

**BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN
TRƯỜNG CAO ĐẲNG LƯƠNG THỰC – THỰC PHẨM**



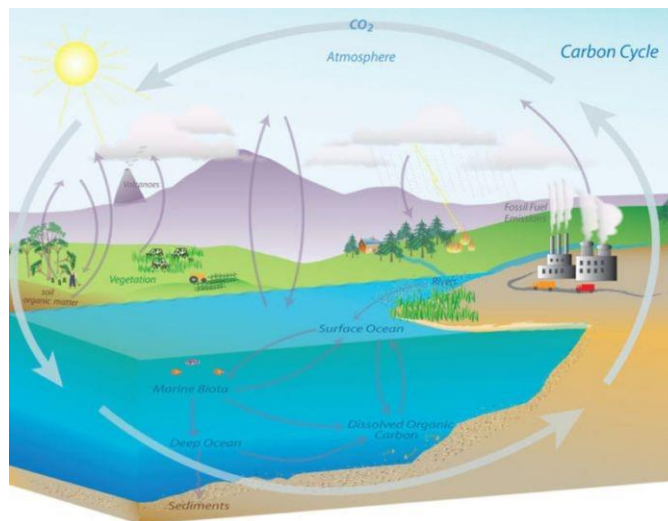
GIÁO TRÌNH

MÔN HỌC: VI SINH MÔI TRƯỜNG

NGÀNH: CÔNG NGHỆ KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG

TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG

(Ban hành kèm theo Quyết định số: 761 /QĐ-CĐLTTP-ĐT ngày 17 tháng 08 năm 2017 của Hiệu trưởng Trường Cao đẳng Lương thực Thực phẩm)



Đà Nẵng, năm 2017

MỤC LỤC

NỘI DUNG	TRANG
Chương 1. Khái quát về các nhóm vi sinh vật	3
Mục tiêu	3
A. Nội dung	3
1. Các đặc điểm chung của vi sinh vật	3
2. Các nhóm vi sinh vật	3
2.1. Vi khuẩn	3
2.2. Xạ khuẩn	12
2.3. Nấm men	13
2.4. Nấm mốc	15
2.5. Virus	19
2.6. Tảo và protozoa	24
B. Câu hỏi và bài tập	29
Chương 2. Trao đổi chất và sinh trưởng vi sinh vật	30
Mục tiêu	30
A. Nội dung	30
1. Trao đổi chất	30
2. Sinh lý vi sinh vật	30
2.1. Thành phần hóa học của vi sinh vật	31
2.2. Các nguồn dinh dưỡng của vi sinh vật	32
2.3. Các kiểu dinh dưỡng của vi sinh vật	33
2.4. Cơ chế vận chuyển thức ăn vào trong tế bào vi sinh vật	34
3. Hô hấp của vi sinh vật	36
4. Quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật	36
B. Câu hỏi và bài tập	39
Chương 3. Vi sinh vật và các chu trình sinh địa hóa học	40
Mục tiêu	40
A. Nội dung	40
1. Chu trình N	41
1.1. Vi sinh vật trong chu trình N	41
1.2. Ảnh hưởng của N trong môi trường	45
1.3. Sự loại bỏ N trong các công trình xử lý nước thải	45
2. Chu trình carbon trong tự nhiên	46
3. Sự chuyển hóa các hợp chất phosphorus của vi sinh vật	49
3.1. Chu trình phosphorus trong tự nhiên	49
3.2. Sự phân giải phosphorus hữu cơ trong đất do vi sinh vật	50
3.3. Sự phân giải phosphorus vô cơ trong đất do vi sinh vật	51
3. Chu trình S	51
4. Sự chuyển hóa các hợp chất lưu huỳnh của vi sinh vật	51
4.1. Chu trình lưu huỳnh trong tự nhiên	51

4.2. Sự oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh	52
4.3. Sự khử các hợp chất lưu huỳnh vô cơ do vi sinh vật	53
B. Câu hỏi và bài tập	53
Chương 4. Vi sinh vật gây bệnh và ký sinh trùng trong nước thải sinh hoạt	54
Mục tiêu	54
A. Nội dung	54
1. Một số định nghĩa	54
2. Các phương thức lây bệnh	54
3. Vi sinh vật gây bệnh trong nước thải sinh hoạt	54
4. Virus gây bệnh	56
5. Ký sinh trùng	57
B. Câu hỏi và bài tập	58
Chương 5. Vi sinh vật trong xử lý chất thải rắn	59
Mục tiêu	59
A. Nội dung	59
1. Chất thải rắn	59
2. Xử lý chất thải rắn bằng phương pháp chôn lấp	59
3. Phương pháp xử lý rác lên men sản xuất phân hữu cơ – compost	60
B. Câu hỏi và bài tập	64
Chương 6. Vi sinh vật trong xử lý nước thải	65
Mục tiêu	65
A. Nội dung	65
1. Bùn hoạt tính	65
2. Màng sinh học	66
3. Ao hồ ổn định – Ao hồ sinh học	68
4. Loại bỏ các chất dinh dưỡng	70
B. Câu hỏi và bài tập	71
Chương 7. Vi sinh vật chỉ thị	72
Mục tiêu	72
A. Nội dung	72
1. Khái niệm	72
2. Một số vi sinh vật chỉ thị	72
2.1. Tổng số coliform	72
2.2. Coliform phân	73
2.3. Nhóm <i>Staphylococcus</i>	73
2.4. Nhóm <i>Streptococcus</i>	74
2.5. Vi khuẩn kỵ khí	74
2.6. Nấm men và vi sinh vật kháng acid	74
2.7. Tổng số vi sinh vật dị dưỡng	74
3. Một số phương pháp xác định vi sinh vật chỉ thị	74
B. Câu hỏi và bài tập	77

GIÁO TRÌNH MÔN HỌC : VI SINH MÔI TRƯỜNG
MÃ MÔN HỌC: 100411
CHƯƠNG 1. KHÁI QUÁT VỀ CÁC NHÓM VI SINH VẬT

Mục tiêu:

- Trình bày được đặc điểm chung của vi sinh vật và đặc điểm hình thái, cấu tạo, sinh sản của từng nhóm vi sinh vật;
- So sánh được sự khác nhau giữa các nhóm vi sinh vật;
- Nhận diện được một số nhóm vi sinh vật qua hình ảnh.

A. NỘI DUNG

1. Đặc điểm chung của vi sinh vật

1.1. Kích thước nhỏ bé. Vi sinh vật là những cơ thể sống có kích thước rất nhỏ, thường được đo bằng micromet (μm). Phần lớn chúng được cấu tạo từ một tế bào.

1.2. Sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh. Trong điều kiện môi trường thích hợp chúng có khả năng sinh sản rất nhanh. Dựa vào đặc tính này người ta sử dụng chúng trong công nghệ sản xuất sinh khối, trong y học và trong kỹ thuật di truyền.

1.3. Hấp thu nhiều, chuyển hóa nhanh. Vi sinh vật tuy nhỏ bé nhất trong sinh giới nhưng năng lực hấp thu và chuyển hóa của chúng có thể vượt xa các sinh vật bậc cao. Đặc biệt là khả năng sinh tổng hợp các chất có hoạt tính sinh học như enzym, các acid amin, kháng sinh,...

1.4. Năng lực thích ứng mạnh và dễ phát sinh biến dị. Đặc tính thích nghi này của vi sinh vật được điều khiển bởi kiểu trao đổi chất, kiểu hô hấp và sinh tổng hợp enzym.

1.5. Phân bố rộng, chủng loại nhiều. Vi sinh vật là đối tượng khoa học phong phú vì chúng có mặt hầu hết các nơi trên trái đất, chúng tham gia hầu hết các quá trình chuyển hóa các chất và hợp chất trong thiên nhiên.

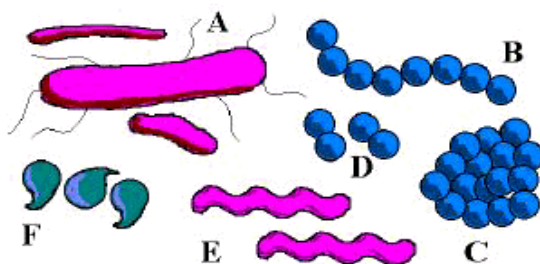
2. Các nhóm vi sinh vật

2.1. Vi khuẩn

Vi khuẩn là những sinh vật đơn bào, cấu tạo đơn giản và kích thước rất nhỏ. Mỗi một tế bào có thể hoạt động sống độc lập.

2.1.1. Hình thái và kích thước

Tùy theo hình thái bên ngoài, vi khuẩn chia làm 3 nhóm cơ bản: cầu khuẩn, trực khuẩn và xoắn khuẩn.



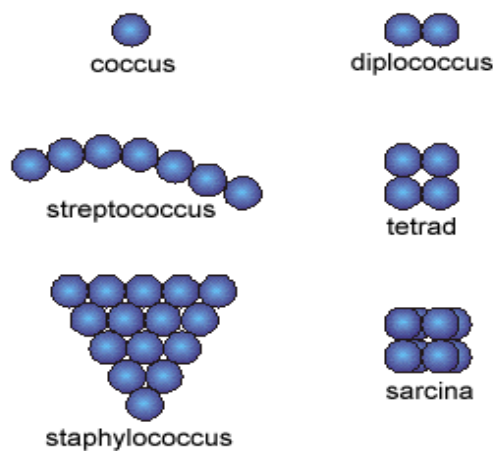
Hình 1.1. Các hình dạng chính của vi khuẩn A: Trực khuẩn; B, C, Cầu khuẩn; E, F: Xoắn khuẩn

2.1.1.1. Cầu khuẩn (Coccus)

Là loại vi khuẩn có hình cầu, nhưng có nhiều loại không hẳn hình cầu. Ví dụ phé cầu khuẩn có hình ngọn nến hoặc lậu cầu khuẩn có hình hạt cà phê. Đường kính cầu khuẩn thường thay đổi trong khoảng 0,5 - 1 μm .

Đặc tính chung của cầu khuẩn:

- Tế bào hình cầu có thể đứng riêng rẽ hay liên kết với nhau.
- Không có cơ quan di chuyển
- Không tạo thành bào tử
- Nhiều loài có khả năng gây bệnh cho người và gia súc.



Hình 1.2. Một số giống cầu khuẩn

Tùy theo phương hướng của mặt phẳng phân cắt và cách liên kết giữa các tế bào sau khi phân cắt mà người ta chia cầu khuẩn thành những giống sau:

➤ Đơn cầu khuẩn (*Micrococcus*)

Sau khi phân chia tế bào đứng riêng lẻ. Thường gặp chúng trong đất, nước và không khí.

Ví dụ: *Micrococcus roseus*

➤ Song cầu khuẩn (*Diplococcus*)

Sau khi phân chia chúng dính với nhau từng đôi một.

Ví dụ: Lậu cầu khuẩn (*Neisseria*)

➤ Tứ cầu khuẩn (*Tetracoccus*)

Phân cắt theo 2 mặt phẳng trực giao, các tế bào con liên kết với nhau từng nhóm gồm 4 tế bào. Thường gặp các cầu khuẩn gây bệnh cho người và một số động vật.

➤ Liên cầu khuẩn (*Streptococcus*)

Phân cắt theo một mặt phẳng xác định, các tế bào con dính với nhau tạo thành từng chuỗi dài.

Ví dụ: Liên cầu khuẩn lactic (*Streptococcus lactic*)

➤ Bát cầu khuẩn (*Sarcina*)

Phân cắt theo 3 mặt phẳng trục giao, tạo thành những khối gồm 8- 16 tế bào. Thường gặp trong không khí như *Sarcina lutea*, *Sarcina auratiaca*.

➤ Tụ cầu khuẩn (*Staphylococcus*)

Phân cắt theo một mặt phẳng bất kỳ và sau đó dính lại với nhau thành từng đám như chùm nho.

Ví dụ: *Staphylococcus aureus*

2.1.1.2. Trục khuẩn

Là những vi khuẩn hình que ngắn có kích thước $(0,5 - 1) \times (1 - 4)\mu\text{m}$.

Thường gặp các giống sau:

➤ *Bacillus* (*B.*)

- Trục khuẩn Gram dương, sinh bào tử.
- Chiều ngang của bào tử không vượt quá chiều ngang của tế bào. Vì thế khi tạo thành bào tử không thay đổi hình dạng, chúng thuộc loại hiếu khí hoặc kỵ khí không bắt buộc.

➤ *Bacterium* (*Bact.*)

- Trục khuẩn Gram âm, không sinh bào tử.
- Thường có chu mao
- Các giống *Salmonella*, *Ervina*, *Serratia*, *Shigella* đều có hình thái giống *Bacterium*.

➤ *Pseudomonas* (*Ps.*)

- Trục khuẩn Gram âm, không sinh bào tử.
- Có một tiên mao hoặc một chùm tiên mao ở một đầu.
- Thường sinh ra sắc tố
- Các giống *Xanthomonas*, *Photobacterium*, *Azotomonas*, *Aeromonas*, *Zymomonas*,...đều có hình thái giống *Pseudomonas*.

➤ *Corynebacterium*

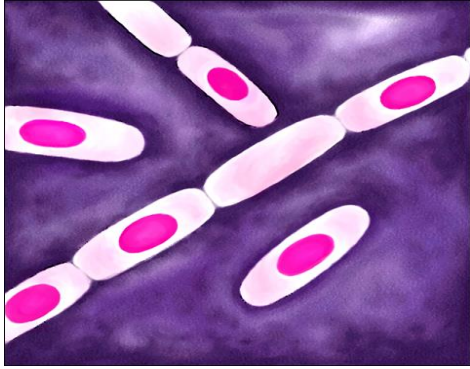
- Không sinh bào tử, hình dạng và kích thước thay đổi khá nhiều. Khi nhuộm màu tế bào thường tạo thành các đoạn nhỏ bắt màu khác nhau.

Chẳng hạn trục khuẩn bạch hầu (*Corynebacterium diphteriae*) bắt màu ở hai đầu làm tế bào có hình dạng giống quả tạ.

Một số khác có hình thái *Corynebacterium* gồm có *Listeria*, *Microbacterium*,...

➤ *Clostridium* (*Cl.*)

- Thường là trục khuẩn Gram dương, kích thước thường vào khoảng $(0,4 - 1) \times (3 - 8)\mu\text{m}$
- Sinh bào tử, chiều ngang của bào tử thường lớn hơn chiều ngang của tế bào, do đó làm tế bào có hình thoi hay hình dùi trống.
- Thuộc loại kỵ khí bắt buộc, nhiều loại có ích như các loài cố định Nitơ. Một số loài khác gây bệnh như trục khuẩn uốn ván, *Cl. botulinum*,...



Bacillus



Bacterium



Pseudomonas



Corynebacterium

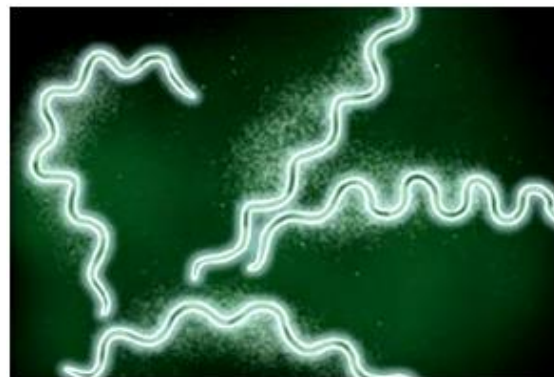


Clostridium



Salmonella

Hình 1.3. Hình thái tế bào một số giống trực khuẩn thường gặp



Hình 1.4. Hình thái tế bào các giống xoắn khuẩn

2.1.1.3. Xoắn khuẩn (*Spirillum*)

Là loại vi khuẩn hình xoắn, tùy theo số vòng xoắn, người ta chia làm 2 loại sau:

➤ Phẩy khuẩn

Là dạng vi khuẩn hình que uốn cong như dấu phẩy. Thường gặp nhất là *Vibrio cholera* (phẩy khuẩn tả).

➤ Xoắn khuẩn

Là loại vi khuẩn có 2 vòng xoắn trở lên, Gram dương, kích thước tương đối lớn khoảng 3 x (5- 40)μm.

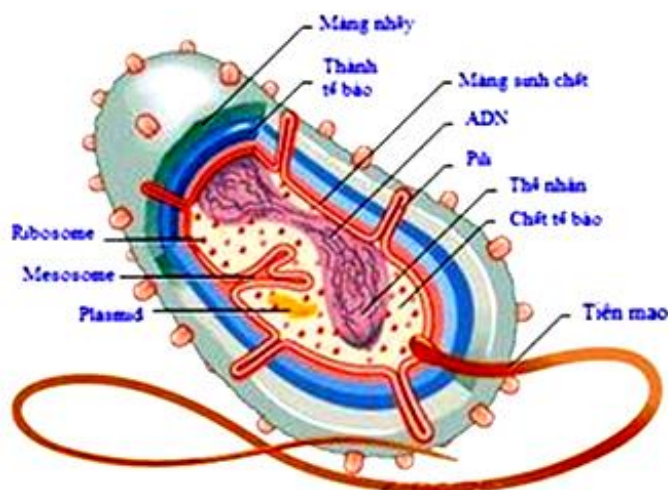
- Di động được nhờ có một hay nhiều tiên mao mọc ở đỉnh.

- Đa số chúng thuộc loại hoại sinh, một số ít có khả năng gây bệnh

2.1.2. Cấu tạo tế bào

Vi khuẩn là sinh vật có cấu tạo đơn bào, do đó mỗi một tế bào vi khuẩn có thể hoạt động sống độc lập.

Tế bào vi khuẩn được cấu tạo gồm 3 phần chính: vỏ bọc, nguyên sinh chất và nhân.



Hình 1.5. Cấu trúc tế bào vi khuẩn

2.1.2.1. Vỏ: gồm 2 lớp

➤ Màng nhầy và lớp dịch nhầy (Capsule)

- Thành phần hóa học của màng nhầy thay đổi tùy theo loài vi khuẩn. Trong đó, thành phần cơ bản là nước (98%), chất khô chủ yếu là polysaccharid.

- Chức năng của màng nhầy:

+ Bảo vệ tế bào tránh các điều kiện bất lợi của môi trường.

+ Là nơi tích lũy chất dinh dưỡng.

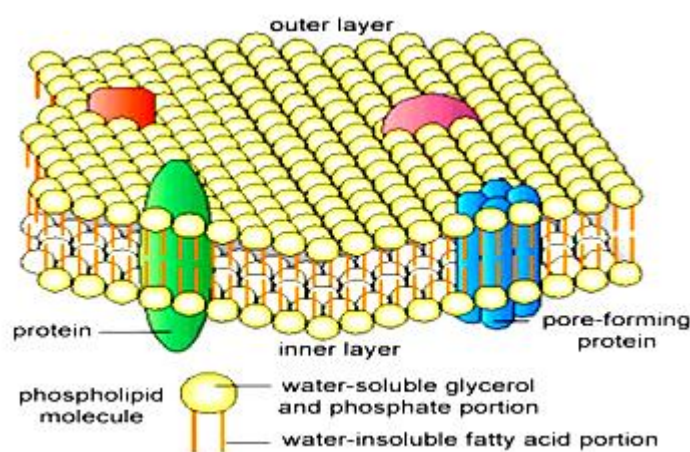
➤ Thành tế bào

-Thành tế bào vi khuẩn có kích thước khác nhau tùy loài. Đối với vi khuẩn Gram dương có thành tế bào dày hơn, khoảng 14-18nm, chiếm 10-20% trọng lượng khô của tế bào. Vi khuẩn Gram âm có thành tế bào mỏng hơn, thường khoảng 10nm. Thành tế bào chứa chủ yếu là glycopeptid và acid teichoid.

- Chức năng của thành tế bào:
 - + Làm cho tế bào có hình dạng nhất định.
 - + Giữ cho tế bào tránh các tác động của môi trường bên ngoài.
 - + Chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học.

2.1.2.2. Màng nguyên sinh chất

- Là lớp màng ngăn cách giữa nguyên sinh chất và thành tế bào. Màng nguyên sinh chất rất mỏng, được cấu tạo bởi 2 lớp phospholipid (chiếm 30 -40% khối lượng của màng) và các protein (chiếm 60 - 70%) nằm trong, ngoài hay xen giữa màng.



Hình 1.6. Cấu trúc màng nguyên sinh chất

- Chức năng của màng nguyên sinh chất:
 - + Duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào.
 - + Có khả năng thẩm chọn lọc các chất dinh dưỡng từ ngoài môi trường hoặc thải những sản phẩm trao đổi chất từ trong ra ngoài tế bào.
 - + Là nơi xảy ra quá trình sinh tổng hợp một số thành phần của tế bào.

2.1.2.3. Nguyên sinh chất

- Đây là thành phần chính của tế bào vi khuẩn. Nó là một khối keo bán lỏng chứa 80-90% là nước. Thành phần chủ yếu là phức chất lipoprotein. Thể keo của tế bào khác với thể keo khác là chúng có tính chất dị thể. Trạng thái keo này phụ thuộc vào điều kiện nuôi cấy và tuổi của tế bào sống.
- Khi tế bào còn non thì tế bào chất đồng nhất và không đồng nhất khi tế bào già do xuất hiện không bào và các thể vùi.
- Chức năng của nguyên sinh chất:
 - + Là nơi chứa đựng toàn bộ các cơ quan bên trong của tế bào.
 - + Là nơi tổng hợp nhiều chất cơ bản của tế bào.
 - + Tham gia quá trình trao đổi chất của tế bào.

Các bào quan

* *Không bào*: là tổ chức hình cầu hoặc hình bầu dục, được bao bọc bởi màng không bào, là phức hợp của protein và lipid.

- Số lượng và kích thước thay đổi tùy thuộc vào các giai đoạn phát triển của tế bào.
- Không bào giữ vai trò như kho chứa những sản phẩm bất lợi của quá trình trao đổi chất.

* *Ribosome*: Gồm hai tiểu thể hình cầu dính với nhau theo hình số 8. Thành phần chủ yếu là RNA và protein.

- Ribosom được xem như nhà máy sản xuất protein và các chất hoạt động sinh học.

* *Mezosome*: Có dạng tiểu thể hình cầu, chứa các hợp chất phospholipid và nhiều hệ enzyme oxy hóa-khử.

- Đây là nơi xảy ra các quá trình oxy hóa chất hữu cơ, là nguồn năng lượng và cũng là nơi tổng hợp các chất giàu năng lượng dự trữ như ATP.

* *Sắc thể*: Là những bào quan có cấu trúc hạt, được tạo nên từ phức hợp lipo-protein và có chứa sắc tố quang hợp là chlorophyl vi khuẩn (khuẩn lục tố).

- Số lượng sắc thể khá lớn và thường phân bố ở vùng biên của nguyên sinh chất.

* *Các thể vùi (thể ẩn nhập)*

- Hạt volutin: là phức hợp của acid ribonucleic và metaphotphat. Chúng là nguồn dự trữ C và N cho tế bào.

- Glycogen và granuloza: dự trữ glucid, có cấu tạo gần giống hạt tinh bột. Đây là nguồn thức ăn cacbon và cung cấp năng lượng cho tế bào.

- Thể vùi lipid: thường tồn tại dưới dạng những giọt mỡ, chúng làm nhiệm vụ dự trữ năng lượng và chất đậm cho tế bào.

2.1.2.4. Nhân

- Thuộc dạng nhân phân tán, không có màng nhân và nhân con.

- Thành phần chủ yếu là nucleoprotid, trong đó ADN có cấu tạo sợi kép với hai đầu khép lại tạo thành vòng kín.

- Vai trò của nhân đặc biệt quan trọng trong việc điều khiển sự tổng hợp protein và di truyền mọi tính chất của tế bào mẹ cho các đời sau.

2.1.2.5. Một số cấu tạo khác ở tế bào vi khuẩn

➤Tiên mao (Flagella)

- Là những sợi nguyên sinh chất rất mảnh, mọc từ những hạt gốc của màng nguyên sinh chất, chiều rộng khoảng 0,01-0,05 μ m, chiều dài có thể 80-90 μ m. Tùy theo từng vị trí và số lượng của tiên mao người ta chia ra những dạng sau:

- + Đơn mao khuẩn: có một tiên mao ở một đầu của tế bào.
- + Song mao khuẩn: có hai tiên mao ở cả hai cực của tế bào.
- + Chùm mao khuẩn: có nhiều tiên mao phát triển ở một đầu của tế bào.
- + Chu mao: có nhiều tiên mao phát triển xung quanh tế bào.

Tiên mao làm nhiệm vụ giúp tế bào vi khuẩn chuyển động.

➤Bào tử (Spore)

- Bào tử là một dạng đặc biệt được hình thành bên trong tế bào vi khuẩn khi vi khuẩn gặp những điều kiện bất lợi của ngoại cảnh hoặc ở một giai đoạn phát triển nhất định nào đó.
- Khả năng hình thành bào tử thường ở hai giống trực khuẩn gram dương là *Bacillus* và *Clostridium*. Ngoài ra, bào tử còn có ở một số giống cầu khuẩn như *Sarcina ureae*, *Sarcina lutea*.
- Hình dạng: Bào tử thường có hình cầu hoặc hình bầu dục. Kích thước nhỏ hơn bề ngang của tế bào (như ở *Bacillus*), nên tế bào không bị biến dạng khi mang bào tử. Ngược lại, ở giống *Clostridium* kích thước bào tử lớn hơn chiều ngang tế bào nên tế bào có hình thoi hoặc hình dùi trống.
- Sự hình thành bào tử: Bào tử được hình thành có thể do vi sinh vật gặp điều kiện bất lợi hoặc cũng có thể là một hình thức tự đổi mới trong chu trình phát triển của nó. Gồm các bước:
 - + Chất nguyên sinh và chất nhân tập trung ở vị trí nhất định.
 - + Chất nguyên sinh được cô đặc lại do mất phần lớn nước và tạo thành tiền bào tử (prospore).
 - + Tiền bào tử được bao bọc bởi ba lớp màng với lớp ngoài cùng có nhiều lipid.
 - + Nước ở trong bào tử phần lớn ở dạng liên kết.
- Khả năng chịu đựng của bào tử:
 - + Bào tử có sức chịu đựng rất lớn đối với điều kiện không thuận lợi của môi trường bên ngoài.
 - + Bào tử của mỗi loại vi khuẩn có sức chịu đựng khác nhau, chẳng hạn ở 100°C:
 - > Bào tử *Bacillus aureus* chịu được 2 phút.
 - > *Bacillus subtilis* chịu được 180 phút.
 - > *Bacillus mesentericus* chịu được 380 phút.
 - + Tùy theo sức nóng khô hay ướt mà bào tử bị hủy hoại ở nhiệt độ khác nhau:
 - > Hấp ở nhiệt độ cao hầu hết bào tử bị tiêu diệt hết.
 - > Hấp ở 120°C/15-20 phút bị tiêu diệt hết.
 - > Sấy ở 150-170°C/1-2 giờ mới bị tiêu diệt.
 - + Đối với hóa chất, bào tử có sức chịu đựng cao hơn nhiều so với thể sinh dưỡng. Ví dụ đối với phenol 5%:
 - > Thể sinh dưỡng bị tiêu diệt trong vài giờ.
 - > Dạng bào tử sau 15 ngày mới bị tiêu diệt.
 - + Ở pH khác nhau sức chịu đựng của bào tử với nhiệt độ cũng thay đổi: pH càng thấp sức đề kháng nhiệt độ càng giảm.
- Bào tử có khả năng chịu đựng cao đối với điều kiện không thuận lợi là do:
 - + Cấu tạo trạng thái sinh học (sinh lý, sinh hóa, hóa lý...) của bào tử đã thay đổi nhiều so với thể sinh dưỡng.

+ Vỏ bào tử chứa nhiều lipid và dày làm hạn chế sự xâm nhập của các chất hóa học.

+ Cấu trúc xếp của màng lại là vật cách nhiệt khá tốt.

+ Lượng nước chứa trong bào tử rất ít, phần lớn ở trạng thái liên kết làm cho sức chịu đựng của bào tử với điều kiện bên ngoài, nhất là nhiệt độ tăng lên nhiều.

+ Hệ enzym ở trạng thái gần như không hoạt động, các phản ứng sinh hóa dường như không xảy ra, làm cho bào tử có thể tồn tại ở trạng thái nghỉ một thời gian khá dài tới hàng năm, hàng nhiều năm.

- Sự nảy mầm của bào tử :

+ Gặp điều kiện thuận lợi về chất dinh dưỡng, độ ẩm, nhiệt độ,...bào tử sẽ nảy mầm.

+ Lớp bên trong bào tử hút nước, trương lên, màng nứt ra, các enzyme hoạt động trở lại, tế bào sinh dưỡng phát triển bình thường.

+ Trong khoảng từ 40-50 phút tế bào mới được hình thành từ bào tử.

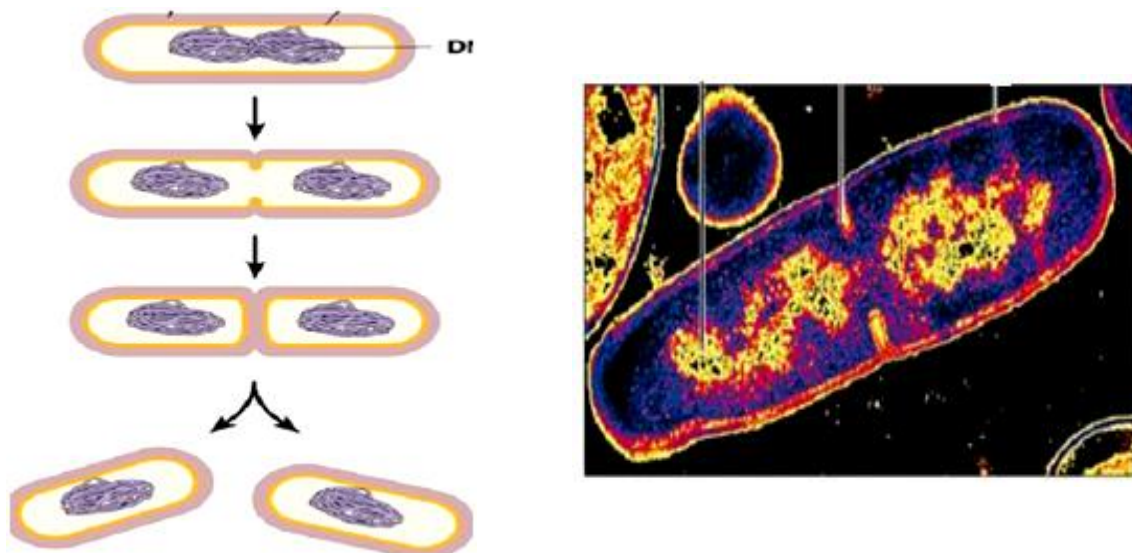
2.1.3. Sự sinh sản

- Vi khuẩn thường sinh sản theo phương pháp chia đôi tế bào.

- Quá trình phân chia bắt đầu bằng sự hình thành vách ngăn ở giữa tế bào. Sau đó vách ngăn này chia vi khuẩn thành 2 tế bào con.

+ Ở trực khuẩn và xoắn khuẩn, vách ngăn được hình thành theo bề ngang của tế bào.

+ Cầu khuẩn thì vách ngăn được tạo nên theo bất kỳ một đường kính nào của tế bào.



Hình 1.7. Quá trình sinh sản vô tính bằng cách phân đôi tế bào ở vi khuẩn

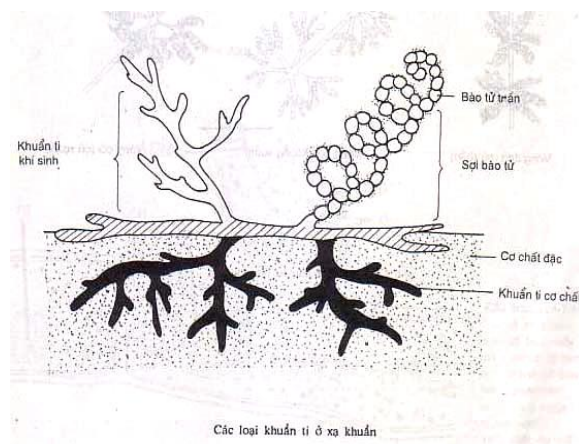
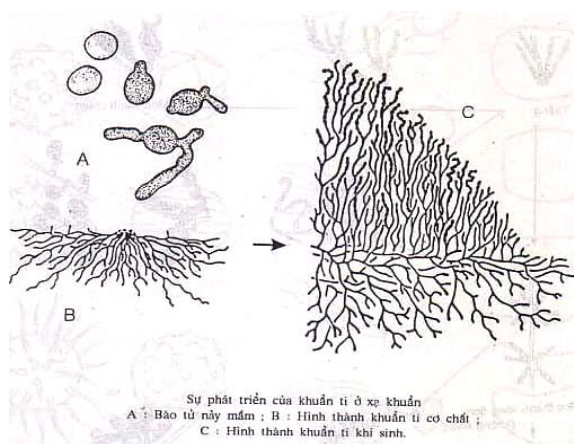
- Đa số vi khuẩn sau khi phân chia các tế bào con tách khỏi nhau. Một số khác xếp thành chuỗi dài ngắn khác nhau.

- Tốc độ sinh sản của vi khuẩn rất nhanh. Tốc độ này phụ thuộc vào điều kiện dinh dưỡng, nhiệt độ và những yếu tố khác.
- Trong các điều kiện thuận lợi tế bào có thể chia đôi một lần sau 20-30 phút. Như vậy từ một tế bào sau 36 giờ khối lượng vi khuẩn xấp xỉ 400 triệu tế bào.
- Tuy nhiên, các nhân tố của môi trường bên ngoài (hóa học, sinh học,...), nguồn thức ăn cạn dần của môi trường các điều kiện sống có thể thay đổi đều làm giảm hoặc kìm hãm tốc độ sinh sản (làm giảm nhiệt độ 10°C thì tốc độ sinh sản giảm 2- 3 lần).
- Sự hư hỏng các sản phẩm thực phẩm đều có liên quan đến vi sinh vật, sản phẩm bị chua, bị oxy hóa, bị mốc, ôi thiu, ... đều do vi sinh vật, mà trước hết là vi khuẩn sinh sản mạnh mẽ.

2.2. Xạ khuẩn (*Actinomyces*)

- Xạ khuẩn hay còn gọi là nấm tia (từ tiếng Hy Lạp Mykes là nấm và Actis là tia) có cấu trúc liên quan nhiều với vi khuẩn và nấm hạ đẳng. Chúng được xếp ở vị trí trung gian giữa vi khuẩn và nấm. Xạ khuẩn phân bố rộng rãi trong tự nhiên, trong đất, ao đầm, trong nước. Đất là môi trường sống chủ yếu của xạ khuẩn. Số lượng của xạ khuẩn đạt đến hàng chục, hàng trăm triệu cá thể trong một gam đất giàu chất hữu cơ, nhất là trong những tháng hè.
- Xạ khuẩn có các loại sắc tố (thường gặp các màu hồng, đỏ, xanh, nâu, đen,...) có loại không có sắc tố. Sắc tố có thể đóng vai trò quan trọng trong trao đổi chất, nhất là trong quá trình hô hấp. Một số sắc tố có tác dụng diệt khuẩn.
- Nhiệt độ thích hợp là $26-37^{\circ}\text{C}$, pH thích hợp là 6-8.

2.2.1. Khuẩn ty của xạ khuẩn



Hình 1.8. Sự phát triển khuẩn ty của xạ khuẩn

Hình 1.9. Các loại khuẩn ty của xạ khuẩn

- Khuẩn ty của xạ khuẩn giống khuẩn ty của nấm mốc, chúng phân nhánh và không có vách ngăn.
- Ở môi trường đặc, khuẩn ty của xạ khuẩn có thể bao trùm môi trường. Ở môi trường lỏng, chúng tạo thành hình bông và khi già tạo thành kết tủa lắng xuống.
- Trong môi trường thạch chúng phân hóa thành khuẩn ty cơ chất và khuẩn ty khí sinh rõ rệt. Phần sợi đâm sâu vào môi trường gọi là khuẩn ty cơ chất còn phần sợi mọc trên

bề mặt môi trường gọi là khuẩn ty khí sinh. Đến một giai đoạn nhất định khuẩn ty khí sinh sẽ mọc lên những nhánh nhỏ gọi là cuống sinh bào tử.

- Hình dạng của cuống sinh bào tử khác nhau tùy loại xạ khuẩn. Một số có dạng thẳng, dạng xoắn, dạng vòng và dạng tua cuốn.

- Đến giai đoạn sinh sản bào tử sẽ được sinh ra từ những cuống sinh bào tử. Bào tử xạ khuẩn thường có hình cầu, hình bầu dục hoặc hình trụ.

- Bào tử của xạ khuẩn là công cụ sinh sản chứ không phải là hình thức bảo vệ như ở bào tử vi khuẩn.

2.2.2. Cấu tạo tế bào

- Xạ khuẩn có cấu tạo tương tự như tế bào vi khuẩn.

2.2.2.1. *Thành tế bào*: tương đối dày, vững chắc và có nhiều lớp

+ Lớp ngoài dày 60- 120A°

+ Lớp trong dày 50A°

+ Lớp giữa rắn hơn dày 50A°

- Thành tế bào xạ khuẩn còn chứa nhiều enzyme và tham gia vào quá trình trao đổi chất.

- Bên ngoài thành tế bào còn có màng nhầy. Màng này có cấu tạo từ polysaccharid rất mỏng và đôi khi lại rất dày làm cho khuẩn lạc trở nên nhầy.

2.2.2.2. *Màng nguyên sinh chất*

- Màng này dày khoảng 50nm và có cấu tạo giống màng nguyên sinh chất của vi khuẩn Gram dương.

- Khi tạo thành các vách ngăn, lớp ngoài của màng nguyên sinh chất sẽ tách ra thành 2 phần. Một phần cùng với trong tạo thành vách ngăn và một phần gắn với thành tế bào mà không tạo thành vách ngăn.

- Vai trò chủ yếu là điều hòa sự hấp thụ các chất dinh dưỡng của tế bào. Ngoài ra, nó còn tham gia trong quá trình hình thành bào tử.

2.2.2.3. *Tế bào chất*: tương tự như ở tế bào vi khuẩn.

2.2.2.4. *Nhân*: Giống như vi khuẩn, xạ khuẩn chưa có nhân phân hóa rõ rệt.

2.3. Nấm men

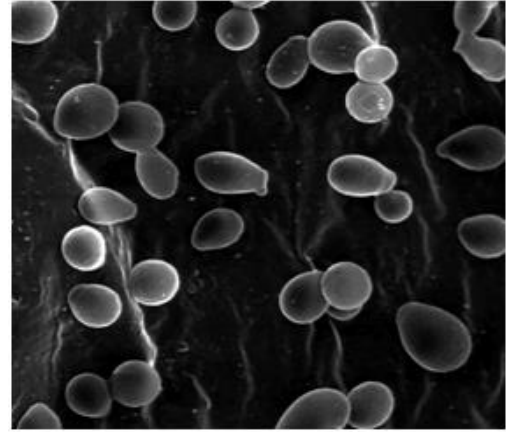
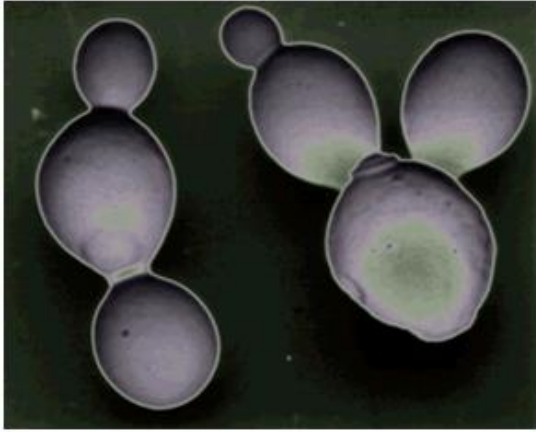
- Nấm men là tên chung chỉ nhóm vi sinh vật có cấu tạo đơn bào và thường sinh sản bằng cách nảy chồi và phân cắt. Nhóm này có nhiều trong tự nhiên.

2.3.1. Hình dạng và cấu tạo tế bào nấm men

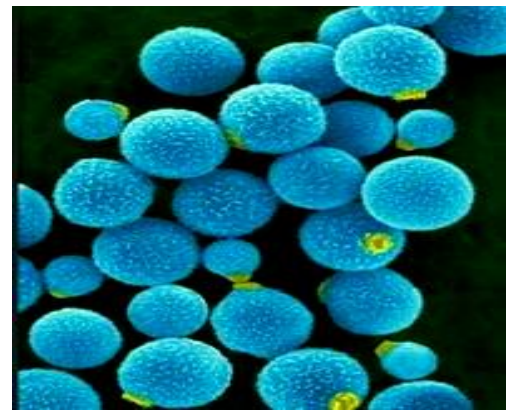
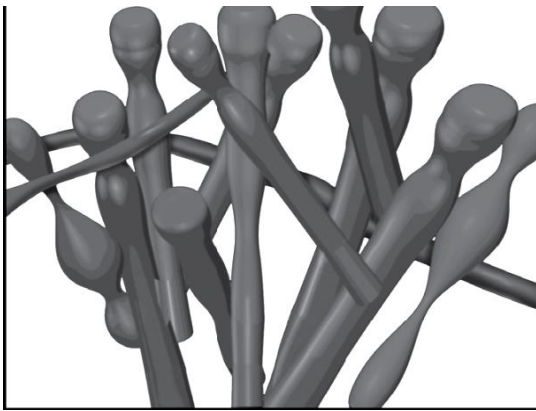
- Tế bào nấm men có hình trứng (men bia), hình elip (men rượu vang), hình cầu (*Torulopsis*), hình gậy (*Candida*), hình quả chanh.

- Kích thước của tế bào nấm men khoảng 8-15 μm.

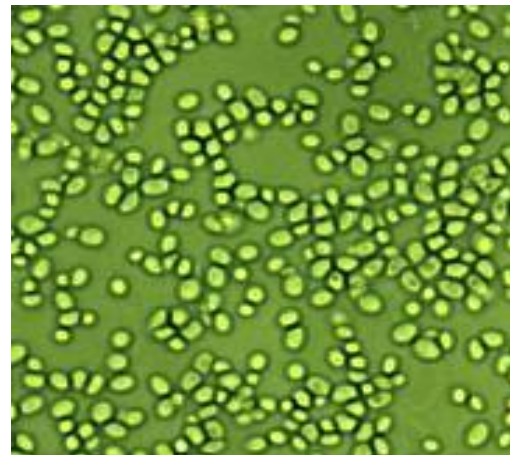
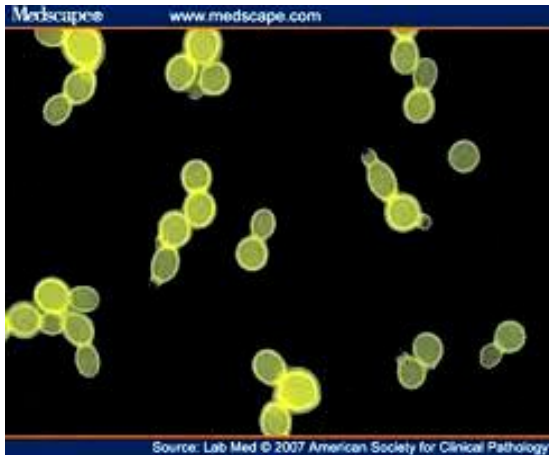
- Tế bào nấm men gồm có vỏ (hoặc thành), tế bào chất, nhân, một hoặc hai không bào và những giọt mỡ, hạt glucogen và volulin. Tế bào chất còn chứa ribosom, nơi tổng hợp protein và ty thể, nơi xảy ra quá trình oxy hoá khử, cung cấp nguồn năng lượng cho tế bào.



Saccharomyces



Candida



Torulopsis

Hình 1.10. Hình thái tế bào nấm men

- Ở một số nấm men vỏ tế bào có khả năng kết dính, vì vậy chúng có thể kết với nhau, lắng xuống dưới làm cho dịch lên men trong. Men này gọi là men chìm.
- Những nấm men không có khả năng kết lắng được gọi là men nổi.

- Giống *Torulopsis* lại có khả năng dính nhầy rất mạnh làm cả khối dịch bị nhầy, gây hỏng sản phẩm.

2.3.2. Sinh sản của nấm men

2.3.2.1. Sinh sản bằng cách nảy chồi

- Gặp điều kiện thuận lợi, tế bào mẹ nảy sinh ra một chồi nhỏ rồi lớn dần lên và sẽ tách ra.

- Quá trình này xảy ra khoảng 2h.

- Ở một số giống nấm men, tế bào con không tách rời mà kết thành một chuỗi. Thường thấy ở các nấm men tạo màng.

Trong thực tế hiện nay hay gặp giống *Saccharomyces*. Giống này sinh sản bằng cách nảy chồi, khi gặp điều kiện không thuận lợi thì sinh bào tử.

2.3.2.2. Sinh sản bằng nang bào tử (vô tính)

- Một số nấm men đến thời kỳ sinh sản nhân phân chia 4-8 nhân nhỏ, chung quanh tập trung một phần bào tương, ngoài có một màng bào tử. Gặp điều kiện thuận lợi bào tử ra ngoài sẽ phát triển thành một tế bào nấm men mới.

2.3.3. Ứng dụng

- Nhiều loài nấm men có khả năng lên men rượu, hay gặp là giống *Saccharomyces*.

- Quan trọng là *Saccharomyces cerevisiae* trong sản xuất rượu, men bánh mì, *Saccharomyces vini* trong sản xuất rượu vang, *Saccharomyces Carlsbergensis* trong sản xuất bia.

- Tế bào nấm men giàu protein, vitamin (đặc biệt là vitamin nhóm B và tiền vitamin D₂) bổ sung dinh dưỡng vào thức ăn gia súc và có thể dùng để chế biến một số dạng thực phẩm cho người.

2.4. Nấm mốc (Molds hay Moulds)

- Nấm mốc là một nhóm thực vật hạ đẳng rất lớn và đa dạng. Chúng không có chất diệp lục (chlorophyll), do vậy chúng không thể tự tổng hợp được các chất hữu cơ từ khí cacbonic. Chúng cần các chất hữu cơ có sẵn trong môi trường và không khí để phát triển và hoạt động sống.

- Nấm mốc thuộc loại vi nấm, thường phát triển trên bề mặt cơ chất thành các dạng lông tơ, mạng nhện hoặc sợi bông, một số tạo thành màng hoặc lớp mỏng. Nhiều loại có ý nghĩa trong công nghiệp, được dùng trong sản xuất acid hữu cơ, enzyme, chất kháng sinh, vitamin, một số dạng tương, chao, nước mắm, phomat,...

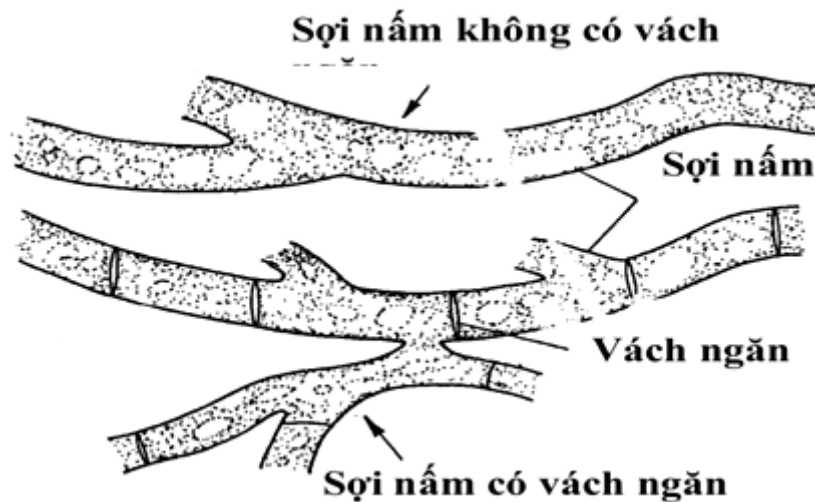
- Nhiều nấm mốc làm hỏng thực phẩm và hàng công nghiệp. Một số nấm mốc gây bệnh cho người, động vật và thực vật.

2.4.1. Cấu tạo của nấm mốc

- Nấm mốc là loại thực vật không có chất diệp lục, nên chúng chỉ sống được nhờ có hệ sợi bám vào các chất hữu cơ.

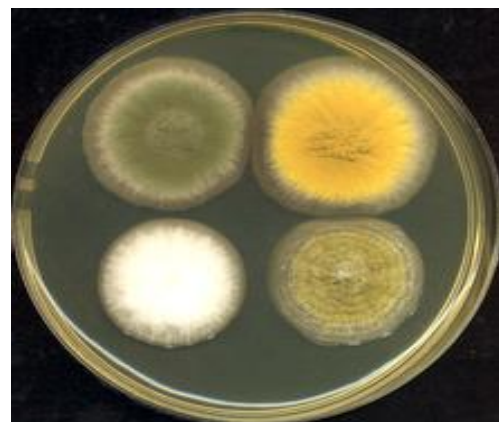
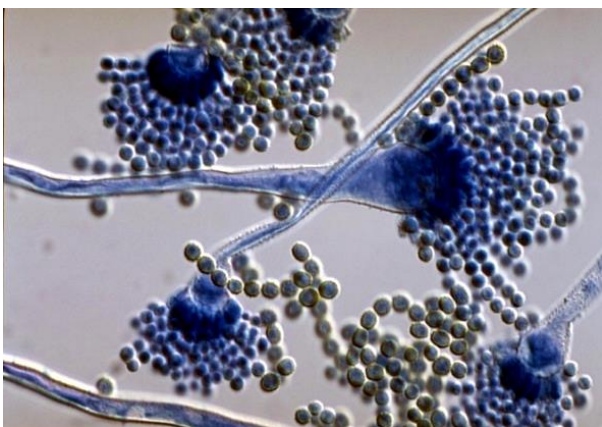
- Hệ sợi của nấm mốc, một số ăn sâu vào cơ chất gọi là khuẩn ti cơ chất hay khuẩn ti dinh dưỡng. Một số mọc ra ngoài bề mặt cơ chất gọi là khuẩn ti khí sinh.

- Những khuẩn ti khí sinh là những sợi lông tơ màu trắng, mọc thành một lớp sợi mềm và dần dần một số sợi phát triển thành cơ quan sinh sản mang bào tử.
- Màu sắc của bào tử sẽ đặc trưng cho màu sắc của nấm mốc khi về già.
- Phần lớn các loài nấm mốc hệ sợi có vách ngăn (đa bào), một số nấm bậc thấp không có vách ngăn.

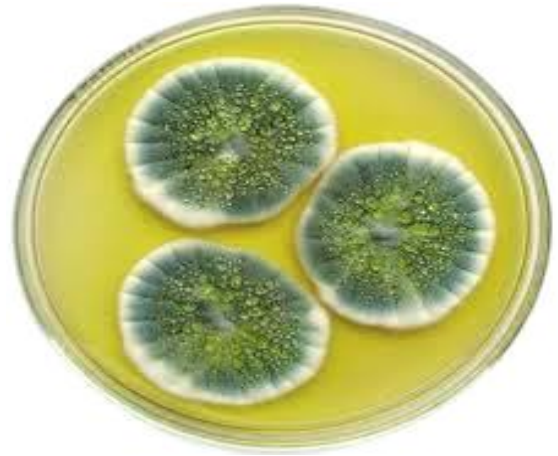


Hình 1.11. Khuẩn ti của sợi nấm

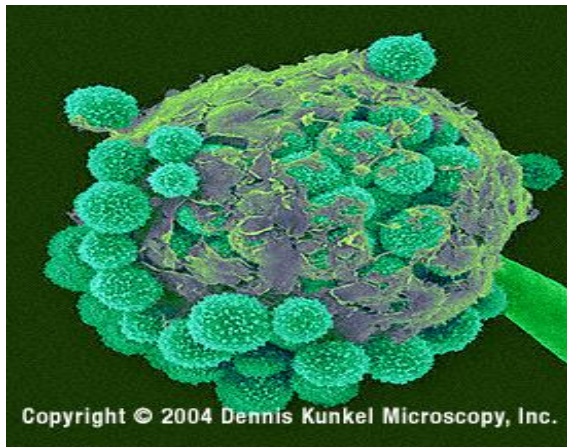
- Cấu tạo của tế bào nấm mốc tương tự tế bào vi khuẩn, nhưng có một hoặc vài nhân định hình.
- Nấm mốc rất phổ biến trong tự nhiên, chúng mọc trên những cơ chất dinh dưỡng làm thay đổi thành phần hoá học của cơ chất và thải ra những sản phẩm độc như mycotoxin đối với người và động vật.
- Nấm mốc có thể mọc trên những cơ chất có độ ẩm thấp (khoảng 15%) như ở quả khô, bánh mì, đồ da, vải sợi,...Ngoài ra, nấm mốc còn phát triển được ở các thực phẩm có môi trường acid như quả, dưa muối chua, phomat...



Chi Aspergillus



Chi Penicillium



Chi Mucor

Hình 1.12. Hình thái khuẩn lạc và bào tử của một số chi nấm mốc thường gặp

2.4.2. Sinh sản của nấm mốc

2.4.2.1. Sinh sản sinh dưỡng

➤ Từ một đoạn sợi nấm (Khuẩn ti)

- Từ một đoạn khuẩn ti riêng rẽ có thể dễ dàng phát triển thành một khuẩn ti thể. Khuẩn ti của nấm mốc cùng với đất bụi bay khắp các phía và sau khi gặp điều kiện thuận lợi sẽ nhanh chóng phát triển thành một cơ thể mới.

➤ Từ hậu bào tử (Chlamydospore, Bào tử áo)

- Một số nấm mốc có khả năng hình thành những bào tử, màng dày lên gọi là bào tử áo. Khi đó trên khuẩn ti sẽ xuất hiện những tế bào ít nhiều có hình tròn, có màng dày bao bọc. Bên trong chứa nhiều chất dự trữ, có thể chịu đựng được những điều kiện bất lợi trong một thời gian dài. Gặp điều kiện thuận lợi, bào tử áo sẽ nảy mầm và phát triển thành khuẩn ti mới.

2.4.2.2. Sinh sản vô tính

Được thực hiện ở những khuẩn ti khí sinh với sự tạo thành bào tử nội sinh hoặc ngoại sinh.

➤ **Bằng bào tử nội sinh (Bào tử đốt, Oidi)**

- Thường gặp ở mốc *Mucor*. Bào tử ở đây được hình thành trong một túi kín, bên trong chứa vô số những bào tử.

➤ **Bằng bào tử ngoại sinh (Bào tử đính, Conidia)**

- Thường gặp ở mốc *Penicillium*, *Aspergillus*. Cơ quan sinh sản là những sợi nấm thẳng đứng mà đầu có nhiều nhánh, từ đó phân chia thành những tế bào sinh sản gọi là đính bào tử.

2.4.2.3. Sinh sản hữu tính

Đó là sự kết hợp của 2 sợi nấm hoặc 2 tế bào nấm riêng biệt để tạo thành một tế bào chung gọi là hợp tử. Hợp tử sẽ phát triển thành một cơ quan sinh sản bao gồm một số bào tử chứa trong một túi (nang) hoặc ở đầu một sợi nấm phình ra (đảm)...

2.4.3. Ứng dụng

- Từ lâu nhân dân ta đã biết sử dụng các quá trình lên men nhờ nấm mốc để chế tạo tương, đậu phụ,...

- Những năm gần đây, nấm mốc đã được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp lên men ở hầu hết các nước trên thế giới.

- Nhiều loại nấm mốc được dùng trong công nghiệp sản xuất các chế phẩm enzyme (amylase, protease, lipase, pectinase, gluco-oxydase, cellulase, ..) được dùng để chế biến các loại thực phẩm (đường hóa tinh bột), chế tạo nước chấm, chế biến thức ăn gia súc,...

- Nhiều nấm mốc được sử dụng để tổng hợp, như các acid hữu cơ (acid citric, acid oxalic, acid malic,...). Các loại acid này đều là những mặt hàng có giá trị trong công nghiệp hoá chất, công nghiệp thực phẩm, công nghiệp dược phẩm,...

- Một số nấm mốc có khả năng tích lũy vitamin (B_2 , β - caroten) hoặc các chất sinh trưởng (giberilin, heterauxin,...).

- Nấm mốc còn là nguồn để chế tạo hàng loạt chất kháng sinh có giá trị (penicillin, cephasporin, griseofulvin,...)

2.5. Virus

2.5.1. Đặc điểm, hình thái và kích thước của virus

2.5.1.1. Đặc điểm

- Có kích thước vô cùng nhỏ bé từ hàng chục đến hàng trăm nm.

- Không có cấu tạo tế bào.

- Thành phần hóa học rất đơn giản chỉ bao gồm protein và acid nucleic, virus chỉ chứa DNA hoặc RNA.

- Không có khả năng sinh sản trong môi trường dinh dưỡng tổng hợp.

- Ký sinh nội bào.

- Virus động vật và thực vật một số có khả năng tạo thành tinh thể.

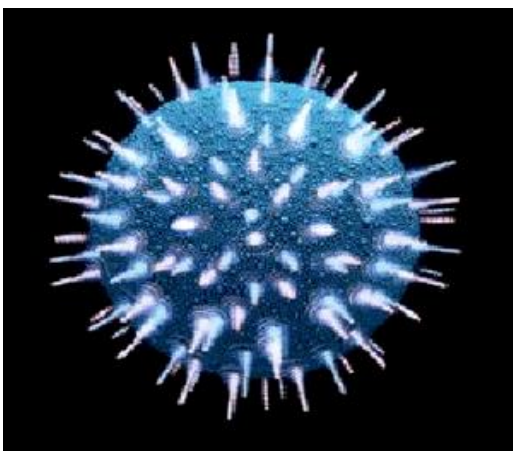
2.5.1.2. Hình thái

Virus ở các loài và vật chủ khác nhau thì có hình dạng như sau:

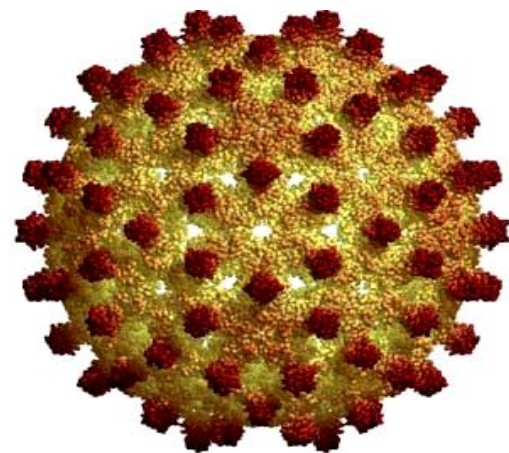
- Dạng hình cầu: virus cúm, virus quai bị, virus gây bệnh bạch cầu
- Dạng hình que: virus đốm thuốc lá, virus đốm khoai tây
- Dạng hình khối gồm những virus có nhiều cạnh (virus đậu mùa, papilôm ở người và động vật).
- Dạng nòng nọc là dạng đặc trưng cho các virus ký sinh trong tế bào vi khuẩn (Bacteriophage, phage).

2.5.1.3. Kích thước

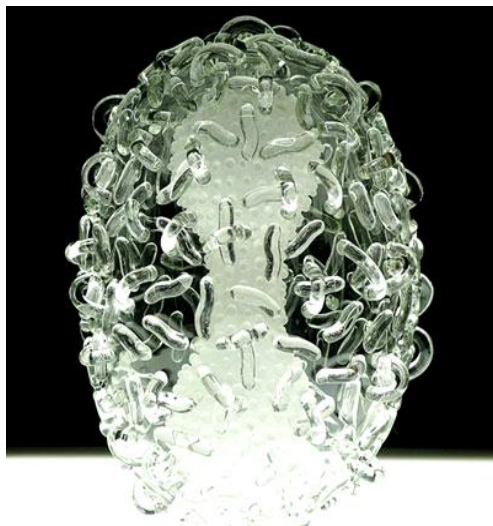
- Virus có kích thước từ 10-450 μm . Phần lớn có thể qua lọc và không thể trông thấy dưới kính hiển vi thường. Loài nhỏ nhất bằng kích thước của phân tử protein, loài lớn nhất bằng $\frac{1}{2}$ kích thước vi khuẩn.



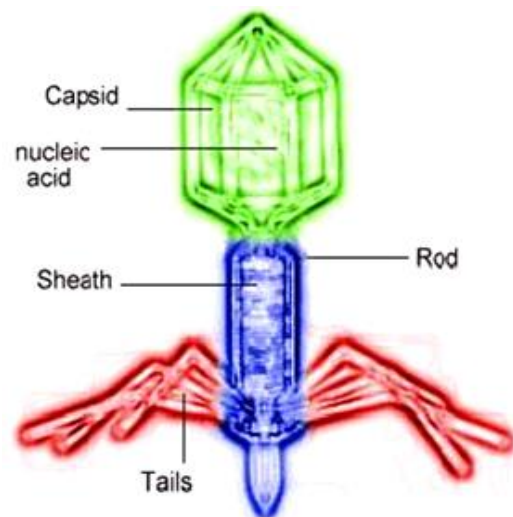
Virus HIV



Virus viêm gan B



Virus đậu mùa



Bacteriophage

Hình 1.13. Một số dạng hình thái của Virus

2.5.2. Cấu trúc của virus

- Virus cấu trúc hết sức đơn giản, chủ yếu gồm 2 phần:

2.5.2.1. Vỏ protein (capside)

- Các phân tử protein có phân tử lượng 18.000 - 38.000 tập hợp thành một đơn vị gọi là capsome. Các đơn vị hình thái này lại liên kết với nhau để tạo thành vỏ gọi là capsid.

- Chức năng của vỏ protein:

- + Bảo vệ, chống lại các tác hại bên ngoài.
- + Có enzyme phá hủy thành tế bào chủ để vào trong tế bào chủ.

2.5.2.2. Phần trung tâm

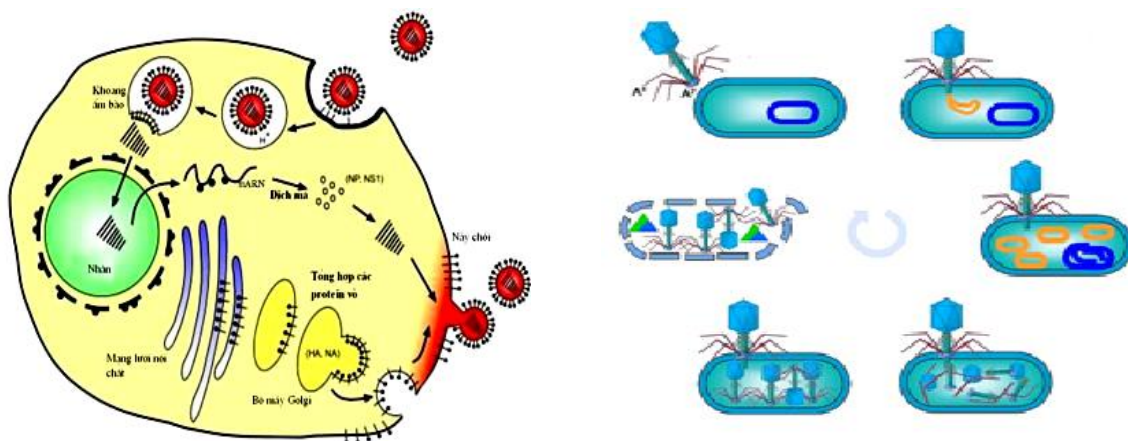
- Là acid nucleic, mỗi loại virus chỉ chứa một loại acid nucleic (DNA hoặc RNA).

- Trong giới virus, nhóm chứa RNA chiếm đa số. Vai trò của acid nucleic:

- + Quyết định tính chất gây bệnh.
- + Khả năng di truyền.
- + Khả năng biến dị.

2.5.3. Sự sinh sản (Sự tái hiện)

- Quá trình sinh sản của virus có thể chia làm 3 thời kỳ:



Hình 1.14. Quá trình tái hiện của Virus

2.5.3.1. Thời kỳ đầu: Gồm 3 sự kiện chủ yếu:

- Virus được hấp phụ trên tế bào, xâm nhập vào tế bào và được giải phóng khỏi vỏ protein. Mỗi virus chỉ được hấp phụ bởi các tế bào thích ứng. Và sự hấp phụ cũng không phải trên toàn bề mặt tế bào mà chỉ ở những vị trí nhất định được gọi là điểm nhận hoặc trường nhận. Các phage (virus của vi khuẩn) thì gắn đuôi của mình vào điểm nhận ở những phần bất kỳ của mình. Trên một tế bào động vật hay vi khuẩn có thể thấy hàng chục hoặc hàng trăm virus bám vào như vậy.

- Sau khi được hấp phụ trên tế bào, virus bắt đầu xâm nhập tế bào. Đặc biệt nhất là các phage, ở đuôi nó có các chất men làm hoà tan màng tế bào. Sau đó nó có "bấp thịch"

cực nhỏ của đuôi để đẩy phần nhân là acid nucleic vào tế bào vi khuẩn, còn phần vỏ protein chiếm 80% trọng lượng của phage ở lại ngoài tế bào. Như vậy, sự sinh sản của virus không cần đến phần vỏ đó.

- Khi virus đã nằm trong bào tương của tế bào rồi thì acid nucleic của virus cần phải được giải phóng khỏi vỏ protide của virus, có như thế nó mới hoạt động được. Các enzyme protease của tế bào đã giúp cho việc tách vỏ protein của virus, một số enzyme này được tế bào tổng hợp theo khuôn của virus.

- Còn trường hợp các phage, nó chỉ đẩy phần nhân acid nucleic vào tế bào vi khuẩn, còn phần vỏ protein vẫn ở ngoài. Như vậy sau khi vào tế bào, acid nucleic của phage có thể hoạt động ngay.

2.5.3.2. Thời kỳ giữa

- Sau khi cởi bỏ lớp vỏ protein, acid nucleic của virus hoặc ở lại bào tương hoặc nhanh chóng đi vào nhân tế bào. Đây chính là lúc bắt đầu việc tái hiện thực sự của virus hay đúng hơn là sự tổng hợp các cấu tử của virus. Trong thời kỳ này không tìm thấy các virus hoàn chỉnh trong tế bào.

- Thời kỳ giữa gồm 2 sự kiện chủ yếu:

+ Tổng hợp các protein sớm: gọi là protein sớm (Ps) vì chúng là những protein được tạo thành đầu tiên trong quá trình tái hiện virus. Các protein sớm đều được tổng hợp theo khuôn acid nucleic virus ở ngoài vào. Có 2 loại Ps:

> Protein ức chế: đình chỉ mọi hoạt động của tế bào vật chủ. Chính các protein ức chế có nhiệm vụ hoàn thành việc kìm hãm này. Như vậy, để sinh sản virus chỉ có phân tử acid nucleic làm khuôn, còn toàn bộ nguyên vật liệu khác (như acid amin, các nucleotit) và nguồn năng lượng virus đều bắt tế bào cung cấp.

> Các enzyme polymerase có nhiệm vụ xúc tác việc tổng hợp thêm các phân tử acid nucleic của virus.

+ Tổng hợp các cấu tử virus: Các cấu tử này gồm acid nucleic và protein cấu trúc. Các phân tử của acid nucleic của virus được tổng hợp trước rồi đến các protein cấu trúc, tức vỏ capsid. Để tổng hợp acid nucleic của virus cần có khuôn sẵn, khuôn này chính là các phân tử acid nucleic của virus từ ngoài vào.

> Quá trình tổng hợp acid nucleic của virus được tiến hành ở bào tương nhưng thường là nhân tế bào.

> Sự tổng hợp các protein cấu trúc là giai đoạn sau cùng trong quá trình tổng hợp các cấu tử virus. Vì hình thành sau nên ta còn gọi là các protein muộn.

Tương tự như các protein sớm, để tổng hợp protein cấu trúc chỉ có acid nucleic làm khuôn là của virus, còn tất cả là của tế bào vật chủ. Nhưng khuôn nào thì vật ấy nên protein cấu trúc được tổng hợp ra là hoàn toàn đặc trưng của virus.

2.5.3.3. Thời kỳ kết thúc: gồm 2 sự kiện

- Tạo hình các virus hoàn chỉnh: có thể xảy ra trong nhân tế bào, nhưng với đa số virus sự tạo hình xảy ra ở bào tương, phần sát màng tế bào, các protein kết hợp lại thành vỏ capsid và acid nucleic. Như vậy các virus đã đầy đủ còn gọi là virus chín.

- Sự giải phóng virus chín khỏi tế bào cũng diễn ra với những kiểu cách khác nhau. Kiểu thứ nhất là phá vỡ hoặc dung giải tế bào. Toàn bộ virus chín đồng thời ra khỏi tế bào, làm tế bào bị phá hoại và thường tế bào chết nhanh chóng. Kiểu thứ hai là các virus được giải phóng dần từ 2-6h, tùy theo mức độ chín của chúng. Tế bào vẫn giữ được lâu sự toàn vẹn và không chết ngay.

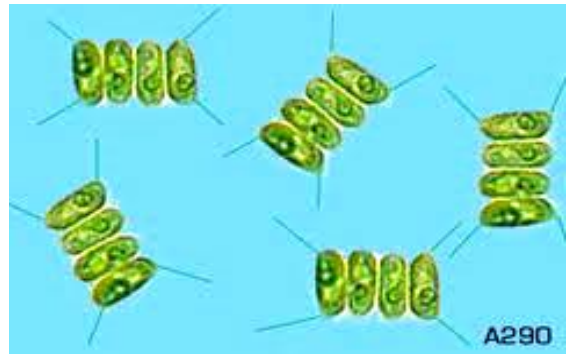
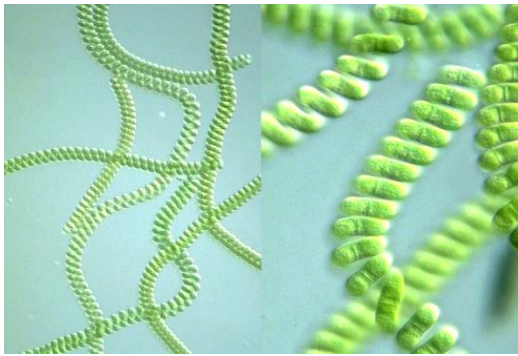
- Chu kỳ tái hiện của virus tính từ lúc gây nhiễm virus tế bào cho đến lúc cả quần thể chín hoàn toàn, có thể thay đổi từ vài chục phút đến vài chục giờ. Nhanh hơn cả là một số phage, từ lúc chúng gặp vi khuẩn đến lúc làm chết vi khuẩn chỉ hết 15-20 phút.

2.6. Tảo và động vật nguyên sinh (protozoa)

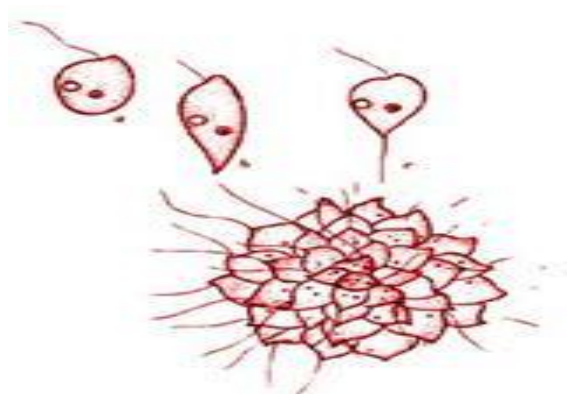
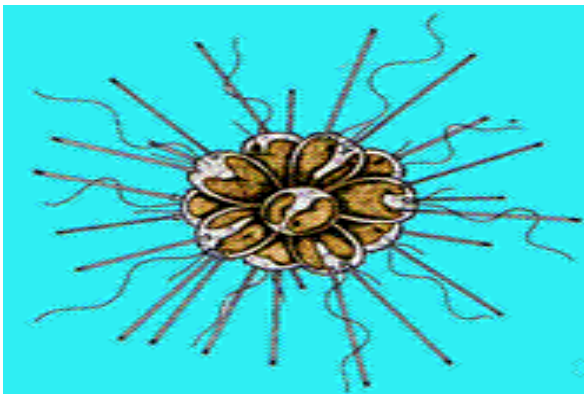
2.6.1. Tảo

- Tảo là những thực vật bậc thấp, cơ thể chưa có sự phân hóa thành thân, rễ, lá (những dấu hiệu của thực vật bậc cao) nên cơ thể chúng được gọi chung là tản. Cơ thể tảo có chứa sắc tố quang hợp, do đó chúng có khả năng quang tự dưỡng, sử dụng năng lượng mặt trời chuyển những chất vô cơ thành dạng đường đơn giản. Tản có cấu trúc rất đa dạng: đơn bào, tập đoàn hay đa bào.

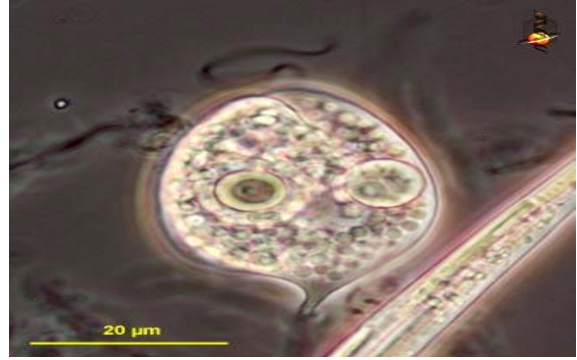
2.6.1.1. Hình thái, cấu tạo của tảo



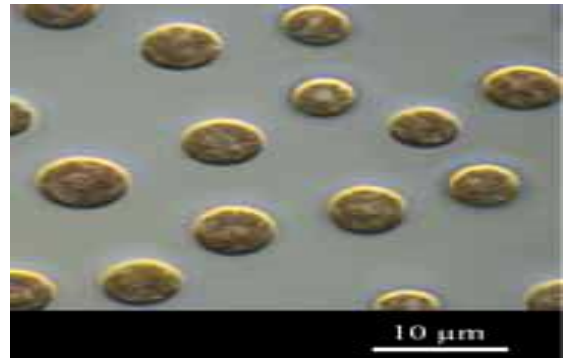
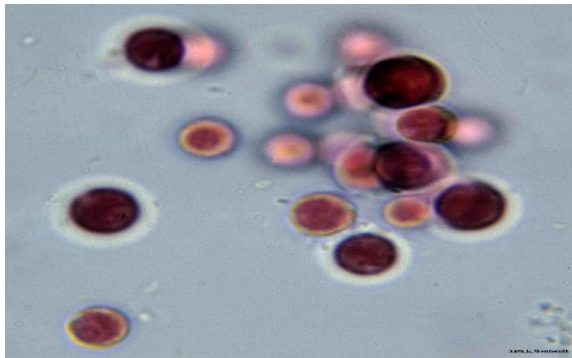
Hình 1.15. Tảo lục



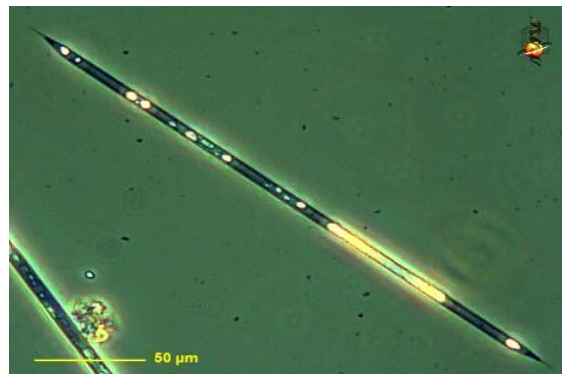
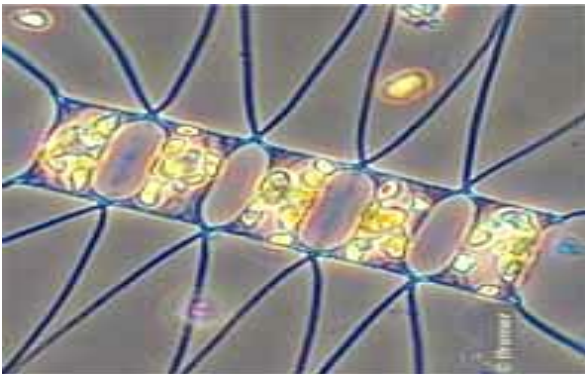
Hình 1. 16. Tảo lông roi lệch



Hình 1.17. Tảo mắt



Hình 1.18. Tảo đỏ



Hình 1.19. Tảo Silic

- Tảo có hình thái cơ thể rất đa dạng. Có thể chia thành 8 kiểu hình thái như sau:

+ Kiểu Monad: Tảo đơn bào, sống đơn độc hay thành tập đoàn, chuyển động nhờ lông roi

+ Kiểu Pamella: Tảo đơn bào, không có lông roi, cùng sống chung trong bọc chất keo thành tập đoàn dạng khối có hình dạng nhất định hoặc không. Các tế bào trong tập đoàn không có liên hệ phụ thuộc nhau

+ Kiểu hạt: Tảo đơn bào, không có lông roi, sống đơn độc.

+ Kiểu tập đoàn: Các tế bào sống thành tập đoàn và giữa các tế bào có liên hệ với nhau nhờ tiếp xúc trực tiếp hay thông qua các sợi sinh chất

+ Kiểu sợi: Cấu tạo thành tản (thallus) đa bào do tế bào chỉ phân đôi theo cùng một mặt phẳng ngang, sợi có phân nhánh hoặc không.

+ Kiểu bản: Tản đa bào hình lá do tế bào sinh trưởng ở đỉnh hay ở gốc phân đôi theo các mặt phẳng cả ngang lẫn dọc. Bản cấu tạo bởi một hay nhiều lớp tế bào.

+ Kiểu ống: Tản là một ống chứa nhiều nhân, có dạng sợi phân nhánh hay dạng cây có thân, lá và rễ giả (rhizoid). các tế bào thông với nhau vì tuy phân chia nhưng không hình thành vách ngăn

+ Kiểu cây: Tản dạng sợi hay dạng bản phân nhánh, hoặc có dạng thân, lá và rễ giả. Thường mang cơ quan sinh sản có mức độ phân hóa cao.

- Cấu tạo tế bào của tảo có nhiều đặc điểm chung của các sinh vật có nhân thật (Eukaryote).

+ Thành tế bào: cấu tạo bởi polysaccharide. Thành tế bào gồm các sợi cellulose liên kết thành bộ xương (skeleton) nhằm bảo vệ và duy trì hình dạng ổn định cho tế bào. Một số tảo có mannan hay xylan thay thế cho cellulose. Ngoài ra còn có phần vô định hình tạo nên chất nền của thành tế bào. Bên ngoài thành tế bào ở một số tảo có màng keo chứa các polysaccharide có giá trị thực tiễn như alginate, fucoidine, agar, carragenan, porphyran, furcelleran, funoran... Nhiều tảo đơn bào thành tế bào chỉ là chất nguyên sinh đậm đặc hay chu chất (periplast). Thành tế bào của tảo silic cấu tạo bởi chất silic. Một số tảo có lớp muối oxygend sắt calcium carbonat bên ngoài thành tế bào.

+ Màng sinh chất cũng giống như ở các sinh vật khác. Trong tế bào chất có nhiều bào quan khác nhau. Sắc lạp (chromoplast) của tảo có cấu tạo như ở thực vật, gồm hai lớp màng bao bọc, bên trong có chất nền (stroma) cùng với hệ thống các túi dẹt gọi là thylakoid. Các thylakoid xếp chồng lên nhau tạo thành loại cấu trúc giống như grana ở thực vật. Trên màng của thylakoid có nhiều chất diệp lục (chlorophyll) và các enzym tham gia vào quá trình quang hợp. Ngoài chất diệp lục (a, b, c, d) còn có thể có các sắc tố carotenoid, phổ biến nhất là b-caroten. Nhiều tảo chứa sắc tố xanthophyll, phycobiliprotein... Trong chất nền của sắc lạp còn có ADN dạng vòng và ribôsom. Đôi khi sắc lạp có một vùng đậm đặc protein liên kết với các sản phẩm dự trữ tạo thành một cấu trúc gọi là nhân tinh bột hay nhân protein (pyranoid). Sắc lạp còn có chứa các giọt lipid nhỏ nằm giữa các thylakoid. Một số tảo còn có thêm một hai lớp mạng lưới nội chất lục lạp (CER- chloroplast endoplasmic reticulum). Còn có các vô sắc lạp gồm leucoplast và amyloplast. Chúng làm nhiệm vụ tích lũy chất dự trữ.

+ Tế bào chất của tảo có chứa ribosome 80S và các giọt lipide. Một số tảo di động có các nhóm hạt lipide màu vàng cam cấu tạo nên các điểm mắt (stigma). Chất dự trữ trong tế bào thuộc về nhiều dạng khác nhau: tinh bột ở tảo lục, floridean ở Tảo đỏ, laminarian ở Tảo nâu, leucosin ở Tảo roi *Prymnesiophyta*, fructosan ở Tảo lục *Acetabularia*... Ngoài ra còn có các chất dự trữ phân tử thấp như đường, glycoside,

polyol,...Tảo có không bào co rút (contractile vacuoles) giúp cho việc duy trì nước trong tế bào và loại bỏ chất thải ra khỏi tế bào.

+ Ty thể của tảo cũng tương tự như ty thể của các sinh vật khác. Đó là bào quan có hai lớp màng bao bọc, màng ngoài trơn nhẵn còn màng trong ăn sâu vào phía trong chất nền và tạo thành những mào (crista) trên đó mang nhiều loại enzyme hô hấp. Chất nền của ty thể có chứa ADN và ribosome. Tế bào của tảo cũng có thể golgi (Golgi body) như ở tế bào nhiều sinh vật khác. Đó là các túi dẹp xếp hàng như song song với nhau và có hình vòng cung, phía lồi gọi là mặt *trans* còn phía lõm gọi là mặt *cis*.

+ Thể Golgi: ở tảo làm nhiệm vụ tổng hợp và tiết ra polysaccharide.

+ Tế bào của nhiều tảo vận động được là nhờ lông roi (flagella). Roi cấu tạo bởi 9 cặp vi ống bao quanh 2 vi ống ở giữa và được bao bọc bởi màng sinh chất. Hai vi ống giữa xuất phát từ đĩa gốc (dense plates) và thể gốc (basal body).

+ Nhân ở tảo cũng không khác mấy so với các tế bào nhân thực khác nhưng hầu hết là nhân đơn bội. Tảo silic và các pha bào tử thể ở tảo nâu, tảo lục và một số tảo đỏ có nhân lưỡng bội. Nhân có màng kép bao bọc, trong nhân có ADN.

2.6.1.2. Sinh sản ở tảo

- Sinh sản sinh dưỡng: Có bốn hình thức sinh sản theo kiểu sinh dưỡng ứng với hình thái của chúng:

+ Tảo đơn bào: Sinh sản bằng cách phân chia tế bào, thường gặp ở tảo lam (*Cyanophyta*) và tảo mắt (*Euglenophyta*). Từ một tế bào mẹ phân cắt thành hai tế bào mới.

+ Tảo dạng tập đoàn: Sinh sản bằng cách phân tách những tập đoàn có kích thước nhỏ hay thành những tập đoàn mới ngay trên tập đoàn mẹ, như tập đoàn *Volvox*...

+ Tảo dạng sợi: Tạo thành các đoạn nhỏ hay đứt đoạn tự nhiên, kiểu sinh sản này thường gặp ở: *Oscillatoria*, *Octoc*, *Lyngbya*...

+ Tảo dạng tản: Sinh sản nhờ tách một phần trên cơ thể mẹ, cơ thể con dính lên cơ thể mẹ hoặc mọc độc lập.

- Sinh sản vô tính: Đây là hình thức sinh sản quan trọng của các loài Tảo, trong quá trình sinh sản cơ thể sinh vật hình thành nên cơ quan sinh sản chuyên hóa gọi là bào tử. Hình thành các loại bào tử vô tính, như bào tử tĩnh (aplanospore), bào tử động (zoospore), bào tử tự thân (autospore), bào tử màng dày (akinet). Thực hiện bằng sự hình thành các bào tử chuyên hóa, có roi hoặc không có roi. Các bào tử được hình thành trong bào tử phòng (túi bào tử). Bào tử nảy mầm thành tản mới.

+ Sinh sản vô tính bằng bào tử lưỡng bội: Tảo nâu có cơ quan sinh sản đặc biệt đó là túi bào tử nhiều ô (plurilocular sporangia), túi bào tử này chỉ tạo thành bào tử 2n bào tử này lại nảy mầm thành thể bào tử ban đầu.

Ví dụ: Tảo nâu trên thể bào tử có mang túi bào tử một ngăn hay túi bào tử nhiều ngăn hoặc cả hai tùy thuộc vào điều kiện trong môi trường.

> *Túi bào tử nhiều ngăn (plurilocular sporangium)*: Túi bào tử này gồm nhiều tế bào, mỗi tế bào trong túi sẽ hình thành nên một động bào tử. Các động bào tử được hình thành trong túi bào tử nhiều ngăn là các động bào tử lưỡng bội (2n). Do đó khi được giải phóng, động bào tử nảy mầm thành thể bào tử mới.

> *Túi bào tử một ngăn (unilocular sporangium)*: túi bào tử một ngăn chỉ gồm một tế bào. Tại túi bào tử một ngăn trải qua quá trình phân bào giảm nhiễm để tạo ra bào tử giảm nhiễm (n). Các bào tử này một nửa phát triển thành thể giao tử đực và một nửa phát triển thành thể giao tử cái.

+ Sinh sản vô tính bằng động bào tử: *Ulothrix zonata* sinh sản vô tính bằng động bào tử 4 roi, hoặc 2 roi.

Ví dụ: Tảo lục tế bào dinh dưỡng tự phân cắt thành nhiều động bào tử mang 2,4 hoặc nhiều roi. Bào tử bơi lội một thời gian rồi ngừng chuyển động, bám vào giá thể và phát triển thành cơ thể mới. Nếu gặp điều kiện môi trường không thích hợp, tảo có thể hình thành bào tử bất động có vách dày, sống chậm một thời gian, khi gặp điều kiện thuận lợi thì phát triển thành tản mới.

- Sinh sản hữu tính là hình thức sinh sản có sự kết hợp giữa các tế bào chuyên hóa được gọi là giao tử. Quá trình sinh sản hữu tính diễn ra với nhiều hình thức đa dạng, mang các đặc điểm đặc trưng của loài. Dựa vào hình dạng và kích thước của của giao tử người ta chia quá trình sinh sản hữu tính thành: Đẳng giao (isogamy), Dị giao (anisogamy), Noãn giao (oogamy), một số sinh sản hữu tính theo kiểu tiếp hợp giữa hai tế bào sinh dưỡng.

2.6.1.3. Vai trò của vi tảo trong tự nhiên và trong đời sống

- Tảo nói chung và vi tảo nói riêng có vai trò rất quan trọng trong tự nhiên và trong đời sống nhân loại. Chúng ta biết rằng đại dương chiếm 71% diện tích bề mặt Trái đất. Một số tác giả Hoa Kỳ cho rằng hàng năm tảo có thể tổng hợp ra trong đại dương 70 - 280 tỷ tấn chất hữu cơ. Trong các thủy vực nước ngọt tảo cung cấp oxygen và hầu hết thức ăn sơ cấp cho cá và các động vật thủy sinh khác. Tảo góp phần bảo vệ môi trường nuôi thủy sản bằng cách tiêu thụ bớt lượng muối khoáng dư thừa. Canh tác biển là nhằm trồng và thu hoạch các tảo sinh khối lớn và có hàm lượng dinh dưỡng cao. Nhiều tảo biển còn khai thác để sản xuất thạch (agar), alginate, sản phẩm giàu iod... Nhiều tảo đơn bào được nuôi trồng công nghiệp để tạo ra những nguồn thức ăn cho ngành nuôi tôm hay thuốc bổ trợ giàu protein, vitamin và vi khoáng dùng cho người. Một số vi tảo được dùng để sản xuất carotenoid, astaxanthin, các acid béo không bão hòa... Tảo silic tạo ra các vỏ diatomid, đó là loại nguyên liệu xốp, nhẹ, mịn được dùng trong nhiều ngành công nghiệp.

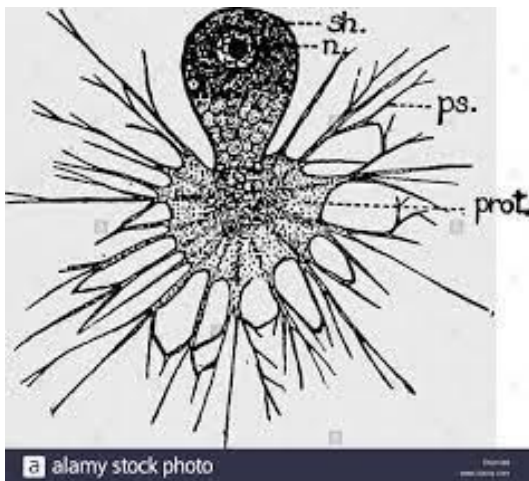
- Tảo phân bố hết sức rộng rãi khắp mọi nơi, từ đỉnh núi cao đến đáy biển sâu. Những tảo sống ở lớp nước phía trên được gọi là Tảo phù du (*Phytoplankton*) còn những tảo sống bám dưới đáy thủy vực, bám trên các vật sống hay thành tàu thuyền được gọi là Tảo đáy (*Phytobentos*).

- Dạng tạo cộng sinh với nấm thành Địa y cũng là dạng phân bố rất rộng rãi và nhiều loài đã được khai thác dùng làm dược phẩm, nước hoa, phẩm nhuộm và các mục đích kinh tế khác (hiện đã biết tới 20.000 loài địa y thuộc 400 chi khác nhau).

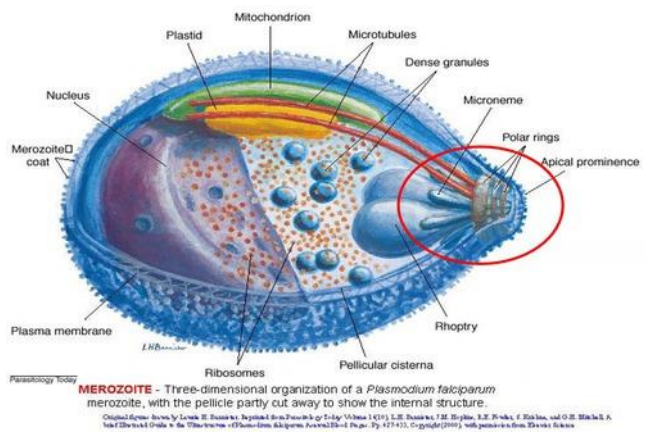
2.6.2. Động vật nguyên sinh

- Động vật đơn bào hay động vật nguyên sinh bao gồm một lượng lớn và đa dạng các vi sinh vật cực nhỏ hoặc siêu vi. Đặc điểm nhận dạng của chúng là sống đơn tế bào hoặc trong các mà sống như một tế bào đơn hoặc trong các khuẩn lạc đơn giản (tập đoàn vi khuẩn). Trước đây do phụ thuộc vào bộ phận di chuyển và cấu tạo của nhân tế bào, động vật nguyên sinh được chia làm 5 loại cơ bản là:

- + *Sarcodina* tức trùng chân giả
- + *Mastigophora* tức trùng roi
- + *Ciliophora* tức trùng lông
- + *Sporozoa* tức trùng hình cầu
- + *Opalinida*



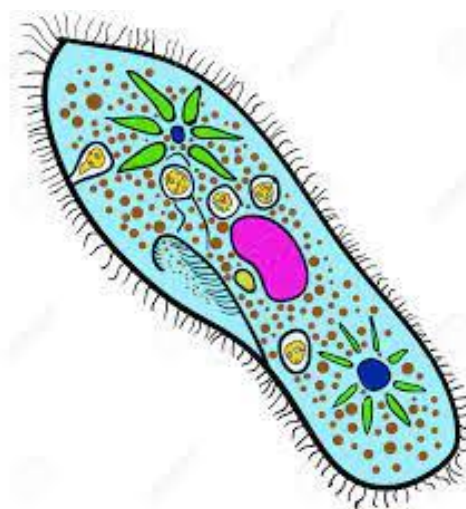
Hình 1.20. *Sarcodina*



Hình 1.21. *Sporozoa*



Hình 1.21. *Opalinida*



Hình 1.22. *Ciliophora*

- Có tới 26,000 loài phân bố rộng khắp trên toàn thế giới, chúng được tìm thấy ở vùng Nam cực lạnh giá, sa mạc Sahara rộng lớn hay cả trong lòng đại dương. Một số khác lại là ký sinh trùng trong cơ thể của người hoặc động vật.

- Đặc điểm chung của động vật nguyên sinh là có cấu trúc đơn bào gồm một khối tế bào với một hoặc nhiều nhân. Giống như tất cả các tế bào khác, chúng được bao phủ bởi một màng tế bào mỏng, ngoài ra lớp màng cứng bên ngoài sẽ quyết định hình dạng của chúng. Mặc dù kích thước siêu vi nhưng động vật đơn bào có thể thực hiện toàn bộ chức năng trao đổi chất của động vật như tiêu hóa, bài tiết, hô hấp và phối hợp vận động. Cá biệt một số nguyên sinh cấu trúc bên trong tế bào phức tạp hơn các tế bào của động vật đa bào.

Một số loài động vật nguyên sinh có hệ thống tiêu hóa khá phức tạp thường ăn các vi sinh vật có kích thước lớn hơn. Thức ăn của chúng được tiêu hoá bằng các enzyme, sau đó các chất thải được vận chuyển đến bề mặt tế bào hoặc được lưu trữ trong các Vacuoles (không gian bọt khí trong tế bào chất). Những loài không có hệ thống tiêu hóa sẽ hấp thụ các chất hữu cơ hòa tan qua màng tế bào.

- Quá trình hô hấp của động vật nguyên sinh được thực hiện bằng sự khuếch tán khí hoà tan thông qua màng tế bào. Oxy sẽ được Oxy hoá các phân tử thực phẩm, sản sinh ra năng lượng và các phân tử hữu cơ được sử dụng và nuôi dưỡng tế bào. Bên cạnh đó, Carbon dioxide và nước, các chất thải của quá trình oxy hóa sẽ tự động khuếch tán ra khỏi tế bào.

- Cách sinh sản của động vật nguyên sinh thường là sinh sản vô tính, chủ yếu xảy ra do sự phân chia tế bào hoặc sự phân hạch nhị phân. Một số loài khác sinh sản vô tính bằng cách nảy chồi hoặc do sự hình thành của bào tử (tế bào sinh sản tạo ra một tế bào mới mà không cần thụ tinh).

Không chỉ có vậy, động vật nguyên sinh cũng có thể hoạt động sinh sản như bình thường. Lúc này sự phân chia tế bào xảy ra khi hai cá thể liên kết với nhau bằng “lông rung” (ciliates) bằng cách liên hợp, từ đó trao đổi các nhân trong tế bào.

B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày các đặc điểm chung của vi sinh vật.
2. So sánh các hình thức sinh sản của vi khuẩn, nấm men và nấm mốc
3. So sánh cấu tạo giữa các nhóm vi khuẩn, nấm men và nấm mốc.
4. Trình bày đặc điểm cấu tạo, sinh sản của virus.
5. Trình bày hình thái, cấu tạo và vai trò của tảo trong đời sống

CHƯƠNG 2 – TRAO ĐỔI CHẤT VÀ SINH TRƯỞNG VI SINH VẬT

Mục tiêu:

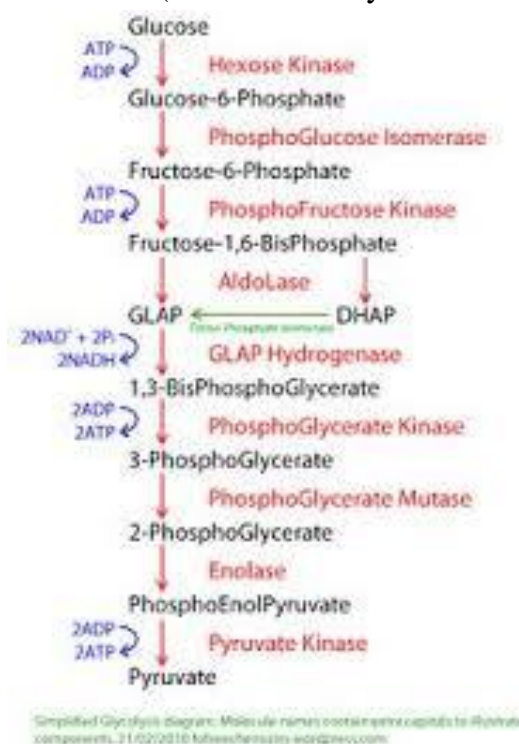
- Trình bày được khái niệm trao đổi chất, các cơ chế của quá trình đồng hóa, dị hóa ;
- Phân biệt được các kiểu hô hấp, dinh dưỡng của vi sinh vật;
- Giải thích được sự khác nhau trong các giai đoạn sinh trưởng, phát triển của vi sinh vật; sự khác nhau giữa nuôi cấy tĩnh và nuôi liên tục.

A. NỘI DUNG

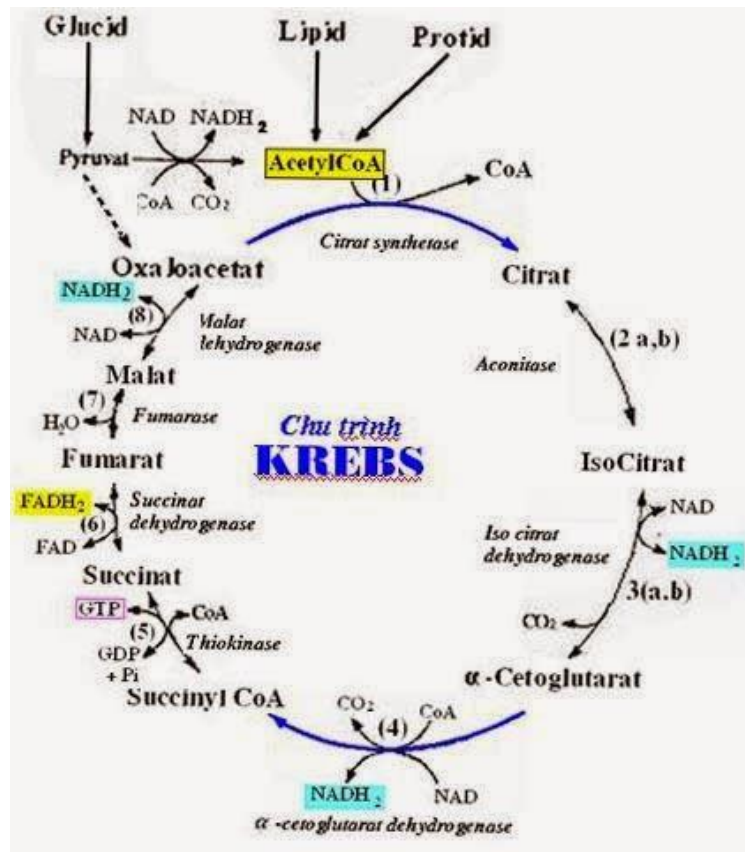
1. Khái niệm về trao đổi chất

- Cấu trúc và chức năng của một tế bào sống liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp đến các phản ứng hoá học. Trao đổi chất là tổng các phản ứng hoá học do tế bào thực hiện và gồm 2 loại: các phản ứng giải phóng năng lượng - phản ứng toả nhiệt, các phản ứng thu năng lượng - phản ứng thu nhiệt.
- Tế bào sử dụng năng lượng cho các hoạt động khác nhau: tổng hợp các cấu trúc tế bào, tổng hợp các cao phân tử và các thành phần khác, sửa chữa và duy trì tế bào, sinh trưởng và sinh sản, tích lũy chất dinh dưỡng và bào tiết các phẩm dư thừa, di động....
- Quá trình chuyển hoá các chất dinh dưỡng và chế biến lại để tổng hợp ra các hợp chất riêng của tế bào vi sinh vật được gọi là quá trình đồng hoá - quá trình này còn được gọi là quá trình trao đổi chất xây dựng hay trao đổi chất kiến tạo. Ngược lại với quá trình trao đổi đồng hoá là quá trình phân huỷ các thành phần của cơ thể - quá trình dị hoá.
- Các quá trình oxi hoá -phân huỷ kèm theo giải phóng năng lượng cần thiết cho hoạt động sống được gọi là quá trình trao đổi năng lượng.

Chu trình EMP (Embden – Meyerhoff – Parnas)



Chu trình Krebs (Acid Tricarboxylic)



2. Sinh lý của vi sinh vật

2.1. Thành phần hóa học của vi sinh vật

2.1.1. Nước

- Là thành phần cơ bản trong tế bào vi sinh vật, chiếm 70-85% trọng lượng chung, còn lại chất khô không quá 15-30%.

- Nước tồn tại dưới hai dạng:

+ Một phần ở trạng thái liên kết, nghĩa là tạo thành liên kết với dạng keo của tế bào và tham gia cấu trúc tế bào. Do đó, nếu mất lượng nước này sẽ dẫn đến phá hủy cấu trúc tế bào và tế bào sẽ bị tiêu diệt.

+ Một phần ở trạng thái tự do, thường ở dưới dạng dung dịch các hợp chất hữu cơ, vô cơ hình thành trong tế bào, liên quan đến quá trình trao đổi chất. Nếu mất đi lượng nước tự do sẽ làm khô hạn tế bào, ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất.

- Vai trò của nước:

- + Tham gia vào các phản ứng sinh hóa dưới tác dụng của các hệ enzyme.
- + Là nguồn cung cấp ion H⁺ và OH⁻ trong quá trình trao đổi chất.
- + Là dung môi cho các chất hữu cơ và vô cơ, nhờ đó các chất này dễ dàng tham gia vào các phản ứng nội bào.
- + Tham gia vào thành phần cấu tạo tế bào.

2.1.2. Chất khô

* Chất hữu cơ

Các chất hữu cơ thường chiếm một tỷ lệ rất lớn trong tế bào vi sinh vật, tới khoảng 85% trọng lượng khô của tế bào. Chất hữu cơ bao gồm: protein, hydrat cacbon, lipit và một số các chất khác.

➤ Protein

- Chiếm 50-80% trọng lượng khô của tế bào. Thành phần protein thay đổi tùy theo từng loài, từng thời kỳ sinh trưởng và điều kiện nuôi cấy.

- Vai trò của protein:

- + Tham gia vào thành phần và cấu trúc tế bào.
- + Tham gia trong thành phần chất xúc tác sinh học (enzyme)
- + Tham gia trong thành phần của chất điều khiển sự sống (acid nucleic).

➤ Hydratcacbon

- Hàm lượng glucid thay đổi tùy loài vi sinh vật, chẳng hạn ở nấm chiếm 40-60% trọng lượng chất khô, nhưng ở vi khuẩn chỉ 10-30% chất khô.

- Trong tế bào vi sinh vật, glucid thường tồn tại ở các dạng như polysaccharid, glycogen, granulose, dextran. Ở những bộ phận khác nhau của tế bào vi sinh vật thường chứa những loại glucid khác nhau.

- Vai trò của glucid:

- + Là nguyên liệu cung cấp năng lượng cho các quá trình chuyển hóa.
- + Tham gia trong thành phần của các chất dự trữ.
- + Cùng với protein xây dựng một số bộ phận cơ thể như màng tế bào, giác mạc.

➤ Lipid

- Lipid thường tập trung ở nguyên sinh chất và màng tế bào. Hàm lượng không nhiều 3-7%, đặc biệt ở một số nấm men và nấm mốc hàm lượng này có thể đến 40%.

- Phần lớn các lipid kết hợp với các chất khác tạo thành các phức hợp như phospholipid (phosphatid) đóng vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất.

➤ Sắc tố

- Là những chất màu chứa trong tế bào vi sinh vật làm cho vi sinh vật có những màu sắc khác nhau như: đỏ, vàng, tím, da cam,...

- Làm nhiệm vụ quang hợp ở những tế bào tự dưỡng quang năng.

- Ngoài ra, tế bào vi sinh vật còn chứa một số chất hữu cơ khác như các loại acid hữu cơ và muối của chúng, đặc biệt là các loại vitamin như vitamin A, vit. B, vit. C, vit. K,...

* Chất vô cơ

➤ Chất khoáng

- Phospho (P): tham gia vào thành phần cấu tạo protein, enzyme, đặc biệt là trong acid nucleic, vật chất di truyền của nhân tế bào.

- Lưu huỳnh (S): tham gia vào cấu tạo protein trong tế bào chất, các hệ enzyme và thành phần các acid amin chứa lưu huỳnh như cystein, cystin.

- Kali (K): tham gia vào quá trình trao đổi chất, đặc biệt là quá trình chuyển hóa các hợp chất glucid.

- Magie (Mg): tham gia vào thành phần các hệ enzyme quan trọng trong tế bào.

➤ Nguyên tố vi lượng

- Chiếm số lượng rất ít trong tế bào vi sinh vật nhưng lại vô cùng cần thiết cho sự tồn tại và phát triển của vi sinh vật. Những nguyên tố vi lượng chủ yếu là B, Cu, Zn, Co, Mo,...

- Tham gia vào thành phần của vi sinh vật.

2.2. Các nguồn dinh dưỡng của vi sinh vật

2.2.1. Nguồn nitơ

Vi sinh vật cần N ở nhiều dạng khác nhau, một số vi sinh vật có khả năng nhận N từ không khí, còn đa số vi sinh vật trong tự nhiên không có khả năng này. Do đó, ta cần cung cấp nguồn N vào thành phần dinh dưỡng của môi trường.

Nguồn nitơ tồn tại ở hai dạng:

➤ Nguồn nitơ hữu cơ: chủ yếu là protein và acid amin

- Khi cho protein vào môi trường, vi sinh vật không đồng hóa được ngay mà phải thủy phân thành các peptid ngắn và acid amin.

- Vi sinh vật có nhu cầu về acid amin không giống nhau. Tùy vào nhu cầu về acid amin và khả năng tự đáp ứng acid amin, vi sinh vật được chia làm 3 nhóm:

+ Nhóm tự dưỡng acid amin (Amino autotroph): là những vi sinh vật có khả năng tự tổng hợp acid amin từ NH_4 . Ví dụ: *Azotobacter*, *clostridium*.

+ Nhóm dị dưỡng acid amin (amino heterotroph): Gồm những vi sinh vật không có khả năng tổng hợp acid amin, do đó ta cần phải cung cấp acid amin trong môi trường. Ví dụ: vi khuẩn lactic, vi khuẩn gây bệnh.

+ Nhóm dị dưỡng trung gian: gồm những vi sinh vật có khả năng tổng hợp acid amin từ NH_4 , nhưng nếu có một số acid amin nào đó bổ sung vào môi trường thì quá trình tự tổng hợp trên được tăng cường hơn.

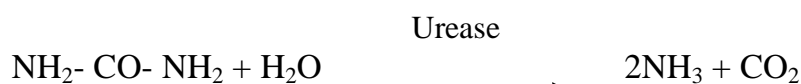
➤ Nguồn nitơ vô cơ

- Các loại muối amôn: khi cho các muối amôn vào môi trường, vi sinh vật sẽ đồng hóa NH_4 , còn lại các nhóm SO_4^{2-} , Cl^- , HPO_4^- ,... tích lũy sẽ làm chua môi trường.

- Muối nitrat: khi cho các loại muối này vào môi trường, vi sinh vật chỉ sử dụng nitơ, các ion như K^+ , Na^+ , Mg^{2+} ,... còn lại sẽ làm kiềm hóa môi trường.

Các muối nitrat thường thích hợp với các loại tảo, nấm mốc, xạ khuẩn, không thích hợp với nấm men và vi khuẩn.

- Urea: đây là nguồn nitơ trung tính. Khi cho urea vào môi trường, dưới tác dụng của enzym ureaza sẽ phân tách thành NH_3 theo phương trình sau:



Vi sinh vật sử dụng NH_3 nên không làm thay đổi pH môi trường.

2.2.2. Nguồn cacbon

Vi sinh vật cần C để làm bộ xương tổng hợp các chất khác nhau cho cơ thể. Nguồn C được tổng hợp từ 2 nhóm chất cơ bản:

- Từ nguồn hữu cơ có nguồn gốc glucid như các loại đường, bột,....

Vi sinh vật có khả năng đồng hóa được cả dạng D của đường.

- Từ nguồn các acid hữu cơ như acid lactic, acid citric,...

- Đối với các hợp chất chứa nhiều nhóm methyl -CH₃, metylen -CH₂-(chứa nhiều trong dầu mỡ và khí thiên nhiên), vi sinh vật đồng hóa kém hơn.

2.2.3. Nguồn khoáng và các chất sinh trưởng

- Chất khoáng cần cho vi sinh vật với số lượng rất nhỏ. Tuy nhiên, vai trò của chúng lại rất quan trọng trong việc giữ pH môi trường ổn định, tham gia vào các coenzyme (như Fe, Cu, Zn, Mn,...)

- Đối với các chất kích thích sinh trưởng, người ta quan tâm nhiều đến biotin khi nuôi nấm men và các chủng tạo acid amin.

2.3. Các kiểu dinh dưỡng của vi sinh vật

Tùy thuộc vào nguồn dinh dưỡng và nguồn năng lượng cung cấp người ta chia vi sinh vật ra làm thành 2 loại:

2.3.1. Vi sinh vật tự dưỡng

Đây là những vi sinh vật có khả năng sử dụng các chất vô cơ bên ngoài tương tự như khả năng tổng hợp của cây xanh.

Quá trình này đòi hỏi nguồn năng lượng rất lớn, tùy thuộc vào nguồn năng lượng, người ta chia làm 2 loại vi sinh vật:

➤ Vi sinh vật tự dưỡng quang năng

Bao gồm những vi sinh vật có chứa sắc tố trong bào tương. Thuộc nhóm này bao gồm những vi khuẩn màu nâu và màu xanh.

Quá trình hấp thu CO₂ của những vi khuẩn này hoàn toàn giống ở thực vật, chỉ khác ở chỗ chúng dùng H₂S để khử C, còn thực vật dùng H₂O theo phương trình sau:



➤ Vi sinh vật tự dưỡng hóa năng

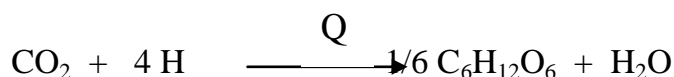
Đây là những vi sinh vật sử dụng năng lượng từ những phản ứng hóa học cung cấp. Thuộc nhóm này gồm có những vi khuẩn nitrit hóa, vi khuẩn lưu huỳnh không màu, vi khuẩn tía, vi khuẩn hydro và vi khuẩn sắt.

Ví dụ: Vi khuẩn nitrat hóa xảy ra 2 quá trình:

- Quá trình thứ nhất là oxy hóa NH₃ thành acid nitric:



- Quá trình thứ hai là khử CO₂ nhờ năng lượng ở phản ứng trên:



2.3.2. Vi sinh vật dị dưỡng

Đây là những vi sinh vật không có khả năng tự tổng hợp các chất hữu cơ mà chỉ sử dụng các chất hữu cơ có sẵn trong môi trường để xây dựng cấu trúc cơ thể. Phần lớn các vi sinh vật phá hoại lương thực, thực phẩm thuộc nhóm này.

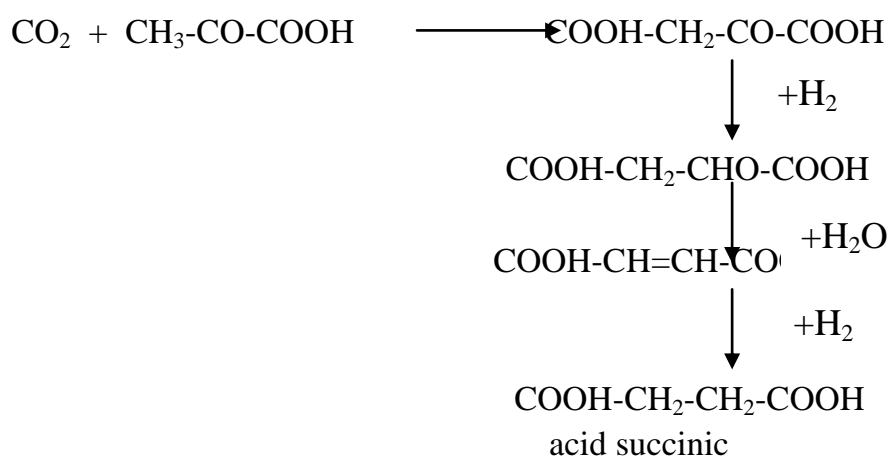
Mỗi loài vi sinh vật có khả năng tiếp nhận các chất hữu cơ nhất định. Dựa vào khả năng này người ta chia vi sinh vật dị dưỡng ra làm 2 nhóm:

- Vi sinh vật ký sinh: Là những vi sinh vật sống bám vào cơ thể chủ, có 2 dạng:
 - Ký sinh bắt buộc: gồm những vi sinh vật chỉ có thể sống được trên một số mô và một số tế bào sống nhất định như virus, rickettsia.
 - Ký sinh tùy ý: gồm những vi sinh vật có thể sống trên tế bào và cơ thể sống, đồng thời chúng có thể sống trên một số chất dinh dưỡng ở “dạng sống”.
- Vi sinh vật hoại sinh: Là những vi sinh vật sống nhờ sự phân hủy các chất hữu cơ (xác động vật, thực vật hoặc các chất hữu cơ khác). Chúng có vai trò cực kỳ quan trọng trong sự chuyển hóa vật chất trong tự nhiên.

2.3.3. Vi sinh vật dị dưỡng trung gian

Là những vi sinh vật có khả năng đồng hóa các hợp chất hữu cơ, vừa có khả năng đồng hóa CO₂.

Ví dụ: vi khuẩn propionic có khả năng tạo thành acid succinic từ acid pyruvic và CO₂ theo phương trình sau:



2.4. Cơ chế vận chuyển thức ăn vào trong tế bào vi sinh vật

- Khác với các sinh vật khác, vi sinh vật hoàn toàn không có một cơ quan dinh dưỡng riêng biệt. Chất dinh dưỡng được vận chuyển vào cơ thể qua thành tế bào bằng hai con đường cơ bản sau:

2.4.1. Thẩm thấu bị động

- Trên thành tế bào vi sinh vật có những lỗ nhỏ. Tại đây, chất dinh dưỡng có thể vận chuyển vào bên trong tế bào nhờ áp suất thẩm thấu. Ngược lại, các chất thải trong quá trình trao đổi chất cũng được thải qua nhưng lỗ này giống như một màng lọc cơ học, chúng chỉ cho qua những chất có kích thước nhỏ hơn. Nhưng khác với màng lọc cơ học, màng lọc này có khả năng lọc đối với những chất cần thiết nhất định.

2.4.2. Thẩm thấu chủ động

- Đây là cách vận chuyển cần đến năng lượng của tế bào và năng lượng tiêu thụ này được cung cấp bởi ATP.
- Các thành phần dinh dưỡng không có khả năng xâm nhập vào tế bào phải có hệ pecmerase hoạt hóa. Chất dinh dưỡng sẽ liên kết với pecmerase, hợp chất này chui qua thành tế bào vào trong. Sau đó pecmerase thải chất dinh dưỡng và tiếp tục làm nhiệm vụ.

3. Hô hấp của vi sinh vật

3.1. Ý nghĩa của quá trình hô hấp

- Quá trình hô hấp là một biểu hiện cơ bản của sự sống. Quá trình này cung cấp năng lượng cần thiết cho sự phát triển và sinh trưởng của vi sinh vật. Năng lượng trong quá trình hô hấp được chi phí như sau:

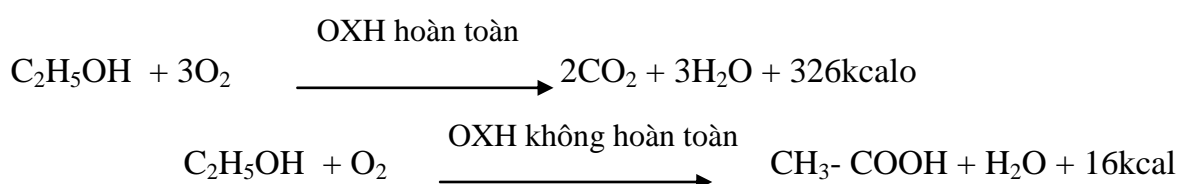
- + 50% cung cấp cho các phản ứng để tạo thành các chất mới xây dựng tế bào.
- + 20% dùng để duy trì sự sống.
- + 30-75% thường mất đi dưới dạng nhiệt lượng.

3.2. Các dạng hô hấp cơ bản

3.2.1. Hô hấp hiếu khí

- Là kiểu hô hấp cần có oxy tham gia để oxy hóa các hợp chất hữu cơ, giải phóng năng lượng. Các hợp chất hữu cơ có thể là hydrat C nhưng cũng có thể là các chất khác như lipid, rượu, acid hữu cơ,... Năng lượng tạo thành tồn trữ dưới dạng các hợp chất chứa dây nối giàu năng lượng ATP.
- Quá trình hô hấp hiếu khí có thể tiến hành triệt để, nghĩa là chất hữu cơ được oxy hóa hoàn toàn đến sản phẩm cuối cùng là CO₂ và H₂O. Trong trường hợp oxy hóa không hoàn toàn năng lượng được tách ra ít hơn vì một phần được tích trữ ở các sản phẩm trung gian.

Ví dụ:



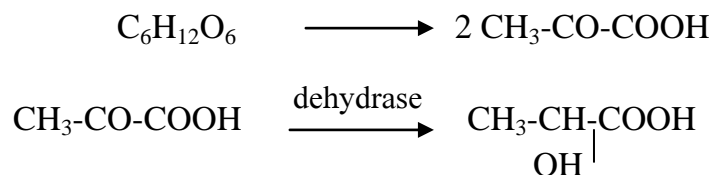
Có hai dạng vi sinh vật hiếu khí:

- Hiếu khí tuyệt đối: gồm những vi sinh vật không thể phát triển được khi thiếu oxy tự do.
- Hiếu khí tùy tiện: gồm những vi sinh vật có thể phát triển được trong điều kiện không có oxy không khí, do chúng sử dụng được các phản ứng năng lượng của sự lên men.

3.2.2. Hô hấp kỵ khí (yếm khí)

- Là kiểu hô hấp không cần oxy, người ta gọi là quá trình lên men. Thực chất đây là quá trình oxy hóa khử với sự tham gia của nhiều hệ enzyme.

Ví dụ: quá trình lên men lactic:



Có hai dạng vi sinh vật kỵ khí:

- Kỵ khí tùy tiện: là những vi sinh vật có cả hai hệ enzyme của hô hấp hiếu khí và kỵ khí, nghĩa là chúng có thể phát triển trong điều kiện có hoặc không có oxy.
- Kỵ khí tuyệt đối: gồm những vi sinh vật chỉ có thể phát triển được trong điều kiện hoàn toàn không có oxy. Nếu có oxy thì trong môi trường sẽ hình thành các chất độc peroxyt, chúng sẽ tiêu diệt vi sinh vật bởi loại vi sinh vật này không có enzyme peroxydaza để phân giải độc tố.

4. Quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật

4.1. Khái niệm sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật

Sinh trưởng là sự tăng kích thước và khối lượng tế bào, nghĩa là sinh khối được tích lũy nhiều.

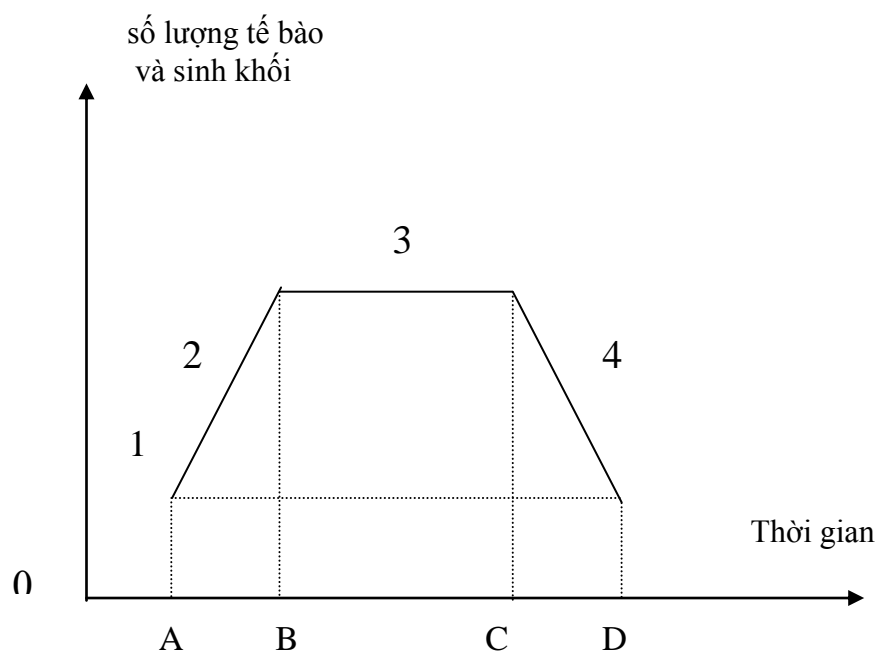
Phát triển là sự tăng lên về số lượng tế bào hay đây chính là quá trình sinh sản.

4.2. Động học của sự sinh trưởng và phát triển trong phương pháp nuôi cấy tĩnh

Đây là phương pháp nuôi cấy mà trong suốt thời gian đó ta không cho thêm chất dinh dưỡng mới vào, đồng thời cũng không loại bỏ đi các sản phẩm cuối cùng của sự trao đổi chất.

Quá trình sinh trưởng và phát triển của tế bào trong nuôi cấy tĩnh luôn tuân theo một quy luật nhất định và chia ra làm 4 pha nối tiếp nhau:

- Pha tiềm phát(1)
- Pha logarit (2)
- Pha cân bằng(3)
- Pha suy vong(4)



➤ Pha tiềm phát: Trong pha này tế bào chưa phân chia, nhưng thể tích và trọng lượng tế bào tăng lên rõ rệt do quá trình tổng hợp các chất diễn ra mạnh mẽ. Nguyên nhân làm cho tế bào chưa phân chia, nghĩa là chưa có khả năng sinh sản là do:

- Điều kiện của bản thân vi sinh vật được cấy vào môi trường:

+ Nếu giống ở dạng bào tử thì phải cần một thời gian để chúng thấm nước trương lên, các hệ enzyme chuyển từ trạng thái không hoạt động sang hoạt động. Khi đó bào tử nảy mầm và sinh trưởng để đạt kích thước tối đa.

+ Đặc điểm của từng loài vi sinh vật và khả năng thích nghi của chúng.

+ Do vi sinh vật phải làm quen với môi trường mới, đồng thời tích lũy năng lượng chuẩn bị cho giai đoạn sinh sản.

- Điều kiện của môi trường, bao gồm: chất dinh dưỡng, độ pH môi trường, độ ẩm, nhiệt độ, thể oxy hóa-khử. Nếu môi trường nuôi cấy mới càng giống với môi trường cũ thì thời gian thích ứng với môi trường được rút ngắn.

Giai đoạn này thường kéo dài từ 3-4 giờ có tác dụng để tế bào thích ứng với môi trường dinh dưỡng và sinh tổng hợp các chất cần thiết cho cơ thể.

➤ Pha logarit: Trong pha này, số lượng vi sinh vật tăng với tốc độ rất nhanh. Thời gian sinh sản của một thế hệ phụ thuộc vào loài vi sinh vật, tế bào tăng theo cấp số nhân. Như vậy, trong giai đoạn này tế bào vi sinh vật vừa sinh sản mạnh, vừa tăng về sinh khối. Do đó, nếu mục đích của quá trình nuôi cấy là thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học hoặc các tế bào có khả năng hoạt động mạnh, người ta thường kết thúc quá trình nuôi cấy ở cuối pha này.

➤ Pha cân bằng: Trong pha này quần thể vi sinh vật ở trạng thái cân bằng động học, số tế bào mới sinh ra bằng số tế bào cũ chết đi. Như vậy, số lượng tế bào và sinh khối không tăng mà cũng không giảm đi.

- Tốc độ sinh trưởng bây giờ phụ thuộc vào nồng độ cơ chất. Khi giảm nồng độ cơ chất thì tốc độ sinh trưởng của tế bào cũng giảm, do đó việc chuyển từ pha logarit sang pha cân bằng diễn ra dần dần.

- Nguyên nhân tồn tại của pha này là do sự tích lũy của các sản phẩm độc của quá trình trao đổi chất như rượu, các acid hữu cơ.

- Lượng sinh khối đạt được trong pha cân bằng gọi là hiệu suất hoặc sản lượng. Sinh khối chung trong pha này đạt được là cao nhất trong quá trình nuôi cấy. Vì thế, nếu mục đích nuôi cấy là thu tổng sinh khối thì nên kết thúc ở giữa pha này.

➤ Pha suy vong: Trong pha này số lượng tế bào mới sinh ra và số lượng tế bào chết đi không cân bằng. Số lượng tế bào chết tăng rất nhanh theo lũy thừa.

- Nguyên nhân của pha này là do 2 yếu tố:

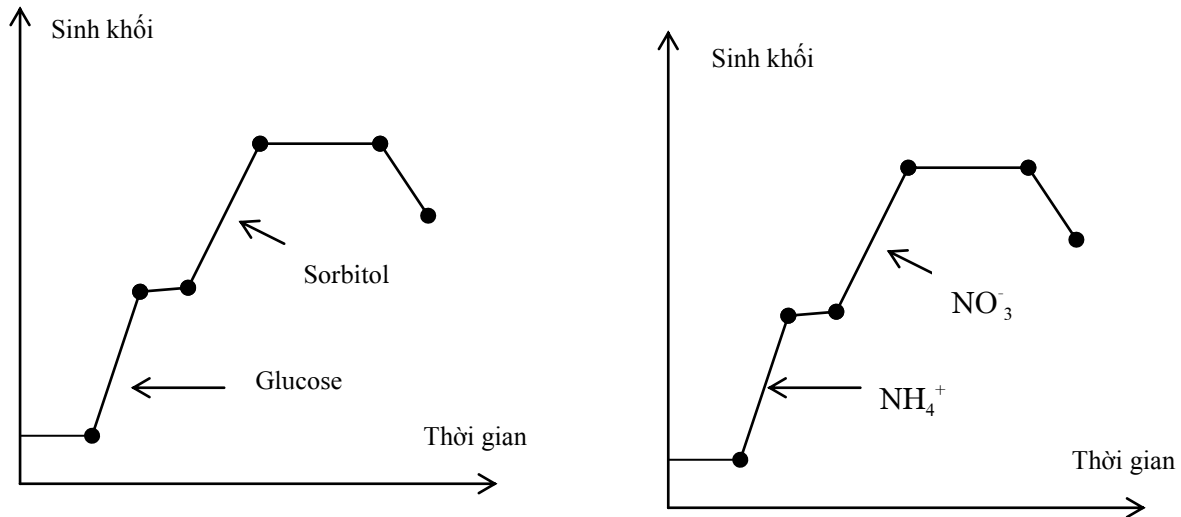
+ Môi trường đã bị cạn thức ăn.

+ Môi trường bị nhiễm độc do các sản phẩm trao đổi chất của tế bào.

- Giai đoạn này thường kéo dài 2-3 ngày cho đến hàng tháng.

4.3. Hiện tượng sinh trưởng kép

- Hiện tượng này xảy ra khi môi trường chứa nguồn cacbon gồm một hỗn hợp của hai chất hữu cơ khác nhau. Lúc đầu vi sinh vật đồng hóa chất hữu cơ nào chúng thấy thích hợp nhất. Mặt khác, sản phẩm và cơ chất 1 sẽ kích hãm các enzyme của cơ chất 2. Quá trình này đòi hỏi thời gian nhất định, do đó ta thấy xuất hiện 2 pha lag và 2 pha log.

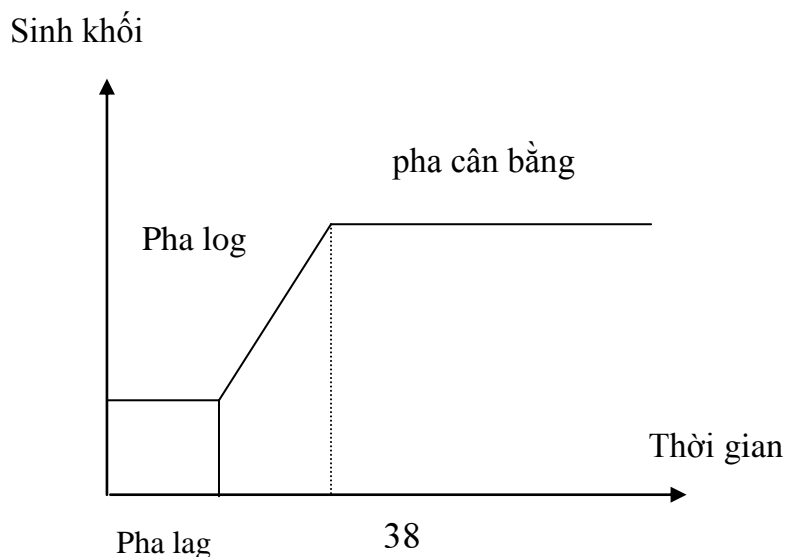


4.4. Động học của sự sinh trưởng và phát triển trong phương pháp nuôi cấy chu kỳ

- Phương pháp nuôi cấy liên tục là phương pháp người ta cho dòng môi trường mới liên tục vào bình nuôi cấy, đồng thời loại khỏi bình một lượng tương ứng dịch vi khuẩn.

- Trong phương pháp này người ta giữ thể tích dịch môi trường nuôi cấy không thay đổi bằng cách điều chỉnh tốc độ môi trường chảy vào và dòng sản phẩm của quá trình nuôi cấy là như nhau.

- Quá trình sinh trưởng và phát triển trong một hệ thống mở như vậy sẽ tuân theo một qui luật riêng. Quá trình tăng sinh khối cũng trải qua giai đoạn thích ứng ban đầu (pha lag) và giai đoạn tăng sinh khối (pha logarit). Nhưng sau đó tổng lượng sinh khối sẽ không thay đổi.



B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày khái niệm trao đổi chất, các cơ chế của quá trình đồng hóa, dị hóa.
2. So sánh các kiểu hô hấp, dinh dưỡng của vi sinh vật.
3. Giải thích được sự khác nhau trong các giai đoạn sinh trưởng, phát triển của vi sinh vật; sự khác nhau giữa nuôi cấy tĩnh và nuôi liên tục.
4. Trình bày các sản phẩm thu được trong từng giai đoạn nuôi cấy tĩnh của vsv.
5. Thế nào là hiện tượng sinh trưởng kép?

CHƯƠNG 3. VI SINH VẬT VÀ CÁC CHU TRÌNH SINH ĐỊA HÓA HỌC

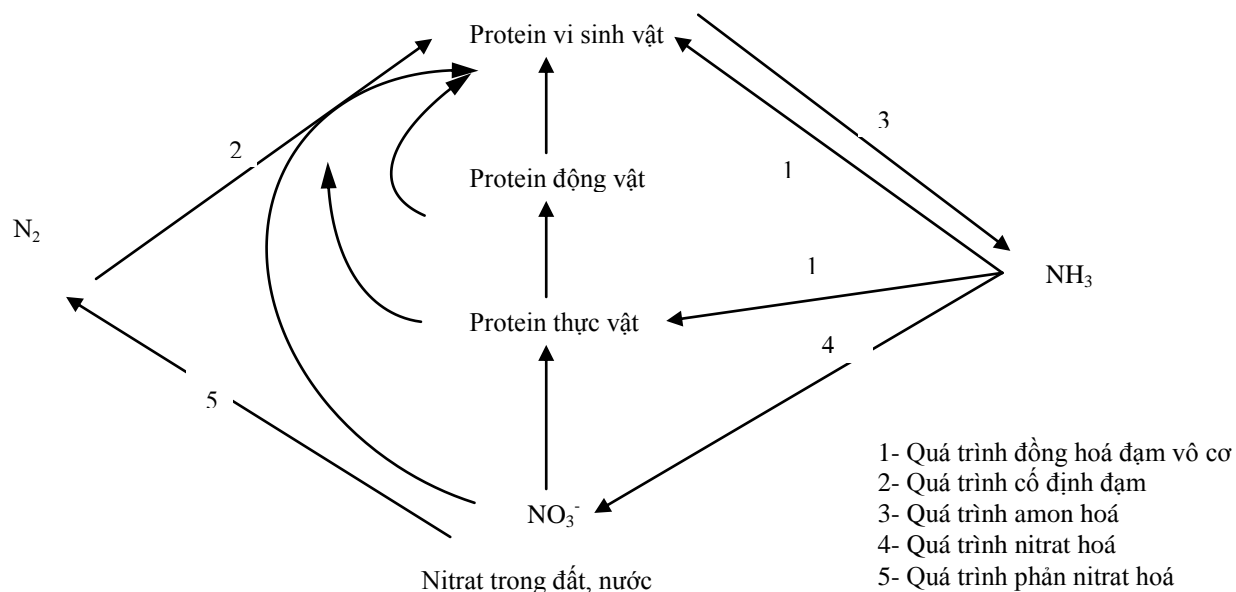
Mục tiêu:

- Trình bày được các chu trình sinh địa hóa;
- Phân tích được vai trò của vi sinh vật trong các chu trình sinh địa hóa;
- Đánh giá được sự quan trọng của vi sinh vật trong các chu trình sinh địa hóa.

A. NỘI DUNG

1. Chu trình Nito

1.1. Vi sinh vật trong chu trình nito



Hình 3.1. Chu trình Nito trong tự nhiên

1.1.1. Quá trình đồng hóa đạm vô cơ

- Quá trình đồng hóa đạm vô cơ được thực hiện do thực vật và một số vi sinh vật. Đạm vô cơ trong thiên nhiên tồn tại dưới dạng muối nitrat, muối amôn trong đất, nước, đây là dạng đạm duy nhất mà thực vật sử dụng được nhưng động vật thì không. Với vi sinh vật, trừ loại chuyên ký sinh còn hầu hết tiêu thụ đạm vô cơ bằng cách hấp thụ và chuyển hóa nó thành acid amin, protein, acid nucleic để xây dựng và đổi mới tế bào.

1.1.2. Quá trình cố định nitrogen phân tử

- Trong khí quyển của hành tinh chúng ta có đến 4 triệu tỷ tấn N₂ phân tử nhưng các sinh vật không sử dụng được nguồn nito này, chỉ có một số vi sinh vật mới có thể hấp thụ được. Qua hoạt động sống của vi sinh vật, N₂ phân tử sẽ chuyển thành dạng hợp chất hoặc nito vô cơ thành nito hữu cơ (các acid amin, protein), quá trình này được gọi là sự cố định nito phân tử.

- Vi sinh vật cố định đạm phân tử bao gồm 2 nhóm chính:

+ *Vi khuẩn cố định N₂ sống tự do*: thuộc họ *Azotobacteraceae*, *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae*.

Azotobacter là vi khuẩn sống tự do, hô hấp hiếu khí, không có bào tử. Tế bào hình trứng, thường sinh chất nhầy ngoại bào. Chúng sinh trưởng nhanh, catalaza (+), thích hợp pH trung tính hoặc kiềm yếu.

+ *Vi khuẩn cố định N₂ sống cộng sinh:*

> *Vi khuẩn nốt sần họ đậu:* được phân lập từ rễ cây họ đậu và có tên là *Rhizobium*. Khi cố định trong nốt sần cây họ đậu, các vi khuẩn *Rhizobium* hấp thụ nitơ không khí để cung cấp nitơ vô cơ cho cây và cây đậu cung cấp cho chúng nguồn glucid.

> *Rhizobium* có khả năng di động, không sinh bào tử, Gram (-). Chúng hô hấp hiếu khí, nhiệt độ thích hợp 25- 30°C, pH thích hợp 6,0- 8,5, có thể đồng hóa muối amôn, muối nitrat và nhiều loại acid amin.

> *Vi khuẩn lam: Anabaena asollae* cộng sinh trong bèo hoa dâu. Toàn bộ lượng nitơ trong protein của bèo là được cố định từ không khí nhờ các vi khuẩn lam sống cộng sinh này.

1.1.3. Quá trình amon hóa

- Quá trình amon hóa là quá trình phân hủy, gây thối rữa các hợp chất hữu cơ có chứa nitơ (trong xác động, thực vật và các thức ăn giàu protein) do vi sinh vật gây ra. Quá trình phân giải đều tạo thành NH₃ dưới dạng muối amon, do đó sự phân giải này được gọi là quá trình amon hóa. Gồm các quá trình sau :

+ Amon hóa protein

+ Amon hóa ure và acid uric.

* *Quá trình amon hóa protein:* Quá trình này có thể chia làm 3 giai đoạn :

- Giai đoạn 1: (Phân giải protein)

+ Muốn phân giải protein, vi sinh vật phải tiết ra các men phân giải protein ngoại bào và làm chuyển hóa protein thành các hợp chất có phân tử nhỏ hơn (polypeptit và oligopeptit).

+ Các chất này hoặc tiếp tục được phân hủy thành acid amin nhờ các men peptidase ngoại bào, hoặc được xâm nhập ngay vào tế bào vi sinh vật sau đó mới chuyển hóa thành acid amin.

+ Một phần acid amin này được vi sinh vật sử dụng trong quá trình sinh tổng hợp protein.

+ Một phần khác được tiếp tục phân giải theo những con đường khác nhau để sinh ra NH₃, CO₂ và nhiều sản phẩm trung gian khác.

+ Những vi sinh vật không có khả năng sinh ra các men phân giải protein ngoại bào không có khả năng đồng hóa được các loại protein thiên nhiên. Chúng chỉ có thể sử dụng các sản phẩm thủy phân của protein (Polypeptit, Oligopeptit).

- Giai đoạn 2 : Các acid amin tạo thành do quá trình thủy phân sẽ được vào trong tế bào vi sinh vật. Các polypeptit, oligopeptit tiếp tục được chuyển hóa để thành các acid amin. Sự phân hủy acid amin để tạo thành NH₃, CO₂ và các sản phẩm trung gian khác.

+ Khử acid amin: Nhiều sản phẩm sinh ra trong các quá trình phân giải acid amin (rượu, acid hữu cơ,...) sẽ được tham gia vào các quá trình phân giải sinh năng lượng.

+ Khử carboxyl: Nhiều loại amin do vi khuẩn làm sản sinh ra trong cơ thể người và động vật có tính độc. Chẳng hạn, histamin trong cơ thể có thể gây ra chứng co giật mạch máu. Các hợp chất diamine như arginin, cadaverin, putrescine đều có tính độc. Các loại thức ăn như thịt cá thiu thối không nên ăn vì rất dễ có mặt các loại amin độc này.

+ Khử carboxyl phối hợp với khử amin

- Giai đoạn 3: Các hợp chất hữu cơ được tạo thành do sự phân giải sơ bộ các aminoacid như trên sẽ được tiếp tục chuyển hóa

+ Trong điều kiện hiếu khí: các chất này sẽ được oxy hóa và vô cơ hóa hoàn toàn thành các cấu tử cơ bản của protein như : NH_3 , CO_2 , H_2O , H_2S , H_3PO_4 .

+ Trong điều kiện yếm khí: các sản phẩm phân giải không được oxy hóa hoàn toàn, như vậy trong môi trường sẽ tích tụ nhiều acid hữu cơ, rượu, amin. Trong đó có nhiều chất độc và mùi hôi thối.

- Tác nhân vi sinh vật: Quá trình amôn hóa do nhiều loài vi sinh vật gây ra. Các loài vi sinh vật có khả năng hô hấp khác nhau.

* Vi sinh vật hiếu khí	* Vi sinh vật yếm khí
<i>Bacillus mycooides</i>	<i>Clostridium putrificum</i>
<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Clostridium sporogenes</i>
<i>Bacillus megatherium</i>	
<i>Bacillus subtilis</i>	
<i>Bacillus subtilis</i>	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
<i>Proteus vulgaris</i>	

Ngoài ra, còn thấy một số loài nấm tham gia phân hủy protein như *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Trichoderma*.

- Ý nghĩa của quá trình amon hóa

+ Có ý nghĩa trong chuyển hóa đất.

+ Có ý nghĩa trong sản xuất nước mắm, nước chấm, tương, pho mát, chao.

+ Làm hư hỏng nhiều dạng protit

1.1.4. Quá trình nitrate hóa

- Trong đất luôn xảy ra sự tạo thành muối amôn do quá trình amon hóa protein, ure, kitin... sản phẩm của quá trình này được thực vật trực tiếp hấp thụ hoặc được chuyển thành các muối nitrat. Quá trình oxy hóa muối amôn thành nitrat được gọi là quá trình nitrat hóa.

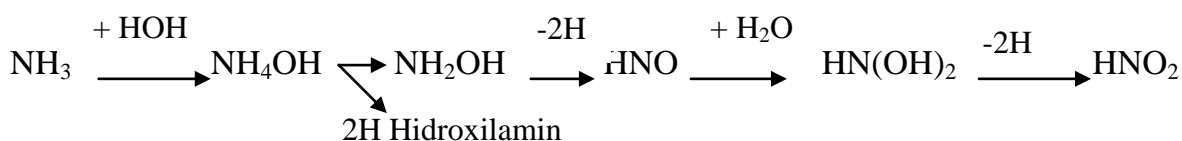
1.1.4.1. Cơ chế của quá trình

Quá trình nitrat hóa xảy ra trong tự nhiên gồm hai giai đoạn :

- Giai đoạn thứ nhất: oxy hóa muối amon thành nitrit

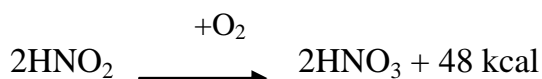


Thực ra quá trình này trải qua nhiều giai đoạn trung gian như sau :

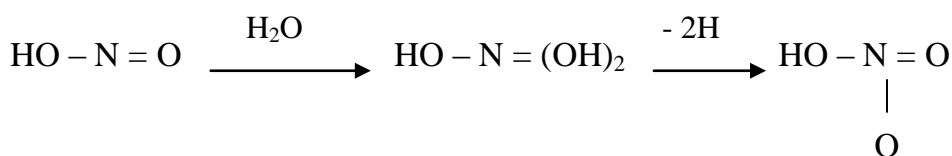


Trong mỗi giai đoạn trên đều thải ra một lượng năng lượng nhất định.

- Giai đoạn thứ hai: oxy hóa nitrit thành nitrat



Trong quá trình trung gian có tạo thành hydrat của acid nitơ:



Cả hai quá trình trên đều dẫn tới giải phóng năng lượng. Vi khuẩn nitrat sẽ sử dụng năng lượng này để tiến hành phản ứng khử CO_2 thành hợp chất hữu cơ song song với các phản ứng oxy hóa NH_3 và HNO_2 , quá trình khử có thể viết như sau:



1.1.4.2. Tác nhân vi sinh vật

- Quá trình nitrat hóa được thực hiện bởi các vi khuẩn dinh dưỡng vô cơ đặc biệt gọi là vi khuẩn nitrat hóa. Hai giai đoạn của quá trình này được thực hiện do các nhóm vi khuẩn khác nhau.

- Vi khuẩn oxy hóa muối amon thành nitric gồm hai nhóm chính:

+ *Nitrosomonas*: Có hình cầu hoặc hình bầu dục ngắn, Gram (-), không có khả năng sinh bào tử.

+ *Nitrosospira*: Trục khuẩn dẹt phẩy, di động được nhờ tiên mao.

- Vi khuẩn oxy hóa nitrit thành nitrat:

+ Gồm nhiều vi khuẩn hợp thành giống *Nitrobacter*, là những trục khuẩn nhỏ, Gram (-), không sinh bào tử.

+ Các loài vi khuẩn này có thể sử dụng CO_2 làm nguồn thức ăn cacbon, không cần hợp chất hữu cơ có sẵn. Đôi khi các hợp chất hữu cơ có sẵn trong môi trường gây ức chế sự phát triển của chúng.

- pH thích hợp cho những vi sinh vật này ở hai giai đoạn có khác nhau:

+ Giai đoạn thứ nhất pH thích hợp là 8,5

+ Giai đoạn thứ hai pH thích hợp là 8,3 – 9,3

Khi pH = 6 thì quá trình này không thể tiến hành được, vì thế trong đất chua sẽ không xảy ra quá trình nitrat hóa được.

- Nhiệt độ thích hợp cho quá trình nitrat hóa là 30 – 37°C.

1.1.4.3. Ý nghĩa của quá trình nitrat hóa

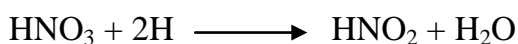
- Có ý nghĩa quan trọng trong nông nghiệp vì nó tạo thức ăn nitơ tốt cho cây.
- Do khả năng dinh dưỡng vô cơ nên vi khuẩn nitrat có thể tham gia vào xâm thực núi đá, đá granit,...
- Có tác dụng làm phân hủy một phần tường gạch.

1.1.5. Quá trình phản nitrat hóa

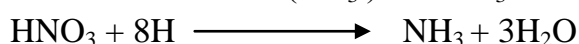
1.1.5.1. Quá trình phản nitrat hóa trực tiếp

- Cơ chế phản ứng: Có thể xảy ra 03 trường hợp:

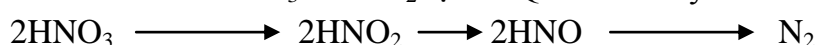
+ Khử acid nitric thành acid nitơ (khử NO_3^- thành NO_2^-):



+ Khử nitrat (NO_3^-) đến NH_3 :



+ Khử HNO_3 đến N_2 tự do. Quá trình này có thể tóm tắt như sau:



- Các vi khuẩn tham gia quá trình nitrat hóa đều là những vi sinh vật hô hấp tùy tiện.
 - + Trong điều kiện thoáng khí chúng dùng CO_2 làm chất nhận H_2 .
 - + Trong điều kiện yếm khí chúng sử dụng nitrat (NO_3^-) làm nhiệm vụ này.

Ví dụ: Trong hô hấp yếm khí của chúng, kết hợp với sự khử nitrat xảy ra theo phương trình tổng hợp chung như sau:



- Tác nhân vi sinh vật: Gồm nhiều loại vi sinh vật khác nhau. Trong đó, hoạt động mạnh nhất là những loài sau:

+ *Chromobacterium denitrificans*: yếm khí tùy tiện, không tạo bào tử, có khả năng khử nitrat thành N_2 tự do.

+ *Achromobacter stutzeri*: Thường tạo thành chuỗi dài, có khả năng gây đông tụ sữa và có khả năng lên men đường tạo thành hơi. Chúng phát triển trên môi trường pepton tạo thành H_2S , còn khi phát triển trong điều kiện yếm khí thì chúng khử nitrat.

+ *Pseudomonas fluorescens*: là trực khuẩn không chuyển động, hầu như không tạo thành chuỗi.

- Ý nghĩa của quá trình

+ Quá trình khử nitrat hóa làm tổn thất một lượng nitơ trong đất, vì thế làm thiệt hại cho sản xuất nông nghiệp. Trong trường hợp yếm khí, khi ta tiến hành ủ phân, quá trình phản nitrat xảy ra rất mạnh, pH thích hợp cho quá trình này là trung tính hoặc kiềm (pH= 7- 8,2).

+ Trong công nghiệp thực phẩm, quá trình phản nitrat thành nitrit có tác dụng trong sản xuất thực phẩm như Lạp xưởng, xúc-xích, dăm-bông. Màu đỏ hồng của các sản phẩm này là do hợp chất của nitơ với chất màu của thịt là myoglobin và hemoglobin để tạo thành nitrosomyoglobin và nitrosohemoglobin. Qua xử lý nhiệt, các chất này chuyển thành nitrosochromogen có màu hồng. Vì vậy, chúng được sử dụng rộng rãi trong chế biến thịt.

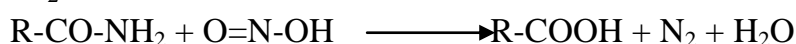
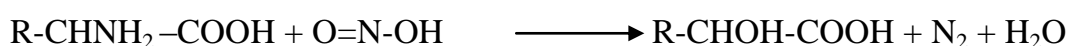
+ Ngoài ra, nitrit còn giữ giá trị cảm quan của thịt, cá, như mùi và vị đặc trưng của thịt cá ướp muối. Tuy nhiên, nếu sử dụng quá nhiều sẽ gây độc hại cho cơ thể con người. Vì khi đó chúng sẽ tác dụng với amin để tạo thành Nitrosamin theo phản ứng sau:



Nitrosamin gây giảm tuổi thọ, giảm cân và nhiều trường hợp có thể gây bệnh ung thư.

1.1.5.2. Quá trình phản nitrat hóa gián tiếp

- Vi sinh vật chỉ tham gia giai đoạn đầu khử NO_3^- thành NO_2^- , còn giai đoạn cuối của quá trình này là do các phản ứng hóa học thuần túy xảy ra giữa acid nitơ và các acid amin.



- Trong quá trình này vi sinh vật chỉ tác dụng gián tiếp, làm hình thành acid nitơ, các acid amin và các amino.

- Đối với nông nghiệp, quá trình phản nitrat hóa gián tiếp không có ý nghĩa lớn vì với tác dụng này phải tiến hành trong môi trường acid, mà hầu hết đất trồng trọt lại có phản ứng kiềm.

1.2. Ảnh hưởng của N trong môi trường

1.2.1. Tính độc

- NH_3 độc đối với cá, ở pH trung tính 99% ammonia ở dạng NH_4^+ , trong khi đó lượng NH_3 sẽ tăng khi pH lớn hơn 9

- Do đó độc tính của NH_3 đặc biệt quan trọng nếu đi kèm với nước thải có độ kiềm cao, hoặc quá trình quang tổng hợp của tảo nhanh, dẫn đến pH cao.

1.2.2. Sự suy giảm oxy của nguồn tiếp nhận

- Nguồn ammonia thải ra càng nhiều thì nhu cầu cần càng nhiều oxy để thực hiện quá trình oxy hóa, 1mg ammonia cần 4,6mg oxy. Nhu cầu oxy cần cho vi khuẩn nitrat hóa gọi là nhu cầu oxy nitơ (NOD – Nitrogenous Oxygen Demand). Oxy suy giảm sẽ có hại cho thủy sinh.

1.2.3. Phú dưỡng hóa nước mặt

- Thải N vào nước, kích thích sự tăng trưởng vượt mức của tảo và thực vật nước. Tảo và thực vật nước có nhu cầu oxy cao vào ban đêm, ảnh hưởng đến cá và thủy sinh, gây tác hại đối với nguồn nước cấp và giải trí. N và P là các yếu tố dinh dưỡng giới hạn của nguồn nước.

1.2.4. Ăn mòn

Ammonia ở nồng độ trên 1mg/lít có thể gây ăn mòn các ống đồng.

1.3. Sự loại bỏ N trong các công trình xử lý nước thải

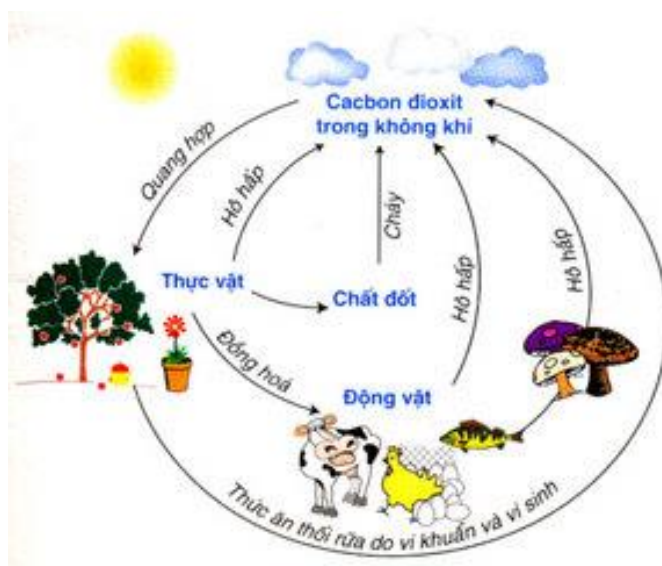
- Đối với nước thải sinh hoạt, N hầu hết ở dạng N hữu cơ và amoniac. Hàm lượng N tổng cộng trung bình của nước thải sinh hoạt khoảng 35mg/l.

- Xử lý sơ bộ nước thải loại bỏ được khoảng 15% tổng lượng N, chủ yếu là các N hữu cơ kết hợp với các chất rắn.

- Xử lý sinh học tiếp theo loại bỏ khoảng 10%, chủ yếu là sinh khối, phần này sẽ được lắng trong các bể lắng.
- Trong nước thải đầu ra, sau khi xử lý sinh học, 90% N ở dạng amoniac tiếp tục được loại bỏ bằng các phương pháp sau:
 - + Phương pháp sinh học: nitrat hóa – khử nitrat hóa
 - + Phương pháp lý hóa: vôi hóa tạo pH cao, 10-11, chuyển NH_4^+ thành khí NH_3 .

2. Chu trình carbon trong tự nhiên

- Sự chuyển hóa quan trọng nhất của hợp chất carbon là quá trình hữu cơ hóa và vô cơ hóa. Quá trình này chủ yếu là các kết quả của những hoạt động sống của vi sinh vật. Ta đã biết rằng sự trao đổi chất của vi sinh vật bao giờ cũng gồm 2 quá trình: đồng hóa và dị hóa có nghĩa là tổng hợp và phân giải. Nhưng xét về kết quả ta thấy cây xanh và vi sinh vật có những tác dụng đối lập nhau. Cây xanh chủ yếu có tác dụng hình thành và tích lũy các hợp chất hữu cơ, còn vi sinh vật có tác dụng tiêu hao và phân giải chúng.
- Lượng C này luôn luôn được chuyển hóa tương hỗ trong vòng tuần hoàn của vật chất trong tự nhiên. Lượng CO_2 ít ỏi trong không khí được duy trì trong một cân bằng động, đó là do các hợp chất hữu cơ đã được vô cơ hóa thành CO_2 hòa vào khí quyển và tác nhân hoàn thành sứ mệnh đó chính là các vi sinh vật.



Hình 3.2. Chu trình Carbon

- Như vậy, chức năng quan trọng nhất của vi sinh vật đối với toàn cuộc sống trên hành tinh chúng ta chính là việc chúng hình thành các chuyển hóa phân giải trong chu trình carbon. Đứng về mặt công nghiệp, quá trình chuyển hóa những hợp chất carbon mà chủ yếu là glucid có một triển vọng ứng dụng rất lớn. Sản phẩm của sự phân giải glucid chính là thành phẩm của các nhà máy sản xuất nhiều thứ rượu, aceton, aldehyd... Sự ứng dụng vi sinh vật vào sản xuất đã làm hình thành một ngành đặc biệt đang phát triển mạnh đó là công nghệ lên men trong chế biến thực phẩm nói riêng và

công nghệ sinh học nói chung mà tác nhân chính của các quá trình công nghệ này là các vi sinh vật.

2.1. Sự phân giải một số hợp chất carbon do vi sinh vật

2.1.1. Các quá trình lên men

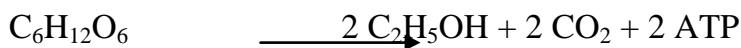
- Lên men là quá trình trao đổi chất. Qua con đường trao đổi chất cung cấp năng lượng và nguyên liệu để tạo nên các cấu tử tế bào. Về phương diện vi sinh vật học, có thể nói lên men là quá trình phân giải yếm khí các hydrat cacbon dưới tác dụng của vi sinh vật. Sau khi lên men có nhiều sản phẩm được tích tụ lại trong môi trường, tùy theo các chất được tích tụ mà người ta chia ra nhiều loại quá trình lên men như: lên men rượu, lên men lactic...

➤ Quá trình lên men rượu etylic

* Cơ chế

Là quá trình chuyển hóa glucose thành rượu nhờ tác dụng của vi sinh vật.

Phương trình phản ứng tổng quát:



* Tác nhân vi sinh vật: *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces carlbergensis

Saccharomyces vini

* Ứng dụng

- Sản xuất rượu, bia
- Sản xuất men bánh mì

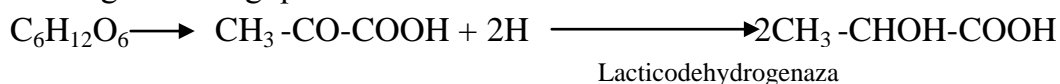
➤ Quá trình lên men lactic

Lên men lactic là quá trình chuyển hóa kỵ khí glucid thành acid lactic nhờ hoạt động sống của vi sinh vật, điển hình là vi khuẩn lactic. Lên men lactic là một trong những quá trình chuyển hóa phát triển nhất trong thiên nhiên, có 2 kiểu lên men lactic chính là lên men lactic đồng hình và lên men lactic dị hình.

* Lên men lactic điển hình:

Bản chất của quá trình này là sự phân giải một đường đơn giản thành 2 phân tử acid lactic trong điều kiện kỵ khí.

Phương trình tổng quát:

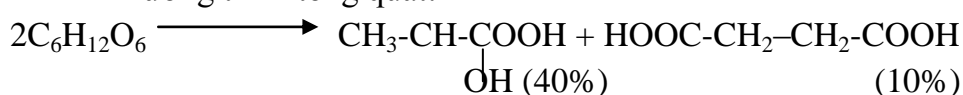


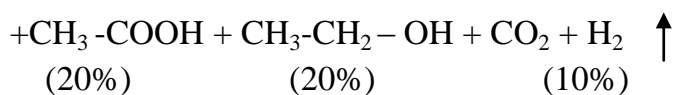
Trong quá trình này có tới 98% lượng đường chuyển thành acid lactic.

* Lên men lactic dị hình:

Quá trình lên men lactic dị hình: trong môi trường ngoài acid lactic còn có nhiều sản phẩm phụ như acid acetic, acid succinic, rượu etylic, CO₂ và một số chất thơm.

Phương trình tổng quát:





* Tác nhân vi sinh vật

Vi khuẩn lên men lactic điển hình	Vi khuẩn lên men lactic dị hình
<i>Streptococcus lactic</i>	<i>Lactobacterium hassicec fermentatae</i>
<i>Streptococcus ceremoris</i>	<i>Lactobacterium lycopersici</i>
<i>Lactobacterium bulgaricum</i>	<i>E. coli arogenes</i>
<i>Lactobacterium delbruckii</i>	

* Ứng dụng

- Được áp dụng để chế biến các sản phẩm sữa và chế biến rau quả.
- Sản xuất acid lactic
- Ủ chua thức ăn gia súc

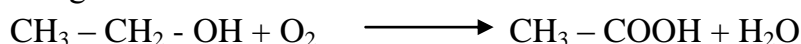
2.1.2. Các quá trình oxy hóa không hoàn toàn

- Quá trình oxy hóa là những quá trình chuyển hóa glucid dưới tác dụng của vi sinh vật hô hấp hiếu khí.
- H₂ hoạt hóa của cơ chất oxy hóa được chuyển cho phân tử O₂ để tạo thành nước.
- Nếu trong tế bào chứa đầy đủ enzyme hô hấp thì hoạt lực của H₂ và O₂ được kích thích, do đó quá trình oxy hóa các chất hữu cơ xảy ra rất nhanh.
- Ngược lại, nếu trong tế bào không đủ enzyme hô hấp thì các chất hữu cơ oxy hóa chậm hơn và có thể tích lũy các sản phẩm oxy hóa không hoàn toàn như acid acetic, acid citric, ... Vì có tích lũy các sản phẩm giống với quá trình lên men kỵ khí cho nên người ta còn gọi các quá trình oxy hóa không hoàn toàn là các quá trình lên men giấm hay lên men citric ...

➤ *Quá trình oxy hóa rượu etylic thành acid acetic*

* Cơ chế của quá trình

Phương trình chung:



Vi khuẩn acetic không chỉ có khả năng oxy hóa etanol mà chúng còn có thể oxy hóa nhiều loại đường hoặc nhiều loại rượu khác.

* Tác nhân vi sinh vật

Acetobacter aceti, Aceto. pasteurianicum, Aceto. oleanenes, Aceto. xylinum.

* Ứng dụng

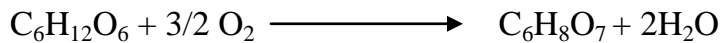
Quá trình này được ứng dụng rộng rãi để sản xuất giấm ăn, nước giải khát, bánh mỳ đen, tổng hợp vitamin C, ... Trong đó, sản xuất giấm ăn được ứng dụng phổ biến nhất.

➤ *Lên men acid citric*

Lên men citric là một quá trình oxy hóa đường thành acid citric dưới tác dụng của vi sinh vật.

* Cơ chế phản ứng

Phương trình tổng quát :



* Tác nhân của vi sinh vật

- Nhiều nấm mốc có khả năng oxy hóa glucid thành acid citric, nhưng chủ yếu thuộc 3 giống: *Aspergillus*, *Citromyces* và *Penicillium*.

- Quan trọng nhất là chủng *Asp. niger*. Đây là loài nấm mốc có bào tử, khi già bào tử chuyển sang màu đen, thích hợp ở $t^\circ = 30 - 32^\circ\text{C}$, pH tối thích khoảng 3 – 4, rất hiếu khí.

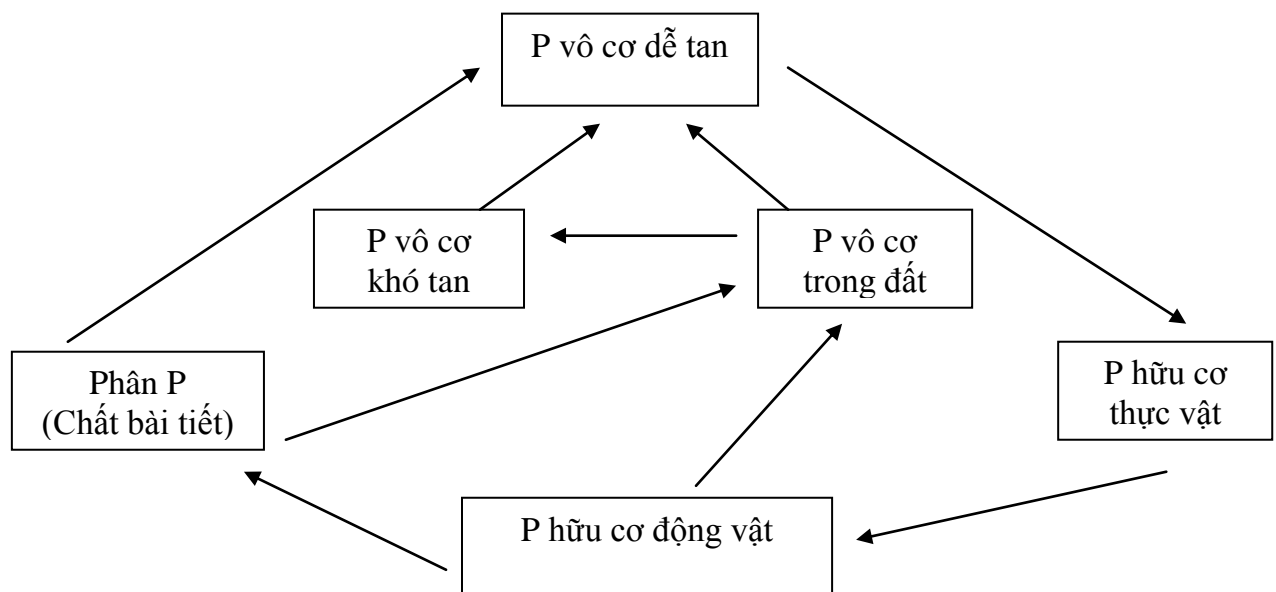
* Ứng dụng

Acid citric là một acid hữu cơ có vị tuyệt diệu nhất nên được dùng rộng rãi trong các ngành công nghệ thực phẩm như bánh kẹo, nước giải khát, đồ hộp...

3. Sự chuyển hóa các hợp chất phosphorus của vi sinh vật

3.1. Chu trình phosphorus trong tự nhiên

- Phosphorus (lân) là một trong những yếu tố quan trọng đối với cây trồng. Bón phân hữu cơ, vùi xác động vật vào đất ở mức độ nhất định là biện pháp tăng hàm lượng lân cho đất.



Hình 3.3. Vòng tuần hoàn P trong tự nhiên

- Lân hữu cơ có trong cơ thể thực vật, động vật và vi sinh vật tồn tại trong các hợp chất chủ yếu như phytin, phospholipid, acid nucleic. Cây trồng và vi sinh vật không thể trực tiếp đồng hóa lân hữu cơ. Muốn sử dụng được lân hữu cơ phải được chuyển sang dạng muối của H_3PO_4 .

- Lân vô cơ thường tồn tại ở dạng khoáng như apatic, phosphoric, phosphat sắt, phosphat nhôm... Muốn cây trồng sử dụng được phải được chuyển thành dạng dễ tan.

- Cũng như các chất khác, phospho luôn luôn tuần hoàn, chuyển hóa. Nhờ vi sinh vật, lân hữu cơ được vô cơ hóa thành muối của acid phosphoric. Các dạng lân này một

phần được sử dụng chuyển hóa thành lân hữu cơ, một phần bị cố định dưới dạng lân khó tan như $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 , AlPO_4 . Những dạng khó tan này trong môi trường có pH thích hợp sẽ chuyển thành dạng dễ tan. Vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong quá trình này.

3.2. Sự phân giải phosphorus hữu cơ trong đất do vi sinh vật

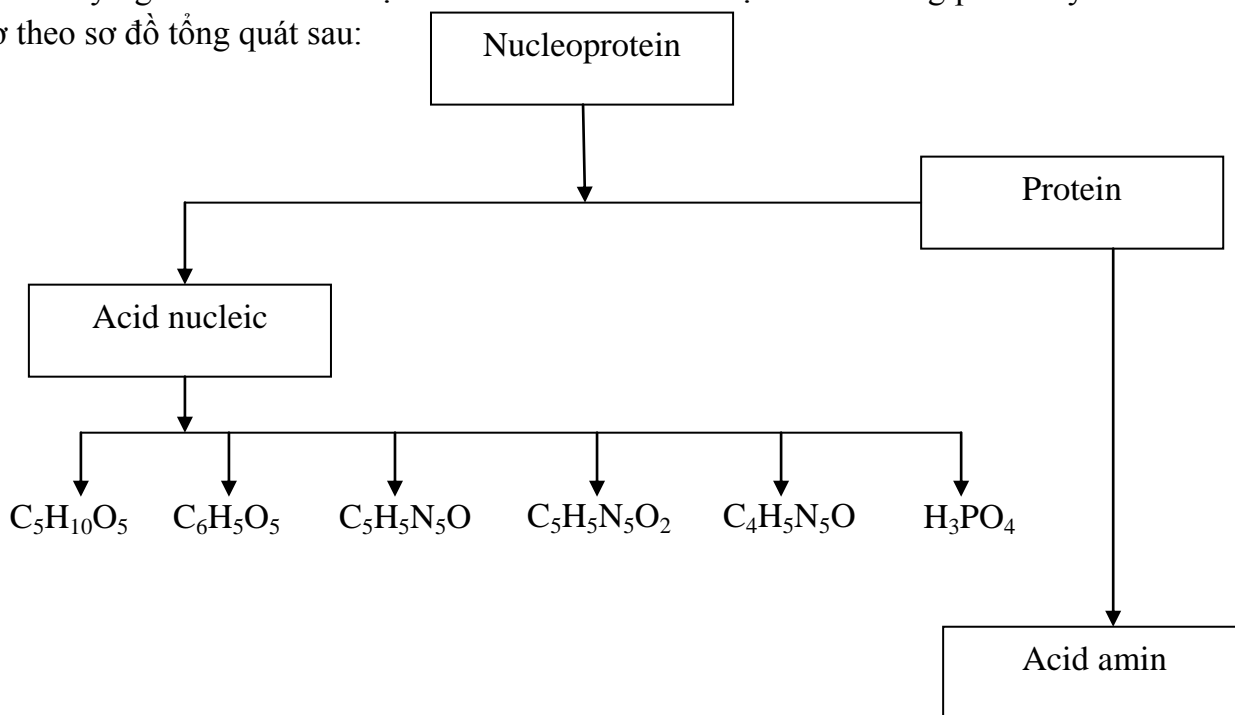
- Các hợp chất P hữu cơ trong đất có nguồn gốc từ xác động vật, thực vật, phân xanh, phân chuồng.... Hợp chất P hữu cơ quan trọng nhất được phân giải ra từ tế bào vi sinh vật là nucleotide

- Nucleotide có trong thành phần nhân tế bào. Dưới tác động của các nhóm vi sinh vật hoại sinh trong đất, chất này tách ra khỏi thành phần tế bào và được phân giải thành hai phần protein và nucleic. Protein sẽ đi vào vòng chuyển hóa các hợp chất nitrogen, nucleic sẽ đi vào vòng chuyển hóa các hợp chất phosphore.

- Sự chuyển hóa các hợp chất phosphore hữu cơ thành muối của H_3PO_4 được thực hiện bởi nhóm vi sinh vật phân hủy phospho hữu cơ. Những vi sinh vật này có khả năng tiết ra enzyme phosphatase để xúc tác cho quá trình phân giải.

- Năm 1911, J. Stolasa phân lập được 03 loài vi khuẩn có khả năng phân hủy phosphore hữu cơ đều thuộc giống *Bacillus*.

- Sau này người ta đã tìm được rất nhiều loài vi sinh vật có khả năng phân hủy P hữu cơ theo sơ đồ tổng quát sau:



- H_3PO_4 thường phản ứng với các kim loại trong đất tạo thành các muối phosphate khó tan như $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 , AlPO_4

- Vi sinh vật phân giải P hữu cơ chủ yếu thuộc hai chi *Bacillus* và *Pseudomonas*. Các loài có khả năng phân giải mạnh là *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. malaberensis*. *Bacillus megaterium* vừa có khả năng phân giải hợp chất lân vô cơ vừa có khả năng phân giải lân hữu cơ. Được dùng làm phân vi sinh vật.

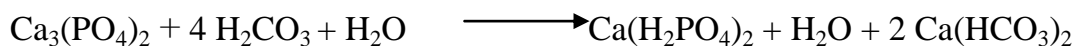
- Ngoài ra, còn có một số chủng nấm như *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* và xạ khuẩn *Streptomyces* cũng có khả năng phân giải P hữu cơ.

3.3. Sự phân giải phosphore vô cơ trong đất do vi sinh vật

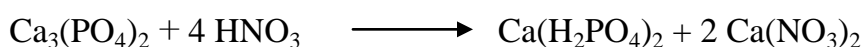
- Các hợp chất phosphore vô cơ được hình thành trong quá trình phân giải lân hữu cơ (gọi là quá trình khoáng hóa lân hữu cơ), là quá trình chuyển hóa các muối phosphate khó tan thành dạng dễ tan, cây trồng hấp thu dễ dàng.

- Quá trình này nhờ trong quá trình sống của một số chủng vi sinh vật có khả năng sinh acid, làm cho chúng có khả năng chuyển các hợp chất phosphore từ dạng khó tan thành dạng dễ tan.

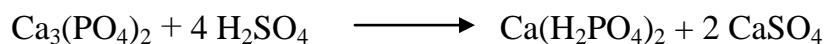
- Đa số các vi sinh vật phân giải phosphore vô cơ đều sinh CO₂ trong quá trình sống, CO₂ sẽ phản ứng với H₂O có trong môi trường tạo thành H₂CO₃. H₂CO₃ sẽ phản ứng với phosphate khó tan tạo thành phosphate dễ tan theo phương trình sau:



- Các vi khuẩn nitrate hóa trong đất cũng có khả năng phân giải phosphore vô cơ do có khả năng chuyển hóa NH₃ thành NO₃⁻ sẽ phản ứng với H⁺ thành HNO₃. Sau đó HNO₃ phản ứng với muối phosphate khó tan chuyển thành dạng dễ tan.



Các vi khuẩn sulphate hóa cũng có khả năng phân giải phosphate khó tan do trong quá trình sống có tạo thành acid H₂SO₄.



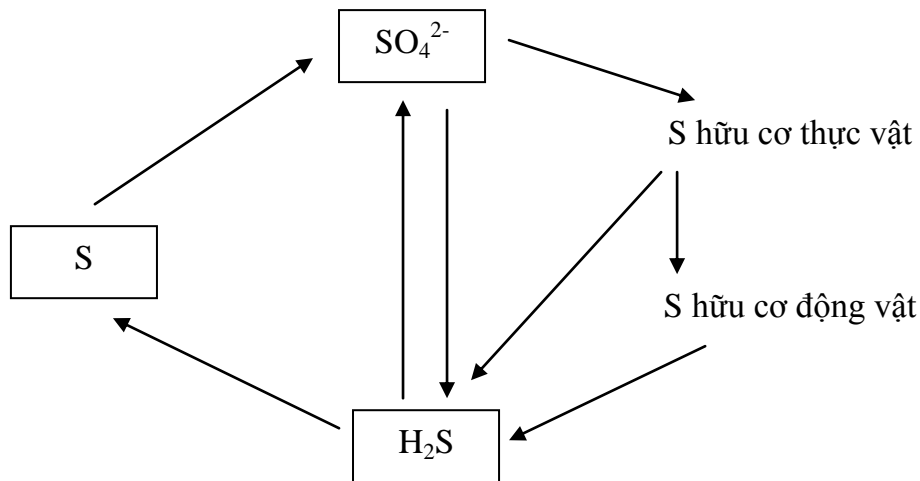
Ngoài ra, các nhóm vi sinh vật có khả năng tạo thành acid hữu cơ trong quá trình sống cũng có thể làm cho dạng phosphate khó tan chuyển thành dạng dễ tan.

Rất nhiều vi sinh vật có khả năng phân giải phosphore vô cơ, trong đó vi khuẩn được nghiên cứu nhiều hơn cả. Các loài có khả năng phân giải mạnh là *Bacillus megatherium*, *B. butyricus*, *B. mycoides*, *Pseudomonas radiobacter*, *P. gracilis*... trong nhóm nấm thì *Aspergillus niger* có khả năng phân giải mạnh nhất. Ngoài ra, một số xạ khuẩn cũng có khả năng phân giải phosphore vô cơ.

4. Sự chuyển hóa các hợp chất lưu huỳnh của vi sinh vật

4.1. Chu trình lưu huỳnh trong tự nhiên

Lưu huỳnh cũng là một trong những chất dinh dưỡng quan trọng của cây trồng. Ở trong đất lưu huỳnh tồn tại ở dạng các hợp chất muối vô cơ như CaSO₄, Na₂SO₄, FeS₂, Na₂S..... Trong cơ thể sinh vật, S nằm trong các thành phần của các acid amin chứa lưu huỳnh như methionin, cystein và trong nhiều loại enzyme quan trọng khác.

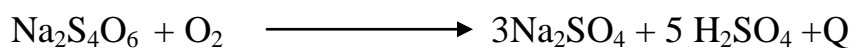
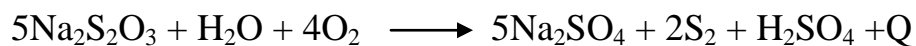
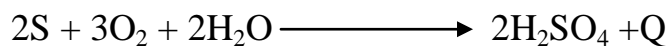
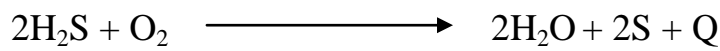


Hình 3.4 - Vòng tuần hoàn S trong tự nhiên

4.2. Sự oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh

4.2.1. Sự oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh do vi khuẩn tự dưỡng hóa năng

- Một số vi khuẩn tự dưỡng có khả năng oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh vô cơ như thiosulphate, khí hydro sulfur và lưu huỳnh nguyên chất thành dạng SO₄²⁻ theo phương trình sau:



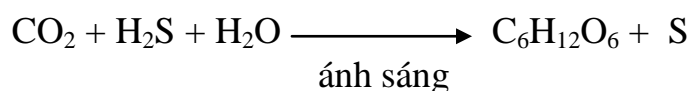
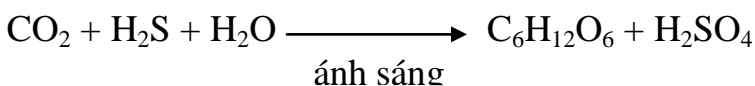
- Các vi khuẩn có khả năng oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh theo phương thức trên là *Thiobacillus thioparus* và *Thiobacillus thiooxidans*. Cả hai loài này đều sống ở pH thấp, thường là pH = 3 hoặc pH = 1 - 1,5

4.2.2. Sự oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh do vi khuẩn tự dưỡng quang năng

- Một số vi khuẩn tự dưỡng quang năng có khả năng oxy hóa H₂S tạo thành SO₄²⁻. H₂S đóng vai trò cho điện tử trong quá trình quang hợp của vi khuẩn.

- Các vi khuẩn thuộc họ *Thiodaceae* oxy hóa H₂S theo phương trình sau:

- Các phương trình sau:



- Ở các nhóm vi khuẩn trên, S được hình thành không tích lũy trong cơ thể mà ở ngoài môi trường

4.3. Sự khử các hợp chất lưu huỳnh vô cơ do vi sinh vật

- Ngoài quá trình oxy hóa, trong đất còn có quá trình khử các hợp chất lưu huỳnh vô cơ thành H_2S . Quá trình này còn gọi là quá trình phản sulphate hóa, được thực hiện trong điều kiện kỵ khí do vi khuẩn phản sulphate hóa.



- Ở đây, chất hữu cơ đóng vai trò cung cấp hydro trong quá trình khử SO_4 có thể là đường hoặc các acid hữu cơ hoặc các hợp chất hữu cơ khác. H_2SO_4 sẽ bị khử dần thành H_2S .

- Quá trình phản sulphate hóa dẫn đến việc tích lũy H_2S trong môi trường làm ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng đến đời sống của thực vật và động vật trong môi trường đó. Lúa mọc trong điều kiện yếm khí có quá trình phản sulphate hóa mạnh sẽ bị đen rễ và ảnh hưởng xấu đến quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng.

B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày các chu trình C, N, P, S
2. Phân tích vai trò của vi sinh vật trong các chu trình sinh địa hóa;
3. Trình bày các quá trình lên men, quá trình oxy hóa không hoàn toàn và ứng dụng của các quá trình này trong đời sống.

CHƯƠNG 4 – VI SINH VẬT GÂY BỆNH VÀ KÝ SINH TRÙNG TRONG NƯỚC THẢI SINH HOẠT

Mục tiêu:

- Trình bày được các khái niệm liên quan đến dịch tễ học;
- Liệt kê được các nhóm vi sinh vật gây bệnh, ký sinh trùng có trong nước thải sinh hoạt;
- Phân biệt được các phương thức lây nhiễm.

A. NỘI DUNG

1. Một số định nghĩa

Dịch tễ học: là khoa học về sự lan truyền của bệnh truyền nhiễm trong quần thể. Những bệnh truyền nhiễm là những bệnh có thể lan từ một vật chủ này sang vật chủ khác.

Nhiễm trùng: là sự xâm nhập vào vật chủ bởi một vi sinh vật truyền nhiễm qua đường tiêu hóa, đường hô hấp và qua da.

Tính sinh bệnh: là khả năng của một tác nhân truyền nhiễm gây nên bệnh và làm tổn thương vật chủ.

Ổ chứa của các tác nhân truyền nhiễm: có thể hữu sinh hoặc vô sinh của những tác nhân truyền nhiễm và cho phép vi sinh vật gây bệnh tồn tại và phân chia. Cơ thể người là ổ chứa của nhiều vi sinh vật gây bệnh. Vật nuôi và vật hoang dại cũng là ổ chứa cho một số loại bệnh như bệnh dại, lao, ... Những ổ chứa vô sinh như nước, nước thải, thực phẩm và đất... là chỗ trú ngụ cho những tác nhân truyền nhiễm.

2. Các phương thức lây bệnh

- Lây bệnh từ người sang người: phương thức lây bệnh tiếp xúc trực tiếp như bệnh giang mai, bệnh lậu, AIDS.
- Lây bệnh do nguồn nước và thực phẩm: đóng vai trò vật chuyển chở cho việc lây những bệnh truyền nhiễm bởi vi khuẩn, virus, protozoa và giun sán. Gồm các bệnh dịch tả, sốt thương hàn...
- Lây bệnh do không khí: SARS – hội chứng hô hấp cấp tính nặng, một bệnh viêm phổi không điển hình do virus Corona biến tính gây ra. Bệnh lan truyền qua đường hô hấp, do tiếp xúc trực gần gũi với người bệnh.

3. Vi sinh vật gây bệnh trong nước thải sinh hoạt

Vi khuẩn trong nước thải đã được đặc trưng và thuộc những nhóm sau:

- Vi khuẩn Gram (-), tùy tiện: *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* và *Shigella*.
- Vi khuẩn Gram (-), hiếu khí: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* và *Acinetobacter*.
- Vi khuẩn Gram (+) sinh bào tử: *Bacillus* sp.
- Vi khuẩn Gram (+) không sinh bào tử: *Arthrobacter*, *Rhodococcus*.

3.1. *Salmonella*

- Là vi khuẩn sinh bệnh chiếm ưu thế trong nước thải, gây bệnh thương hàn, phó thương hàn và viêm dạ dày ruột.

- Số lượng trong nước thải thay đổi từ vài tế bào cho đến 8000 tế bào vi sinh vật trong 100ml.
- Sự nhiễm *Salmonella* chủ yếu do nhiễm thực phẩm bản nhưng sự lây lan bệnh này do nguồn nước uống.
- *Salmonella typhi* là nguyên nhân gây bệnh sốt thương hàn – một bệnh gây chết người nhưng đã được kiểm soát nhờ những tiến bộ của công nghệ xử lý nước (chlor hóa). Vi sinh vật này tạo ra độc tố gây sốt, buồn nôn, tiêu chảy và có thể tử vong.
- Trong thực phẩm bị nhiễm bản có thể có *S. paratyphi* và *S. typhimurium*. Những loài này có thể phát triển dễ dàng trong thực phẩm bị nhiễm bản và gây ngộ độc thực phẩm.
- *S. typhimurium* và *S. enteritidis* gây viêm dạ dày ruột, gây tiêu chảy và đau quặn bụng.

3.2. Shigella

- Là tác nhân của lị trực khuẩn, một bệnh tiêu chảy có máu do sự viêm và loét của niêm mạc ruột. *Shigella flexneri*, *S. dysenteriae*, *S. boydii* và *S. sonnei*. Những vi khuẩn gây bệnh này được lây truyền do sự tiếp xúc trực tiếp với những người bị nhiễm khuẩn.
- Phương thức tiếp xúc người – người là phương thức lây bệnh chính, nhưng khả năng lây nhiễm từ thực phẩm và nước vẫn xảy ra. Nước ngầm được phát hiện là thủ phạm làm bùng phát hiện tượng nhiễm *Shigella* cho 1200 người ở Florida.

3.3. Vibrio cholera

- Là phẩy khuẩn, chứa độc tố ruột gây nên tiêu chảy từ nhẹ đến nặng, nôn ói, mất nước nhanh, có thể gây nên tử vong trong khoảng thời gian ngắn. Phương thức lây nhiễm hoàn toàn qua nước.
- Được tìm thấy trong nước thải từ $10 - 10^4$ tế bào trong 100ml nước thải. Vi khuẩn này cũng tồn tại một cách tự nhiên trong môi trường và gắn với những chất thải rắn, động vật phiêu sinh, thực vật phiêu sinh.

3.4. E.coli

- Một số chủng không gây bệnh, được tìm thấy trong hệ tiêu hóa người và động vật máu nóng. Một số chủng có độc tố ruột gây viêm dạ dày, ruột, gây tiêu chảy nước nhiều kèm theo nôn ói và đau quặn bụng.
- Thức ăn và nước là yếu tố quan trọng gây lây bệnh. Một số chủng gây tiêu chảy của *E.coli* được phát hiện trong nước đã xử lý.

3.5. Yersinia

- *Yersinia enterocolitica* là tác nhân gây viêm dạ dày ruột cấp. Nhiều động vật nuôi, động vật hoang dại là ổ chứa vi khuẩn này, đặc biệt là lợn.
- Vi khuẩn này có thể phát triển ở nhiệt độ thấp tới 4⁰C, được phân lập từ nước thải sau khi xử lý, nước chưa nấu chín và đôi khi từ nước uống.

3.6. Campylobacter

- Được phát hiện trên bề mặt nước, nước uống và nước thải nhưng không có trong bùn đã tiêu hủy. Trên bề mặt nước có thể xuất hiện theo mùa, mùa thu nhiều hơn mùa đông.

- Số lượng *Campylobacter* không phụ thuộc số lượng vi khuẩn dị dưỡng, coliform phân hay *Streptococcus* phân.

- Gây bệnh cho người cũng như động vật nuôi, động vật hoang dại. Gây viêm sốt dạ dày cấp: buồn nôn, đau bụng, tiêu chảy.

- Gây nhiễm tới người do thức ăn nhiễm bẩn, chủ yếu là gia cầm và nước nhiễm bẩn.

3.7. *Leptospira*

- Là những xoắn khuẩn nhỏ có thể đi vào vật chủ qua những vết xước của da hay qua niêm mạc. Gây bệnh *Leptospira*, có đặc tính là phân tán những vi khuẩn trong máu của bệnh nhân và sau đó nhiễm trùng thận và hệ thần kinh trung ương.

- Bệnh có thể lây từ súc vật (loài gặm nhấm, thú nuôi cảnh và hoang dại) tới người khi tiếp xúc với nước bị ô nhiễm bởi chất thải của súc vật. Tuy nhiên, vi khuẩn này ít có cơ hội gây bệnh bởi chúng không có khả năng tồn tại lâu trong nước thải.

4. Virus gây bệnh

- Nước và nước thải có thể bị nhiễm bẩn bởi khoảng 140 loại virus đường ruột. Những virus này xâm nhập vào cơ thể người bằng miệng nhân lên trong đường tiêu hóa và bài xuất với số lượng lớn trong phân.

- Nhiều virus đường ruột gây nhiễm trùng ẩn rất khó phát hiện, là nguyên nhân gây các bệnh phát ban, sốt, nhiễm trùng hô hấp và viêm kết mạc tới viêm đường ruột và liệt.

- Theo quan điểm dịch tễ, virus ruột chủ yếu được truyền qua sự tiếp xúc người – người. Tuy nhiên, vẫn có thể lan truyền qua nước bằng con đường trực tiếp (uống nước, bơi) hay gián tiếp qua thực phẩm bị nhiễm bẩn.

- Nghiên cứu dịch tễ đã chứng minh sự lây nhiễm của những bệnh virus như viêm gan và viêm dạ dày ruột do nước và thực phẩm.

4.1. Viêm gan

Viêm gan chủ yếu do các loại virus sau:

- Viêm gan truyền nhiễm do virus viêm gan A (HA V), một enterovirus RNA 27nm, thời gian ủ bệnh 2-6 tuần, lây nhiễm từ phân –miệng hoặc qua tiếp xúc trực tiếp hoặc qua thức ăn. HA V gây tổn thương gan do hoại tử và viêm. Một triệu chứng đặc trưng là vàng da.

- Viêm gan huyết thanh do virus viêm gan B (HB V), virus DNA 42nm, có thời gian ủ bệnh tương đối dài, lây nhiễm do tiếp xúc với máu bị nhiễm hoặc qua con đường tình dục. Tỷ lệ tử vong cao hơn viêm gan truyền nhiễm.

- Viêm gan siêu vi không A, không B do hai loại virus: flavivirus 50-60nm, triệu chứng lâm sàng và dịch tễ giống như viêm gan siêu vi B; calcivirsu 32-34nm với đặc tính giống viêm gan A.

- Viêm gan delta mãn tính do virus RNA 28-35nm, đặc tính dịch tế và lâm sàng giống virus viêm gan B.

4.2. Viêm đường ruột

- Viêm đường ruột là bệnh truyền nhiễm do nước là phổ biến nhất. Nguyên nhân là những loại ký sinh trùng protozoa, vi khuẩn và virus gây bệnh. Nhóm virus gây viêm đường ruột thường gặp Rotavirus và virus Norwalk

- Rotavirus thuộc họ Reoviridae, là những hạt có kích thước 70nm, chưa có chuỗi xoắn kép RNA. Lây nhiễm chủ yếu qua đường phân – miệng nhưng cũng có thể qua đường hô hấp.

- Là nguyên nhân chính gây viêm đường ruột cấp ở trẻ em dưới 2 tuổi, gây tử vong ở trẻ nhỏ ở những nước đang phát triển. Một số trường hợp bùng phát viêm đường ruột do Rotavirus ở trong nước thải.

- Virus Norwalk là virus nhỏ 27nm phát hiện đầu tiên ở Norwalk, Ohio. Là nguyên nhân chính của bệnh lây nhiễm do nước và gây nên những vụ bùng phát dịch bệnh do thực phẩm. Gây tiêu chảy, nôn ói và tấn công vào đoạn ruột non trên, nhưng chưa rõ về cơ chế sinh bệnh.

- Virus Norwalk đóng vai trò quan trọng gây viêm đường ruột do nước truyền và cũng là nguyên nhân gây tiêu chảy cho khách du lịch.

5. Ký sinh trùng

5.1. Giardia lamblia

- Kí sinh trùng có roi, thể dưỡng bào hình quả lê (9-21µm dài) . Giai đoạn hình trứng (8-12 µm dài, 7-10 µm rộng), có trong nước thải sinh hoạt, các động vật hoang dại.

- Gây bệnh tiêu chảy. Triệu chứng: đau bụng, tiêu chảy, buồn nôn, mệt mỏi, ít khi gây chết. vi khuẩn này.

- Trong 1lit nước thải tồn tại từ hàng trăm – hàng ngàn nang trứng.

5.2. Cryptosporidium: 1 dạng cầu khuẩn Entamoeba histolytica Naegleria - Cryptosporidium

- Chu trình sống của Cryptosporidium - Kén trứng thụ tinh trong phân của vật chủ nhiễm bệnh môi trường nước và theo đường ăn uống đi vào cơ thể của vật chủ khác.

- Trong dạ dày hạt bào tử rời khỏi kén và các tế bào biểu mô ký sinh. Chu kỳ sống ký sinh trùng tồn tại trong nội bào, bao quanh bởi màng và một lớp mảnh các tế bào chất.

- Hạt bào tử cá thể dinh dưỡng hình cầu nhân đôi vô tính thành hai thể nứt rời.

- Loại I chứa 6 – 8 nhân, đồng hoá thành 6 – 8 thể ngắn khi trưởng thành. Mỗi thể ngắn có thể gây ảnh hưởng đến tế bào chủ mới, hoặc phát triển thành một thể nứt rời loại I mới, hoặc thành thể nứt rời loại II chứa bốn thể ngắn khi trưởng thành.

- Thể ngắn loại II cũng chiếm những tế bào chủ mới, nhưng ban đầu nhân đôi giới tính bằng cách phân thành giống đực và giống cái. Cùng với sự giảm phân, tế bào giao tử đực chứa tinh trùng đực, thụ tinh với tế bào giao tử cái. Tế bào giao tử cái đã thụ tinh, hoặc trứng thụ tinh (hợp tử), phát triển thành kén hợp tử, phân bào trong vật chủ. Khi sự hình thành bào tử hoàn tất, mỗi kén trứng chứa bốn hạt bào tử. Một số theo

đường phân hay hô hấp ra ngoài, một số giải phóng các hạt bào tử, phát triển thành trứng, hình thành bào tử bằng sinh sản hữu giao.

5.3. *Cryptosporidium Toxocara canis*

- Phát triển trong vật chủ trung gian thành ấu trùng(cysticercus) tới vật chủ cuối cùng là con người. Chúng xâm nhập vào mắt, cơ, não gây nên rối loạn ruột, đau bụng, giảm cân. *Toxocara canis*: những rối loạn ruột, ấu trùng của chúng di cư vào mắt gây tổn thương nhãn cầu nghiêm trọng có thể dẫn tới mù lòa.

5.4. *Ascaris lumbricoides* (giun đũa): ấu trùng của chúng di chuyển qua phổi gây ra viêm phổi

5.5. *Trichuris trichiura*: gây bệnh giun xoắn ở người.

- Ngoài ra, một số loại tảo lục lam như *Anabaena flos – aquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Chizothrix calcicola* có khả năng tạo ngoại độc tố (peptide, alkaloids), nội độc tố (liposacharide) gây triệu chứng viêm dạ dày, ruột.

B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày các khái niệm liên quan đến dịch tễ học;
2. Trình bày các phương thức lây nhiễm
3. Nêu đặc điểm các nhóm vi sinh vật gây bệnh, ký sinh trùng có trong nước thải sinh hoạt.

CHƯƠNG 5- VI SINH VẬT TRONG XỬ LÝ CHẤT THẢI RẮN

Mục tiêu:

- Trình bày được các nhóm vi sinh vật tham gia trong quá trình xử lý chất thải bằng phương pháp chôn lấp trong sản xuất phân hữu cơ – compost;
- Phân tích được các yếu tố ảnh hưởng đến các quá trình xử lý chất thải rắn;
- Phân tích được hoạt động của vi sinh vật trong quá trình chôn lấp.

A. NỘI DUNG

1. Chất thải rắn

- Chất thải rắn là chất thải ở dạng rắn hoặc dạng bùn được sinh ra trong quá trình sinh hoạt, trong các hoạt động sản xuất công nghiệp, nông nghiệp, trong dịch vụ con người, cũng như trong quá trình sinh trưởng, phát triển và chết của động, thực vật trong tự nhiên.
- Lượng chất thải rắn tạo ra bình quân tính theo đầu người trên Trái Đất là 20 -30 tấn/người/ năm, trong đó chất thải sinh hoạt là 0,2 -3kg/người/ ngày.

2. Xử lý chất thải rắn bằng phương pháp chôn lấp

2.1. Định nghĩa

- Quy định của TCVN 6696 - 2000, định nghĩa bãi chôn lấp hợp vệ sinh: “*Khu vực được quy hoạch thiết kế, xây dựng để chôn lấp các chất thải phát sinh từ các khu dân cư, đô thị và các khu công nghiệp. Bãi chôn lấp chất thải rắn bao gồm các ô chôn lấp chất thải, vùng đệm và các công trình phụ trợ: trạm xử lý nước rác, khí thải, cung cấp điện,...*”
- Thực chất của chôn lấp là cho rác vào các ô chôn lấp và cô lập với môi trường xung quanh bởi lớp lót đáy, lót thành hai bên và lớp che phủ bên trên bề mặt, khí và nước rác sinh ra đều được thu gom xử lý riêng cho từng loại.
- Chôn lấp hợp vệ sinh là một phương pháp kiểm soát sự phân hủy của chất thải rắn khi chúng được chôn nén và phủ lấp bên trên.
- Trong phương pháp xử lý chất thải rắn thì chôn lấp là phương pháp phổ biến và đơn giản nhất. Chất đem đi chôn là những chất không tái chế, không làm phân hữu cơ, hay là được thải ra từ các quá trình làm phân hữu cơ, đốt, quá trình khác,... ở Việt Nam hiện tại trên 90% rác thu gom được đều xử lý bằng phương pháp chôn lấp.

2.2. Phân loại

- Theo loại chất thải được chôn lấp:
 - + Bãi chôn lấp rác sinh hoạt
 - + Bãi chôn lấp chất thải công nghiệp
 - + Bãi chôn lấp chất thải nguy hại
 - + Bãi chôn lấp tro xỉ.
- Theo kích thước cỡ quy mô diện tích bãi chôn lấp được phân thành:
 - + Bãi chôn lấp nhỏ Có diện tích nhỏ hơn 10 ha
 - + Bãi chôn lấp trung bình Từ 10 - 30 ha
 - + Bãi chôn lấp lớn Từ 30 đến 50 ha
 - + Bãi chôn lấp rất lớn Trên 50 ha

- Theo kết cấu bãi chôn lấp được chia thành ba loại:

+ Bãi chôn lấp nổi: Chất thải được chất cao lên mặt đất, bãi chôn lấp này thường được áp dụng tại các vùng đất phẳng, xung quanh bãi chôn lấp phải có hệ thống đê kè để cách ly chất thải, nước rác với môi trường xung quanh.

+ Bãi chôn lấp chìm: Chất thải được chôn lấp sâu dưới mặt đất và được cách ly với môi trường ngoài thông qua hệ thống lót đáy và lớp phủ bên trên.

+ Bãi chôn lấp nửa chìm nửa nổi: Một phần được chôn lấp sâu dưới đất, một phần nổi lên trên mặt đất.

2.3. Hoạt động của vi sinh vật trong bãi chôn lấp

Có thể chia thành 5 giai đoạn

- *Giai đoạn 1*: Bắt đầu từ lúc đặt chất thải vào bãi chôn lấp. Xảy ra quá trình phân hủy hiếu khí phần hữu cơ dễ phân hủy sinh học có trong bãi thải. Do ở giai đoạn này có mặt oxy trong không khí nằm trong không gian trống giữa các bãi thải. Các vi sinh vật tham gia vào quá trình phân hủy sinh học có sẵn trong rác, trong lớp đất phủ hàng ngày, trong nước rác tuần hoàn lại.

- *Giai đoạn 2*: Giai đoạn chuyển tiếp, oxy bắt đầu cạn kiệt và điều kiện kỵ khí bắt đầu được hình thành. Các chất hữu cơ bị phân hủy kỵ khí bắt đầu giai đoạn thủy phân và giai đoạn acid hóa, pH của rác thải sẽ giảm, các gốc NO_3^- , SO_4^{2-} sẽ bị khử thành N_2 và S^{2-} .

- *Giai đoạn 3*: Trong giai đoạn này các vi sinh vật hoạt động đầy mạnh quá trình acid hóa các sản phẩm thủy phân các hợp chất hữu cơ phân tử lớn (lipid, polysaccharid, protein.....) tạo thành một lượng lớn acid hữu cơ chủ yếu là CH_3COOH , một ít acid fulvic và các acid hữu cơ phức tạp hơn. Các vi sinh vật tham gia giai đoạn này chủ yếu là acid hóa. pH của nước rác khoảng ≤ 5 sẽ làm tăng độ hòa tan của các kim loại nặng có trong bãi thải. BOD, COD của nước rác cũng tăng.

- *Giai đoạn 4*: Giai đoạn methane hóa. Các vi khuẩn methane bắt đầu hoạt động, đầy mạnh quá trình biến đổi các chất hữu cơ của giai đoạn acid hóa thành CH_4 và CO_2 , quá trình acid hóa giảm dần, pH của nước rác sẽ tăng dần đến giá trị 6,8 -8 và độ hòa tan của kim loại nặng cũng giảm. BOD, COD của nước rác cũng giảm.

- *Giai đoạn 5*: Trong các bãi rác chỉ còn các chất hữu cơ khó phân hủy sinh học, tùy vào cách đóng bãi chôn lấp có thể có một ít O_2 và N_2 trong bãi rác.

Thời gian các giai đoạn phân hủy sinh học tùy thuộc vào các yếu tố: thành phần hữu cơ trong rác, độ ẩm của rác, độ nén của rác.... Các chất hữu cơ dễ phân hủy có thể bị phân hủy ngay trong ngày chôn vào bãi rác, còn các chất khó phân hủy có thể kéo dài khoảng 5 - 50 năm sau.

3. Phương pháp xử lý ủ rác lên men sản xuất phân hữu cơ - compost

3.1. Định nghĩa

- Ủ sinh học (compost) có thể được coi như là quá trình ổn định sinh hóa các chất hữu cơ nhờ vi sinh vật để tạo thành các sản phẩm có lợi như phân hữu cơ (phân hủy hiếu

khí) hoặc thu khí CH₄ (phân hủy kỵ khí), với thao tác và kiểm soát một cách khoa học tạo môi trường tối ưu cho quá trình.

- Quá trình ủ được thực hiện theo hai phương pháp:

+ Phương pháp ủ hiếu khí (thời khí cưỡng bức)

+ Phương pháp ủ kỵ khí

- Ưu điểm của phương pháp làm phân hữu cơ

+ Giảm lượng chất thải phát sinh (khoảng 50% lượng chất thải sinh hoạt).

+ Tạo ra sản phẩm phân hữu cơ phục vụ cho trồng trọt (thay thế một phần cho phân hóa học, tạo độ xốp cho đất, sử dụng an toàn, dễ dàng).

+ Thay thế một phần việc sử dụng phân hóa học và không gây tổn hại cho cây trồng

+ Góp phần cải tạo đất (giúp tăng độ mùn, tơi xốp của đất)

+ Tiết kiệm bãi chôn lấp, giảm ảnh hưởng gây ô nhiễm môi trường của chất thải rắn.

+ Vận hành đơn giản, dễ bảo trì và kiểm soát chất lượng sản phẩm.

+ Giá thành để xử lý tương đối thấp.

- Nhược điểm:

+ Yêu cầu diện tích đất để xây dựng nhà xưởng lớn.

+ Chất lượng sản phẩm chưa cao, chưa ổn định.

+ Gặp khó khăn khi tiêu thụ sản phẩm.

+ Mức độ tự động của công nghệ không cao.

+ Việc phân loại còn mang tính thủ công nên thường ảnh hưởng đến sức khỏe của công nhân làm việc

+ Nạp nguyên liệu thủ công do vậy công suất kém.

+ Yêu cầu những chất thải có hàm lượng hữu cơ để phân hủy sinh học lớn hơn 50%.

3.2. Các vi sinh vật tham gia trong quá trình phân hủy

- Quá trình ủ phân (compost) là một quá trình oxy hóa hóa - sinh các chất hữu cơ do các loại vi sinh vật khác nhau. Những vi sinh vật phát triển theo cấp số nhân, đầu tiên là chậm và sau nhanh hơn. Gồm các nhóm vi sinh vật chính sau:

- Vi sinh vật phân giải cellulose

+ Gồm các nhóm vi sinh vật có chứa enzyme cellulose ngoại bào.

+ Các loại nấm mốc như *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Tricoderma*...trong đó đáng quan tâm nhất là *Tricoderma* có khả năng phân giải mạnh.

+ Vi khuẩn cũng có khả năng phân giải cellulose nhưng cường độ không mạnh bằng nấm mốc. Do hàm lượng enzyme tiết ra môi trường bên ngoài thường ít và thành phần enzyme không đầy đủ. Trong điều kiện kỵ khí có *Clostridium*, *Ruminococcus* có khả năng phân giải cellulose thành đường và acid hữu cơ. Đây cũng là các chủng vi khuẩn có trọng dạ cỏ của động vật nhai lại.

Ngoài ra người ta thường sử dụng chủng xạ khuẩn, đặc biệt là chi *Streptomyces* trong việc phân hủy rác thải sinh hoạt. Những chủng xạ khuẩn này thường thuộc nhóm ưa nóng, sinh trưởng và phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 45 - 50⁰C rất thích hợp với quá trình ủ rác thải.

- Vi sinh vật phân giải protein

+ Trong môi trường rác ủ đông, nitrogen tồn tại ở các dạng khác nhau, từ nitrogen phân giải ở dạng khí đến các hợp chất hữu cơ phức tạp có trong cơ thể động vật, thực vật và con người. Trong cơ thể sinh vật, nitrogen tồn tại chủ yếu dưới dạng hợp chất đạm như protein, acid amine.

+ Nhờ tác dụng của các nhóm vi sinh vật hoại sinh, protein sẽ được phân giải thành các acid amine. Qua quá trình khoáng hóa các acid amin này được chuyển từ dạng nitrogen hữu cơ thành dạng nitrogen khoáng. Dạng NH₄⁺ sẽ chuyển thành dạng NO₃⁻ nhờ vi khuẩn nitrat hóa. Các hợp chất nitrat lại chuyển thành N₂ phân tử.

Trong quá trình ủ, nhóm vi khuẩn chính là phân giải protein là vi khuẩn nitrat hóa và vi khuẩn cố định nitrogen.

- Vi sinh vật phân giải tinh bột

+ Trong bể ủ rác có nhiều loại vi sinh vật có khả năng phân giải tinh bột, là các vi sinh vật có khả năng tiết ra môi trường một trong các loại enzyme trong hệ enzyme amylase.

+ Nhóm nấm mốc thuộc các chi *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*.... Các chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*, *Cytophase*, *Pseudomonas*... Xạ khuẩn cũng có một số chi có khả năng phân hủy tinh bột.

- Vi sinh vật phân giải phosphate

+ Phospho được tích lũy trong rác thải khi động thực vật chết đi, những hợp chất phospho hữu cơ này được vi sinh vật phân giải thành các hợp chất phosphat vô cơ.

+ Vi sinh vật phân giải lân hữu cơ thuộc hai chi *Bacillus* và *Pseudomonas*. Các loài có khả năng phân giải mạnh là *Bacillus megatherium*, *B. mycoides* và *Pseudomonas* sp.

Ngoài ra, một số nấm mốc, xạ khuẩn cũng có khả năng phân giải phospho hữu cơ, đặc biệt là *Aspergillus niger* có khả năng phân giải mạnh nhất.

3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình ủ phân hữu cơ

3.3.1. Vi sinh vật

- Vi sinh vật theo nhiệt độ được phân thành ba nhóm

+ Nhóm vi sinh vật ưa lạnh: -10 → 20⁰C (15⁰C)

+ Nhóm vi sinh vật ưa ấm: 20 → 50⁰C (35⁰C)

+ Nhóm vi sinh vật ưa nóng 45 → 75⁰C (55⁰C)

- Đối với quá trình phân huỷ chất hữu cơ trong sản xuất phân hữu cơ, hai nhóm sinh vật ưa ấm và ưa nóng chiếm ưu thế. Tuy nhiên những vi sinh vật này vốn tồn tại sẵn

trong môi trường tự nhiên, chúng ta chỉ tạo điều kiện thuận lợi nhất để nhóm sinh vật này sinh trưởng phát triển

3.3.2. Kích cỡ

- Kích cỡ của rác thải thường không đồng nhất, như vậy không có lợi cho quá trình phân huỷ rác thải → do vậy chúng ta phải cắt để rác có kích cỡ theo yêu cầu để đạt được hiệu quả cao, tốt nhất là vào khoảng 5 cm.

3.3.3. Tỷ lệ C/N

- Tỷ lệ C/N là một yếu tố cần chú ý đối với quá trình sản xuất phân hữu cơ, xác định nguồn dinh dưỡng cung cấp cho vi sinh vật trong quá trình ủ. Giới hạn này có tỷ lệ tốt nhất là vào khoảng từ 20-25/1 (trong đó bùn thường có tỷ lệ thấp, các chất thải vườn có tỷ lệ khá cao).

3.3.4. Độ ẩm

- Là một trong những nhân tố quan trọng cần phải xem xét trong quá trình ủ sinh học, độ ẩm thuận lợi nhất cho quá trình phân huỷ sinh học từ 50 -60%. Độ ẩm có thể được điều chỉnh bằng cách trộn thêm các thành phần khô hoặc nước (nước bùn, phân hầm cầu). Khi độ ẩm thấp hơn 40% khả năng phân huỷ sinh học sẽ chậm đi nhưng độ ẩm quá cao sẽ ảnh hưởng đến quá trình lưu thông trao đổi khí trong các đồng ủ.

3.3.5. Nhiệt độ

- Hệ thống phân huỷ sinh học hiếu khí được phân huỷ bởi các nhóm vi sinh vật ưa ấm (30-38⁰C) và nhóm ưa nhiệt (55 - 60⁰C). Trong quá trình theo dõi các hoạt động ủ rác sinh học đã phát sinh các phản ứng tỏa nhiệt liên quan đến quá trình hô hấp trao đổi chất. Nhiệt độ của các đồng ủ có thể được điều chỉnh bởi các dòng khí lưu thông. Trong ủ rom rạ có thể được điều chỉnh gián tiếp bằng cách đảo trộn. Nhìn chung sau quá trình trộn nhiệt độ giảm xuống 5-10⁰C, nhưng nhiệt độ sẽ tăng trở lại với nhiệt độ ban đầu sau vài giờ đồng hồ. Nhiệt độ trong đồng ủ sẽ giảm sau dần khi đồng ủ chín.

3.3.6. pH

- Là một yếu tố quan trọng trong quá trình ủ, việc điều chỉnh pH nhằm tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình ủ. Giá trị pH sẽ có biến động rất lớn trong suốt thời gian ủ. Giá trị khởi đầu của các thành phần hữu cơ trong rác đặc trưng từ 5-7. Những ngày tiếp theo giá trị pH ≤ 5. Giai đoạn này sinh khối hữu cơ giai đoạn tích lũy nhiệt, nhóm sinh vật ưa nhiệt trung bình sẵn có trong rác thải bắt đầu phát triển và nhiệt độ tăng lên nhanh chóng (sau khoảng 3 ngày) và đạt nhiệt độ cao, lúc này pH tăng lên 8 - 8,5. Sau đó quá trình ủ phân chín, nhiệt độ lạnh dần và pH giảm về 7 - 8.

3.3.7. Các mầm bệnh

- Sự phân huỷ diệt các mầm bệnh của các sinh vật là quan trọng trong khi thiết kế các thành phần trong quá trình ủ sinh học. Dựa vào khả năng chịu nhiệt và điều kiện hiếu khí có thể tiêu diệt một số mầm bệnh. Như *Salmonella* có thể bị phân huỷ trong 15 -20 phút ở nhiệt độ 60⁰C, hoặc trong 1 giờ ở nhiệt độ 55⁰C. Hầu hết các vi sinh vật gây bệnh đều chết nhanh chóng khi nhiệt độ đạt đến 55⁰C, chỉ có một số loài sống sót ở nhiệt độ trên 67⁰C trong thời gian ngắn.

B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày các nhóm vi sinh vật tham gia trong quá trình xử lý chất thải bằng phương pháp chôn lấp trong sản xuất phân hữu cơ – compost.
2. Phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến các quá trình xử lý chất thải rắn.
3. Phân tích các hoạt động của vi sinh vật trong quá trình chôn lấp.

CHƯƠNG 6 - VI SINH VẬT TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI

Mục tiêu:

- Phân tích được vai trò của vi sinh vật tham gia trong các hình thức xử lý nước thải;
- Giải thích được cơ chế sinh học trong xử lý hiếu khí, kỵ khí trong quá trình xử lý nước thải.

A. NỘI DUNG

- Nước đóng vai trò rất quan trọng trong việc điều hoà khí hậu và cho sự sống trên Trái Đất. Nước là dung môi lý tưởng để hoà tan, phân bố các chất vô cơ, hữu cơ, làm nguồn dinh dưỡng cho giới thủy sinh cũng như động thực vật trên cạn, cho thế giới vi sinh vật và cho cả con người. Nước giúp cho các tế bào vi sinh vật trao đổi dinh dưỡng, tham gia vào các phản ứng hoá sinh và cấu tạo tế bào mới. Ở đâu có nước ở đó có sự sống và ngược lại. Nhu cầu về nước sinh hoạt của người dân đô thị khoảng 100 - 150 lít/ngày. Để cung cấp tưới tiêu thủy lợi, cho các ngành công nghiệp chế biến nông sản, chế biến các sản phẩm khác như luyện kim, dệt sợi, giấy....yêu cầu một khối lượng nước khá lớn.

- Nước dùng trong sinh hoạt, trong sản xuất nông nghiệp, công nghiệp, dịch vụ. Sau khi sử dụng đều trở thành nước thải, bị ô nhiễm với các mức độ khác nhau và lại đưa trở lại các nguồn nước và nếu không được xử lý thì sẽ gây ô nhiễm môi trường. Hơn nữa, hàng năm nạn phá rừng trên toàn cầu rất lớn làm cho lớp thực vật che phủ đất bị suy giảm, lượng nước ngọt dễ bay hơi và mức nước ngầm bị hạ xuống. Như vậy, số lượng nước ngọt từ các ao hồ, sông ngòi và một phần nước ngầm bị kiệt dần là chất lượng nước cũng bị suy giảm.

1. Bùn hoạt tính

- Bùn hoạt tính là tập hợp các vi sinh vật khác nhau, chủ yếu là vi khuẩn, kết lại thành dạng hạt bông với trung tâm là các hạt chất rắn lơ lửng ở trong nước. Các hạt bông này có màu vàng nâu dễ lắng có khối lượng từ 3- 150 μ g, gồm các vi sinh vật sống và cặn rắn. Bùn hoạt tính lắng xuống là “bùn già”, hoạt tính giảm. Nếu được hoạt hoá sẽ sinh trưởng trở lại và hoạt tính được phục hồi.

- Trong nước thải, sau một thời gian làm quen, các tế bào vi khuẩn bắt đầu sinh trưởng và phát triển. Nước thải bao giờ cũng có các hạt chất rắn lơ lửng khó lắng. Các tế bào vi khuẩn sẽ dính vào các hạt lơ lửng này và phát triển thành các hạt bông cặn có hoạt tính phân huỷ các chất hữu cơ nhiễm bẩn nước và dần được lớn lên do hấp phụ nhiều hạt rắn lơ lửng nhỏ cùng tế bào vi sinh vật, nguyên sinh động vật. Những hạt bông này khi ngừng thổi khí hoặc nguồn dinh dưỡng cạn kiệt chúng sẽ lắng xuống đáy bể hoặc hồ tạo thành bùn. Bùn này được gọi là bùn hoạt tính.

- Các vi sinh vật trong nước thải chủ yếu là vi khuẩn dị dưỡng, chúng cần có ở trong môi trường các chất hữu cơ có thể đồng hoá làm cơ chất dinh dưỡng - ở nước thải biểu thị là BOD. Ngoài ra, các chất dinh dưỡng nguồn nitơ là NH_4^+ và nguồn P là PO_4^{3-} , các nguyên tố khoáng khác K, Mg, Ca và các nguyên tố vi lượng (sắt, đồng, kẽm, mangan...). Các chất khoáng và vi lượng này thường có đủ trong nước thải sinh hoạt.

- Số lượng vi sinh vật trong bùn dao động trong khoảng 10^8 - 10^{12} trên 1mg chất khô. Phần lớn chúng là *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*.... Ngoài ra còn có các chủng *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Acetobacter*, *Hyphomicrobium*, *Thiobacillus*, đặc biệt là *Sphacrotilus* và *Cladothrix*.

- Trong khối nhày có loài *Zooglea*, đặc biệt là *Z. ramigoza*, rất giống *Pseudomonas*. Chúng có khả năng sinh ra một bao nhày xung quanh tế bào. Bao nhày này là một polyme sinh học, thành phần là polysaccharide, có tác dụng kết các tế bào vi khuẩn thành hạt bông.

- Các chất keo dính trong bao nhày của bùn hoạt tính hấp phụ các chất lơ lửng, vi khuẩn, các chất màu, mùi ...trong nước thải. Do vậy, hạt bùn sẽ lớn dần và tổng lượng bùn cũng tăng dần, rồi từ từ lắng xuống đáy. Kết quả là nước sáng màu, giảm lượng ô nhiễm, các chất huyền phù lắng xuống cùng với bùn và nước được làm sạch.

- Tùy thuộc vào điều kiện bên trong cũng như bên ngoài của nước thải, các nhóm vi sinh vật tồn tại trong bùn sẽ khác nhau. Chúng có khả năng thích ứng với điều kiện sống. Thành phần nước thải thay đổi sẽ làm thay đổi chủng loại thành phần, tăng giảm số lượng từng loài trong quần thể vi sinh vật của bùn hoạt tính.

- Để phát huy vai trò của bùn hoạt tính trong các quy trình công nghệ chúng ta phải quan tâm đến nồng độ oxy hoà tan trong nước hay là các điều kiện hiếu khí, nồng độ và tuổi của bùn hoạt tính, các chất gây độc cho vi sinh vật nước hay trong bùn hoạt tính... cùng pH, nhiệt độ nước thải.

2. Màng sinh học

- Trong tự nhiên, ít khi vi sinh vật sống thành khuẩn lạc thuần khiết như chúng ta nhìn thấy trên đĩa thạch của phòng thí nghiệm. Chúng thường sống thành những tập đoàn nhày, được gọi là màng sinh học - tại đó chúng chia sẻ nguồn dinh dưỡng.

- Màng sinh học là tập hợp các loài vi sinh vật khác nhau, có hoạt tính oxy hoá các chất hữu cơ có trong nước khi tiếp xúc với màng. Màng này dày từ 1-3mm và hơn nữa. Màu của màng thay đổi theo thành phần của nước thải từ màu vàng xám đến màu nâu tối.

- Màng này được tạo thành từ hàng triệu đến hàng tỉ tế bào vi khuẩn, các vi sinh vật khác và có cả động vật nguyên sinh. Khác với quần thể vi sinh vật của bùn hoạt tính, thành phần loài và số lượng các loài ở màng lọc tương đối đồng nhất. Mỗi màng lọc có một quần thể cho riêng mình, không chỉ khác nhau về số lượng mà cả chất lượng. Các vi khuẩn sống bám và gắn kết với nhau trên các bề mặt (giữa chất rắn và chất lỏng, giữa không khí và chất lỏng) - vốn là nơi tích tụ nhiều chất dinh dưỡng nhất. Theo thời gian, tập hợp vi khuẩn và các chất do chúng tiết ra hình thành một lớp vật chất gọi là màng sinh học (biofilm).

2.1. Sự tạo thành một màng sinh học

- *Giai đoạn 1 – Gắn kết:* vi khuẩn trôi nổi gặp được một bề mặt ngập nước bắt đầu tiến hành gắn kết. Trong vài phút, chúng tổng hợp các chất ngoại bào cao phân tử (EPS - extracellular polysaccharides) để kết dính chặt chẽ với bề mặt.
- *Giai đoạn 2 – Tăng trưởng:* sau vài giờ, lớp “chất nhầy” polysaccharides do vi khuẩn sản sinh phát triển thành cấu trúc 3 chiều, phức tạp, tạo ra lớp màng sinh học hoàn chỉnh. Các vi khuẩn liên tục trao đổi thông tin để đảm bảo cấu thành màng sinh học một cách chính xác.
- *Giai đoạn 3 – Phân tán:* màng sinh học đã hoàn chỉnh sẽ phân tán để xâm chiếm bề mặt mới nhờ giải phóng các mô tế bào nhỏ (tương tự cách hạt giống phát tán). Trong điều kiện thuận lợi, một màng sinh học đã “trưởng thành” có thể lây lan với tốc độ nhanh chóng không ngờ.



Các giai đoạn phát triển của một màng sinh học

- Dưới kính hiển vi, màng sinh học trông như các cấu trúc hình nấm phân cách bởi những con kênh đầy nước. Mỗi màng gồm nhiều lớp vi khuẩn sắp xếp trật tự, có độ dày từ 600 μm – 900 μm (mỗi vi khuẩn dài khoảng 1 μm), liên kết với nhau nhờ các sợi cellulose cao phân tử tạo thành quần thể có tổ chức với các kênh ngang, dọc, cho phép chất lỏng, chất thải và dưỡng chất lưu thông hoàn hảo. Cấu tạo này không chỉ hỗ trợ vi khuẩn trao đổi thông tin bằng tín hiệu sinh hóa mà còn bảo vệ chúng khỏi sự tấn công của kẻ thù và các hóa chất độc hại khác (kháng thể, tế bào miễn dịch, thuốc...).
- Khi nước chảy qua màng lọc sinh học, do hoạt động của quần thể vi sinh vật sẽ thay đổi thành phần nhiễm bẩn các chất hữu cơ có trong nước. Các chất hữu cơ dễ phân giải sẽ được vi sinh vật sử dụng trước với vận tốc nhanh, đồng thời số lượng của quần thể tương ứng này phát triển nhanh. Các chất hữu cơ khó phân giải sẽ được sử dụng sau với vận tốc chậm hơn và quần thể vi sinh vật đồng hoá chúng phát triển muộn hơn.
- Hệ vi sinh vật trong màng sinh học chủ yếu là hiếu khí, tuy nhiên vẫn có mặt cả nhóm tùy tiện và kỵ khí. Ở lớp ngoài cũng là lớp hiếu khí, rất dễ thấy loại trực khuẩn *Bacillus*. Lớp trung gian là các vi khuẩn tùy tiện như *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, và cả *Bacillus*. Lớp sâu bên trong màng là kỵ khí, có cả vi khuẩn kỵ khí khử lưu huỳnh và khử nitrat.

2.2. Ứng dụng của màng sinh học

**Làm sạch không khí*

Màng sinh học sử dụng trong công nghệ lọc sinh học khá thông dụng, dùng vi sinh vật loại bỏ các hợp chất khí bị nhiễm bẩn. Trong hệ thống lọc, khí ô nhiễm sẽ được khuếch tán và được MSH hấp thụ.

**Lọc nước*

Bể lọc sinh học bằng màng (MBR - Membrane Bio Reactor) là một trong những công nghệ lọc nước vi sinh triển vọng hiện nay. Công nghệ này phát triển lần đầu tiên vào thập niên 1970. Trong quy trình xử lý nước thải, vi khuẩn trong màng sinh học sẽ giúp loại bỏ chất hữu cơ, một số tác nhân gây bệnh và vi sinh vật trong nước. Không chỉ vậy, MSH còn có thể loại bỏ dầu ô nhiễm trên đại dương và trong các đường ống lọc dầu trên biển.

** Làm màng trị bỏng*

Khả năng che phủ và bảo vệ khiến màng rất được “ưu ái” nghiên cứu làm màng trị bỏng. Bằng cách chọn lọc vi khuẩn phù hợp, các nhà khoa học tạo ra được loại màng sinh học giúp che phủ vết thương, chống nhiễm trùng, thoát nước rất tốt và nhanh liền sẹo.

** Điều trị các bệnh nhiễm trùng*

Nghiên cứu về màng sinh học phần nào giải thích được nguyên nhân gây nhiễm trùng dai dẳng, hiện tượng từng “làm khó” ngành y trong một thời gian dài. Từ đó, nhiều phương pháp điều trị hỗ trợ miễn dịch đã ra đời. Nước súc miệng, thuốc kháng sinh, nước tẩy rửa gia dụng, chất khử trùng,... đều ra đời từ các phòng thí nghiệm nghiên cứu màng sinh học.

** Công nghệ thực phẩm*

Màng sinh học rất thường gặp trong công nghệ thực phẩm, chẳng hạn, thạch dừa chính là polysaccharides ngâm nước tồn tại trong trạng thái nửa rắn, một loại màng sinh học. Sợi cellulose do vi khuẩn tạo ra dẻo và bền hơn cellulose từ thực vật, nên nếu bổ sung thêm chất kháng khuẩn, màng sinh học có thể dùng bảo quản thực phẩm hoặc làm bao bì thực phẩm ăn được.

3. Ao hồ ổn định - Ao hồ sinh học

- Ao hồ sinh học là các thủy vực tự nhiên hoặc nhân tạo, không lớn, mà ở đây diễn ra quá trình chuyển hóa các chất bẩn. Đây được coi là phương pháp đơn giản nhất, đã được áp dụng từ thời xa xưa. Phương pháp này không yêu cầu kĩ thuật cao, vốn đầu tư ít, chi phí hoạt động rẻ tiền, quản lý đơn giản và hiệu quả cũng khá cao.

- Quy trình xử lý theo phương pháp ao hồ sinh học khá đơn giản và được tóm tắt như sau: Nước thải --> Loại bỏ rác, cát sỏi...--> Các ao hồ ổn định --> Nước đã xử lý.

- Quy trình này dựa vào khả năng tự làm sạch của nước, chủ yếu là vi sinh vật và các thủy sinh khác, các chất bị nhiễm bẩn bị phân hủy thành các chất khí và nước. Quá trình tự làm sạch là tổng hợp các quá trình hiếu khí, tùy tiện và kỵ khí.

- Đây là phương pháp rẻ nhất, dễ thiết kế và xây dựng, dễ vận hành, không đòi hỏi cung cấp năng lượng (sử dụng năng lượng mặt trời). Có khả năng làm giảm các vi sinh gây bệnh nhiễm trong nước thải xuống tới mức thấp nhất và loại loại các chất hữu cơ, vô cơ tan trong nước. Hệ vi sinh vật hoạt động ở đây chịu đựng được nồng độ các kim loại nặng tương đối cao ($>30\text{mg/L}$).

- Tuy nhiên công trình này mắc phải một số hạn chế như: thời gian xử lý khá dài và đòi hỏi phải có mặt bằng rộng. Trong quá trình xử lý phụ thuộc nhiều vào điều kiện thời tiết. Mùa đông với nhiệt độ thấp sẽ kéo dài thời gian và giảm hiệu quả làm sạch của hồ nước, hoặc trời mưa làm tràn ao hồ, gây ô nhiễm các đối tượng khác.

- Ao hồ sinh học được chia ra làm các dạng chính là: Ao hồ hiếu khí, ao hồ kỵ khí, ao hồ tùy nghi (ao hồ hiếu – kỵ khí).

- Các loại ao hồ sinh học có thể áp dụng thích hợp ở nước ta nếu diện tích mặt bằng và các điều kiện khác cho phép. Các ao hồ có thể làm một bậc hoặc nhiều bậc xử lý.

- Chiều sâu của hồ bậc sau thường sâu hơn bậc trước. Hồ một bậc thường có diện tích 0,5-7ha, nhiều bậc thì mỗi bậc là 2,25-2,5ha.

3.1. Hồ kỵ khí

- Hồ kỵ khí dùng để lắng và phân huỷ các cặn lắng hữu cơ bằng quá trình sinh hoá tự nhiên dựa vào các vi sinh vật kỵ khí có sẵn trong hồ. Loại hồ này thường dùng để làm sạch nước thải công nghiệp có độ nhiễm bẩn cao, có mùi hôi thối khó chịu, ít dùng để làm sạch nước thải sinh hoạt. Hồ kỵ khí phải đặt cách xa nhà ở và các xí nghiệp thực phẩm 1.5 - 2 km.

3.2. Hồ hiếu khí

- Quá trình xử lý nước thải diễn ra trong điều kiện đầy đủ oxy. Nguồn oxy cung cấp cho hồ là sự làm thoáng không khí qua bề mặt hồ (hồ được làm thoáng tự nhiên) hoặc nhờ các hệ thống thiết bị cung cấp khí (hồ được làm thoáng nhân tạo)

** Hồ làm thoáng tự nhiên*

Oxy cung cấp cho quá trình oxy hoá chủ yếu do sự khuếch tán không khí qua mặt nước và quá trình quang hợp của thực vật dưới nước như rong, tảo... Chiều sâu của hồ thường khoảng 30 - 40 cm để cho ánh sáng có thể xuyên qua. Sức chứa tiêu chuẩn lấy theo BOD khoảng 250 - 300 kg/ha/ngày. Thời gian lưu nước trong hồ khoảng 3 - 12 ngày. Loại hồ này kết hợp với việc nuôi trồng thủy sản thì việc xử nước thải mới đảm bảo kinh tế một cách hợp lý.

** Hồ làm thoáng nhân tạo*

Quá trình cung cấp oxy cho quá trình oxy hoá chất hữu cơ là từ các thiết bị bơm khí nén hoặc các máy khuấy cơ học. Chiều sâu của hồ này có thể sâu hơn, từ 2 - 4.5 m, với sức chứa tiêu chuẩn lấy theo BOD khoảng 400 kg/ha/ngày và thời gian lưu nước từ 1 - 3 ngày.

3.3. Hồ hiếu - kỵ khí (Facultative)

- Đây là loại hồ thường gặp nhất ở nước ta, các loại ao, hồ tự nhiên mà ta quen gọi là "ao tù, nước đọng". Trong hồ này có hai quá trình sinh học diễn ra song song đó là:

quá trình oxy hoá hiếu khí các chất hữu cơ hòa tan trong nước và quá trình phân huỷ kỵ khí các chất cặn lắng ở vùng đáy.

- Nguồn oxy sử dụng cho quá trình oxy hoá các chất hữu cơ nhờ quá trình quang hợp của lớp rong, rêu, tảo chứa trong hồ. Nguồn oxy hoà tan chỉ có ở lớp bề mặt và hiệu quả đến độ sâu 1m.

- Quá trình phân huỷ kỵ khí chủ yếu xảy ra ở lớp cuối cùng (lớp bùn cặn hữu cơ). Quá trình này sẽ làm giảm tải trọng hữu cơ và sinh ra các sản phẩm lên men kỵ khí, trong đó có cả khí metan. Đối với hồ này thường có hiện tượng phân cách nhiệt, tức là vùng phía trên mặt bao giờ cũng có nhiệt độ nóng, ấm hơn phía dưới. Lớp giữa là tầng phân cách nhiệt. Nếu những ngày mùa hè, các loại tảo, rong tiến hành quang hợp mạnh, đồng hoá nhiều CO₂ làm cho pH của nước tăng lên đôi khi vượt quá yêu cầu của vi sinh vật làm ức chế hoạt động của vi sinh vật phân giải, do đó không nên xáo trộn mặt nước để cho các vi khuẩn ở đáy hồ được bảo vệ bởi tầng phân cách.

4. Loại bỏ các chất dinh dưỡng

- Nitrogen và phospho là những chất dinh dưỡng cơ bản được quan tâm khi xả nước thải đã xử lý. Nước thải được xả chứa nitrogen và phospho có thể làm tăng nhanh sự phú dưỡng của hồ chứa, kích thích sự phát triển của tảo và các loài thực vật mọc rễ trong nước.

- Nồng độ đáng kể của nitrogen trong nước thải đã xử lý còn có thể gây bất lợi khác như làm cạn kiệt lượng oxy hòa tan trong nước, làm nhiễm độc sự sống trong nước, tác động đến hiệu quả khử trùng bằng clor, tạo ra những mối nguy về sức khỏe cộng đồng, ảnh hưởng đến khả năng tái sử dụng nguồn nước.

4.1. Loại bỏ nitrogen

- Nitrogen trong nước thải chưa xử lý thường ở dạng amoni hoặc nitrogen hữu cơ, ở cả dạng hạt hoặc dạng hòa tan. Nitrogen hữu cơ hòa tan chủ yếu ở dạng urea và acid amine. Nước thải chưa xử lý thường chứa ít hoặc không chứa nitrogen ở dạng nitrat.

- Hai cơ chế cơ bản cho việc loại bỏ nitrogen là sự đồng hóa và quá trình nitrat hóa - khử nitrat hóa.

- Nitrogen là chất dinh dưỡng nên vi khuẩn có trong quá trình xử lý nước thải sẽ đồng hóa nitrogen ở dạng amoni và gắn nó với sinh khối tế bào. Một phần nitrogen ở dạng amoni này sẽ được đưa trở lại nước thải dưới dạng các tế bào chết.

- Trong quá trình nitrat hóa - khử nitrat hóa, sự loại bỏ nitrogen được thực hiện trong hai giai đoạn chuyển đổi. Trong giai đoạn đầu - nitrat hóa, cần cung cấp oxy cho amoni chuyển thành nitrat nhờ các vi sinh vật *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*. Giai đoạn hai, nitrat sẽ chuyển thành dạng khí để loại bỏ. Quá trình này được thực hiện trong điều kiện kỵ khí nhờ các chủng vi sinh vật *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*...

4.2. Loại bỏ phospho

- Phospho được vi sinh vật sử dụng cho việc duy trì tế bào, sinh tổng hợp và vận chuyển năng lượng mà còn được dự trữ cho những hoạt động sống sau đó.

- Sự loại bỏ phospho có thể được thực hiện bằng phương pháp hóa học, sinh học và vật lý.
- Phương pháp hóa học bằng việc sử dụng muối sắt và muối nhôm hoặc vôi được sử dụng rộng rãi nhất cho việc loại bỏ phospho.
- Phương pháp sinh học dựa trên việc cường bức các vi sinh vật sử dụng phospho nhiều hơn cho nhu cầu phát triển tế bào. *Acinetobacter* là một trong những vi sinh vật chịu trách nhiệm loại bỏ phospho. Khi một vùng kỵ khí được theo sau bởi một vùng hiếu khí, các vi sinh vật sẽ sử dụng phospho trên mức bình thường. Do đó, quá trình loại bỏ phospho bằng phương pháp sinh học yêu cầu cả bể kỵ khí và bể hiếu khí hoặc cả hai vùng trong cùng một bể.

B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

1. Phân biệt bùn hoạt tính và màng sinh học
2. Nêu ứng dụng của màng sinh học
3. Trình bày các đặc điểm của ao hồ ổn định – ao hồ sinh học
4. Trình bày phương pháp loại bỏ N và P.

CHƯƠNG 7 – VI SINH VẬT CHỈ THỊ

Mục tiêu:

- Trình bày được các vi sinh vật chỉ thị;
- Nêu được các phương pháp phát hiện vi sinh vật chỉ thị.

A. NỘI DUNG

1. Khái niệm

- Vi sinh vật chỉ thị là những đối tượng vi sinh vật có yêu cầu nhất định về điều kiện sinh thái liên quan đến nhu cầu dinh dưỡng, hàm lượng oxy, cũng như khả năng chống chịu một hàm lượng nhất định các yếu tố độc hại trong môi trường sống và do đó sự hiện diện của chúng biểu thị một tình trạng về điều kiện sinh thái môi trường sống nằm trong giới hạn nhu cầu và khả năng chống chịu của đối tượng vi sinh vật đó.

- Một số tiêu chuẩn cho vi sinh vật chỉ thị lý tưởng:

- + Là thành viên của vi khuẩn đường ruột của động vật máu nóng;
- + Hiện diện khi vi khuẩn gây bệnh tồn tại và không có trong mẫu không nhiễm bản
- + Tồn tại với số lượng lớn hơn vi sinh vật gây bệnh
- + Có sự đề kháng như vi khuẩn gây bệnh với sự tác động của môi trường, với sự khử trùng trong nhà máy xử lý nước và nước thải như vi sinh vật gây bệnh;
- + Không nhân lên trong môi trường
- + Phải được phát hiện bằng những phương pháp đơn giản, nhanh và rẻ tiền
- + Nên là vi khuẩn không gây bệnh.

2. Một số vi sinh vật chỉ thị

2.1. Tổng số *Coliforms*

- *Coliforms* từ lâu đã được xem như một vi sinh vật chỉ thị thích hợp về chất lượng nước, chúng được dùng rộng rãi vì dễ phát hiện và định lượng. Chúng được dùng để chỉ thị khả năng có mặt của các vi sinh vật khác trong nước. Chỉ số *Coliforms* cao thì sự hiện diện của các vi sinh vật gây bệnh cũng cao.

- *Coliforms* là những trực khuẩn Gram âm, hình gậy, không sinh bào tử, có phản ứng oxidase âm tính và thể hiện hoạt tính của β - galactosidase có khả năng sinh hơi, acid và aldehyde do lên men đường lactose trong vòng 24 – 48 giờ ở nhiệt độ $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

- *Coliforms* có khả năng phát triển trên môi trường muối mật hoặc các chất hoạt tính bề mặt khác có tính chất ức chế tương tự.

- Nhóm *Coliforms* gồm 4 chi: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*

- Tuy nhiên, theo các phương pháp phân loại mới thì nhóm này không đồng nhất. Nhóm này bao gồm các vi khuẩn có khả năng lên men lactose như *Escherichia cloacae*, *Citrobacter freundii* có thể tìm thấy trong phân và ngoài môi trường nước giàu chất dinh dưỡng, đất và xác thực vật cũng như trong nước uống có nồng độ dinh dưỡng tương đối cao. Ngoài ra, nhóm này còn bao gồm các loài như *Serratia*

fonticola, *Rabnella aqualiris*, *Buttiarella agrestis* hiếm thấy trong phân và có thể thấy trong nước uống có chất lượng tốt.

- Tổng số *coliform* là chỉ thị tốt nhất cho hiệu quả xử lý của một nhà máy xử lý nước thải. Nhóm này được coi là hữu dụng trong việc đánh giá tính an toàn của nước thải sau xử lý.

- *Coliforms chịu nhiệt*: là những *coliforms* nhóm này bao gồm *Escherichia*, *Kiebsiella*, *Enterbacter*, *Citrobacter*. Khác với *E.coli*, *coliforms* chịu nhiệt có thể xuất xứ từ nguồn nước giàu chất hữu cơ như nước thải công nghiệp từ xác thực vật thối rữa hoặc đất.

- *Coliforms* chịu nhiệt không tái phát triển trong hệ thống phân phối nước ngoại trừ khi nước chứa đủ chất dinh dưỡng do nhiễm bẩn, nhiệt độ của nước cao hơn 13⁰C và nước không có chlor thừa

- Trong đại đa số các trường hợp, đậm độ của *Coliforms* chịu nhiệt có liên quan trực tiếp đến đậm độ của *E.coli*. Vì vậy, việc sử dụng dạng vi khuẩn này để đánh giá chất lượng nước được chấp nhận.

2.2. Coliforms phân

- Là nhóm *Coliforms* chịu nhiệt có khả năng lên men đường lactose và sinh indol khi ủ ở nhiệt độ 44⁰C khoảng 24 giờ trong canh trypton. Nguồn gốc của *coliforms* từ ruột của người và các động vật máu nóng. Do đó, nếu có mặt nhóm *coliforms* phân nghĩa là môi trường bị nhiễm vi sinh vật đường ruột.

- *Coliforms* phân bao gồm các vi khuẩn *Escherichia coli* và *Klebsiella pneumonia*.

- *E. coli* là thành viên của họ Enterobacteriace được đặc trưng bởi tính chất có enzyme β – galactosidase và β – glucoronidase. Nó phát triển ở nhiệt độ 44 – 45⁰C trên môi trường tổng hợp, lên men lactose và mannitol có sinh hơi và sinh acid, sinh indol từ tryptophan. Tuy nhiên một số chủng cũng có thể phát triển ở nhiệt độ 37⁰C chứ không phát triển ở 44 – 45⁰C và một số thì không sinh hơi. *E. coli* không sinh oxidase hoặc phân hủy urea.

- *E. coli* có mặt rất nhiều trong phân người và động vật máu nóng. Mật độ của chúng có thể lên đến 10⁹ vi khuẩn/gam. Vi khuẩn này được dùng để đánh giá mức độ ô nhiễm phân, bởi vì nó thường tạo khuẩn lạc trên thành ruột và nó không gây nguy hiểm cho sức khỏe.

2.3. Nhóm Staphylococcus

- Là một trong những vi khuẩn nổi tiếng nhất do tỷ lệ gây bệnh rất cao, có khả năng gây nhiều bệnh nặng cũng như đề kháng kháng sinh rất mạnh.

- Tụ cầu khuẩn được chia thành 2 nhóm chính là tụ cầu khuẩn có men coagulase và tụ cầu khuẩn không có men coagulase.

+Tụ cầu khuẩn có men coagulase: nuôi trên môi trường nuôi cấy có máu, khuẩn lạc màu vàng nên hay còn gọi là tụ cầu vàng.

+Tụ cầu khuẩn không có men coagulase: nuôi cấy trên môi trường nuôi cấy có máu, khuẩn lạc màu trắng ngà nên hay còn gọi là tụ cầu trắng.

- *Staphylococcus aureus* là vi khuẩn Gram dương, hiếu khí hoặc kỵ khí tùy ý, khi nuôi cấy trên môi trường thạch máu, một số dòng vi khuẩn làm tan máu, tạo sắc tố vàng sau 1 – 2 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ phòng.

- *Staphylococcus* được phân lập chủ yếu từ da và chất nhầy của người và động vật máu nóng. Do đó, có thể sử dụng nhóm vi khuẩn này để kiểm tra xem môi trường hay các mẫu thực phẩm có nhiễm vi sinh vật gây bệnh hay không, có đảm bảo vệ an toàn thực phẩm hay không. *Staphylococcus aureus* là tụ cầu khuẩn được dùng làm vi sinh vật chỉ thị rất phổ biến.

2.4. Nhóm Streptococcus

- Phân bố rộng rãi trong tự nhiên và trong đường tiêu hóa, hô hấp phần dưới ống tiêu hóa và trên da của cơ thể người, động vật. Bao gồm *Streptococcus faecalis*, *S. bovis*, *S. equines* và *S. avium*

- *Streptococcus* phân là những liên cầu khuẩn kỵ khí tùy ý có nguồn gốc từ phân. Chúng có hình ovan, Gram dương, thường tụ thành đôi hay chuỗi ngắn, không sinh bào tử, một số dòng có khả năng sinh vỏ nhầy. Khuẩn lạc có màu hồng đến đỏ đậm. Chúng âm tính với phản ứng catalase, có thể phát triển trên môi trường chứa 6,4% muối NaCl, pH = 9,6 và nhiệt độ 45⁰C.

- Chỉ số *Coliforms* phân và *Streptococcus* phân (tỷ số FC/FS) dùng để chỉ thị nguồn gốc ô nhiễm từ con người hay động vật. Khi tỷ số này dưới 0,7 nghĩa là ô nhiễm từ động vật, còn lớn hơn 4 là từ con người.

2.5. Vi khuẩn kỵ khí

- *Clostridium perfringens*, vi khuẩn Gram (+), sinh bào tử, được sử dụng làm chỉ thị ô nhiễm và lần dấu vết để theo dõi số phận của vi sinh vật gây bệnh. Vi sinh vật này cũng là chỉ thị đáng tin cậy cho ô nhiễm phân trong môi trường biển.

- *Bifidobacteria*, vi khuẩn Gram (+), không sinh bào tử - chỉ thị ô nhiễm phân. Các loài *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* liên quan đến con người, dùng để phân biệt giữa nhiễm bản do người và súc vật.

- *Bacteroides* sp. vi khuẩn kỵ khí xuất hiện trong đường tiêu hóa ở nồng độ 10¹⁰/g phân, được dùng làm chỉ thị ô nhiễm phân trong nước.

2.6. Nấm men và vi sinh vật kháng acid

- Nấm men và *Mycobacteria* kháng acid được đề nghị làm chỉ thị cho hiệu quả khử trùng. Vi khuẩn kháng acid *Mycobacterium fortuitum* đề kháng tốt với chlor tự do và ozon hơn *E.coli*.

3. Một số phương pháp xác định vi sinh vật chỉ thị

3.1. Phương pháp đếm khuẩn lạc

- Môi trường sử dụng là Plate Count Agar (PCA) có pH 7,0 ± 0,2. Môi trường được pha chế, phân phối vào trong các bình thủy tinh hay trong các ống nghiệm và hấp khử trùng ở 121⁰C trong 15 phút. Các bình hoặc ống nghiệm chứa môi trường chưa được sử dụng được bảo quản trong tủ lạnh 2 – 8⁰C. Trước khi sử dụng môi trường

phải được đun chảy và làm nguội 45°C trong bể điều nhiệt. Ngoài môi trường trên, còn có thể sử dụng cả môi trường khác như Tryptose Glucose Agar, Nutrient Agar.

- Dung dịch nước muối pepton SPW (Saline Pepton Water) dùng pha loãng chứa 8,5g NaCl và 1g peptone trong 100ml nước. Dung dịch này được chứa trong các bình chứa 0,5 – 1,0 lít, hấp khử trùng và được phân phối thành các thể tích chính xác 9 ml vào trong các ống nghiệm vô trùng.

- Trước khi tiến hành phân tích, thực hiện việc đồng nhất mẫu như sau: đối với mẫu dạng rắn dùng các dụng cụ như kéo, kẹp đã được khử trùng cân chính xác 10g mẫu vào trong bao PE. Tất cả các thao tác tiếp theo cần phải tiến hành trong điều kiện vô trùng. Thêm vào lượng mẫu này 90ml dung dịch pha loãng SPW. Thực hiện việc đồng nhất mẫu bằng máy đập mẫu. Thời gian đập mẫu phụ thuộc vào tính chất cơ lý của mẫu, nhưng không quá 2,5 phút. Trong trường hợp không có máy đập mẫu thực hiện thao tác đồng nhất như sau: xát nhuyễn mẫu trong điều kiện vô trùng. Cân chính xác trong điều kiện vô trùng nước SPW đã được hấp khử trùng. Lắc đều trong một thời gian nhất định. Đối với mẫu dạng lỏng, hút 10ml cho vào bình tam giác chứa 90ml nước SPW đã được hấp khử trùng, lắc đều. Sau khi được làm đồng nhất bằng một trong các phương pháp trên, dung dịch thu được có nồng độ pha loãng bằng 10 lần so với ban đầu.

- Dịch mẫu đồng nhất được tiếp tục pha loãng theo dãy thập phân bằng cách dùng pipet vô trùng chuyển 1ml dịch vào ống nghiệm chứa 9ml dung dịch pha loãng. Trộn mẫu trong ống nghiệm cho đồng nhất bằng máy rung (vortex) hoặc dùng pipet dùng pipet hút đảo dịch mẫu lên xuống 5 – 10 lần. Dung dịch mẫu này có độ pha loãng là 10^{-2} . Sau đó sử dụng pipetman có đầu tip vô trùng chuyển 1ml dịch mẫu này vào ống nghiệm thứ 2

- Chứa dung dịch pha loãng và thao tác tương tự để có dịch mẫu với độ pha loãng 10^{-3} . Tiếp tục thực hiện tương tự để có các độ pha loãng cần thiết.

- Chọn 2 hay 3 độ pha loãng liên tiếp dự kiến chứa 25 – 250 tế bào vi sinh vật trong 1ml để cấy lên đĩa petri. Dùng pipet vô trùng hoặc pipetman với đầu tip vô trùng chuyển 1ml dịch mẫu pha loãng đã chọn vào giữa đĩa petri vô trùng. Tương ứng với mỗi nồng độ pha loãng cấy ít nhất 2 - 3 đĩa. Sau khi cấy đổ vào mỗi đĩa 10 – 15ml môi trường PCA đã được đun chảy và ổn định ở 45°C . Trộn đều dịch mẫu với môi trường bằng cách xoay tròn đĩa petri xuôi và ngược chiều kim đồng hồ, mỗi chiều 3-5 lần ngay sau khi đổ môi trường. Đặt các đĩa trên bề mặt bằng phẳng cho thạch đông đặc. Lật ngược và ủ các đĩa trong tủ ấm ở nhiệt độ $30 \pm 10^{\circ}\text{C}$ trong vòng 72 giờ. Nhiệt độ và thời gian ủ có thể thay đổi theo quy định của tiêu chuẩn.

3.2. Phương pháp MPN (Most Probable Number)

- Phương pháp MPN hay phương pháp có số xác suất lớn nhất, số tối khả dùng để đánh giá số lượng vi sinh vật có xác suất lớn nhất trong một thể tích dung dịch mẫu. Phương pháp này định lượng dựa trên kết quả của một loạt thí nghiệm lặp lại ở các

nồng độ pha loãng khác nhau. Thông thường, việc định lượng này được lặp lại 3 lần ở 3 độ pha loãng khác nhau liên tiếp.

- Quy trình thực hiện theo phương pháp này như sau: cho các ống nghiệm có chứa môi trường chọn lọc thích hợp với một thể tích chính xác dung dịch mẫu ở 3 độ pha loãng liên tiếp (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) ủ ở nhiệt độ và thời gian thích hợp. Ghi nhận số ống dương tính ở mỗi độ pha loãng. Đối với bước khẳng định, chuyển một phần những ống dương tính ở bước xác định sang ống nghiệm chứa môi trường khẳng định rồi ủ ở thời gian và nhiệt độ thích hợp. Sau thời gian ủ, đếm số ống dương tính.

- Sử dụng số liệu và tra bảng Mac Crady để suy ra số vi sinh vật được trình bày ở dạng bảng MPN trên 100ml hay MPN trên 1g mẫu.

- Cần lưu ý rằng bảng MPN cung cấp ở dạng số MPN trên 100ml dung dịch được dùng để phân tích các liều lượng 10ml, 1ml và 0,1ml. Việc sử dụng các liều lượng khác nhau dễ gây ảnh hưởng đến nồng độ môi trường và do đó ảnh hưởng đến kết quả. Do đó, trong phân tích thường dùng độ pha loãng bậc 10. Số liệu của bảng MPN trên 100ml ở các dung tích mẫu 10ml, 1ml và 0,1ml tương đương với MPN/ml mẫu chưa pha loãng khi 1ml mẫu ở độ pha loãng 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Trường hợp mẫu có mật độ vi sinh vật cao khi pha loãng cần tính thêm hệ số pha loãng.

- Phương pháp MPN được sử dụng phổ biến trong định lượng *Coliforms* tổng số, *Coliforms* phân, *E. coli* và các vi sinh vật khác.

3.3. Phương pháp ELISA

- Là phương pháp hấp thu miễn dịch dùng enzyme. Đây là phương pháp hiệu quả và nhanh chóng trong phát hiện vi sinh vật. Nguyên tắc của phương pháp là sử dụng kháng thể đơn dòng phủ bên ngoài đĩa giếng. Nếu có sự hiện diện của kháng nguyên mục tiêu thì kháng nguyên sẽ bị giữ lại trên bề mặt giếng. Các kháng nguyên này sau đó được phát hiện bằng các kháng thể thứ cấp có gắn với enzyme nhận biết. Khi bổ sung cơ chất đặc hiệu của enzyme vào thì enzyme sẽ xúc tác tạo ra sản phẩm có màu hoặc phát sáng. Dựa vào sự thay đổi màu hay ánh sáng mà khẳng định sự có mặt và định lượng kháng nguyên cần tìm.

- Hiện nay phương pháp ELISA đã được thương mại hóa dưới dạng các bộ kit. Chỉ sau thời gian vài giờ là có thể xác định được vi sinh vật trong mẫu. Tuy nhiên, phương pháp này cần tăng sinh trước khi đưa vào phản ứng.

3.4. Phương pháp lai phân tử

- Phương pháp lai phân tử được thực hiện dựa trên tính chất của DNA: tách mạch khi ở nhiệt độ cao và lắp ráp khi nhiệt độ giảm xuống. Tính chất này cũng được tìm thấy ở RNA. Phương pháp này thực hiện bằng cách phá vỡ tế bào vi sinh vật để thu nhận rRNA. Sau đó, đưa đầu dò là những đoạn DNA đặc thù có gắn mẫu dò và dung dịch, khi nhiệt độ được đưa xuống dưới nhiệt độ tách mạch của DNA, thì đoạn DNA đặc thù sẽ gắn vào vị trí nhất định trên rRNA. Thực hiện phản ứng với mẫu dò sẽ xác định được sự có mặt là nồng độ rRNA có trong dung dịch phản ứng.

- Hiện nay đã có các bộ kit phát hiện nhanh vi sinh vật bằng phương pháp lai phân tử. Các đối tượng phát hiện được là *E.coli*, *Staphylococcus*, *Salmonella*.

3.5. Phương pháp PCR kết hợp điện di

- Phương pháp PCR là phương pháp invitro để tổng hợp DNA dựa trên khuôn là một trình tự đích DNA ban đầu thành hàng triệu bản sao nhờ enzyme polymerase và một cặp mồi. Kỹ thuật này được Karl Mullis và cộng sự phát hiện năm 1985.

- Phản ứng PCR được thực hiện dựa vào nhiệt độ tách mạch DNA. Sau đó hạ thấp nhiệt độ xuống thì mồi là những đoạn oligonucleotide sẽ gắn vào các vị trí đặc hiệu để đảm bảo cho các phản ứng tổng hợp diễn ra do enzyme polymerase. Quá trình lặp lại cho đến khi đạt đến số lượng DNA cần thiết.

- Phản ứng PCR gồm nhiều chu kỳ nối nhau. Mỗi chu kỳ gồm 3 bước:

+ Bước biến tính: dung dịch phản ứng gồm những thành phần cần thiết cho sự sao chép, phân tử DNA được biến tính ở nhiệt độ cao hơn T_m của phân tử. Mạch đôi DNA tách nhau ra. Thời gian kéo dài từ 30 – 60s.

+ Bước lai: nhiệt độ hạ thấp hơn T_m cho phép bắt cặp xảy ra giữa mồi và mạch khuôn. Nhiệt độ này dao động từ 40 – 70⁰C, thời gian kéo dài từ 30 – 60s.

+ Bước tổng hợp: nhiệt độ được tăng lên 72⁰C giúp cho enzyme DNA-polymerase hoạt động tốt nhất. Thời gian của bước này tùy thuộc vào trình tự khuếch đại, thường từ 30 giây đến 1 phút.

B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

1. Trình bày các vi sinh vật chỉ thị.
2. Nêu các phương pháp phát hiện vi sinh vật chỉ thị.

HƯỚNG DẪN GIẢNG DẠY MÔN HỌC

I. Vị trí, tính chất và ý nghĩa của môn học

- Vị trí: Vi sinh môi trường là môn học cơ sở ngành trong chương trình đào tạo trình độ cao đẳng ngành Công nghệ kỹ thuật môi trường, được giảng dạy độc lập với các môn học cơ sở ngành khác.
- Tính chất: Là môn học tích hợp lý thuyết và thực hành, trang bị cho người học các kiến thức về đặc điểm vi sinh vật, các nguyên lý, cơ chế chuyển hóa các hợp chất trong tự nhiên nhờ vi sinh vật và các kỹ năng cơ bản về phân lập, tuyển chọn chủng vi khuẩn có khả năng phân giải cellulose ứng dụng trong xử lý môi trường; cần tổ chức giảng dạy tại phòng học có đầy đủ trang thiết bị cần thiết cho việc dạy, học lý thuyết và thực hành.
- Ý nghĩa: Trang bị cho sinh viên những kiến thức cơ bản về vi sinh vật và vai trò của vi sinh trong công nghệ môi trường

II. Mục tiêu môn học

Về kiến thức

- Trình bày được đặc điểm về hình thái, cấu tạo và hoạt động sống của các nhóm vi sinh vật, nguyên nhân ô nhiễm vi sinh vật trong môi trường, các nhóm vi sinh vật chỉ thị và vi sinh vật xử lý môi trường;
- Giải thích được các nguyên lý cơ bản của quá trình xử lý ô nhiễm môi trường nhờ vi sinh vật;
- Phân tích được cơ chế chuyển hóa các hợp chất trong tự nhiên nhờ vi sinh vật; cơ chế khử nitrogen và phosphorus bằng phương pháp sinh học.
- Trình bày được nguyên tắc chuẩn bị dụng cụ, pha chế môi trường phân lập, nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus*
- Mô tả được các bước tiến hành chuẩn bị dụng cụ, pha chế môi trường, làm tiêu bản theo đúng trình tự;
- Xây dựng được quy trình phân lập của chủng *Bacillus*;
- Nêu được nguyên tắc và phương pháp xác định hoạt tính phân giải CMC và thử nghiệm khả năng phân giải cellulose vi khuẩn *Bacillus*.

Về kỹ năng

- Nhận diện các nhóm vi sinh vật thông qua các hình ảnh;
- Mô phỏng được quá trình khử các chất nitrogen, phospho và lưu huỳnh nhờ vi sinh vật;
- Thực hiện được các thao tác làm nút bông, bao gói và khử trùng dụng cụ nuôi cấy vi sinh vật đúng yêu cầu;
- Pha chế và khử trùng được môi trường dinh dưỡng đảm bảo yêu cầu;
- Thực hiện thành thạo các thao tác phân lập, tuyển chọn, cấy chuyển giống vi sinh vật đúng quy trình kỹ thuật;
- Quan sát được hình thái vi khuẩn *Bacillus* dưới kính hiển vi;
- Tuyển chọn được các chủng vi khuẩn *Bacillus* có hoạt lực phân giải cellulose mạnh;

- Vận hành các thiết bị dùng trong nuôi cấy vi sinh vật theo đúng quy trình, an toàn.

Về năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Có tinh thần hợp tác trong hoạt động nhóm; thái độ nghiêm túc, trung thực và tuân thủ quy định lớp học, nội quy phòng thí nghiệm;

- Có khả năng tự học, tự nghiên cứu thông qua việc nghe giảng, tự đọc các sách, giáo trình, các bài báo...

- Có khả năng thực hiện chính xác các thao tác bao gói, pha chế môi trường, phân lập, cấy chuyển và quan sát tế bào vi sinh vật dưới kính hiển vi và chịu trách nhiệm về công việc của mình.

III. Nội dung chính của môn học

Mã chương	Tên chương/ bài	Loại bài dạy	Địa điểm	Thời lượng			
				Tổng số	Lý thuyết	Thực hành	Kiểm tra
1	Khái quát về các nhóm vi sinh vật	Lý thuyết	Lớp học	4	4		
2	Trao đổi chất và sinh trưởng vi sinh vật	Lý thuyết	Lớp học	4	4		
3	Vi sinh vật và các chu trình sinh địa hóa học	Lý thuyết	Lớp học	5	4		1
4	Vi sinh vật gây bệnh và ký sinh trùng trong nước thải sinh hoạt	Lý thuyết	Lớp học	4	4		
5	Vi sinh vật trong xử lý chất thải rắn	Lý thuyết	Lớp học	3	3		
6	Vi sinh vật trong xử lý nước thải	Lý thuyết	Lớp học	4	4		
7	Vi sinh vật trong xử lý nước thải	Lý thuyết	Lớp học	5	4		1
	<i>Kiểm tra hết mô đun</i>						1
	Cộng			30	27		3

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Lâm Dũng và cộng sự, *Vi sinh vật học – Phần 1 Thế giới vi sinh (2012)*, NXB Khoa học kỹ thuật Hà Nội
- [2]. Lê Văn Khoa và cộng sự, *Chỉ thị sinh học môi trường (2007)*, NXB Giáo dục
- [3]. Lương Đức Phẩm (2009), *Cơ sở vi sinh môi trường, tập 2*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam
- [4]. Dương Đình Thiện, *Dịch tễ học các bệnh truyền nhiễm (2001)*, NXB Y học
- [5]. Phạm Văn Ty và Vũ Nguyên Thành, *Công nghệ sinh học – Tập 5 Công nghệ vi sinh vật và môi trường (2006)*, NXB Giáo dục