nấm men *C.utilis* và *C.pseudotropical* rất thích hợp trong môi trường trên đây.

- **Bột ngũ cốc:** là nguồn sản xuất sinh khối nấm men rất tốt. Bột hoặc tinh bột dùng vào mục đích này trước tiên phải tiến hành thủy phân bằng axit hoặc bằng enzym của mầm mại hoặc enzym của vi sinh vật để biến các polysacarit thành các dạng đường mà nấm men có thể đồng hoá được.

Trong trường hợp dùng nấm men *Saccharomysces cerevisiae* thì có thể kết hợp chưng cất thu lấy cồn từ dịch thải sau khi tách sinh khối. Như vậy trong dây chuyền công nghệ cần phải trang bị thêm bộ phận chưng cất. Dịch ly tâm được đưa vào hệ li tâm tách (separator) và dịch thải sau khi được tách ra được chuyển đến khâu chưng cất.

1.2. Chủng nấm men:

Tùy theo từng loại nguyên liệu khác nhau, chúng ta có thể sử dụng những chủng nấm men phù hợp để tạo sinh khối có hiệu quả nhất.

Đối với nguyên liệu là rỉ đường, dung dịch đường, nấm men thường dùng là *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis*.

Đối với nguyên liệu tinh bột hay nước thải tinh bột, dùng chủng nấm men tương ứng là *Endomycopsis fibuligera* hoặc phối hợp giữa *Endomycopsis* với *Candida tropicalis*.

Nếu nguyên liệu là bã rượu, chủng nấm men là *Candida utilis*.

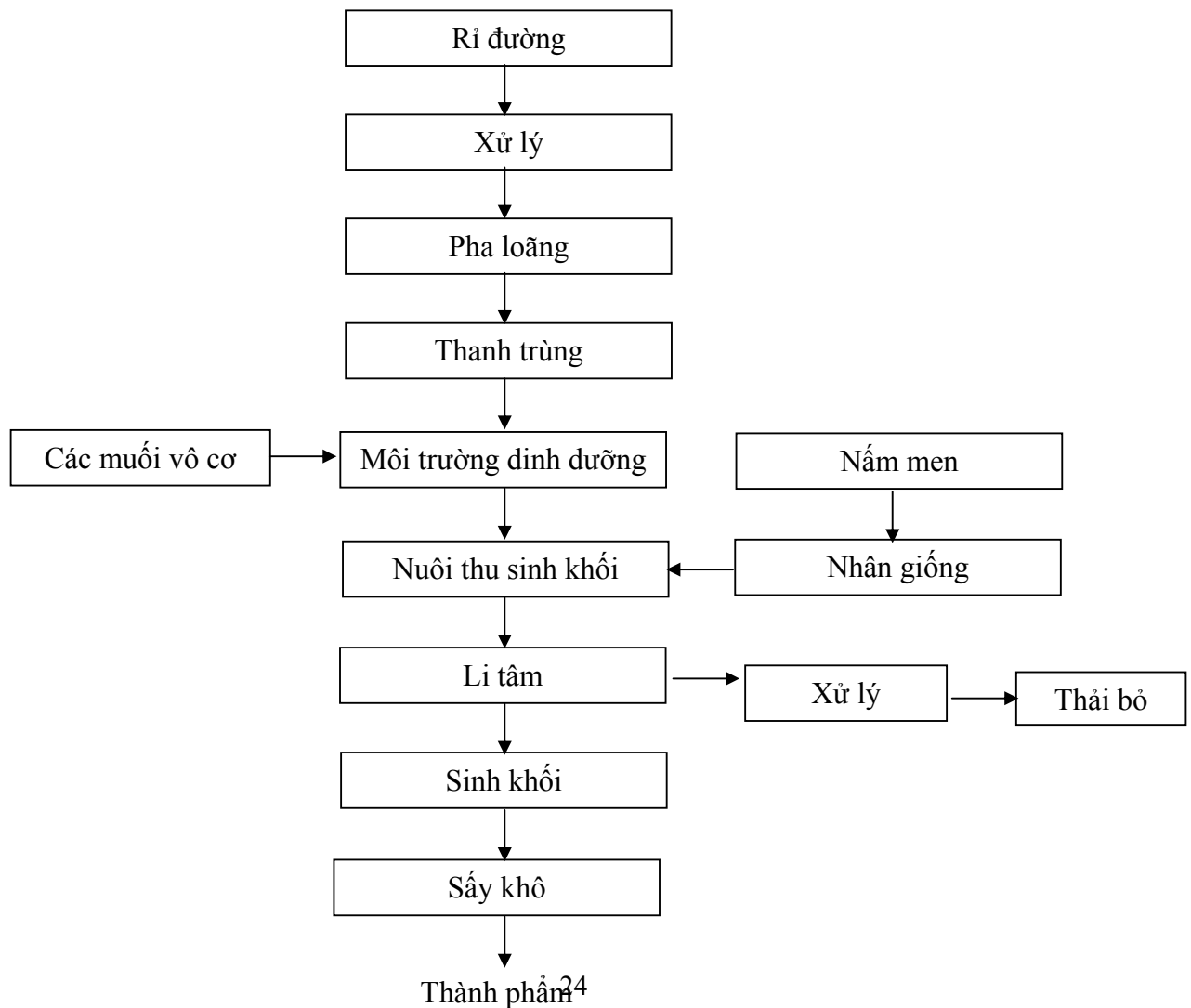
Nếu sử dụng lactoserum (nhũ thanh sữa) thì chủng nấm men đặc chủng là *Torula cremoris*, *T. lactosa*.

Nguyên liệu là kiềm sunfit, chủng nấm men sử dụng là *Cryptococcus diffluens*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis*.

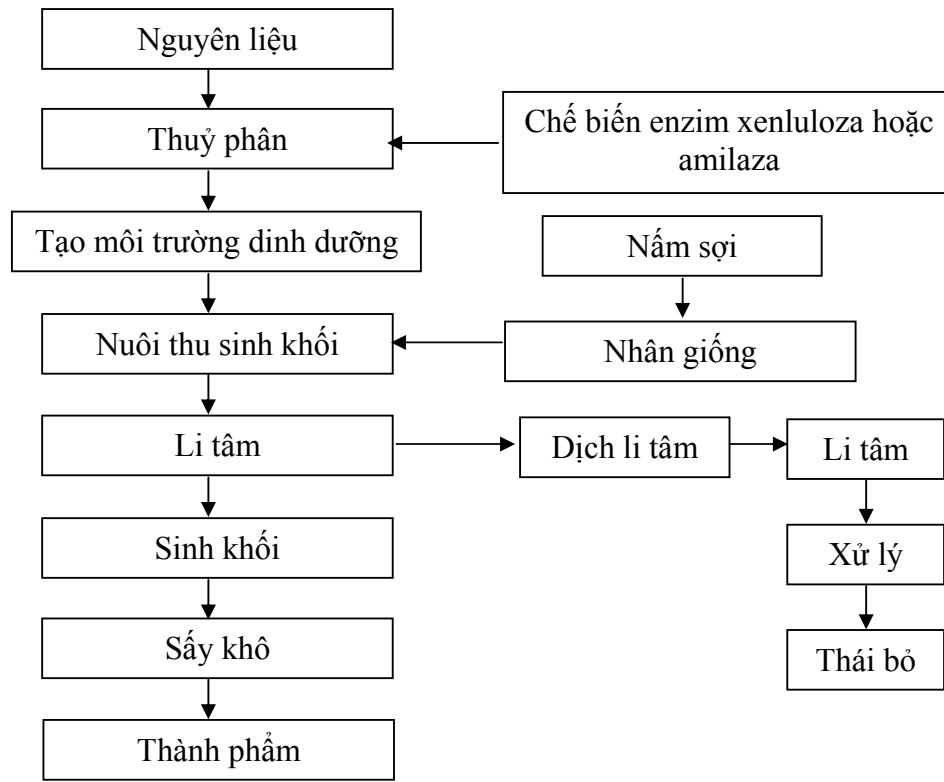
Tuy nhiên trong trường hợp không có những chủng nấm men phù hợp, chúng ta có thể thay thế một trong các chủng trên đây.

1.3. Một số qui trình công nghệ tiêu biểu

1.3.1. Sản xuất sinh khối nấm men từ rỉ đường



1.3.2. Sản xuất sinh khối vi sinh vật từ nguyên liệu chứa tinh bột hoặc xenluloza:



2. Sản xuất sinh khối vi khuẩn

Nguyên liệu và vi sinh vật

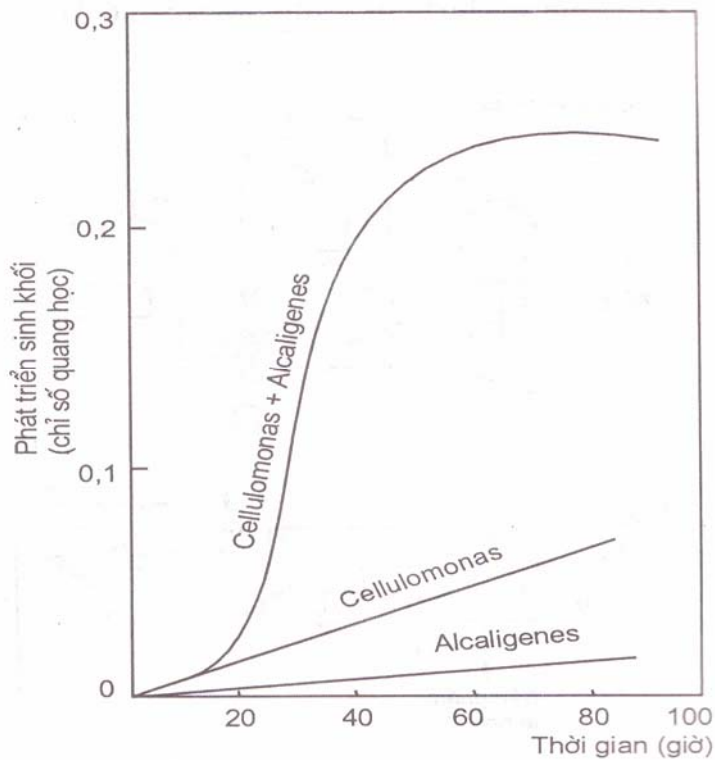
Ngoài nấm men, người ta còn sử dụng rộng rãi vi khuẩn để sản xuất protein từ nguyên liệu xenluloza. Protein vi khuẩn có hàm lượng axit amin cân đối hơn ở nấm men, tỉ lệ protein trong tế bào vi khuẩn lại rất cao, trung bình là 60-70%, có loài tới 87%.

Nhiều nghiên cứu đã thành công trong việc nuôi vi khuẩn protein từ cây cỏ, rom rạ như:

Năm 1969, Srinivaan và Han đã phân lập được hai loài vi khuẩn có khả năng cộng sinh là *Cellulomonas* và *Alcaligenes*. Trong môi trường xenluloza, nếu chỉ riêng một mình *Alcaligenes* thì hầu như vi khuẩn không phát triển được. Nếu chỉ một mình *Alcaligenes* thì vi khuẩn phát triển rất kém. Nhưng nếu một nuôi cấy cùng một lúc cả hai vi khuẩn này thì sinh khối tăng vọt lên (hình 2.1)

- Các nhà bác học Mỹ ở trường Đại học Luisiana đã phân lập từ bã mía một loài vi khuẩn phân huỷ mạnh xenluloza của nguồn nguyên liệu này. Công trình nghiên cứu này đang được ứng dụng có kết quả ở Mỹ và Cuba: Cứ 113 – 136 kg bã mía có thể sản xuất được 18 -23kg protein. Thành công này có một ý nghĩa thực tiễn vì nó cho phép sử dụng bã mía, lõi ngô, rom rạ ... để sản xuất protein một cách trực tiếp mà không phải qua khâu thủy phân bằng H₂SO₄.

- Hai nhà bác học người Austraylia là Roper và Moss đã đưa ra một phương pháp sản xuất protein vi khuẩn từ cỏ, rơm, bã mía, vỏ đậu, mùn cưa, dăm bào .. với hiệu suất rất cao, có thể đạt đến 35% so với lượng rơm cỏ sử dụng. Đặc biệt protein do Roper và Moss thu được từ rơm rạ có chất lượng tương đương với lòng đỏ trứng gà. Giáo sư Macmilan, nhà lãnh đạo phong trào chống đói ở Australia gọi công trình của hai nhà phát minh này là “ Một tiếng nổ kỳ diệu trong cuộc chiến đấu với nạn đói protein của thế giới”.



Hình 2.1. Sự phát triển của Cellulomonas và Alcaligenes trong môi trường xenluloza

3. Sản xuất protein vi sinh vật từ dầu mỏ và khí đốt

3.1. Đặc điểm lịch sử:

- Năm 1925, Tauson đã phát hiện khả năng phân giải cacbua hydro của vi khuẩn.

- Năm 1940, nhiều nhà khoa học trên thế giới đã nghiên cứu sâu về việc sử dụng vi sinh vật trong thăm dò và khai thác dầu khí.

- Năm 1961, Fush đã nghiên cứu thống kê được 26 giống trong đó có 75 loài vi sinh vật có khả năng phân huỷ mạch vòng.

- Năm 1962, công trình đầu tiên về khả năng sử dụng dầu mỏ khí đốt để nuôi cấy vi sinh vật thu nhận sinh khối giàu protein cho gia súc đã được công bố tại Hội nghị dầu mỏ quốc tế lần thứ 6.

Sau đó nhiều nhà khoa học đã phân lập được 498 chủng nấm men có khả năng phân giải cacbua hidro. Và từ đó có nhiều nhà máy đã sản xuất được sinh khối nấm men mà sản phẩm chứa tới 60 – 70% protein.

3.2. Nguyên liệu

3.2.1. Dầu mỏ

Chỉ những phân dầu mỏ nhất định mới được vi sinh vật đồng hoá như:

- Các alkan (paraphin) với chiều dài chuỗi $C_{10} - C_{20}$

- Các alkin, anken, hydrocacbon thơm.

- Các parafin chuỗi ngắn còn lại trong phân dầu mỏ có nhiệt độ nóng chảy thấp.

- Sử dụng n-parafin tinh khiết được tách từ mỏ dựa trên các nguyên tắc sàng phân tử làm cơ chất có ưu điểm là nguồn C bị tiêu thụ hoàn toàn và không để lại những cacbua hidro độc.

Cơ chế của sự hấp thụ ankan cho đến nay cũng chưa được làm sáng tỏ đầy đủ. So với các tế bào sinh trưởng trên glucoza thì nấm men nuôi trên cacbua hidro có màng tế bào dày hơn và có nếp nhăn.. Tuy nhiên các tế bào này không gặp khó khăn gì trong việc hấp thụ những cơ chất không tan trong nước được bổ sung vào môi trường với nồng độ 2 - 4%.

3.2.2. Khí thiên nhiên

- Me tan: Metan là thành phần chính của khí thiên nhiên. Tuy nhiên metan không chỉ là nguyên liệu trong lòng đất mà còn được tạo thành qua con đường vi sinh vật nhờ sự lên men metan và được sinh ra trong các bể chứa bùn mục nát trong các thiết bị làm sạch. Nguyên tắc sản xuất protein từ khí thiên nhiên là nuôi vi khuẩn trên dịch muối amon và muối khoáng được thường xuyên thổi khí metan và không khí.

Ưu nhược điểm của việc sử dụng metan:

Ưu điểm:

- Khí thiên nhiên rẻ hơn dầu mỏ nhiều lần.

- Phần khí không được vi sinh vật đồng hoá được loại bỏ một cách dễ dàng. Vì vậy sản phẩm rất tinh khiết và không tốn kém dung môi cho việc rửa tế bào như khi sử dụng dầu mỏ làm cơ chất.

Nhược điểm:

- Vi sinh vật đồng hoá khí thiên nhiên đều là các vi sinh vật hiếu khí. Do đó môi trường dinh dưỡng phải thường xuyên thổi hỗn hợp khí metan và oxi hoặc là không khí rất dễ gây nổ. Nếu nồng độ hỗn hợp khí cao rất dễ bắt lửa và nổ, còn nồng độ khí thấp thì vi sinh vật không đủ hô hấp. Cả hai trường hợp không đủ dinh dưỡng và ngột thở, vi sinh vật đều phát triển kém và hiệu suất nuôi cấy thấp.

- Để thực hiện được quá trình sinh tổng hợp protein thì oxy và metan phải được chuyển từ trạng thái khí sang trạng thái lỏng để bọt khí mang nhiên liệu và chất oxy hoá đến các tế bào vi sinh vật đang sinh trưởng một cách nhanh chóng và thực hiện quá trình đồng hoá. Tuy nhiên, độ hoà tan của metan và oxy trong nước thấp. Có thể khắc phục bằng cách là tăng áp suất dư trong thiết bị nhưng việc chế tạo thiết bị chịu áp lực cao sẽ phức tạp và không kinh tế. Hoặc đưa một dung môi hữu cơ nào đó vào môi trường dinh dưỡng để tăng độ hoà tan của metan, nhưng sẽ làm cho vi sinh vật thích dung môi hơn metan và như vậy việc dùng khí thiên nhiên mất hết ý nghĩa.

- Metanol: Để khắc phục những nhược điểm của việc sử dụng metan, có thể sử dụng metanol thu được từ metan nhờ sự oxy hoá hoá học. Đó là nhờ những ưu điểm sau của metanol:

+ Metanol dễ tan trong nước nên có thể dùng ở nồng độ cao hơn (2-3%).

+ Nhu cầu oxy của sự đồng hoá metanol là thấp hơn.

+ Có thể dùng nấm men để đồng hoá metanol. Mà nấm men có kích thước tế bào lớn hơn vi khuẩn nên năng lượng cần thiết cho quá trình li tâm tách sinh khối ít hơn so với vi khuẩn sử dụng để đồng hoá metan. Tính kinh tế cao hơn.

Tuy nhiên dùng metanol có nhược điểm sau:

+ Metanol đắt hơn nhiều so với metan hoặc khí thiên nhiên.

+ Thu hoạch tế bào từ metanol thấp hơn từ metan.

- Etan, propan, butan: Việc sử dụng các alkal dạng khí chuỗi ngắn chứa trong dầu mỏ như etan, propan, butan diễn ra không qua vi khuẩn đồng hoá metan mà chỉ trong hỗn hợp quần thể chứa các cơ thể có khả năng nói trên (*Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*).

3.3. Các chủng vi sinh vật

3.3.1. Vi sinh vật phân giải cacbua hidro:

- Vi khuẩn: *Achrobacter*, *Alkaligenes*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Mycococcus*, *Nocardia*.

- Xa khuẩn: *Streptomyces*, *Actinomyces*.

- Nấm men: *Candida*, *Cytomyces*, *Debaryomyces*, *Endomyces*, *Hansenula*, *Monolia*, *Scopuloriopsis*.

- Nấm sợi: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

3.3.2. Vi sinh vật phân giải khí thiên nhiên:

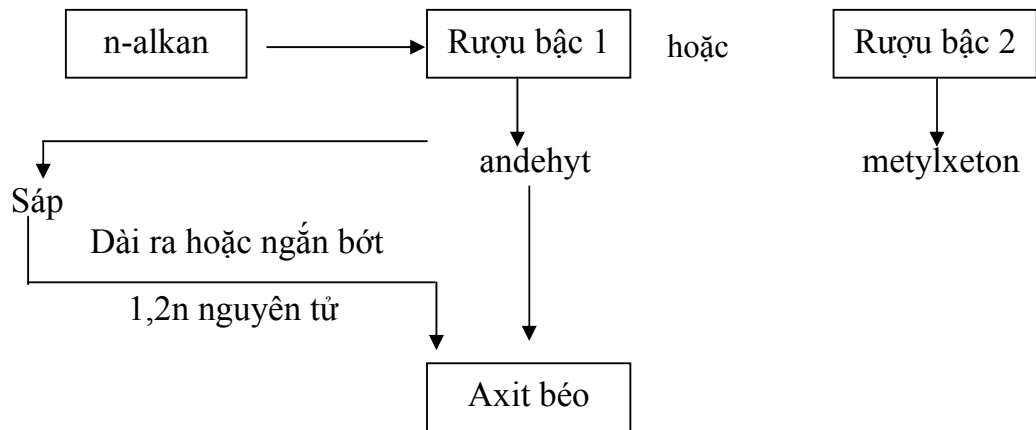
Chủ yếu là các vi khuẩn: *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Methanomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Flavobacterium*, *Bacterium*.

3.4. Cơ chế chuyển hoá

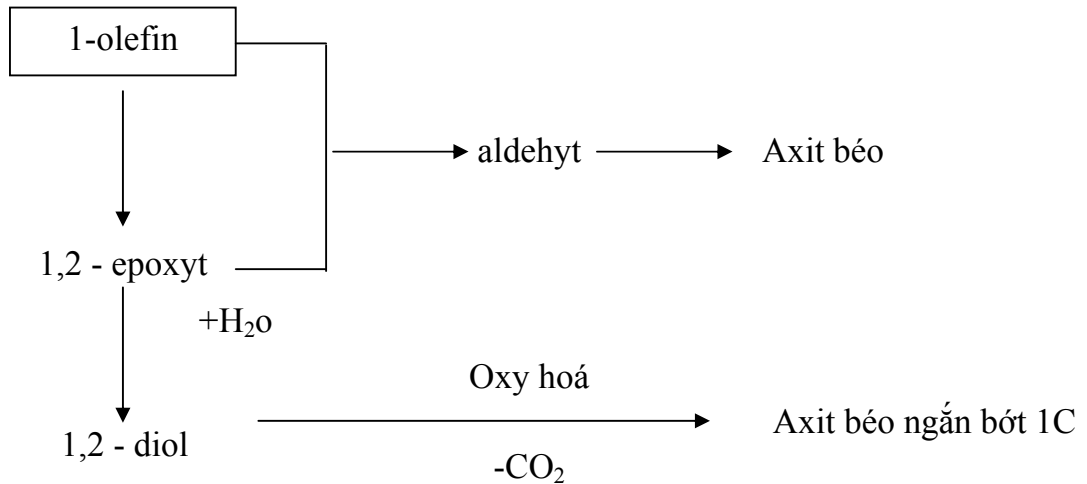
Quá trình đồng hoá cacbon từ dầu mỏ và khí đốt có thể đề ra ở dạng tổng quát như sau:

(1) Hydro cacbua → Rượu bậc 1 hoặc bậc 2 → andehyt → Chất béo

(2) Đối với n-alkal, có thể là:

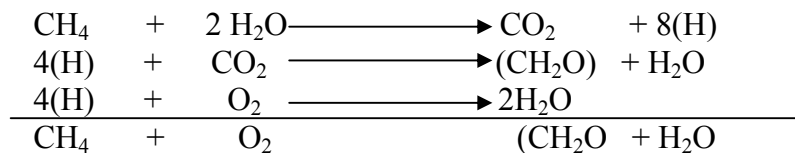


(3) Đối với các hợp chất không no (thí dụ như 1-olefin), người ta cho rằng quá trình oxy hoá nhờ vi sinh vật có thể đi theo con đường sau:



(4) Cơ chế chuyển khí metan:

Các vi sinh vật phân giải khí metan thành CO_2 và H^+ hoạt động. Vi sinh vật sử dụng H^+ để khử tiếp CO_2 tạo thành các hợp chất hữu cơ theo những phương trình tóm tắt sau:



Các axit béo tạo thành sẽ được lôi cuốn vào các quá trình đồng hoá tiếp theo, tham gia vào các quá trình trao đổi chất ở tế bào vi sinh vật trong chu trình Krebs. Một phần các axit amin được tạo thành sẽ kết hợp với NH_3 cho ra các aminoaxit. Nhờ các phản ứng chuyển amin mà một số loại axit amin được tạo thành ngày càng phong phú và cuối cùng, dưới sự điều khiển của ADN trong tế bào vi sinh vật, các axit amin này sẽ được tổ hợp lại với nhau để thành các phân tử protein.

3.5. Sơ đồ qui trình công nghệ sản xuất sinh khối nấm men

Sơ đồ công nghệ sản xuất sinh khối nấm men từ các sản phẩm dầu mỏ cũng tương tự như từ các nguồn hydrocarbon, tức là gồm các giai đoạn sau:

- Chuẩn bị môi trường dinh dưỡng.

- Nhân giống và lên men.
- Tách và rửa sinh khối nấm men,
- Sấy khô.

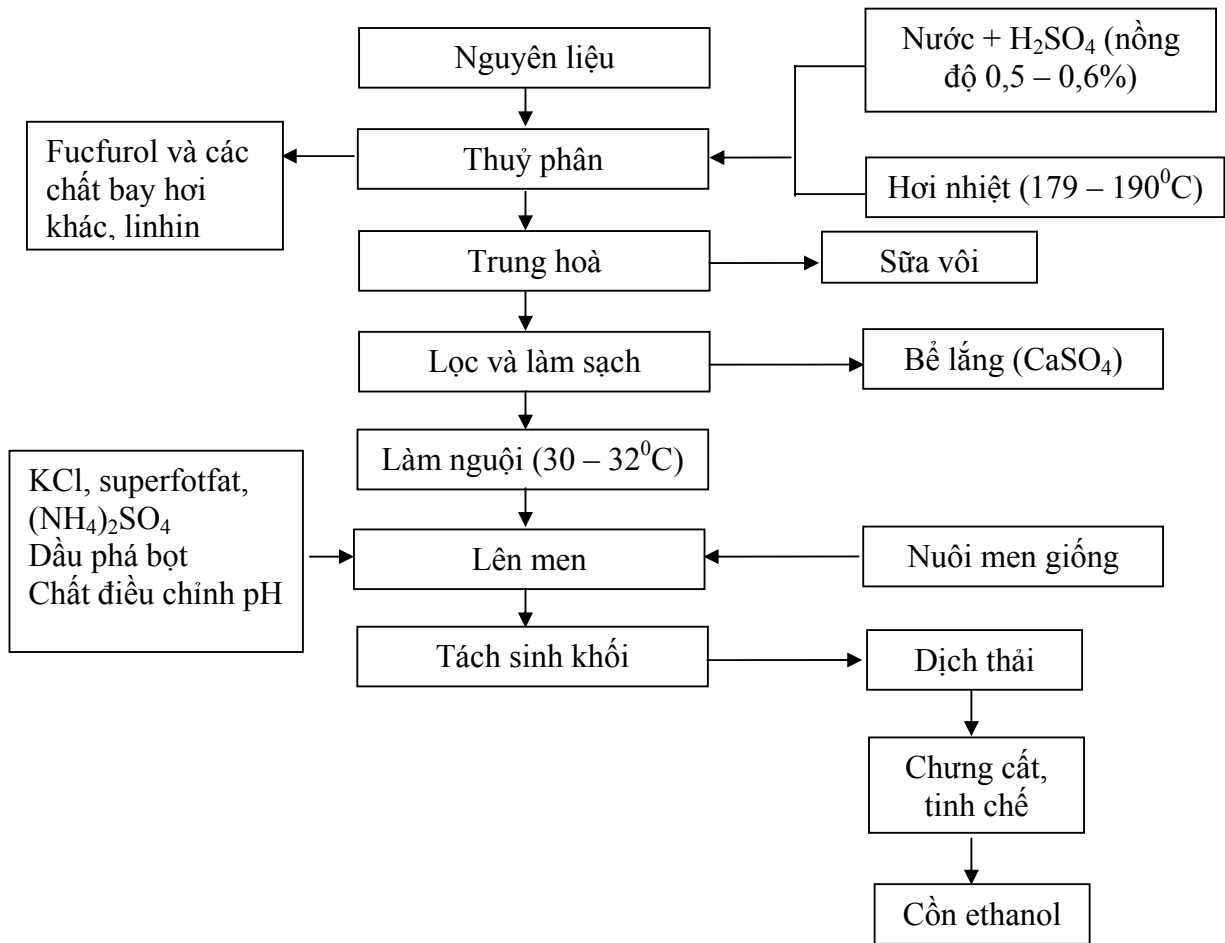
Quy trình công nghệ sản xuất sinh khối nấm men cụ thể từ dầu mỡ thô và parafin tinh khiết cũng tương tự nhau. Tuy nhiên dùng dầu mỡ thô thì đòi hỏi quy trình công nghệ phức tạp hơn, mặc dù giá thành tương đối rẻ hơn. Dùng parafin thì khâu tách nấm men có thể bỏ bớt khâu tẩy rửa bằng dung môi hữu cơ vì thực tế parafin được nấm men sử dụng hoàn toàn

CHƯƠNG 3

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PROTEIN TỪ CÁC NGUỒN HYDAT CARBON

1. Công nghệ sản xuất protein trên nguyên liệu polysacarit chưa thủy phân

1.1. Sơ đồ công nghệ sản xuất nấm men từ các nguyên liệu thực vật thủy phân bằng H_2SO_4 .



Các loại dịch thể chứa đường được tập trung vào bể lớn trước khi phân phối vào các bể lên men. Sau đó được trung hoà bằng sữa vôi và làm trong. Ở các bể làm trong thường có các cách khuấy và ống thông khí, nhờ đó các chất ức chế dạng bay hơi như fucfurol, SO_2 sẽ được loại bỏ.

Sau khi đã được trung hoà và làm trong, dịch lỏng còn nóng sẽ được làm nguội đến nhiệt độ $30 - 32^\circ C$, rồi pha loãng đến một nồng độ đường thích hợp cho nấm men và tùy theo yêu cầu mà bổ sung các muối vô cơ.

1.2. Xử lý nguyên liệu và chuẩn bị môi trường

Đối với các nguyên liệu ban đầu dùng để sản xuất protein đơn bào từ nấm men cần phải được xử lý sơ bộ. Sau đó tiến hành pha chế môi trường. Tùy từng loại nguyên liệu và chủng vi sinh vật nuôi cấy, chúng ta sẽ có các thành phần môi trường thích

hợp. Nói chung, ngoài nguồn cơ chất cơ bản là nguồn cacbon ra, chúng ta cần đưa vào môi trường nguồn nitơ, photpho, kali, magiê, các nguyên tố khoáng khác nữa. Nguồn nitơ thường là các muối sunfat, nguồn photpho là supephotphat, K–KCl, Mg – MgSO₄. Có thể dùng amoniac để giữ pH xác định. Trong quá trình lên men còn cần nguồn chất sinh trưởng như cao ngô, cao nấm men, hoặc các dịch thủy phân khác v...v..

Các thành phần môi trường được hoà tan, lọc bỏ cặn, điều chỉnh pH đến 4,8–5,2 bằng axit sunfuric hoặc axit clohydric (đối với môi trường ri đường thì pH là 4,2– 4,5).

Nuôi cấy nấm men trong sản xuất SCP chia làm hai giai đoạn:

- Giai đoạn nhân giống để có đủ lượng giống (số lượng tế bào). Giai đoạn chuẩn bị vật liệu nuôi cấy cần phải vô trùng. Môi trường nhân giống và khi tiến hành nhân giống cần phải vô trùng.

- Giai đoạn lên men: Giai đoạn nuôi lớn ở qui mô công nghiệp hay điều kiện pilot có thể thực hiện trong thùng kín hoặc thùng hở, điều kiện không cần vô trùng.

Trường hợp không cần vô trùng thì không cần thanh trùng ở áp suất dư của hơi nước, mà chỉ cần đun nóng hoặc ozon hoá, lọc khử khuẩn, clo hoá, xử lý qua với focmalin v..v..

1.3. Nuôi cấy nhân giống

Nuôi cấy nhân giống đầu tiên được thực hiện ở phòng thí nghiệm: giống ồng nghiệm được cấy chuyên vào bình tam giác có môi trường vô trùng, sau đó các bình có giống được nuôi cấy trên máy lắc với nhiệt độ bình thường từ 25 – 30⁰C đến độ tuổi sinh lý thích hợp sẽ cấy vào môi trường nhân giống của phân xưởng : nhân giống cấp 2 trong các bình thép kín có sục khí đến khi đạt được 3,5 – 5g sinh khối trong 1l dịch nuôi. Quá trình kết thúc sau 12 – 15 giờ. Có thể nhân giống cấp 3 ở các nồi có thể tích tới 4 – 5 m³ . Tỷ lệ tiếp giống chuyên cấp là 1:10. Trong quá trình nhân giống dùng nước amoniac để giữ pH và thổi khí liên tục. Từ nồi 4 – 5 m³ sẽ được chuyển sang thùng 12 – 15 m³ và tới vài chục m³ hoặc to hơn.

Nuôi lên men công nghiệp : là nuôi mở rộng trong phân xưởng không cần phải vô trùng. Nhiều nhà máy đặt các nồi lên men kín hoặc hở, thường thể tích các nồi lên men là vài chục mét khối, có thể tới 500m³.

Tiến hành nuôi men theo phương pháp bán liên tục cho hiệu quả kinh tế cao: khi đạt lượng sinh khối có trong dịch nuôi cấy lấy dần ra và cho thêm môi trường mới vào nồi lên men có hàm lượng đường khoảng 1-2%.

1.4. Các điều kiện kỹ thuật:

Để sản xuất sinh khối nấm men giàu protein các dạng nguyên liệu trên cần đảm bảo các điều kiện kỹ thuật cơ bản sau:

- Nồng độ đường trong dịch nuôi cấy phải đảm bảo từ 2 -4 %.
- Muối urê 3g/l.
- Suphephotphat 4g/l.
- Không khí vô trùng
- Thời gian nuôi từ 18 – 36 giờ.

- Nhiệt độ nuôi cấy 28 – 30°C.
- pH môi trường 4,5 – 5,5 .

Quá trình sản xuất CSP là quá trình hiếu khí. Vì vậy bắt buộc phải thông khí môi trường.

Việc cung cấp không khí có một số tác dụng sau:

- Cung cấp O₂ cho vi sinh vật tổng hợp vật chất tế bào.
- Tách CO₂ ra khỏi dung dịch nuôi cấy.
- Xáo trộn môi trường, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình trao đổi chất tốt hơn.

Không khí cung cấp cho quá trình sinh tổng hợp protein phải được làm sạch trước khi cho vào thiết bị lên men.

Một yếu tố cần chú ý nữa là nồng độ đường trong quá trình nuôi cấy. Không nên để nồng độ đường quá cao trong môi trường vì sẽ ức chế sự tăng trưởng tế bào sẽ tạo ra nhiều sản phẩm phụ không cần thiết. Do đó nồng độ đường cần không chế < 4 % là thích hợp.

1.5.Thu hồi sinh khối:

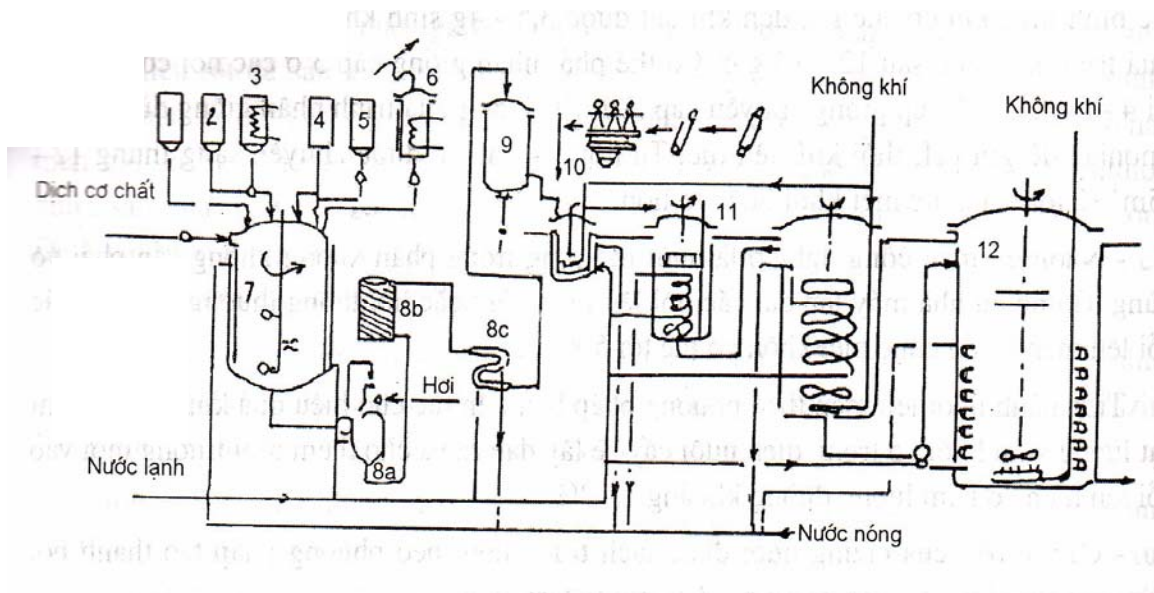
Bọt và sinh khối tràn ra ngoài trong quá trình lên men được tách trước tiên theo phương pháp tạo thành bọt cùng với sinh khối trào ra ngoài rồi đưa đi li tâm tách.

Bọt và sinh khối tràn ra ngoài được thu gom lại đi xử lý bằng phương pháp tuyển nổi (flotation) rồi đưa đi li tâm qua các máy li tâm tách (Seprator), cô đặc ở chân không.

Sinh khối nấm men thu được ở dạng sệt có 75-80 % nước, 20-25% chất khô trong đó có cacbon 40-50%, nitơ 7-10% tương ứng với 40-60% protein, hydro 5-7%, oxy 25-30%, các nguyên tố vô cơ 5-10% (photpho và kali chiếm 95-97% tổng lượng tro, số còn lại là canxi, magiê, nhôm, lưu huỳnh, clo, sắt. Ngoài ra còn có một lượng nhỏ nguyên tố Mn, Zn, Mo, Bo, Coban...). Sinh khối được đưa vào sấy ở máy sấy 2 trục hoặc sấy phun.

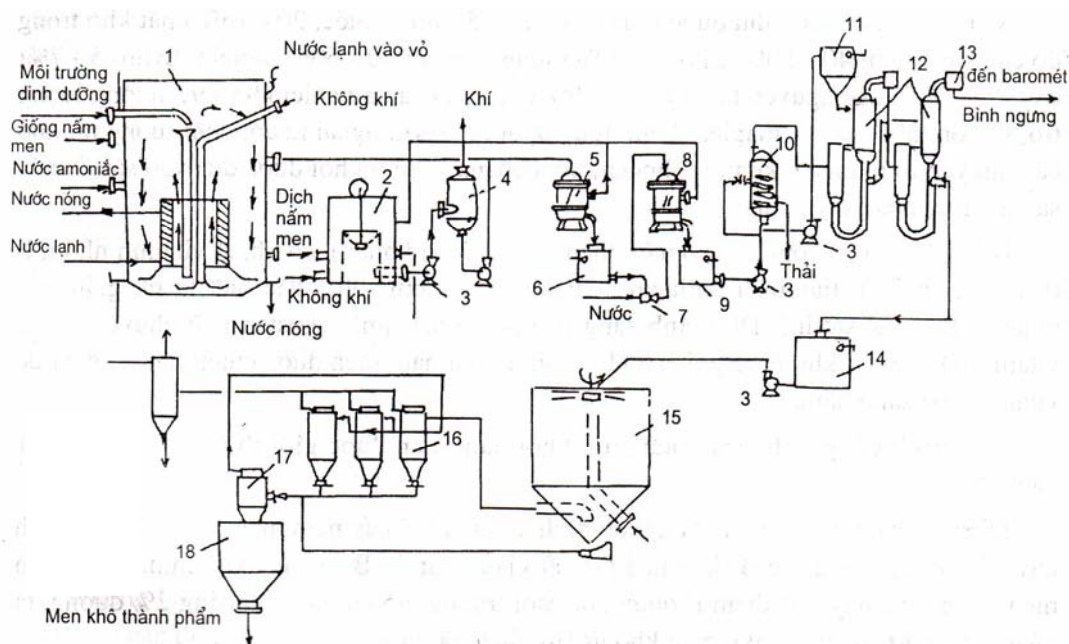
Trong tế bào nấm men kể cả vi khuẩn, có nhiều vitamin nhóm B (trừ VTM B12): tiamin, riboflavin, axit niconitic, axit folic, đặc biệt rất giàu tiền VTM D2 (ergosterin). Dưới ánh sáng tia tử ngoại (tia cực tím) ergosterin sẽ chuyển thành VTM D2. Vì vậy trước khi đóng gói sản phẩm sinh khối nấm men được chiếu tia tử ngoại để VTM hoá sản phẩm.

Quá trình công nghệ sản xuất sinh khối nấm men được giới thiệu ở các sơ đồ sau :



Hình 3.1. Quá trình chuẩn bị môi trường và nuôi cấy ở điều kiện vô trùng.

- | | |
|--------------------------------|------------------------|
| 1. Bình chứa dịch amon sunfat. | 7. Bình pha môi trường |
| 2. Suphephotphat | 8a,8b,8c. thanh trùng |
| 3. Nước nóng | 9. Bình lắng |
| 4. Sữa vôi | 10. Nồi giống cấp 2 |
| 5. KCl | 11. Nồi giống cấp 3 |
| 6. Bình tự phân nấm men. | 12. Nuôi mở rộng |



Hình 3.2. Sơ đồ nuôi và thu sinh khối nấm men.

- | | |
|------------------------------|--|
| 1. Nồi lên men | 9. Thùng chứa men đặc |
| 2. Thùng tuyển nổi | 10. Bình điều chỉnh nhiệt liên tục |
| 3. Bơm | 11. Thùng tập trung men trước khi cô đặc |
| 4. Bình tách khí | 12. Thiết bị cô đặc chân không |
| 5. và 8. Li tâm tách I và II | 13. Thiết bị tạo chân không |
| 6. Thùng chứa men | 14. Thùng chứa men trước khi sấy |
| 7. Bơm nước | 15. Sấy phun |
| 16, 17. Cát xyclon | 18. Thùng tàn trữ |

1.6. Công nghệ sản xuất protein từ sản không qua quá trình thủy phân ban đầu.

Nghiên cứu của Azoulay đã giúp cho hãng Adour Entreprise (Pháp) phân lập được một chủng nấm men *Candida tropicalis* có thể lên men trực tiếp sản mà không cần quá trình thủy phân ban đầu theo qui trình công nghệ như sau:

Củ sản được rửa, thái mỏng rồi nghiền nhỏ. Hoà tan tinh bột bằng cách đun nóng > 100°C đồng thời cũng là để thanh trùng tránh nhiễm tạp khuẩn. Cách xử lý này cũng làm phân huỷ các axit hydroxianic có trong sản (*Manihot esculenta*) chuyển thành amon và axit focmic.

Lên men: quá trình lên men được thực hiện trong một nồi lên men có sục khí. Dịch lên men thu được chứa 10 – 25 kg nấm men/m³. Sau khi li tâm, dịch trong được thu hồi để quay trở lại lên men mẻ sau, còn sinh khối nấm men chưa tới 15 % chất khô được đưa đi xử lý tiếp để thu hồi sinh khối. Trong một số trường hợp chăn nuôi gia súc (lợn), có thể bổ sung trực tiếp nấm men tươi vào thức ăn mà không cần làm khô (Inchauspe, 1986).

1.7. Sản xuất protein từ chuối:

Ở Encuador, nước xuất khẩu chuối hàng đầu thế giới, và nước Colombia – cũng là nước chủ chốt về xuất khẩu chuối, luôn luôn có một tỉ lệ lớn sản lượng chuối (> 25 %) không xuất khẩu được vì kém chất lượng. Vì vậy chuối có thể là nguyên liệu quan trọng cho sản xuất SCP. Khoảng 15000 tấn chuối có thể chuyển hoá thành 100000 tấn sinh khối mỗi năm.

2. Công nghệ sản xuất protein trên dịch thủy phân gỗ.

Ở Mỹ, nấm men gia súc được sản xuất từ dịch kiềm sunfit của các nhà máy bột giấy:

- Một số công ty như công ty Envirosion Ltd đã dùng nước thải bột giấy đem khử trùng (ở 121°C/1giờ) rồi làm nguội đến 37°C để làm cơ chất cho sự phát triển hiếu khí của một loại vi nấm *Chaetomium cellulolyticum*. Ngoài ra trong môi trường còn bổ sung các chất dinh dưỡng khác chứa nitơ, photpho và kali. Vi nấm tồn tại như những vật rắn dạng huyền phù, bám vào sợi xelluloza trong cơ chất và tiết ra enzym xenluloza làm chuyển hoá xenluloza thành glucoza. Sau khi đồng hoá được xenluloza, vi nấm tạo sinh khối và thải ra CO₂. Đối với dịch kiềm sunfit này, các chủng nấm men sản xuất cần được làm quen với nồng độ axit sunfuro cao ngay trong các bể tập trung. Cứ mỗi tấn cacbon của cơ chất thì có thể tạo ra 500kg sinh khối. Sản phẩm cuối cùng chứa

40 % protein, 60% lipit, xenluloza và hydrat cacbon (với sản phẩm có độ ẩm 5%) (theo Chemical Engineering News, 6-2-1984).

Một số nhà máy khác sử dụng công nghệ Pekilo của công ty Tampella với chủng nấm thuộc chi *Paccilomyces* nuôi cấy trên dịch sunfit. Trước khi lên men, hầu hết SO₂ được loại bỏ bằng cách sục bằng hơi nước qua dung dịch sunfit. Đưa vào nồi lên men các chất có chất dinh dưỡng khoáng như axit photphoric, KCl, khí NH₃ và sục đều bằng không khí nén. Sau khi lên men, sinh khối vi nấm được tách ra và rửa trong các máy ép lọc đến Bx = 35%, sau đó đem sấy bằng không khí nóng rồi ép và tạo hạt.

3. Công nghệ sản xuất protein trên dịch thủy phân các nguyên liệu thực vật

3.1. Sản xuất protein trên nguyên liệu chiết ngô và nước chiết lúa mì.

3.1.1. Nguyên liệu: là nước chiết ngô và nước chiết lúa mì

Thành phần nước chiết từ lúa mì và ngô (theo kết quả nghiên cứu của Viện nghiên cứu tinh bột M. V. Plevaco) được cho ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Thành phần nước chiết từ lúa mì và ngô

Chỉ số	Nước chiết lúa mì	Nước chiết ngô
Nồng độ chất khô (%)	7,1	7,5
Đường khử g/l	2,0	4,0
Ni tơ g/l	3,14	0,62
Tro g/l	4,79	6,46
A. amin theo sắc ký, trong đó lyzin		
a. aspactic và glutamic, β – alanin	10	7
Biotin γ/ml	0,18	0,75
Biotin γ/100g chất khô	360	1025

Trong nước chiết lúa mì, thành phần đường khử có mantoza và glucoza, chiếm 30% chất khô của nước chiết. Trong nước chiết ngô, đường khử là mantoza, glucoza, xyloza trong đó glucoza chiếm tỉ lệ cao nhất. Hàm lượng biotin trong nước chiết ngô gấp 4 lần nước chiết lúa mì.

3.1.2. Chủng nấm men: Để nuôi nấm men, dùng chủng *Candida Tropicalis* có khả năng lên men được mono và disacarit. Chủng này cho hiệu suất cao và có khả năng phát triển trên nước chiết có nồng độ cao.

3.1.3. Nuôi cấy nấm men: Gián đoạn và liên tục có sục không khí. Nồng độ tối thích của môi trường dinh dưỡng nước chiết lúa mì là 1 – 2%, còn nước chiết ngô là 1-1,5%.

Theo phương pháp liên tục với qui trình như sau:

Nước chiết và muối khoáng (amon sunfat và đôi khi supephotphat) được đưa vào thiết bị nuôi men (đã cho nấm men giống) với tốc độ tăng dần trong 6 giờ, trong khi đó môi trường được thông khí liên tục. Đến cuối giờ thứ 6, lượng sinh khối nấm

men sinh ra khoảng 25 – 30 % tính theo nắm men ép. Đến giờ thứ 7, một phần môi trường từ thùng nuôi men được chuyển vào thiết bị lên men phụ: 2 giờ đầu – 10 %, 2 giờ thứ 2- 15% và 2 giờ cuối 20% thể tích môi trường chung.

Sau 12 giờ là bắt đầu sang giai đoạn 3, giai đoạn nuôi cấy liên tục. Trong giai đoạn này, cứ mỗi giờ thiết bị nuôi men lại lấy ra 20% dung tích, rồi bổ sung vào môi trường nước chiết, nước và muối khoáng.

Amon sunfat cho vào tính theo hàm lượng các chất có trong nắm men ép: nito 2%, photpho P_2O_5 1,5 -2%.

Tốc độ phát triển nắm men trên nước chiết lúa mì bằng 16-20% (so với trọng lượng nắm men trong thiết bị) trong 1h, còn trên nước chiết ngô 20-22% trong 1h. Hiệu suất thu được như sau: cứ 100kg chất khô tuyệt đối của nước chiết lúa mì thu được lượng nắm men ép (có độ ẩm 75%) là khoảng 194kg, còn từ nước chiết ngô là 240 -260 kg.

3.2. Sản xuất sinh khối nấm men trên nguyên liệu nước chiết từ bã khoai tây

3.3.1. Nguyên liệu:

Trong các nhà máy sản xuất tinh bột từ khoai tây, nước dịch chiết là nước ép được trích ly từ bã khoai tây, từ các bể lắng và từ các thiết bị li tâm.

Trong nước dịch chứa khoảng 96% dịch tế bào khoai tây, trong đó có gần 77,8% chất nito, 88% gluxit hoà tan, 87% lipit và 63,3% chất khoáng (tính theo khối lượng của các chất này có trong khoai tây. Trong $1m^3$ nước dịch chứa khoảng 0,54g kali oxit (K_2O) và 0,09 kg axit photphoric.

Chất khô cuối nước dịch của các nhà máy tinh bột có thành phần (%) như sau:

Thành phần chất khô	%
- Gluxit tan	0,97
- Chất khoáng	0,67
- Hợp chất N_2	1,76
- Lipit	0,13
- Các chất khác	0,67

Bên cạnh nước dịch, nước sữa của công nghiệp sản xuất tinh bột là nước thu được khi rửa tinh bột ở các máy chứa 0,16% tinh bột khô tuyệt đối so với số lượng khoai tây đem chế biến. Lượng nước rửa chiếm khoảng 170 - 270% so với khối lượng khoai tây.

Nước rửa chứa chủ yếu các chất vô cơ và hữu cơ hoà tan. Thành phần hoá học của nước rửa rất khác nhau và phụ thuộc nhiều yếu tố như: kĩ thuật sản xuất, chất lượng nguyên liệu, điều kiện bảo quản nguyên liệu, kích thước củ v...v...Hàm lượng tinh bột không vượt quá 1g/l.

Nước dịch và nước rửa này nếu không được tận dụng chế biến, hoặc xử lý trước khi thải ra ngoài, sẽ làm nhiễm bẩn nguồn nước, nếu thải ra các sông, hồ, ao sẽ làm chết nhiều cá. Với hàm lượng protein khá lớn trong nước dịch, nếu thải nước này vào các cánh đồng tưới để làm sạch sinh học tự nhiên, cũng không có hiệu quả.

Vì vậy sử dụng nước dịch thải này để sản xuất sinh khối nấm men rất có ý nghĩa về kinh tế và bảo vệ môi trường.

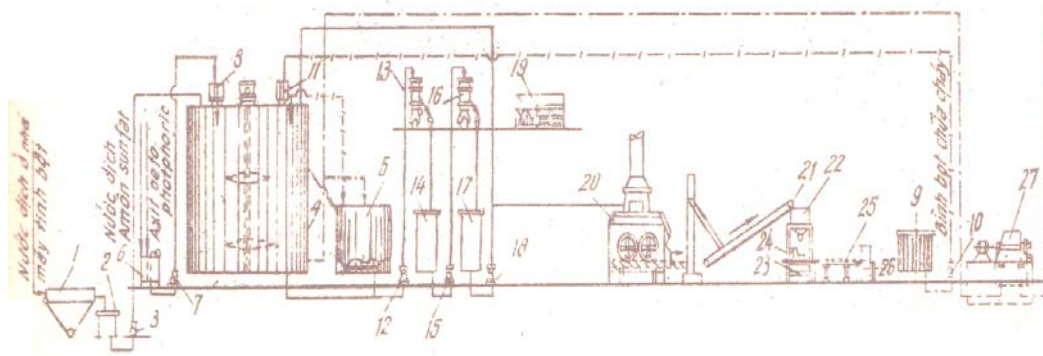
Các nghiên cứu đã chứng tỏ rằng nước dịch tế bào khoai tây có chứa a.aspartic, biotin, D-alanin, là những chất rất cần cho nấm men sinh trưởng, phát triển và sinh sản. Nồng độ môi trường thích hợp nhất là 1,5-4°Bx.

3.2.2. Hiệu suất tổng thu hồi.

Theo kinh nghiệm sản xuất, cứ mỗi tấn khoai tây đem chế biến có thể thu được không ít hơn 30kg nấm men bánh hoặc 7-8 kg nấm men gia súc khô. Tính theo lượng protein thu được thì nó bằng 300kg khoai tây.

3.2.3. Quy trình công nghệ:

Sản xuất nấm men gia súc có thể theo sơ đồ công nghệ sau đây (Hình 3.3)



Hình 3.3: Sơ đồ kỹ thuật sản xuất nấm men chăn nuôi.

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. Bộ phận lọc | 2. Thùng trung gian |
| 3. Bơm pitông | 4. Thiết bị nuôi men |
| 5. Thùng chứa dịch nấm men | 6. Thùng hoà tan các chất bổ sung |
| 7. Bơm | 8. Thùng định lượng |
| 9. Thùng chứa chất phá bọt | 10. Bơm |
| 11. Bình đo | 12, 15, 18. Bơm |
| 13, 16. máy phân ly | 14. Thùng chứa dịch cô đặc lần I |
| 20. Máy sấy hai trục lăn | 17. Thùng chứa dịch cô đặc lần II |
| 21. Băng chuyền | 22. Phễu |
| 23. Bán đóng gói | 24. Cân |
| 25, 26. Băng chuyền | 27. Quạt gió turbin |
| 29. Bể rửa các chi tiết của máy phân ly. | |

Việc nuôi nấm men theo quy trình trên được trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2. Quy trình nuôi cấy nấm men vô trùng

Giờ	Đưa vào (Môi trường: nước dịch) m ³	Đưa vào (Amon sunfat) kg	Đưa vào (Axit octphotphoric) kg	Lấy ra m ³
1	4	5,3	0,45	-
2	4	5,3	0,45	-
3	4	5,3	0,45	-
4	8	10,6	0,90	-
5	8	10,6	0,90	-
6	8	10,6	0,90	-
7	8	10,6	0,90	-
8	8	10,6	0,90	-
9	8	10,6	0,90	-
10	8	10,6	0,90	-
11	8	10,6	0,90	-
Tổng cộng sau 11 giờ	80	106	9	-
Tổng cộng sau các giờ tiếp theo	15	6	1,8	15

Thuyết minh qui trình sản xuất

Nước dịch được tách bởi tinh bột nhờ bộ phận lọc 1, chảy xuống bơm pitông 3 qua thùng trùng gian 2 vào thiết bị nuôi nấm men 4. Amon sunfat sau khi hoà tan trong thùng 6, rồi cùng với axit octphotphoric được máy bơm 7 bơm vào thùng định lượng 8, rồi đi vào thùng nuôi men 4. Sự sinh sản của nấm men theo qui trình liên tục từ thùng lên men 4 và thùng chứa sinh khối 5.

Chất phá bọt từ thùng chứa 9 được bơm 10 đưa về thùng nuôi men qua bình đo 11.

Thùng nuôi men luôn luôn được sục khí nhờ quạt gió turbin 27

Việc nuôi men theo qui trình ở bảng 3.2.

Sau 11 giờ lên men, khi thùng 4 chứa đầy môi trường, nghĩa là 80m³ thì bắt đầu tháo liên tục nấm men xuống thùng 5 với lượng 15m³/ giờ.

Đồng thời đưa liên tục nước dịch vào với lượng bằng thùng ấy (15m³/ giờ) cùng với amon sunfat và axit octphotphoric .

Sinh khối lấy được từ thùng 5, nhờ bơm 12, chảy liên tục vào máy phân ly 13, rồi vào thùng chứa 14, sau đó tiết tục phân ly lần 2 ở thiết bị 16 rồi chứa ở 17. Ở thùng 17,

nhờ máy bơm 18 vào máy sấy 20. Men khô được băng chuyền 21 chuyển sang phễu 22, vào bộ phận đóng gói trên bàn 23 và ba được cân trên cân 24. sau đó qua các băng vận chuyển 25, 26 đi phân ly.

4. Công nghệ sản xuất protein trên bã rượu từ rỉ đường

Phần lớn các nhà máy sản xuất rượu từ nguyên liệu rỉ đường có một số lượng bã thải rất lớn. Hiện nay lượng bã thải được sử dụng lại với số lượng không đáng kể nên phần lớn phải thải ra ngoài. Nếu không được xử lý đúng mức, bã rượu phân huỷ không hoàn toàn, thường là nguồn gây ô nhiễm hồ chứa nước. Ngoài ra, do sự phân huỷ các hợp chất hữu cơ chứa trong bã rượu tạo thành những chất có mùi hôi thối gây ô nhiễm môi trường không khí trầm trọng. Ngoài ra còn phải tiêu tốn một khoảng chi phí lớn cho việc thải bã (làm sạch, mở rộng, thay thế đường ống v..v..). Vì vậy việc nghiên cứu ứng dụng công nghệ sản xuất các sản phẩm thực phẩm hoặc là sinh học có nguyên liệu từ bã rượu của rỉ đường có một ý nghĩa quan trọng về kinh tế và bảo vệ môi trường. Bã rượu có thể được chế biến thành những sản phẩm sau:

- Glyxein và than cốc.
- Tách từ rỉ đường axit glutamic và betain làm thức ăn gia súc.
- Sản xuất nấm men bánh mì và sinh khối nấm men cho gia súc trong đó sản xuất sinh khối nấm men cho gia súc được quan tâm và sản xuất nhiều hơn cả.

Quy trình công nghệ sản xuất sinh khối nấm men dùng cho gia súc tổng quát có thể trình bày trên sơ đồ tóm tắt như sau: (Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất)

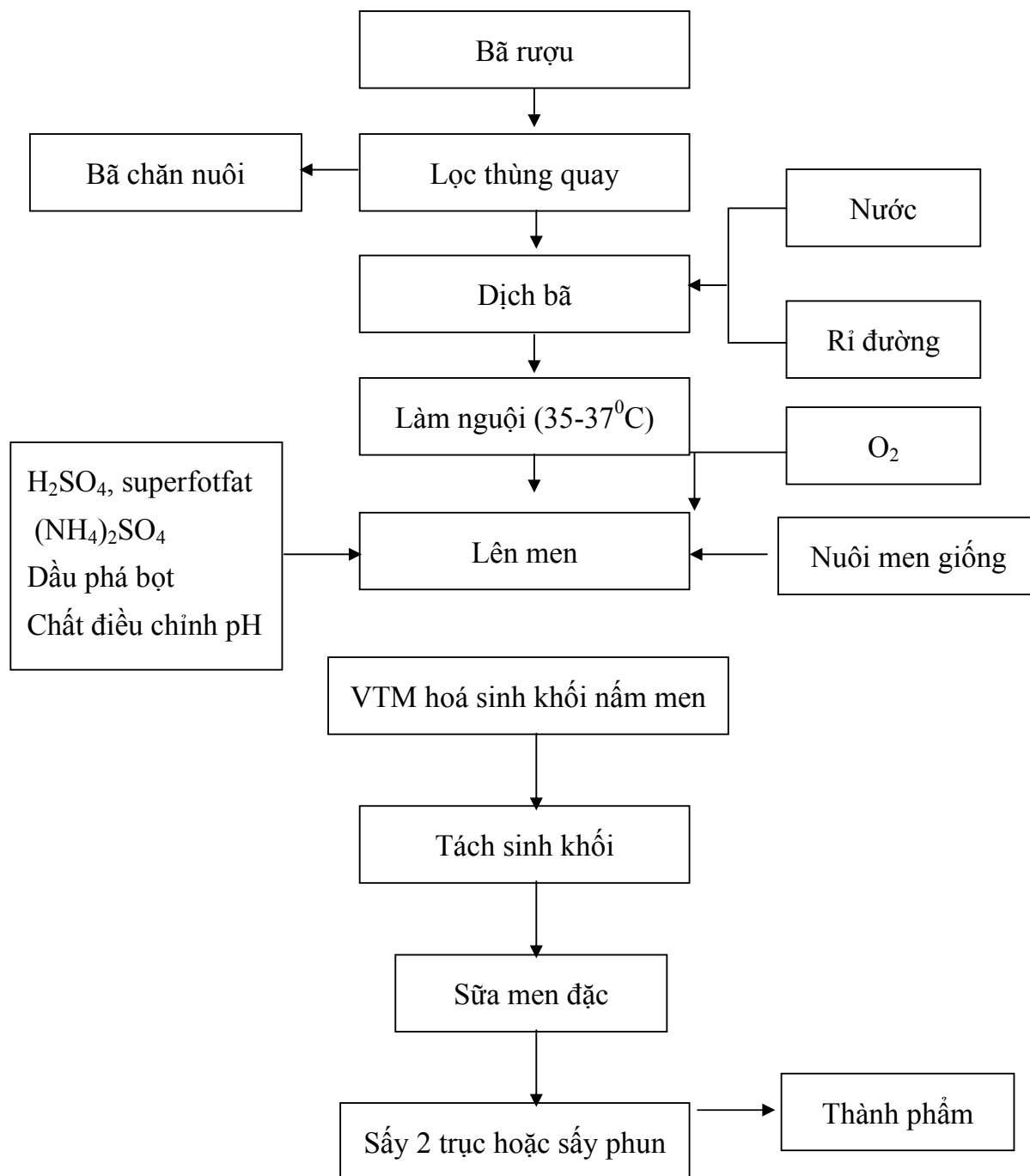
4.1. Nguyên liệu rỉ đường

Với bã rượu từ rỉ đường mía cô đặc thành phần được cho bởi bảng 3.3.

Bảng 3.3. Thành phần của bã rượu từ rỉ đường mía

Thành phần	Tỉ lệ %	Thành phần	Tỉ lệ %
Nước	54,67	Glycerin	2,60
Chất khô	45,33	Axit lactic	2,70
Protein	6,95	Chất béo	0,00
Tro	10,93	Xenluloza	0,30
Chất humin	10,4	Sap, linhin, gluzzit, phenol,	
Đường khử	5,30	Các axit hữu cơ	6,15

Thành phần các vitamin có trong bã rượu cô đặc được cho ở bảng 3.4



Hình 3.4. Sơ đồ qui trình sản xuất sinh khối nấm men từ bã rượu rỉ đường.

Bảng 3.4. Thành phần các vitamin có trong bã rượu cô đặc (mg/g)

Thành phần của các vitamin	Hàm lượng mg/g
Axit niconitic (PP)	21
Riboflavin (B2)	8
Piridoxin (B5)	30
Axit pentotenic (B3)	39
Biotin (B7)	1,5
Axit folic	0,3

Như vậy bã rượu từ ri đường là môi trường có giá trị và đầy đủ các chất để nuôi cấy nấm men tạo sinh khối. Sinh khối nấm men là một nguồn giàu protein và các vitamin là những chất quan trọng đối với sự phát triển của gia súc, được bổ sung vào thức ăn để điều chỉnh, làm cân bằng về protein cho thức ăn gia súc (1 kg chế phẩm protein có giá trị bằng 3,5 kg hạt)

4.2. Chủng vi sinh vật: *Candida Tropicalis*, *Torulopsis Utilis*

4.3. Xử lý nguyên liệu và chuẩn bị môi trường:

Tuỳ theo qui trình công nghiệp của nhà máy, nếu muốn thu nấm men thức ăn gia súc trên bã rượu không bổ sung thêm ri đường, thì sử dụng chủng *Candida Tropicalis*. Bổ sung thêm ri đường có thể tăng hiệu suất của nấm men nhưng sẽ làm giảm hệ số sử dụng glucit của bã rượu, do đó sẽ làm tăng giá thành sản phẩm. Nếu bổ sung ri đường thì được tỉ lệ ri đường đã thanh trùng là 1% so với bã rượu. Bã rượu trước khi đưa vào sản xuất được bơm đến thiết bị lọc chân không thùng quay để tách nấm men chết trong quá trình chưng cất rượu trước đó.

Ngoài bã rượu và ri đường, môi trường dinh dưỡng còn được bổ sung axit photphoric kỹ thuật (70%) hàm lượng 0,5kg/m³ bã rượu và sunfat amon tinh thể (0,5kg/m³). Axit hoá dịch nuôi cấy bằng axit sunfuric hoặc HCl đến pH môi trường bằng 4,5. Lượng axit sunfuric dùng đến 1kg trên 1m³ bã rượu. Nếu pha loãng với nước theo tỉ lệ 1: 1 thì cần pha thêm 50-70g/m³ magiê sunfat.

4.4. Nuôi cấy men giống:

Theo qui trình công nghệ của Viện nghiên cứu công nghiệp rượu Ucraina với nguyên liệu là bã rượu đã được tách nấm men, việc nhân giống nấm men từ men giống được tiến hành trong 4 giai đoạn.

Trong giai đoạn đầu người ta sử dụng ri đường pha thêm 1% super photphat theo khối lượng ri đường. Nồng độ dịch đó là 2,5% được axit hoá thành axit sunfuric hay axit HCl đến pH = 5-5,2 và được thanh trùng ở nồi hấp ở áp suất 0,5at trong thời gian 30 phút, sau đó làm nguội đến 30°C (rót 200ml dịch vào bình cầu dung tích 700ml) cấy men giống vào dịch và để bình trong máy lắc phòng thí nghiệm trong điều kiện có sục khí trong 24h. Sau đó tiến hành nhân giống lần lượt vào 3 thiết bị có thể tích là 15,120 và 1200l có trang bị máy sục khí và máy lọc không khí. Khối lượng môi trường trong các thiết bị đó là 10,100 và 1000l với nồng độ dịch môi trường là 3,5% thời gian nuôi cấy là 24,18 và 16 giờ. Từ thiết bị cấy men sau cùng (thùng 1000l) người ta đưa liên tục nấm men giống vào thùng chứa men có dung tích 32m³, chứa được 25m³ dung dịch sau đó chuyển vào thiết bị nuôi men công nghiệp có dung tích tổng cộng khoảng 310 m³.

4.5. Nuôi men công nghiệp: Thể tích men giống đưa vào thùng lên men có nồng độ 18-20 g/l (độ ẩm 75%) bằng 10% dung tích có ích của thùng. Quá trình lên men liên tục có sục khí, thời gian lên men từ 5-6 ngày. Sinh khối nấm men lỏng được chiếu bằng tia tử ngoại để chuyển ergosterin thành canxipherol trước khi qua các thiết bị ly tâm tách và thiết bị sấy.

5. Công nghệ sản xuất protein từ nguồn phế liệu xenluloza:

Từ lâu nguồn xenluloza được ứng dụng rộng rãi làm vật liệu hữu cơ rắn trong nhiều lĩnh vực. Nguồn phế liệu xenluloza từ nông nghiệp như bã mía là 36 triệu tấn.

Riêng ở Mỹ là 15 triệu tấn. Thành công của Srinivaane và Han (Louisiana State University) trong việc phân lập được hai loài vi khuẩn có khả năng cộng sinh là *Cellulomonas* và *Alcaligenes* đã mở ra một hướng rất quan trọng trong việc sử dụng các nguồn phế liệu xenluloza để sản xuất protein đơn bào. Protein của vi khuẩn lại rất cao, trung bình 60-70% có loài lên đến 87%.

5.1. Phân lập vi khuẩn:

Hai ông Srinivaane và Han đã phân lập được VK có độ hoạt động xenluloza cao như sau:

Môi trường phân lập:

NaCl 6,0 g/l : (NH₄)₂ SO₄ 1.0g/l

K₂HPO₄ 0,5g/l KH₂PO₄ 0,5g/l

MgSO₄ 0,1g/l CaCl₂ 0,1g/l

0,1 % dịch chiết men và một mảnh giấy lọc.

Chùng 1g đường sacaroza để lên men trộn với môi trường ủ. Sau 3 – 7 ngày ủ ở nhiệt độ 30°C trên máy trộn lắc, một phần giấy lọc được chuyển thành môi trường fresh. Quá trình trên được lặp lại nhiều lần để tăng cường sự hiếu khí và mesophil chứa vi khuẩn sử dụng xenluloza.

Giấy lọc đã nuôi cấy vi sinh vật được rửa ngâm trong nước vô trùng và cấy thành đường trên mỗi môi trường thạch nuôi cấy: Thạch cacboxylmetyl xenluloza, thạch giấy lọc. Sự xuất hiện khuẩn lạc trên môi trường được chuyển sang ống nghiệm có xenluloza và muối dinh dưỡng. Vi khuẩn *cellulomonas* phát triển tốt ở nhiệt độ 25-35°C.

5.2. Qui trình công nghệ sản xuất protein vi khuẩn từ bã thải xenluloza

Một xưởng pilot sản xuất protein Vi sinh vật từ bã thải xenluloza (bã mía) gồm 5 công đoạn sau:

- Công đoạn gia công bã mía
- Công đoạn chế biến bột bã mía
- Công đoạn tiệt trùng
- Lên men
- Thu hồi tế bào vi sinh vật và thành phẩm

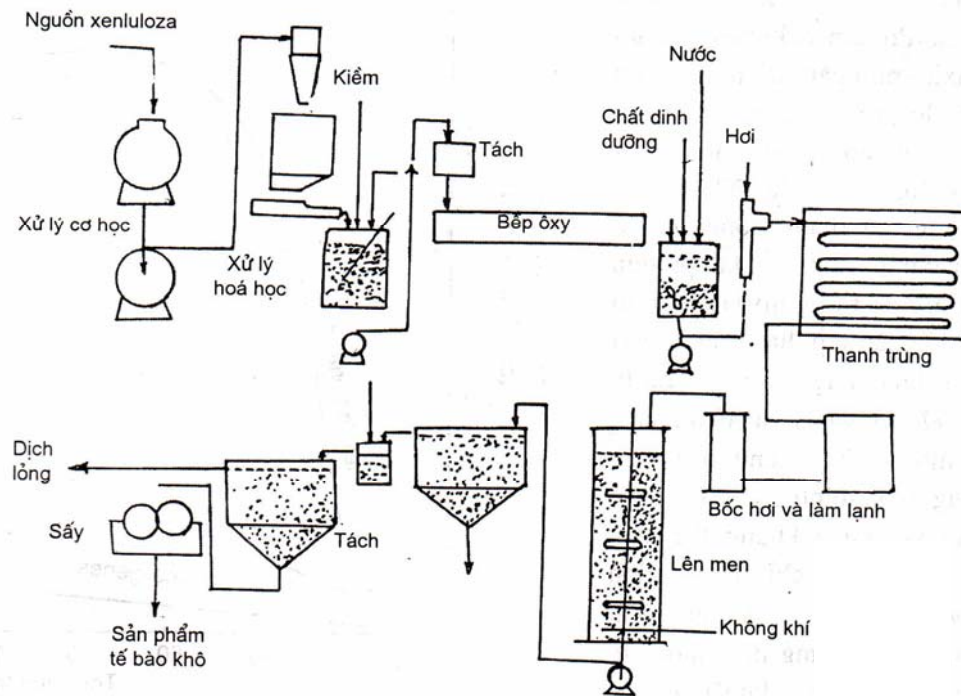
Qua nghiên cứu và sản xuất thử, người ta đã xây dựng nên qui trình sản xuất protein vi khuẩn từ xenluloza như sau (hình 3.5).

Đầu tiên nguyên liệu xenluloza được qua bộ phận nghiền đặc biệt có 5 cánh nghiền cố định. Xenluloza được nghiền thành bột được đưa qua thiết bị kiểm hoá bằng dung dịch NaOH 2-4% o. Sau đó hỗn hợp rắn lỏng được qua khâu li tâm tách và qua lò oxi hoá với một chất xúc tác oxi hoá là clorit coban.

Thanh trùng 260F – 320F qua hệ thống phun hơi

Làm nguội: Hệ thống đường ống

Lên men; Sau khi làm nguội dịch lên men qua van kiểm tra vào thùng lên men. Dịch men có thể từ thùng chứa hay thùng nhũ tương hoá lại. Điều chỉnh pH bằng NH_4OH .



Hình 3.5. Sơ đồ quá trình sản xuất protein đơn bào từ bã thải xenluloza (theo V.W.Han và cộng sự 1971)

Thành phần môi trường như sau: Nguồn xenluloza, nước muối vô cơ, một số chất dinh dưỡng đặc biệt và một số chất chống bọt.

Thành phần	g/l
Cơ chất: bã mía đã chế biến (trọng lượng khô)	6,0
Chất dinh dưỡng: Sunfat amôn	3,0
Muối Photphat	1
MgSO_4	0,1
CaCl_2	0,1
NaCl	3,0
Nước chiết men	0,5
Muối khoáng	1,0ml
Polyglycol P -2000	0,1ml
Nước	Đủ 1lit

* Thành phần muối khoáng	g/l
CaCl ₂	0,5
FeCl ₃ .6H ₂ O	16,7
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,18
CaSO ₄ .7H ₂ O	0,16
Clorua Coban.6H ₂ O	0,18
Ethilene dinitriclotetraacetic acid	20,1

CHƯƠNG 4

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PRTOTEIN TỪ NGUỒN HIDRO CACBUA DẦU MỎ VÀ KHÍ ĐỐT

1. CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT SINH KHỐI PROTEIN DẦU MỎ

Trong thành phần cacbua hydro thiếu rất nhiều chất dinh dưỡng, trong đó các loại muối khoáng là thiếu trầm trọng nhất. Vì thế trong khi nuôi vi sinh vật trong môi trường này đòi hỏi phải cung cấp các chất dinh dưỡng vi lượng và khoáng cho chúng phát triển

1.1. Các chủng vi sinh vật

Vấn đề lựa chọn các chủng vi sinh vật có hoạt lực sinh tổng hợp cao để dùng trong sản xuất có một ý nghĩa quan trọng. Trong công nghiệp sản xuất protein từ dầu mỏ và khí đốt, phải chọn các chủng đáp ứng được các yêu cầu sau:

- Có khả năng sử dụng tốt nguồn nguyên liệu hydrocacbua dùng trong sản xuất.
- Sinh trưởng nhanh chóng, cho sản lượng cao trong thời gian ngắn, không đòi hỏi các yếu tố sinh trưởng bổ sung trong sản xuất lớn.
- Có đặc điểm hoá học và nuôi cấy ổn định, có hàm lượng protein cao, chứa đầy đủ các axit amin cần thiết, không có độc tố và phải được động vật đồng hoá tốt.

Phần lớn các chủng nấm men có sản lượng cao trên cơ chất hydrocacbua được phân lập từ những mẫu đất và bùn ở những nơi có mỏ dầu hoặc chung quanh các nhà máy chế biến dầu mỏ.

Trong hơn 500 chủng nấm men phân lập được, các nhà khoa học thấy các chủng nấm men thuộc giống *Candida* cho sản lượng cao hơn cả. Các chủng này được nuôi thử trong thiết bị có sục khí trong điều kiện phòng thí nghiệm trên môi trường n-paraphin cho hiệu suất khối tới 80-100% (trọng lượng men khô so với trọng lượng parafin được dùng). Hàm lượng protein trong sinh khối khoảng 50%. Kết quả xác định trên hai loại nấm men *Candida* cho ở bảng 4.1 như sau;

Bảng 4.1.

Tên nấm men	Hiệu suất nấm men khô (%)	Hàm lượng protein (% chất khô)
<i>Candida Tropicalis</i>	94,4	58,8
<i>Candida Intermedia</i>	87,1	51,0

Các chủng nấm men thường sử dụng:

- Đa số các loài thuộc giống *Candidas* như: *C.Tropicalis*, *C.Lipolitica*, *C.pelliculosa*.
- *Torulopsis Famata* v..vv.

Đặc điểm của các chủng vi sinh vật này nói chung là:

- Sử dụng hidrocarbua làm nguồn cacbon duy nhất để trao đổi chất và năng lượng.

- Bền vững với độc tố của hidrocarbua với nồng độ cao.
- Có khả năng hấp thụ hidrocarbua vào tế bào.

1.2. Chuẩn bị môi trường dinh dưỡng

1.2.1. Các chất bổ sung:

Các hợp chất bổ sung vào môi trường dinh dưỡng:

- Axit octophotphoric hoặc supephotphat
- KCl
- MgSO₄
- Nguồn nitơ: Nước amoniac có 20-25% NH₃ và một lượng nhỏ amon sunfat để oxi hóa môi trường ban đầu. NH₃ còn dùng để điều chỉnh pH trong thời gian nuôi cấy.

Bổ sung nguyên tố vi lượng:

Nguyên liệu đầu – các hydrocacbon không có các nguyên tố vi lượng. Vì vậy phải thêm vào môi trường dinh dưỡng các muối sau:

- FeCl₃.6H₂O
- MnSO₄.H₂O
- ZnSO₄.7H₂O
- CuSO₄.5H₂O
- KI
- Na₂MoO₄.H₂O

1.2.2. Một số môi trường nuôi cấy vi sinh vật trong dầu mỏ

Sau đây giới thiệu một vài môi trường nuôi cấy vi sinh vật trên hidro cacbua lỏng (theo Nadirop và Popov, 1974)

a. Môi trường nuôi cấy nấm men

Thành phần	kg
n-parafin	12,5
Supephotphat	2,7
Amon sunphat	0,45
Nước amoniac (25%)	4,0
KCl	0,56
MgSO ₄	0,28
Nước bổ sung vào cho đủ	1000

Có thể thay supephotphat, bằng axit octophotphat, amon sunphat bằng amon clorua hoặc cho đồng thời axit sunfuric với nước amoniac.

Hiệu suất có thể thu được trên 100kg men khô/m³ môi trường

b. Môi trường nuôi cấy vi khuẩn

Thành phần	kg
n-parafin	10
K ₂ HPO ₄	1
KNO ₃	1
MgSO ₄	0,5
NaCl	0,1
FeCl ₂	0,01

Nước bổ sung vào cho đủ 1000 lít

c. Môi trường nuôi cấy nấm mốc

Thành phần	kg
Dầu diezen	30
NaNO ₃	3
K ₂ HPO ₄	1
KCl	0,5
FeSO ₄	0,01

Nước bổ sung vào cho đủ 1000.

Các nguyên tố vi lượng cần cho *Aspergillus niger* (mg/l môi trường):

Fe – 0,2; Zn – 0,18; Cu – 0,04; Mn – 0,22 và Ca – 0,02.

Việc tuyển chọn các chủng nấm men và vi khuẩn có khả năng phân hủy dầu mỏ và parafin ngày nay có ý nghĩa rất lớn trong việc bảo vệ môi trường khi bị ô nhiễm dầu mỏ, đặc biệt là các vùng đất quanh kho chứa hoặc đất ven biển sau các sự cố nhiễm dầu do các tàu chở bị nạn.

1.2.3. Kỹ thuật nuôi cấy:

Hiện nay để nâng cao hiệu suất sử dụng cơ chất và tận dụng triệt để thiết bị nuôi cấy, nhiều nước đã ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy liên tục trong công nghiệp sản xuất sinh khối nấm men.

Quá trình nuôi cấy như sau:

- Parafin nóng (50-60⁰C) được liên tục cho vào thùng lên men, nồng độ parafin trong môi trường ban đầu là 1,5 -2 % thể tích.

- Sự tích tụ sinh khối nấm men trong thời gian nuôi cấy có thể thực hiện trong hai nồi lên men:

+ Lên men chính: ở nồi thứ nhất; được thổi khí mạnh.

+ Lên men phụ: có thổi khí nhưng yếu hơn.

Nếu so sánh quá trình lên men sinh khối trên môi trường chứa parafin với môi trường hydratcacbon, chúng ta thấy có những điểm giống và khác nhau sau đây:

. Nuôi cấy nấm men trên môi trường chứa paraphin thường phải thổi khí mạnh gấp 2,6 - 2,8 lần so với khí nuôi cấy nấm men trên môi trường hydrat cacbon.

. Sự sinh trưởng của vi sinh vật trên hidrocacbuua phụ thuộc vào pH cũng giống như khi nuôi trên môi trường sacaroza (pH = 5-6). Tuy nhiên, có thể ở trị số pH thấp hơn để tránh tạp nhiễm.

. Khi sinh trưởng trên hidrocacbuua, nấm men toả nhiệt hơn và yêu cầu về thanh trùng không chặt chẽ như khi nuôi trên môi trường sacaroza.

1.4. Nguồn cơ chất:

Chất lượng của parafin ảnh hưởng lớn đến sản lượng nuôi cấy nấm men. Trong n-parafin thường có 93-98% hydro cacbuua được tạo thành phức chất với cacbamat, đó là các n-ankan có số nguyên tử cacbon từ 12-24, 2-7% izoparafin naphten và không quá 0,5% hydro một hoặc hai vòng thơm.

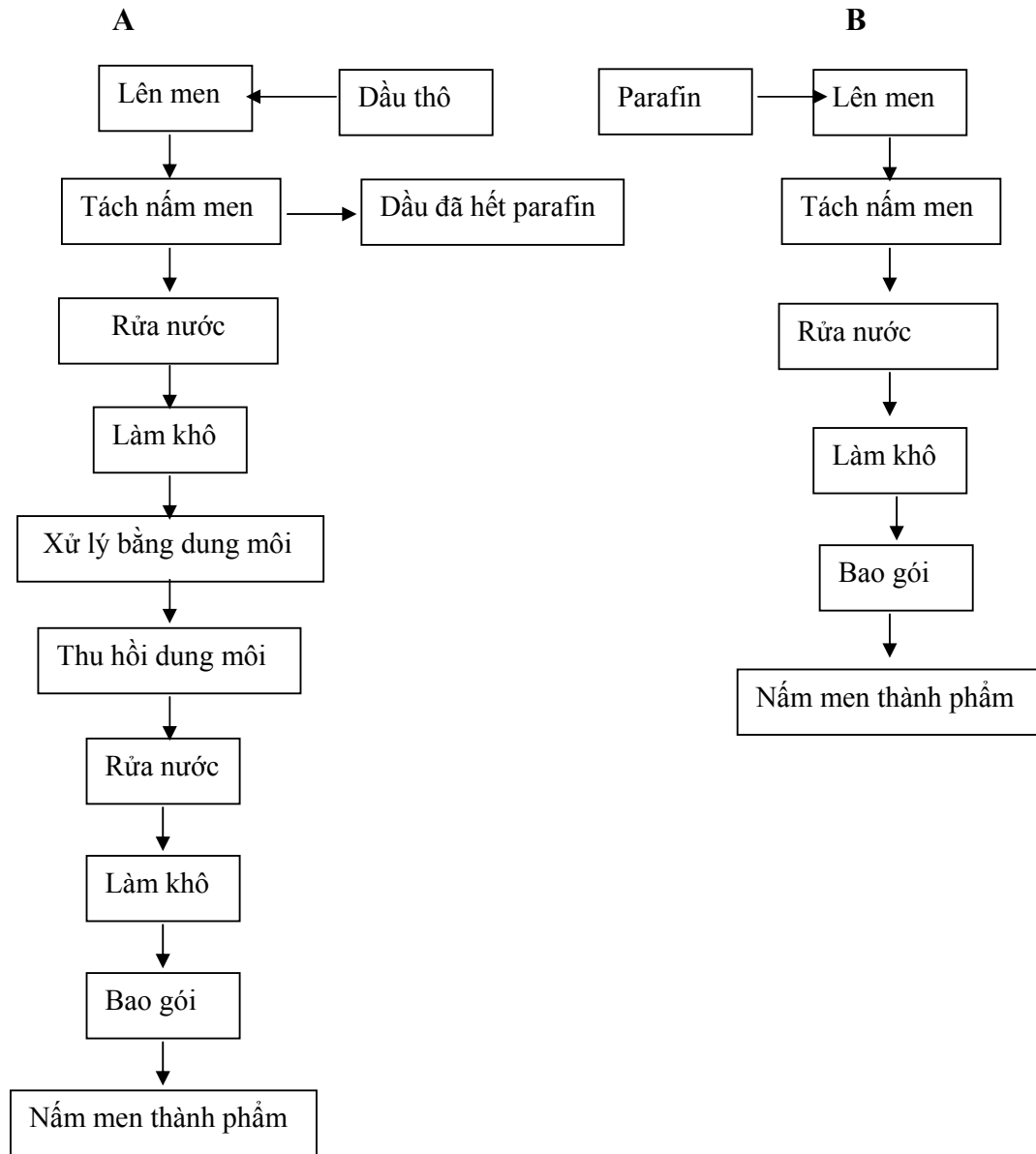
Qua các số liệu công bố trong việc nghiên cứu lựa chọn các nguồn nguyên liệu khác nhau, ta thấy:

- Sản phẩm nấm men rất phụ thuộc vào nguồn hidrocacbuua có trong nguyên liệu và phương pháp làm sạch. Nếu trong nguyên liệu có chứa một số cacbuua khác, hàm lượng của chúng quá một giới hạn nhất định nào đó có thể làm ức chế sinh trưởng của vi sinh vật.

- Sản phẩm oxy hóa của một số hidrocacbuua khác trong nguyên liệu có thể tác hại đến tăng sinh khối của giống nuôi cấy.

-Đặc tính lý học của cơ chất (độ nóng chảy, độ nhớt, màu sắc..) có thể làm cho quá trình sản xuất gặp khó khăn. Thí dụ: parafin không khuếch tán trong môi trường nnuwwoo ở nhiệt độ sinh trưởng bình thường của nấm men, dù là có sự khuấy đảo. Để khắc phục, có thể chọn các chủng vi sinh vật có nhiệt độ sinh trưởng tối thích cao, tốt nhất là các chủng vi sinh vật ưa nhiệt (trên 40⁰C).

1.5. Sơ đồ công nghệ sản xuất sinh khối nấm men từ dầu mỡ thô và từ parafin tinh khiết:



2. Công nghệ sản xuất sinh khối vi sinh vật từ khí đốt

2.1. Ưu điểm của sản xuất sinh khối vi sinh vật từ khí đốt:

- Khí đốt thường rẻ hơn dầu mỡ, do đó giá thành sinh khối thu được cũng rẻ hơn.
- Sinh khối thu nhận được từ khí đốt thường sạch hơn rất nhiều so với sinh khối từ dầu mỡ.

2.2. Nhược điểm

Các vi sinh vật đồng hoá khí thiên nhiên đều là những vi sinh vật hiếu khí. Chúng cần oxy để hô hấp. Khi cho CH_4 vào cùng O_2 sẽ tạo thành một hỗn hợp khí rất dễ nổ.

. Để đồng hoá O_2 và CH_4 , chúng phải tan trong môi trường và phải tiếp xúc được với tế bào vi sinh vật. Trong khi đó độ hoà tan của O_2 và CH_4 trong điều kiện bình thường rất kém. Để tăng độ hòa tan của metan có thể tăng áp suất dư trong thiết bị, như vậy cần phải chế tạo thiết bị chịu áp lực cao rất phức tạp và như vậy sẽ mất tính kinh tế của phương pháp. Cách thứ hai có thể là đưa một dung môi hữu cơ nào đó vào môi trường dinh dưỡng để tăng độ hòa tan của metan, nhưng lúc đó sẽ có thể làm vi sinh vật thích dung môi hơn metan và việc dùng khí thiên nhiên mất hết ý nghĩa.

2.3. Các phương pháp sản xuất sinh khối vi sinh vật bằng khí đốt:

Hiện nay có 2 phương pháp sản xuất sinh khối vi sinh vật bằng khí đốt

- **Phương pháp 1:** Người ta tạo ra môi trường dinh dưỡng gồm có muối amon và chất khoáng và đưa môi trường này vào các bình lên men.

Tiến hành nuôi vi sinh vật có khả năng tạo sinh khối từ khí thiên nhiên trong bình lên men này.

Thổi khí thiên nhiên và khí vào bình dung dịch lên men đã có sẵn vi sinh vật. Khí không khí và khí thiên nhiên vào dung dịch lên men sẽ tiếp xúc với vi sinh vật.

Khi đó vi sinh vật sẽ đồng hoá khí thiên nhiên cùng với các chất dinh dưỡng tạo thành sinh khối

- Phương pháp thứ 2:

. Thiết kế những bình phản ứng có chứa đầy chất mang. Chất mang này chứa đầy vi sinh vật trong đó

. Đưa không khí và khí thiên nhiên từ dưới lên.

. Không khí và khí thiên nhiên đi qua chất mang sẽ tạo được sự đồng hoá của Vi sinh vật.

. Sinh khối được tạo thành nhiều sẽ tách khỏi chất mang và rơi xuống phía dưới

. Thu nhận sinh khối từ đáy thiết bị.

Theo phương pháp này thì hiệu suất không cao nhưng có ý nghĩa khi xử lý CH_4 trong môi trường không khí. CH_4 có ảnh hưởng cao nhất đến sự tạo thành hiện tượng hiệu ứng nhà kính (CH_4 làm tăng hiệu ứng nhà kính gấp 21 lần so với CO_2). Phương pháp này loại trừ được CH_4 và thu được sinh khối cùng một lúc. Đây là một phương pháp khá lý tưởng trong kỹ thuật môi trường.

CHƯƠNG 5

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PROTEIN TỪ TẢO ĐƠN BÀO

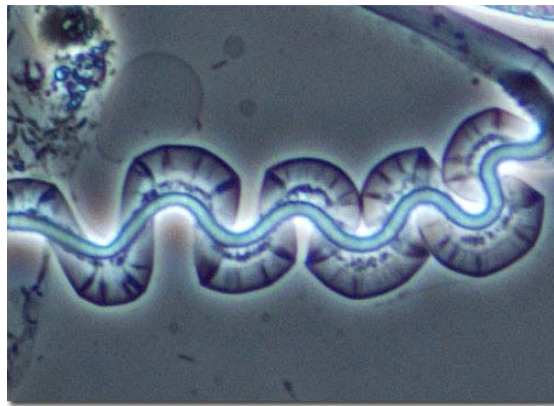
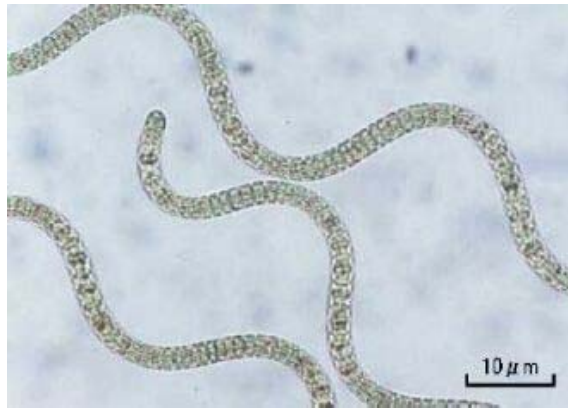
5.1. GIỚI THIỆU VỀ TẢO SPIRULINA

5.1.1. Đặc điểm của tảo Spirulina:

Đã từ lâu, tảo là món ăn dân gian của nhiều địa phương trên thế giới. Dân miền Kanem đã dùng thúng hứng nước lấy loại tảo lam đa bào *Spirulina maxima* trong các ao hồ giàu muối cacbonat để làm thức ăn nhưng lúc đó họ chưa biết được trong tảo lam chứa rất nhiều các chất có giá trị dinh dưỡng.

Đầu những năm 70 của thế kỉ XX, Viện nghiên cứu dầu mỏ của Pháp đã phát hiện ra tảo có khả năng phát triển nhanh và có hàm lượng protein rất cao. Từ năm 1967, Sosa Texcoco (Cộng hòa Séc, châu Phi) đã trở thành cơ sở sản xuất công nghiệp tảo Spirulina đầu tiên trên thế giới. Trước đây người ta sản xuất nhiều *Chlorella* nhưng dần dần, do những điểm nổi bật, tảo Spirulina đã chiếm vị trí chủ yếu. Hiện nay rất nhiều nước trên thế giới trong đó có Việt Nam cũng đã tổ chức sản xuất loại tảo này ở những qui mô khác nhau.

Tảo Spirulina có cấu tạo hình sợi đa bào, có hình dạng xoắn lò xo, kích thước khoảng 0.25 | 0.5 mm, sống tự nhiên ở nước kiềm giàu natri bicacbonat.



Tảo Spirulina sinh sản bằng cách gãy ra từng khúc, tốc độ sinh trưởng rất nhanh, có thể sống trong môi trường nghèo chất dinh dưỡng, điều kiện nuôi cấy đơn giản. Đặc biệt ở điều kiện tự nhiên có cường độ chiếu sáng lớn và trong môi trường có pH = 8.5 | 9 thì tốc độ sinh trưởng là lớn nhất. Hiệu suất sử dụng năng lượng mặt trời cao tới 3 | 4.5 %. Hiệu suất sử dụng khí CO₂ để làm nguồn cacbon cũng rất cao, tới 80 | 85 % trong khi Chlorella chỉ đạt khoảng 30 %. Tảo Spirulina có kích thước lớn, lại có xu hướng nổi lên mặt nước và tụ tập sinh khối nên dễ dàng thu hoạch bằng cách vớt và lọc trong khi đó Chlorella có kích thước nhỏ nên phải thu nhận bằng phương pháp ly tâm phức tạp. Năng suất tính trên đơn vị diện tích nuôi trồng rất cao do đó nó có giá trị kinh tế rất cao. Theo báo Vietnam Net, ở Long An đã nuôi trồng tảo Spirulina bằng nhà kính, so với sử dụng đất để trồng lúa với thu nhập 50 triệu đồng/ha/năm, việc chuyển sang nuôi tảo Spirulina sẽ tạo mức thu nhập khoảng 1.2 tỉ đồng/năm, tức tăng gấp 24 lần so với trồng lúa.

Ngoài những ưu điểm trên, việc tảo Spirulina được đưa vào sản xuất với qui mô lớn ở nhiều nước trên thế giới còn do giá trị dinh dưỡng to lớn của nó. Tảo Spirulina

chứa hàm lượng protein rất cao, khoảng 60 | 70 % trọng lượng chất khô đặc biệt là có đầy đủ các axit amin không thay thế. Hàm lượng các axit amin của những protein này gần với qui định của protein tiêu chuẩn, tương đương với protein động vật và cao hơn hẳn protein thực vật.

Bảng 5.1. Thành phần axit amin của tảo Spirulina

Số thứ tự	Thành phần	µg/10g	Số lượng(% tổng chất khô)
1	Isoleucin	350	5.6
2	Leucin	540	8.7
3	Lysin	290	4.7
4	Methionin	140	2.3
5	Phenilalanin	280	4.5
6	Theonin	320	5.2
7	Tryptophan	90	1.5
8	Valin	400	6.5
9	Alanin	470	7.6
10	Arginin	430	6.9
11	Axit aspartic	610	9.8
12	Cystin	60	1.0
13	Axit glutamic	910	14.6
14	Glycin	320	5.2
15	Histidin	100	1.6
16	Prolin	270	4.3
17	Serin	320	5.2
18	Tyrosin	300	4.8

Giá trị dinh dưỡng của tảo còn thể hiện ở chất lượng và số lượng các vitamin chứa trong nó như β – caroten, vitamin B3, B6, B1, E và đặc biệt rất nhiều vitamin B12. Viện nghiên cứu ứng dụng công nghệ đã chiết được β – caroten dùng làm thức ăn bồi dưỡng sức khỏe, chống suy dinh dưỡng cho trẻ em. Ngoài ra trong Spirulina còn chứa nhiều xantophyl là chất rất cần thiết cho gia cầm. Nếu dùng tảo với lượng 10 % trong khẩu phần thức ăn để nuôi cá thì sẽ có tác dụng làm tăng cao tỉ lệ sống của cá bột.

Ngày nay người ta đã phát hiện và chiết tách từ tảo Spirulina chất phycoxianin là một chất có tác dụng chữa bệnh ung thư vùng hàm, vòm họng. Qua nghiên cứu cho thấy rằng nếu dùng phycoxianin kết hợp với gamma Cobalt 60 sẽ hạn chế được 70 | 80 % sự phát triển các tế bào ung thư. Tảo còn có tác dụng bảo vệ cơ thể khỏi tác hại của chất phóng xạ và chống suy mòn do nhiễm hơi độc

Chính vì những lợi ích to lớn trên của Spirulina nên hiện nay tảo đang được nuôi trồng rất rộng rãi ở nhiều nơi trên thế giới để làm thức ăn dinh dưỡng cho người, là nguyên liệu chính để sản xuất bột dinh dưỡng cho trẻ em, sử dụng trong lĩnh vực y học để chữa bệnh ung thư, sản xuất thuốc lợi sữa, thuốc chống suy dinh dưỡng ..., sử dụng làm thức ăn gia cầm, làm mỹ phẩm...

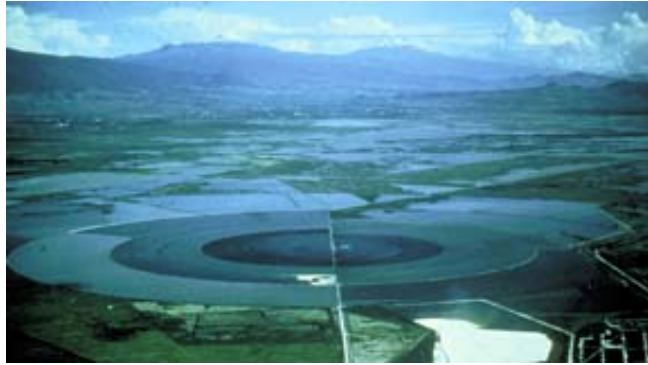
5.1.2. TÌNH HÌNH SẢN XUẤT TẢO SPIRULINA TRÊN THẾ GIỚI VÀ VIỆT NAM

5.1.2.1. Trên thế giới:

Hiện nay trên thế giới phát triển rất mạnh việc nuôi cấy tảo Spirulina và Chlorella để thu nhận sinh khối cho người và động vật, trong đó Spirulina được sản xuất nhiều hơn. Thực tế cho thấy, 1 ha bề mặt nuôi cấy tảo thu nhận được 10- 15 tấn tảo một năm, cao hơn rất nhiều so với trồng lúa. Một trong những giống được sử dụng nhiều nhất là Spirulina maxima. Tảo lam này phát triển thành sợi, do đó dễ thu nhận thậm chí bằng các phương pháp thủ công như cào và lọc.

Từ thập niên 70, ở Nhật Bản và Mỹ tảo Spirulina đã được xem là một loại siêu thực phẩm. Đến những năm 1990, vấn đề tiêu thụ Spirulina đã tăng vượt bậc tại Trung Quốc, Ấn Độ, châu Á, Bắc Mỹ làm cho Spirulina ngày càng trở nên phổ biến.

➤ Mexico: vào những năm 70, một công ty của Pháp đã phát hiện tảo trong hồ Texcoco phát triển tốt trong môi trường kiềm có nhiều muối cacbonat. Nhà máy sản xuất công nghiệp lớn đầu tiên trên thế giới được xây dựng ở đây.



Hồ Sosa Texcoco -Mexico

Năm 1979, lần đầu tiên Mexico xuất khẩu những loại thức ăn dinh dưỡng từ Spirulina sang U.S.

➤ Ở Myanmar: Việc sản xuất bắt đầu vào năm 1988 ở hồ Twin Taung. Năm 1993, 30 tấn tảo được thu hoạch và tiêu thụ trong địa phương. Vào năm 1999, việc sản xuất tăng lên 100 tấn/ năm. Khoảng 60 % tảo được thu hoạch bằng thuyền ở bên ngoài của hồ và khoảng 40 % mọc dọc theo cạnh hồ. trong suốt thời kì tảo phát triển mạnh vào mùa hè, khi Spirulina mọc thành những thảm dày bên trong hồ, người ta dùng thuyền để thu hoạch tảo vào trong những cái thùng. Sau khi thu hoạch xong được đem đi lọc, rửa sạch với nước tinh khiết, tách nước và lặp quá trình đó một lần nữa



Hồ Twin Taung- Myanmar

➤ Sat: Những cái ao có tính kiềm xung quanh hồ Sat ở châu Phi là một vùng lý tưởng cho tảo Spirulina phát triển. Phụ nữ bản xứ đã thu hoạch Spirulina và chế biến thành món ăn gọi là “dihé”, sản lượng thu hoạch khoảng 30 tấn/năm.

➤ Thailand: Tảo được trồng vào năm 1978 gần Bangkok. Với điều kiện khí hậu nhiệt đới, tảo ở đây phát triển tốt và cho năng suất cao 150 tấn/năm và lúc này là 170 tấn/năm. Ngoài ra còn một vài cơ sở sản xuất nhỏ ở Thái Lan. Tảo được bán cho Nhật Bản làm thức ăn dinh dưỡng.



Hồ trồng Spirulina của công ty Siam- Thái Lan

➤ Hawaii, USA: Cyanotech mở một nông trại sản xuất Spirulina vào năm 1985 trên bờ biển Kon thuộc đảo Big- Hawaii, những năm gần đây, khu vực này đã được mở rộng và sản sinh hơn 400 tấn Spirulina/năm cùng với tảo Dunaliella.

➤ Trung Quốc: Ngày nay Trung Quốc có khoảng 80 loại Spirulina với năng suất thu hoạch khoảng 500 tấn/năm trong đó ở đảo Hainan có sản lượng 300 tấn/năm.

➤ Đài Loan: Vào thập niên 70, Đài Loan chủ yếu trồng Chlorella nhưng có 5 loại Spirulina có khả năng sản sinh vài trăm tấn/năm. Ngày nay Spirulina được nuôi trồng rất nhiều và được thu hoạch khoảng 460 tấn/năm.

➤ Ấn Độ: Việc nghiên cứu bắt đầu vào cuối những năm 70, từ qui mô gia đình họ chuyển sang dạng canh tác lớn hơn. Vào năm 1990, Ấn Độ thành lập nên một tiêu chuẩn quốc tế và các loại thức ăn từ Spirulina. Hiện nay có 2 cơ sở sản xuất lớn ước tính sản lượng khoảng vài trăm tấn/năm.

➤ Cuba: Có hai cơ sở sản xuất khoảng 40 tấn/năm.

➤ Chilê: Năm 1991, Solarium bắt đầu sản xuất ở vùng Atacama, sản lượng khoảng 3 tấn/năm.

➤ Israel: Viện nghiên cứu Desert đã nghiên cứu Spirulina được hơn 20 năm nhưng sự sản xuất với qui mô lớn ở Israel không thành công.

➤ Các nơi khác: Spirulina còn được trồng ở một số nước như Bangladesh, Philippiness, Martinique, Peru, Brazil, Spain, Portugal, Australia và một số nước khác. Việc nuôi trồng Spirulina đang phát triển trên khắp thế giới

5.1.2.2. Việt Nam:

Công ty cổ phần nước khoáng Vĩnh Hảo -Tỉnh Bình Thuận có cơ sở nuôi trồng tảo Spirulina Platensis đại trà với qui mô lớn ở Việt Nam. Sản lượng hiện nay từ 8 | 10 tấn/năm. Dự kiến tăng sản lượng lên 15 tấn/năm. Tảo Spirulina Platensis nuôi trồng ở Vĩnh Hảo chứa lượng đạm rất cao và nhiều thành phần sinh hóa có giá trị:

- Protein: 60 |70 % trọng lượng khô, có đầy đủ các axit amin không thay thế.
- Gluxit: 3 | 6%
- Lipit: 2 | 3 %
- Các vitamin: β -caroten, B1, B2, B3, B6, B12, E
- Các nguyên tố khoáng: Na, K, Ca, Mg, Fe
- Các sắc tố: clorophyll, pycobiliproten và carotenoit.

Thị trường chính để tiêu thụ tảo là các công ty dược , công ty thực phẩm cao cấp.

Một số hình ảnh về việc nuôi trồng tảo ở vùng suối khoáng Vĩnh Hảo:



Phòng thí nghiệm



Hồ nuôi trồng tảo

Khu nhân giống cao tốc



Sản phẩm

Ngoài ra, năm 2003, mô hình nuôi tảo bằng nhà kính ở Long An theo qui trình nuôi tảo sạch của Thạc sĩ Lê Văn Lăng đã được sản xuất ổn định và có hiệu quả kinh tế. Hiện nay mô hình nuôi trồng này đã được đưa vào ứng dụng với qui mô sản xuất 2 | 3 tấn/năm. Giá thành của loại tảo xoắn này khoảng 10 | 16 USD/kg. Đến nay, tảo Spirulina đã được công ty thực phẩm Đồng Tâm dùng làm nguyên liệu chính để sản xuất bột dinh dưỡng cho trẻ em. Tảo Spirulina được một số công ty dược mua để bào chế sản xuất các loại thuốc lợi sữa, thuốc chống suy dinh dưỡng... Ngoài ra, một số công ty dược liệu nước ngoài đã đặt mối quan hệ và đặt hàng tảo Spirulina dạng khô.

Theo Thạc sĩ Lăng, sắp tới sẽ có kế hoạch mở rộng qui mô sản xuất gấp 3 lần hiện nay tức khoảng 7500m² tiến tới mở rộng và xây dựng một trung tâm nghiên cứu sản xuất tảo Spirulina và một số vi tảo khác có giá trị như tảo Chlorella, tảo Dauliella,...

5.2. Công nghệ sản xuất tảo Spirulina:

Qui trình sản xuất tảo nói chung gồm có 2 giai đoạn chính:

- Nuôi cấy tảo
- Thu nhân sinh khối

5.2.1. Nuôi cấy tảo

5.2.1.1. Giống:

Spirulina là một chi gồm một số loài được sử dụng phổ biến trong công nghệ nuôi trồng tảo là Spirulina platensis, Spirulina maxima. Chọn Spirulina với những sợi nhỏ xoắn cân đối để thu hoạch. Spirulina phải chứa ít nhất 1 % axit α - linoleic tính theo trọng lượng chất khô. Tảo phải tập trung lại với nhau, nổi lơ lửng thành từng lớp. Trong quá trình nuôi cấy, phải tiến hành khuấy trộn, nếu có thể khuấy trộn liên tục nồng độ của tảo có thể đạt đến 0,8 g/l.

5.2.2.2. Môi trường cơ bản nuôi cấy tảo Spirulina:

a. Các điều kiện kỹ thuật của một quá trình nuôi cấy tảo;

- Phải có ánh sáng với cường độ chiếu cao: vì vậy, nuôi tảo phải có điều kiện khí hậu thuận lợi, trước hết là một thời kỳ ánh sáng mặt trời mạnh và kéo dài để có đầy đủ năng lượng ánh sáng. Tảo ít bị chi phối bởi chu kỳ sáng/tối nhưng nếu được chiếu sáng liên tục thì giá trị sinh khối sẽ đạt được cao nhất. Cường độ ánh sáng thích hợp nhất cho Spirulina nằm trong khoảng 25.000 | 30.000 lux.

Những sợi tảo nhỏ dễ bị phá hủy do cường độ chiếu sáng mạnh và kéo dài. Bởi vậy, chúng ta cần phải giảm bớt thời gian chúng được chiếu sáng bởi ánh sáng mặt trời.

Mưa sẽ làm giảm bớt sự bay hơi nước nhưng với điều kiện không được để đầy tràn ao nuôi trồng tảo.

Ánh sáng và sự chiếu sáng nhân tạo giúp Spirulina phát triển nhanh hơn mặc dù đây không phải là biện pháp kinh tế và rất phiền phức về mặt công nghệ. Người ta dùng những cái đèn huỳnh quang và đèn halogen nhằm để vừa chiếu sáng vừa làm nóng môi trường nuôi cấy.

- pH môi trường phải duy trì = 8,5 -9 (đối với tảo Spirulina) và trung tính (đối với tảo Chlorella)

- Phải được cung cấp đầy đủ các muối vi lượng.

- Phải được khuấy đảo liên tục, tạo sự tiếp xúc thường xuyên với ánh sáng (đối với Spirulina) và phải tạo ra chu kỳ sáng tối thích hợp (đối với Chlorella). Vì vậy quá trình nuôi cấy tảo đòi hỏi những thiết bị đặc biệt. Thông thường người ta dùng những bể phẳng (bể tròn), hoặc những máng phẳng uốn khúc. Những thiết bị này có tác dụng lật đảo nhằm hạn chế sự lắng của tế bào và đưa tế bào luôn trở lại bề mặt chiếu sáng.

- Cung cấp CO₂: tối ưu khoảng 4-5% so với không khí (có tác giả cho là 1-3%). Việc cung cấp CO₂ với vai trò là nguồn cacbon trong quá trình quang hợp rất cần thiết. CO₂ có thể được cung cấp bằng nhiều cách khác nhau:

.Lấy trực tiếp từ các quá trình lên men khác như lên men rượu etanol, lên men bia v..v hoặc nguồn khí thải công nghiệp.

. Sục không khí có chứa CO₂ (1-3%) kết hợp với sục CO₂ 100% ngắt quãng v..v..

5.2.1.4. Các phương pháp nuôi tảo:

Hiện nay trên thế giới có ba hình thức nuôi trồng Spirulina: thu hoạch Spirulina tự nhiên trong các hồ, nuôi cấy trong hồ hoặc trong nhà kính có mái che và mới đây phát triển hệ thống nuôi trong những ống trong suốt để tăng sự tiếp xúc giữa tảo và ánh sáng mặt trời. Những hệ thống nuôi cấy bán tự nhiên thì cho chất lượng tốt hơn thu hoạch tảo mọc tự nhiên. Vãõ qui mã ãæãüç chia làm 3 loài:

- **Nuôi ái qui mã thúi căng ããn giaín:** Nuôi ái các ao tãu nhiên hay ái các bãõ (xáy bàõng xi màng) hay lại thùng gãu, nhãuã. Trong trãẽng hãüp này thãẽng ngãẽãi ta khãng suũc khẽ CO₂, khãng khuáúy ááo

-**Nuôi ái qui mã bãĩn căng nghiãũp:** Mãüt mã hẽnh nuôi ái qui mã bãĩn căng nghiãũp nhã mã hẽnh nuôi trãõng Chlorella áãõu tiãn ái Hoa Kỳ. Taũĩ ááy táõ áuãüoc nuôi trong các áúng cháút deío trong suãút, hẽnh chãẽ U, dài hãĩn 20m, áãẽng kẽnh 1,2 m. Khi áúng nằm ngang, cho mãĩ trãẽng bvvãõ trong áúng vãĩi áãũ cao khoaĩng 0,625m. Khẽ CO₂ áãẽüç bãm vaío mãĩ trãẽng, áãõng thãĩ mãĩ trãẽng áãẽüç luãn chuyãõn vãũn áãũng tuãõn hoãĩn nhãĩ mãüt mãỹ bãm khãĩc. Nuãi táõ bàõng nãng læãũng áĩnh sãĩng mãüt trãĩi vãĩi nhiãüt áãũ mãĩ trãẽng duy trẽ khoaĩng 25-26⁰C.

- **Nuôi ái qui mã căng nghiãũp:** Áãõ nuôi trãõng vi táõ, vi khuãõn lam ái qui mã căng nghiãũp, coi 2 hãũ thãũng chẽnh : Hãũ thãũng kẽn vai hãũ thãũng hãĩ. Dui lại hãũ thãũng nãõo ái nãẽã,viãũc khuáúy ááo, suũc khẽ áãõ taũõ áĩãõu kiãũn cho táũ baío táũp xũc vãĩi áĩnh sãĩng mãüt trãĩi vai khẽ CO₂ lại yãũ cáõu ráút quan troũng áãõ các chũng giãũng thãũc hiãũn quãĩ trẽnh quang hãüp. Do áõĩ, các hãũ thãũng nuôi trãõng áãẽüç thiãút kãũ gãõn liãõn vãĩi hãũ thãũng khuáúy ááo vai suũc khẽ.

Hãũ kẽn: Áĩ hãũ thãũng nuôi này, vi táõ, vi khuãõn lam áãẽüç nuôi trong các bãõ lãn men chũĩ yãũu duĩng áĩnh sãĩng nhãn taũõ (áĩnh sãĩng áẽn), coi cãẽng áãũ vai hãũ thãũng suũc khẽ CO₂ tuyĩ theo yãũ cáõu căng nghãũ.

Æu áĩãõm : Khãng phuũ thuãũc vaío áĩãõu kiãũn khẽ háũ , thãĩi táũt.

. Áiãõu kiãûn nuãi cáúy âæãüc kiãøm tra, khãng chãú mãüt cáìch chuí
ããüng.

. Nãng suáút cao

Nhæãüc âiãøm : Giaĩ thãnh àãõt nãn êt âæãüc aĩp duýng rãüng raĩi.

Hãu hãĩ: Àãüc âiãøm :. Quaĩ trýnh quang hãúp cúa vi taío vai vi khuãøn lam
gãõn liãõn vãĩi viãüc sæi duýng aĩnh sãĩng tãêu nhiãn (aĩnh sãĩng mãüt trãĩi).

. Chiãõu cao cáüt mãi trãeing khoaĩng 15-17 cm, bàòng 0,7
chiãõu cao bãø nuãi cáúy.

. Khuáúy áaío vãĩi mãüt chãú áãü thêch hãúp áãø taío âæãüc
tiãúp xũic vãĩi aĩnh sãĩng mãüt trãĩi vai giuĩp cho taío khãng bã lãõng xuãúng áãĩy bãø,
áaím baío cho sæu phãn bãú áãõu cháút dinh dãẽĩng cho toãn bãü tãú baío cúa hãu
thãúng nuãi



ARTISANAL FARM *Sãn xuãút thũ công*



MEDIUM SIZE FARM Sản xuất với qui mô trung bệnh



MASS PRODUCTION FARM Sản xuất qui mô cặng nghiãúp

5.2.2. Thu nhấu sinh khấu:

Viấu thu nhấu sinh khấu thặiờng qua cặc bặi cặ sau:

- Lặi àu c sắ bắ
- Lặi bầi trồiờng lặi cặi chắn khắng
- Phắi vắi tắu bặi
- Sắu y khắ
- Nghiấi
- Ấi gắi

Khi hàm lượng sinh khối đạt cực đại thì tiến hành thu hoạch tảo. Việc thu hoạch là một thao tác khá dễ dàng trừ khi nó trở nên quá già và dính lại với nhau thì việc thu hoạch trở nên rất khó khăn.

Thời gian thu hoạch tảo tốt nhất là vào buổi sáng sớm vì nhiều lý do:

- Công việc sẽ dễ dàng hơn khi thời tiết mát mẻ.
- Trời nắng sẽ dễ làm khô sản phẩm.
- Phần trăm protein trong Spirulina cao nhất vào buổi sáng.

Về cơ bản, việc thu hoạch tảo có 2 bước:

- Cô đặc sơ bộ thu được khoảng 10 % chất khô và phần còn lại chứa 50 % môi trường nuôi cấy.

- Việc loại bỏ phần còn lại của môi trường nuôi cấy trong sinh khối Spirulina tươi sẽ được tiến hành trong quá trình sử dụng hoặc quá trình sấy khô, nó sẽ chứa khoảng 20 % vật chất khô và đường như không còn môi trường nuôi cấy.

Cách lọc thì được tiến hành đơn giản bằng cách cho cả tảo và môi trường qua một lớp vải lọc nhờ vào trọng lực. Lớp vải được làm từ poliamide hoặc polyester với kích thước mắt lưới cỡ 30 | 50 μm là thích hợp nhất. Việc hỗ trợ thêm một lưới lọc mịn sẽ làm tăng nhanh quá trình lọc và bảo vệ lớp vải lọc không bị thủng. Nhưng cách đơn giản nhất là có thể sử dụng một túi lớn để lọc.

Việc lọc có thể được tiến hành trực tiếp ở ao nuôi cấy tảo để phục hồi nước lọc. việc thu hoạch tảo sẽ được tiến hành thông qua một cái sàng với kích thước mắt lưới 200 μm để giữ lại bất kỳ những chất lạ nào như sâu bọ, ấu trùng, lá cây, sự vón cục của các polysacarit hoặc bùn.

Thật tiện lợi để xúc những mảng Spirulina khi chúng nổi lên trên, có thể sử dụng những cái thùng để múc tảo. việc thu hoạch tảo khi nó nổi thành từng lớp sẽ có khuynh hướng tăng thêm phần trăm Spirulina, nếu nó không nổi lên trên thì sẽ gây khó khăn cho quá trình thu hoạch. Khi hầu hết nước đã được lọc, sinh khối sẽ được tập trung lại thành những cái cuộn. Việc tách sẽ thực hiện tốt hơn với vải lọc bằng cotton.

***Bổ sung môi trường dinh dưỡng:**

Những chất dinh dưỡng bị tách ra cùng với sinh khối khi thu hoạch cần phải được bổ sung để duy trì môi trường dinh dưỡng.

Chất dinh dưỡng chính là cacbon, nó có thể được lấy trực tiếp từ không khí như khí CO₂ mỗi khi độ pH > 10. Tuy nhiên trong không khí chỉ chứa một lượng rất nhỏ khí CO₂ nên sự hấp thụ nó là một quá trình rất chậm, quá trình này chỉ đạt cực đại khi pH > 10,5. CO₂ tinh khiết được cung cấp từ hơi đốt hoặc oxi hóa các hợp chất hữu cơ như đường. Lượng khí cần thiết khi sục chiếm khoảng 4 % tổng diện tích của hồ.

Việc thêm HCO₃⁻ là một cách làm giảm bớt độ pH có hiệu quả và dễ thực hiện nhất nhưng nó sẽ làm tăng độ mặn của môi trường. Thành thạo phải rút bớt một phần môi trường nuôi cấy và thay thế bằng môi trường giàu HCO₃⁻ mới để duy trì một độ mặn nhất định.

Hàm lượng khí, ri đường, HCO₃⁻ bổ sung sẽ điều chỉnh được độ pH khoảng 10,4. Độ pH < 10,2 có thể gây ra sự sản sinh thừa không mong muốn nhưng không nguy hiểm. Đường có thể gây ra một số biến đổi của môi trường dinh dưỡng vì vậy chỉ nên sử dụng một lượng nhỏ hơn 0,3 kg/kg và cung cấp càng đều đặn càng tốt.

Ngoài C, Spirulina cần phải có các chất dinh dưỡng cần thiết như: N, P, K, S, Mg, Ca, Fe và một số nguyên tố vi lượng khác. Trong một số trường hợp, các nguyên tố vi lượng và canxi có thể không cần cung cấp vì nó có sẵn trong nước và những chất hóa học sử dụng làm thức ăn cho Spirulina. Trong một vài trường hợp, nước có chứa một lượng lớn Ca, Mg, Fe, nó sẽ làm đục môi trường.

Nếu sử dụng phân bón hóa học thì chúng phải hòa tan được để đề phòng việc có các kim loại nặng như Hg, Cd, Pb, Spirulina sẽ dễ dàng hấp thụ những chất đó và sẽ bị kết dính lại.

Nitrat là một nguồn cung cấp nitơ tốt, nó chứa đựng nhiều chất dinh dưỡng ngoài nitơ. Nguồn nitơ rẻ nhất là urê, urê được tạo thành từ NH₃ và CO₂ là một chất dinh dưỡng tuyệt vời cho Spirulina nhưng hàm lượng phải được giữ ở mức thấp, khoảng 60 mg/l. Urê thừa cũng có thể chuyển hóa thành NH₃ hoặc NO₃⁻ ở trong môi trường.

Trong trường hợp cần thiết, tất cả các chất dinh dưỡng và các nguyên tố vi lượng trừ Fe có thể được cung cấp bởi nước tiểu lấy từ người hoặc động vật có tình trạng sức khỏe tốt, không dùng thuốc với lượng khoảng 15 | 20 l/kg Spirulina. Fe có thể được cung cấp bằng cách hòa tan trong môi trường axit. Phân khác với urê, nó có thể được cung cấp một tháng một lần nhưng urê thì phải được cung cấp hàng ngày dựa vào hàm lượng đã được xác định.

***Bảo quản sản phẩm:**

Sinh khối tươi mới thu hoạch sẽ không giữ được lâu trong tủ lạnh và không hơn vài giờ ở nhiệt độ phòng.

Thêm vào 10 % muối là một phương pháp để tăng thời hạn bảo quản lên tới vài tháng nhưng về bề ngoài và mùi vị sản phẩm bị thay đổi: màu xanh của phycocyanin bị mất đi, sản phẩm sẽ trở nên lỏng và mùi vị có phần giống như bột cá. Việc lạnh đông là một cách để giữ Spirulina trong một thời gian dài. Nó cũng làm mất màu xanh của tảo nhưng không làm thay đổi mùi vị. Sấy là một phương pháp phổ biến để bảo quản và phân phối Spirulina. Nếu Spirulina được sấy và đóng gói đúng kỹ thuật thì sấy được coi là phương pháp tốt để giữ Spirulina trong vòng 5 năm.

***. Sấy khô:**

Máy sấy Spirulina dùng trong công nghiệp là máy sấy phun, điều này là ngoài tầm với của những người sản xuất thủ công.

Sấy khô bằng ánh nắng mặt trời là phương pháp phổ biến nhất để làm khô sản phẩm đối với những người sản xuất nhỏ. Việc sấy trực tiếp bằng ánh nắng mặt trời phải tiến hành nhanh nếu không chlorophyll sẽ bị phá hủy.

Dù dùng nguồn nhiệt nào thì lớp sinh khối tảo phải đủ mỏng để có thể kịp khô trước khi nó bắt đầu lên men. Không khí ẩm và khô xuyên qua sinh khối phải với tốc độ cao vào lúc bắt đầu quá trình sấy.

Trong quá sấy cũng như về sau, sản phẩm sấy phải được bảo vệ chống lại sự nhiễm bẩn từ bụi, sâu bọ và không được tiếp xúc trực tiếp với tay. Nhiệt độ sấy cần phải nhỏ hơn 68°C. Sự lên men xuất hiện trong quá trình sấy có thể được phát hiện bởi việc xuất hiện mùi trong và sau quá trình sấy. Tuy nhiên, mùi sẽ mạnh nhất khi bắt đầu quá trình sấy.[9]

***Việc thu hoạch Spirulina ở Myanmar:**

Spirulina thu hoạch xong được đem đi lọc, rửa bằng nước sạch và ép, quá trình này được lặp lại một lần nữa. Bột nhão sau khi lọc được ép thành từng cây và được sấy dưới ánh nắng mặt trời trên những tấm nhựa trong suốt.