

I – MỤC TIÊU BÀI HỌC

Học xong bài này, HS cần :

Biết làm thí nghiệm lên men rượu và lên men lactic, quan sát được hiện tượng lên men.

II – PHƯƠNG TIỆN DẠY HỌC

Chuẩn bị các dụng cụ thí nghiệm như ở SGK. Đối với các nơi có điều kiện nên dùng nấm men thuần chủng, dùng đường kính màu vàng lên men tốt hơn vì còn nhiều nguyên tố vi lượng.

Ngoài ra, GV có thể chuẩn bị kính hiển vi tốt, phiến kính và lá kính sạch. Nếu thấy các dụng cụ thủy tinh bẩn thì cần xử lí : đun sôi phiến kính và lá kính khoảng 10 – 15 phút trong dung dịch HCl 1%, rồi tráng lại vài lần bằng nước sạch. Nếu thấy còn bẩn thì phải ngâm trong hỗn hợp H_2SO_4 (100g) và kalibicrômat loãng (50g kalibicrômat với 100ml nước sạch). Chú ý đeo găng tay và kính bảo vệ mắt, không được dùng miệng để hút axit. Sau khi ngâm khoảng 2 giờ, đem rửa bằng nước rồi ngâm trong dung dịch soda ($NaHCO_3$) 1% trong thời gian khoảng 20 phút, lấy dụng cụ thủy tinh ra và đem rửa nước sạch nhiều lần. Các phiến kính, lá kính sạch (nhỏ một giọt nước lên kính, nó sẽ lan dần) cần được ngâm vào rượu trong lọ có nút mài, khi dùng mới lấy ra hơ qua ngọn lửa đèn cồn.

Nên chuẩn bị hình vẽ sơ đồ thí nghiệm lên men rượu, hình dạng nấm men rượu. Sơ đồ lên men lactic và hình vẽ liên cầu lactic đồng hình.

Cần chuẩn bị 1 kg rau cải bắp (hay cải sen), NaCl, 1 lít nước đun sôi để nguội, bình để muối rau.

III – NHỮNG ĐIỀU CẦN LƯU Ý

Trong bài nêu ra hình thức thí nghiệm đơn giản là dùng bánh men, có đối chứng (ống 1 và ống 3). Cần lưu ý mua bánh men mới, nếu bánh men cũ quá, nấm men có thể bị chết nên quá trình lên men có thể diễn ra chậm hoặc không xảy ra.

Nên chuẩn bị bộ thí nghiệm trước buổi thực hành khoảng 3 – 4 giờ (bộ thí nghiệm gồm 3 ống nghiệm như ở SGK để làm mẫu), các kết quả thí nghiệm của HS sẽ được đánh giá vào cuối buổi học.

Có thể phân công từng nhóm làm thí nghiệm. Mỗi nhóm cử 3 HS để chuẩn bị một số việc chung cho cả nhóm, ví dụ nhóm cân đường và pha dung dịch đường, nhóm giã nhỏ bánh men (nếu làm bằng bánh men rượu), nhóm đun nước pha sữa để chuẩn bị cho thí nghiệm lên men lactic...

Nếu dùng nấm men thuần chủng thì quá trình lên men rượu xảy ra nhanh hơn nhưng nên hoà nấm men vào nước đường 10% (dịch huyền phù đặc), sau đó để vào tủ ấm 30°C. Tiến hành việc này trước buổi thí nghiệm khoảng 4 – 5 giờ.

IV – GỢI Ý TIẾN TRÌNH TỔ CHỨC BÀI HỌC

1. Mở bài

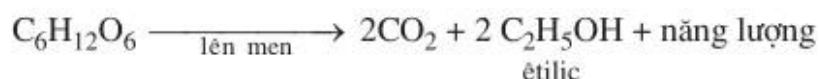
Quá trình lên men nhờ vi sinh vật rất đa dạng, ở đây chỉ nêu ra 2 quá trình chủ yếu có nhiều ứng dụng thực tiễn là lên men êtilic và lactic.

2. Hướng dẫn dạy học bài mới

a) Lên men êtilic

Có thể giảng dạy bài này theo các hướng dẫn như trong SGK và tham khảo nội dung sau đây :

- Có thể dùng hình thức hỏi đáp để ôn tập lí thuyết trước khi tiến hành thí nghiệm.
- Phản ứng của quá trình lên men êtilic có thể tóm tắt như sau :



Chỉ cần cho HS thấy được bọt khí CO₂ bay lên từ đáy ống nghiệm 2. GV có thể nói thêm :

Ống nghiệm 1 không có bọt khí tức là không có quá trình lên men vì không có bánh men, ống 3 cũng không có bọt khí vì không có đường, từ đó hướng dẫn HS nêu lên điều kiện chủ yếu của quá trình lên men êtilic đó là : phải có đường (cơ chất lên men), nấm men (trong bánh men hoặc nấm men thuần chủng) và điều kiện kị khí.

Tốc độ lên men rượu có thể xác định nhờ lượng CO₂ bay ra từ một thể tích ở môi trường nhất định trong một thời gian xác định. Ngoài ra, có thể xác định sự có mặt của rượu êtilic bằng phản ứng tạo thành iôđôphoóc (CHI₃), bằng phản ứng với kali bicrômat hoặc bằng chưng cất.

Nếu để bình lên men rượu sau 2 – 3 ngày thì lượng rượu sinh ra sẽ nhiều hơn, pH hơi axit (khoảng 4 – 5) làm cho quá trình lên men rượu xảy ra mạnh hơn.

Khi hô hấp, tế bào thu được nhiều nhất là 38 mol ATP/1 mol glucôzơ, còn một phần năng lượng bị toả nhiệt. Khi lên men, tế bào chỉ thu được 2 mol ATP/1 mol glucôzơ, năng lượng còn tích trong rượu.

Khi sử dụng bánh men để lên men rượu cần lưu ý là hiện tượng lên men có thể diễn ra nhanh hơn nếu cho nhiều bánh men tán nhỏ và làm nhuyễn trước đó vài giờ. Nếu sử dụng đường glucôzơ thì lên men nhanh hơn đường kính (saccarôzơ) vì không cần quá trình phân giải đường saccarôzơ thành glucôzơ. GV có thể dùng ống nghiệm (úp ngược ống) cho vào ống đong để có thể nhìn rõ khí CO₂ đẩy ống nghiệm lên.

Nấm men là vi sinh vật đơn bào, nhân thực, hiếu khí. Lúc đầu có ôxi hoà tan trong nước đường, chúng sẽ hô hấp hiếu khí, sinh sản bằng cách nảy chồi. Khi hết ôxi hoà tan, chúng sẽ lên men rượu (phân giải saccarôzơ thành glucôzơ và fructôzơ và sau đó lên men 2 loại đường này thành rượu êtilic).

Nấm men rượu có nhiều loài với hình dạng có thể hơi khác nhau, nhưng kích thước khá lớn (3–10 × 5–12µm), có thể thấy rõ dưới kính hiển vi quang học (LM) (× 40). Có thể thấy nấm men nảy chồi (nếu còn thời gian có thể cho HS quan sát).

Có hai phương pháp sản xuất rượu êtilic bằng cách sử dụng nấm mốc để thuỷ phân tinh bột :

– Phương pháp amilô : Cấy nấm mốc vào nguyên liệu để nấm mốc vừa mọc vừa thuỷ phân tinh bột (trong dân thường dùng phương pháp này).

– Phương pháp mucôman : Cấy nấm mốc lên cám hoặc trên môi trường khác, sau đó đưa vào thuỷ phân nhanh tinh bột.

Rượu êtilic là một dung môi rất phổ biến, là chất sát trùng trong bệnh viện, là nguyên liệu sản xuất các loại este, cao su nhân tạo. Dựa trên nguyên lí lên men êtilic, người ta sản xuất vang, bia (sản phẩm lên men không qua chưng cất và có quá trình lên men phụ), dùng nấm men để sản xuất bánh mì, bánh bao, chiết prôtêin, vitamin, enzym...

b) Lên men lactic

GV hướng dẫn HS biết cách làm ra một số sản phẩm bằng hình thức lên men lactic :

* Làm sữa chua

Pha sữa hộp (pha ngọt vừa uống), để nguội 40°C, rồi cho vào 1 thìa sữa chua, trộn đều, đổ ra cốc nhỏ, để vào nơi ấm 35°C – 40°C, đậy kín. Sau 3 – 5 giờ, sữa sẽ trở nên sệt và có vị chua.

Trong sữa chua chế tạo sẵn có thể đã sử dụng hỗn hợp nấm men và vi khuẩn lactic, cho nên trong sữa chua thành phẩm có 1 – 2% rượu, 1% axit lactic, rất nhiều loại vitamin và prôtêin dễ đồng hoá.

Giải đáp lệnh :

– Vi khuẩn lactic đồng hình biến đổi glucôzơ thành axit lactic :



– Khi axit lactic được hình thành, pH của dung dịch sữa giảm, cazêin (prôtêin của sữa) kết tủa làm sữa từ trạng thái lỏng chuyển sang trạng thái sệt.

– Sữa chua là thức ăn rất bổ dưỡng vì có các chất dễ đồng hoá như axit lactic, vitamin, nhân tố sinh trưởng... do vi khuẩn lactic đồng hình sinh ra khi lên men đường lactôzơ. Trong sữa chua không có vi khuẩn gây bệnh vì môi trường axit ức chế các vi sinh vật này.

* Muối chua rau quả

Chọn loại rau quả có lượng đường khá (4 – 6%) như cải sen, bắp cải, su hào, dưa chuột, cà... rửa sạch, phơi héo, rau thì nên cắt nhỏ từng đoạn, cho ngập vào nước muối 3 – 4% (có thể cho thêm 10 – 15g đường vào một mẻ muối dưa dung tích 3 lít), nén chặt. Sau 2 – 4 ngày (ở nhiệt độ 28 – 30°C), rau quả sẽ trở nên chua.

Thời kì đầu, khi các chất (nhất là đường) chưa khuếch tán ra môi trường, vi khuẩn gây thối và vi khuẩn lactic (có tự nhiên trên bề mặt rau quả) cùng phát triển. Khi đường và vitamin đã khuếch tán ra môi trường thì vi khuẩn lactic phát triển mạnh, tạo ra nhiều axit lactic làm pH của nước dưa giảm (khi dưa đã chua, pH có thể là 3), vi khuẩn gây thối bị ức chế và bị tiêu diệt, vi khuẩn lactic chiếm ưu thế tuyệt đối, dưa trở nên chua.

Về mùa hè, dưa muối có thể bị nhớt, đó là vì lớp dịch nhầy do vi khuẩn lên men lactic dị hình (*Leuconostoc*) sinh ra.

Khi dưa đã chua, nếu để lâu, không đậy cẩn thận, có thể xuất hiện lớp váng trắng ở bề mặt nước dưa là do một loại nấm (*Oidium...*) từ không khí xâm nhập vào, phát triển trên bề mặt, chúng phân giải axit lactic thành CO₂ và H₂O làm cho pH trở về trung tính, tạo điều kiện cho các loại vi khuẩn khác phát triển, làm dưa bị hỏng.

Quá trình ủ chua thức ăn cho gia súc cũng tương tự như quá trình muối chua rau quả. Nguyên liệu ở đây là các loại thân, lá cây ngô... có lượng đường khá (3 – 4%). Trong quá trình ủ chua có sự phát triển tự nhiên của cả vi khuẩn

lactic đồng hình và lactic dị hình làm tăng giá trị dinh dưỡng của thức ăn ủ chua cho gia súc.

Giải đáp lệnh : từ những phân tích về cơ sở khoa học của các biện pháp kỹ thuật trong quá trình muối chua rau quả ở trên, GV sẽ hướng dẫn HS trả lời được lệnh ở phần này.

3. Củng cố và hoàn thiện kiến thức

Có thể sử dụng các câu hỏi trong bài để kiểm tra, đánh giá hoặc dùng câu hỏi trắc nghiệm.

GV có thể phân biệt cho HS :

– Rượu êtilic (C_2H_5OH), được chưng cất từ dịch lên men đường nhờ nấm men.

– Vang : dịch lên men rượu không chưng cất nhờ nấm men (chủ yếu) trên dịch nước quả (chủ yếu là dịch quả nho).

– Bia : dịch lên men rượu nhẹ không qua chưng cất nhờ nấm men trên môi trường có đường malt và hoa bia (hoa houblon).

Ở một số vùng tiến hành chưng cất rượu êtilic bằng phương pháp thủ công nên andêhit không được khử hết, ngoài ra có thể còn điaxêtyl... các hợp chất này tác động mạnh lên hệ thần kinh của người uống rượu.

GV cần kiểm tra các bình lên men rượu của HS (chỉ bọt CO_2 bay từ dưới đáy ống lên trên, có thể tạo ra đám bọt ở mặt thoáng).

GV kiểm tra cốc sữa chua và bình muối dưa của HS.

GV có thể tham khảo thêm nội dung sau :

– Axit lactic được sản xuất chủ yếu bằng con đường lên men nhờ vi khuẩn (90% lượng axit lactic trên thế giới là do vi sinh vật lên men), axit này được dùng trong bảo quản thực phẩm, công nghiệp thực phẩm, công nghiệp may mặc, chế tạo nhựa sinh học.

– Nếu làm sữa chua bằng sữa hộp có đường thì làm như trong bài thí nghiệm, còn làm bằng sữa tươi thì cần cho thêm đường (khoảng 100g/l).

– Theo nguyên lí lên men lactic, ở nhiều nơi làm nem chua nổi tiếng như Thanh Hoá, Hà Nội... vi khuẩn lactic lên men khối thịt nạc xay, axit làm cho khối thịt gắn kết với nhau, có mùi thơm hơi chua, màu đỏ tươi, vị ngọt thịt vẫn giữ nguyên... là món ăn được nhiều người ưa thích.

– Rượu vang nếu không thanh trùng đúng cách rất dễ bị nhiễm vi khuẩn lactic dị hình (chủ yếu là *Leuconostos oenos*) làm nổi bọt và chua. Trẻ nhỏ hay ăn kẹo rất dễ bị sâu răng vì vi khuẩn lactic biến đường còn dư thành axit lactic, hợp chất này ăn mòn chân răng, tạo điều kiện cho các vi khuẩn khác xâm nhập vào tuỷ răng.

– Lên men là quá trình chuyển hoá kị khí các loại đường thành sản phẩm đặc trưng xảy ra trong tế bào chất của vi khuẩn (ở vi sinh vật nhân thực gọi là bào tương), mà trong đó chất nhận điện tử và chất cho điện tử đều là chất hữu cơ. Vì quá trình lên men ở vi sinh vật thu được rất ít năng lượng (khoảng 2mol ATP/1mol glucôzơ) nên vi sinh vật phải sử dụng khá nhiều cơ chất lên men.