



ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Bởi:

unknown

Trong quá trình phát triển và sinh sản vi sinh vật chịu tác động của nhiều yếu tố bên ngoài. Ta có thể chia sự tác động đó như sau:

- Ảnh hưởng các yếu tố lý học
- Ảnh hưởng các yếu tố hoá học
- Ảnh hưởng các yếu tố sinh học

Ảnh hưởng của những yếu tố lý học

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Để phát triển mỗi một sinh vật phát triển trong một khoảng nhiệt độ nhất định. Ngoài khoảng nhiệt độ đó ra vi sinh vật sẽ bị hạn chế sự phát triển. Trong nhiều tài liệu cho thấy rằng nhiều vi sinh vật có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ dài $-18^{\circ} \rightarrow 140^{\circ}\text{C}$. Tùy theo mức độ chịu nhiệt của chúng mà người ta có một số khái niệm như sau:

- *Nhiệt độ tối ưu*: Là nhiệt độ ở đó vi sinh vật phát triển thuận lợi nhất.
- *Nhiệt độ cao nhất*: Là mức độ nhiệt độ giới hạn tối đa. Ở đó vi sinh vật vẫn phát triển nhưng hết sức chậm và yếu. Nếu quá giới hạn đó thì vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt.
- *Nhiệt độ thấp nhất*: là mức độ nhiệt độ thấp mà vi sinh vật vẫn tồn tại, phát triển rất yếu. Nếu quá mức độ đó vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt. Phần lớn vi sinh vật gây bệnh phát triển tốt ở nhiệt độ $35 - 37^{\circ}\text{C}$. Một số nấm men và nấm mốc nuôi cấy trong phòng thí nghiệm phát triển tốt ở $26 - 32^{\circ}\text{C}$.

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Nhiệt độ thường gây cho vi sinh vật những chiều hướng sau. Đối với nhiệt độ thấp thường không gây chết vi sinh vật ngay mà nó tác động lên khả năng chuyển hoá các hợp chất, làm ức chế hoạt động của các hệ enzym, làm thay đổi khả năng trao đổi chất của chúng, vì thế làm vi sinh vật mất khả năng phát triển và sinh sản. Nhiều trường hợp vi sinh vật sẽ bị chết. Khả năng gây chết của chúng hết sức từ từ chứ không xảy ra đột ngột như ở nhiệt độ cao. Dựa vào đặc tính này mà người ta tiến hành cất giữ thực phẩm ở nhiệt độ thấp, bảo quản giống vi sinh vật ở nhiệt độ thấp.

Đối với nhiệt độ cao. Nhiệt độ cao thường gây chết vi sinh vật một cách nhanh chóng. Đa số vi sinh vật bị chết ở 60 - 80⁰C. Một số khá chết ở nhiệt độ cao hơn. Đặc biệt bào tử có khả năng tồn tại ở nhiệt độ > 100⁰C. Nhiệt độ cao thường gây biến tính protit, làm hệ enzym lập tức không hoạt động được, vi sinh vật dễ dàng bị tiêu diệt.

- Lợi dụng đặc điểm này, người ta tiến hành những phương pháp sấy khô thực phẩm, phương pháp thanh trùng. Như thanh trùng Pasteur, tiệt trùng Tindal, v.v...

Theo quan hệ của vi sinh vật đối với nhiệt độ người ta chia ra làm những nhóm khác nhau như sau:

Nhóm ưa lạnh: Bao gồm những vi sinh vật có khả năng phát triển ở nhiệt độ lạnh. Đa số những vi sinh vật đã phát triển trong điều kiện lạnh, nhờ quá trình tiến hoá của chúng mà các vi sinh vật quen với điều kiện lạnh rồi. Thí dụ như vi khuẩn phát sáng, vi khuẩn sống trong đầm hồ lạnh. Nhiệt độ tối ưu cho chúng phát triển là 15 -20⁰C. Nhiệt độ cao nhất cho chúng tồn tại là 30 - 35⁰C, và nhiệt độ thấp nhất của chúng là 0⁰C có khi là -6⁰C. Một số nấm mốc có khả năng tồn tại ở -11⁰C.

Nhóm vi sinh vật ưa ấm: Phát triển ở nhiệt độ trung bình. Thuộc nhóm này thường thấy những vi khuẩn gây bần, vi khuẩn gây bệnh. Nhiệt độ tối ưu cho chúng phát triển là 25 - 36⁰C. Tối thiểu là 10⁰C và tối đa là 43 - 50⁰C.

Nhóm vi sinh vật ưa nóng: Thường phát triển ở nhiệt độ tương đối cao. Nhiệt độ tối ưu cho chúng phát triển là 50 - 60⁰C. Tối thiểu là 35⁰C và tối đa là 80⁰C. Thuộc nhóm này gồm có những vi sinh vật phát triển ở đường tiêu hoá động vật, phát triển trên bề mặt đất luôn có ánh sáng mặt trời, trong nguồn nước luôn luôn nóng.

Bảng 2.13. Phân loại vi sinh vật theo ảnh hưởng của nhiệt độ

Số TT	Nhóm vi sinh vật	Nhiệt độ tối thiểu	Nhiệt độ tối ưu	Nhiệt độ tối đa
1	Ưa nóng	40 ? 45 ⁰ C	55 ? 75 ⁰ C	60 ? 70 ⁰ C

2	Ưa ẩm	5 ? 15	30 ? 40	40 ? 47
3	Ưa lạnh			
3.1	Ưa lạnh bắt buộc	(-5) ? 5	12 ? 15	15 ? 20
3.2	Ưa lạnh không bắt buộc	(-5) ? 5	25 ? 30	30 ? 35

Ảnh hưởng của độ ẩm

Độ ẩm không khí, độ ẩm vật liệu hay độ ẩm môi trường cũng ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển và sinh sản của vi sinh vật. Đa số vi sinh vật phát triển tốt ở độ ẩm không khí 80% và độ ẩm môi trường > 20%. Nếu hạ thấp độ ẩm sẽ làm rối loạn quá trình sinh lý bình thường của vi sinh vật. Độ ẩm là một trong những yếu tố làm cho vi sinh vật tiếp nhận thức ăn dễ dàng. Nhờ có độ ẩm tốt mà các chất dinh dưỡng dễ thâm nhập vào cơ thể, các hệ enzym thủy phân mới hoạt động được. Nếu độ ẩm quá thấp xảy ra hiện tượng thay đổi trạng thái của nguyên sinh chất. Từ thay đổi trạng thái như vậy dẫn tới vi sinh vật không phát triển được.

Lợi dụng đặc điểm này người ta tiến hành những phương pháp sấy khô, phơi khô để làm giảm độ ẩm nguyên liệu. Làm khô không khí để hạn chế sự phát triển của vi sinh vật hay để những vật liệu cần bảo quản ở những điều kiện khô ráo cho vi sinh vật ít phá hoại.

Ảnh hưởng của ánh sáng

Ảnh hưởng mặt trời chiếu rọi xuống đất, những vi sinh vật phát triển trên bề mặt đất đều bị tiêu diệt, trừ những vi khuẩn tự dưỡng quang năng. Thường thường chúng bị tiêu diệt rất nhanh trong vài phút đến 1 giờ. Các vi sinh vật gây bệnh thường nhạy cảm với ánh sáng hơn những vi sinh vật gây thối.

Tác dụng chiếu sáng phụ thuộc vào bước sóng của tia sáng. Bước sóng càng ngắn, khả năng tác dụng quang hoá càng mạnh càng làm vi sinh vật dễ bị tiêu diệt.

Lợi dụng đặc tính này mà người ta thường phơi nắng các dụng cụ cần bảo quản, một mặt làm giảm độ ẩm, một mặt tiêu diệt những vi sinh vật trên bề mặt. Hai nữa, nhiều người tắm nắng, một trong những yêu cầu là làm hệ vi sinh vật trên da bị tiêu diệt.

Ảnh hưởng tia tử ngoại

Tia tử ngoại có khả năng tiêu diệt vi sinh vật rất nhanh. Chính vì thế mà ngày nay người ta sử dụng tia tử ngoại như một trong những phương thức tiệt trùng trong nghiên cứu hay trong sản xuất.

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Ảnh hưởng phóng xạ, Røghen

Tia phóng xạ và tia røghen trong khi chiếu xạ mặc dù trong thời gian rất ngắn cũng đủ làm ức chế và tiêu diệt vi sinh vật. Mặt khác cũng có nhiều vi sinh vật có khả năng bền vững với điều kiện chiếu xạ này.

Ảnh hưởng của chất hoà tan (áp suất)

Nồng độ hoà tan thường gây áp suất thẩm thấu lên màng tế bào vi sinh vật. Ở đây thường xảy ra hai trường hợp.

Trường hợp thứ nhất: Trường hợp chất hoà tan trong môi trường quá cao. Trong tế bào vi sinh vật xảy ra hiện tượng, tách nước ra ngoài môi trường. Vì thế tế bào xảy ra hiện tượng mất nước hay là teo nguyên sinh chất (hay co nguyên sinh chất). Vì thế làm thay đổi khả năng trao đổi chất của tế bào, làm tế bào dễ bị chết.

Trường hợp thứ hai: Tế bào vi sinh vật có khả năng thích ứng với điều kiện áp suất thẩm thấu ở môi trường thay đổi. Trong điều kiện đó xuất hiện sự tích lũy trong dịch bào những muối khoáng hoặc là những chất hoà tan làm điều hòa áp suất ở trong và ở ngoài tế bào. Đây là hiện tượng tự điều chỉnh áp suất của vi sinh vật.

Ứng dụng hiện tượng này người ta thường tiến hành muối chua rau quả và muối thịt hoặc ngâm đường.

Đa số vi sinh vật gây thối bị ức chế ở nồng độ muối 5 - 10% (thí dụ *Proteus vulgaris*, *Bac. Mesentericus*). Vì thế nồng độ muối 5 - 10% có khả năng bảo quản một số sản phẩm thực phẩm. Trong thực tế người ta dùng nhiều hơn. Thịt thường cho 30%, dưa chuột 12 - 15%, cá 20%, còn đối với nồng độ đường thì cao hơn, có thể lên 40%. Một số vi sinh vật khác có khả năng tồn tại ở nồng độ 80%.

Ảnh hưởng của các yếu tố hoá học

Các chất hoá học tác dụng lên vi sinh vật khác nhau hoàn toàn khác nhau. Ta xét một số ảnh hưởng cơ bản sau:

Ảnh hưởng của nồng độ ion hydro (pH)

Phản ứng pH môi trường tác động trực tiếp lên vi sinh vật. Ion hydro nằm trong thành phần môi trường làm thay đổi trạng thái điện tích của thành tế bào. Tùy theo nồng độ của chúng mà làm tăng hoặc giảm khả năng thẩm thấu của tế bào đối với những ion nhất định. Mặt khác chúng cũng làm ức chế phần nào các enzym có mặt trên thành tế bào.

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Sự phát triển của vi sinh vật chỉ có thể rất nghiêm ngặt ở axit hay kiềm. Đối với vi khuẩn thuận lợi nhất là chúng phát triển trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu. Đối với nấm men và nấm mốc thì phát triển ở môi trường axit yếu.

Nếu nồng độ hydro trong dung dịch vượt quá mức độ bình thường đối với vi sinh vật nào đó thì sự sống bị ức chế. Thí dụ như trong quá trình làm dưa chua, độ axit dần dần tăng lên làm tiêu diệt những vi khuẩn gây thối, sau đó những vi khuẩn lactic. Sự thay đổi pH môi trường có thể gây ra thay đổi kiểu lên men hay đặc tính lên men.

Trong điều kiện phòng thí nghiệm phân lớn chúng ta sử dụng những môi trường có pH đối với vi khuẩn 7 - 7,6; đối với nấm men và nấm mốc 3,0 - 6,0.

Bảng 2.13. Ảnh hưởng pH đối với một số vi sinh vật

LOÀI VI SINH VẬT	pH môi trường		
Độ axit tối thiểu	Tối ưu	Kiềm tối thiểu	
Saccharomyces cerevisiae	4	5,8	6,8
Streptococcus lactic	4,0 - 5,1		7,9
Lactobacterinus casei	3,0 - 3,9	-	7,1
E. coli	4,4	6,5 - 7,8	7,8
Clostr.amylobacter	5,7	6,9 - 7,3	
Vi khuẩn gây thối			
Bac. Mesentericeus	5,8	6,8	8,5
Clostr. Putrificum	4,2	7,5 - 8,5	9,4
Vi khuẩn cố định đạm			
Azotobacter chroococcum	5,6	6,5 - 7,8	8,8 - 9,2
Vi khuẩn nitrat			
Nitrosomonas	3,9	7,7 - 7,9	9,7
Nitrosobacter	3,9	6,8 - 7,3	13,0
Nấm mốc	1,2	1,7 - 7,7	9,2 - 11,1

Ứng dụng ảnh hưởng của pH: Hiện nay người ta ứng dụng ảnh hưởng này trong sản xuất cũng như trong chọn giống vi sinh vật chủ yếu tạo điều kiện cho vi sinh vật có lợi phát

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

triển và ức chế sự phát triển của vi sinh vật có hại. Thí dụ như trong đời sống người ta thường hay ngâm dấm, dầm dấm. Đó là một trong những cách bảo quản.

Ảnh hưởng của chất độc, các chất diệt khuẩn

Nhiều chất độc hoá học có khả năng tiêu diệt vi sinh vật. Khả năng tác dụng này có một ý nghĩa rất lớn trong kỹ thuật vi sinh vật học. Cơ chế tác dụng của chúng khác nhau, nói chung không đồng nhất, nó phụ thuộc vào bản chất hoá học của chất diệt vi sinh vật, phụ thuộc vào từng loài vi sinh vật.

Thí dụ: Este, alcol, dung dịch kiềm yếu tác dụng làm tan chất lipoit có trong thành phần tế bào. Muối kim loại nặng, kẽm, axit, phocmanlin làm đông tụ protein, làm thay đổi thành phần bào tương của vi sinh vật.

Axit nitric, clo, bột clo, permanganat kali, các chất hữu cơ oxy hoá mạnh có khả năng phá huỷ hần tế bào vi sinh vật, còn các chất khác như glyxerin, nồng độ đường và nồng độ muối cao gây áp suất thẩm thấu.

Các chất được ứng dụng trong kỹ thuật để tiêu diệt vi sinh vật còn gọi là chất diệt khuẩn. Hoạt tính diệt khuẩn của các chất hoá học phụ thuộc trước tiên vào cấu tạo, nồng độ chất, thời gian tác dụng của nó đối với vi sinh vật, loại vi sinh vật, thành phần hoá lý của môi trường và nhiệt độ của môi trường đó.

Ứng dụng: Các chất diệt khuẩn được ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm phải đảm bảo những yêu cầu cơ bản sau:

1. Tác dụng diệt khuẩn mạnh ở nồng độ nhỏ.
2. Có khả năng tan trong nước
3. Chất diệt khuẩn không được có mùi, vị và không gây độc hại cho người.
4. Bền vững trong bất kỳ điều kiện bảo quản nào.
5. Không gây tác dụng phá huỷ dụng cụ chứa cũng như thiết bị kỹ thuật.

Đối với vật dụng diệt khuẩn ẩm thì dùng chất hoá học ở dạng dung dịch, huyền phù hay bột còn chất khí thì dùng dạng khí hoặc dạng hơi.

Các chất hóa học thường được ứng dụng để diệt khuẩn như sau:

** Kiềm và muối*

- NaOH 0,1% với pH = 10, trong nồng độ này vi sinh vật bị tiêu diệt trong 1 - 2 phút ở nhiệt độ 40⁰C (không được dùng với thiết bị làm bằng nhôm).

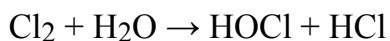
- NaCO₃ 1% hay 0,5% thường sử dụng ở nhiệt độ 55⁰C.

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

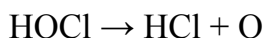
*** Halogen và những dẫn xuất**

- *Clor*: Đây là chất diệt khuẩn rất mạnh. Nó có thể sử dụng ở dạng nước hay dạng khí. Tác dụng của chúng lên tế bào dinh dưỡng, lên bào tử không đồng đều. Nồng độ rất nhỏ cũng đủ tiêu diệt vi sinh vật.

Phản ứng Clor với nước theo cơ chế sau:



Ngoài ClO_2 ra tác dụng diệt vi sinh vật còn có O và HCl



Khả năng tác dụng của Clor lên trực khuẩn đường ruột xem bảng sau:

Bảng 2.14. Khả năng tác dụng của Clo lên vi sinh vật

Thời gian tương tác (phút)	Lượng vi sinh vật trong 1ml nước phụ thuộc nồng độ Clo mg/l			
0,5	1,0	2,0	4,0	
0	1.800.000	1.800.000	1.800.000	1.800.000
1	13.900	1.940	350	285
2	6.000	970	24	8
5	4.500	640	15	5

- Bột Clo CaOCl_2 là dạng hypoclorit được ứng dụng nhiều trong công nghiệp. Thường thường sử dụng nồng độ 2%.

- Antifocmin thường được ứng dụng nhiều trong sản xuất bia. Antifocmin được điều chế từ ba thành phần bột Clor, hydroxit canxi, hydroxit natri.

*** Hợp chất kim loại nặng**

Thường sử dụng nhiều là thủy ngân, đồng và bạc. Chúng ở dạng các hợp chất hữu cơ hay vô cơ. Các chất này chủ yếu là làm đông tụ protein của vi sinh vật.

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Clorua thủy ngân. Thường sử dụng ở trạng thái dung dịch ở nồng độ 1/10000. Nếu nồng độ 1/1000 sẽ tiêu diệt những tế bào dinh dưỡng trong vòng 1 - 30 phút. Và nồng độ 1/500 tiêu diệt bào tử vi sinh vật.

Các hợp chất bạc. Thường sử dụng nhiều dạng khác nhau. Trong y học người ta sử dụng nitrat bạc. Trong công nghiệp thực phẩm người ta sử dụng một số hợp chất khác. Cơ chế tác dụng chủ yếu là do bạc tác dụng lên tế bào ở nồng độ 1:10.000.000.000.

* Phenol và những dẫn xuất của chúng

Thường sử dụng rất nhiều những dẫn xuất khác nhau của phenol.

A. Cacbonlic (C_6H_5OH). Thường sử dụng với độ pha loãng 1:100. Ở nồng độ này phần lớn những tế bào dinh dưỡng bị tiêu diệt sau 5 - 10 phút. Trong nồng độ dung dịch 2 - 5% tiêu diệt nhiều tế bào gây bệnh.

* Các chất khí

Thường sử dụng nhiều chất khí khác nhau. Rất nhiều chất khí có khả năng tiêu diệt vi sinh vật.

Formalin. Cơ chế tác dụng của chúng là lên nhóm amin của protit vi sinh vật dẫn tới làm biến tính chúng.

Nồng độ formalin 5% tiêu diệt bào tử sau 30 phút - 2% sau 60 phút, 1% sau 2 giờ. Để diệt khuẩn thường sử dụng dung dịch 2% được điều chế từ dung dịch 40% formalin.

Ngoài ra người ta còn sử dụng SO_2 và một số chất khác trong công nghiệp nước uống.

Các sản phẩm trao đổi chất

Trong quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật cũng như nhiều sinh vật khác có hai quá trình đồng hoá và dị hoá. Hai quá trình này luôn luôn song song tồn tại. Do quá trình dị hoá mà nhiều sản phẩm trao đổi chất của chúng có tác dụng ngược lại quá trình đồng hoá.

Các sản phẩm trao đổi chất thường có tác dụng rất độc hại đối với vi sinh vật. Bình thường các vi sinh vật lấy các chất dinh dưỡng trong môi trường đồng thời thải các chất cặn bã ra xung quanh. Các chất thải này một mặt gây ức chế các quá trình hấp thụ thức ăn của vi sinh vật. Các sản phẩm trao đổi chất bao bọc xung quanh tế bào tạo thành một lớp làm cho các chất dinh dưỡng không chui vào trong tế bào được. Mặt khác chính các sản phẩm trao đổi chất này gây tác động ức chế sinh tổng hợp các hệ enzym và làm ức chế hoạt động của enzym.

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Hiểu được tác dụng này người ta tiến hành nuôi vi sinh vật để thu sinh khối phải cải tiến nhiều cách để làm sản phẩm trao đổi chất ít gây độc hại đối với vi sinh vật. Các biện pháp đó như sau:

1. Khuấy trộn là một trong những phương pháp làm các thành phần trao đổi chất không bám xung quanh tế bào, không ức chế hoạt động của vi sinh vật.
2. Thổi khí cũng có tác dụng tương tự, đồng thời đẩy nhanh các chất khí độc hại ra khỏi môi trường.
3. Tiến hành nuôi cấy liên tục làm thay đổi thành phần môi trường nuôi cấy, làm giảm nồng độ các chất thải của vi sinh vật trong môi trường.

Ảnh hưởng các yếu tố sinh học

Ngoài tác dụng của các yếu tố bên ngoài, bản thân giữa các vi sinh vật cũng có tác dụng qua lại. Sự tác dụng qua lại này xảy ra muôn hình muôn vẻ. Từ đó tạo ra những mối quan hệ.

Quan hệ công sinh

Là hiện tượng trong cùng một môi trường có hai hay nhiều cá thể của hai hay nhiều loài cùng sinh trưởng, cùng phát triển cùng sinh sản mà không gây ảnh hưởng xấu lẫn nhau.

Thí dụ như vi khuẩn và cây họ đậu, thí dụ như nấm men và vi khuẩn Lactic. Vi khuẩn Lactic làm axit hoá môi trường tạo điều kiện thuận lợi cho nấm men phát triển. Nấm men phát triển làm giàu các chất trong môi trường cho vi khuẩn phát triển. Trong các chất đó lưu ý nhất là vitamin và các hợp chất chứa nitơ.

Quan hệ đối kháng

Là hiện tượng mà trong cùng một điều kiện môi trường có một loài vi sinh vật này trong quá trình sinh trưởng, phát triển sẽ lấn át loài khác, làm cho loài kia bị tiêu diệt. Thí dụ như một số vi sinh vật tạo thành chất kháng sinh để tiêu diệt loài khác.

Quan hệ ký sinh

Đây là mối quan hệ giữa hai cơ thể sống, một loài này sống bám vào loài khác. Loài này phát triển lên và sẽ làm loài kia bị tiêu diệt. Thí dụ như virus đối với các vi sinh vật khác (Thực khuẩn thể, virus của động vật và thực vật).

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Quá trình sinh trưởng và phát triển

Quá trình sinh trưởng và phát triển là đặc tính của vi sinh vật sống. Cũng như ở các sinh vật khác, vi sinh vật sẽ tăng kích thước tế bào và tăng nhanh khối lượng tế bào chung (Người ta gọi là sinh khối - biomass).

Sinh trưởng và phát triển thường không phải lúc nào cũng diễn ra cùng một lúc, nghĩa là số lượng tế bào không phải lúc nào cũng tỷ lệ thuận với sinh khối tạo thành. Điều dễ nhận thấy nhất là trong môi trường nghèo chất dinh dưỡng, tế bào vẫn có khả năng sinh sản để tăng số lượng tế bào nhưng kích thước tế bào này nhỏ hơn rất nhiều trong điều kiện đầy đủ chất dinh dưỡng.

Sự sinh trưởng

Trong điều kiện môi trường nuôi cấy đầy đủ chất dinh dưỡng và trong điều kiện nuôi cấy thích hợp, tế bào vi sinh vật tăng nhanh về kích thước đồng thời sinh khối được tích lũy nhiều.

Có nhiều phương pháp kiểm tra sự sinh trưởng của vi sinh vật trong quá trình nuôi cấy. Những phương pháp đó được trình bày như sau:

- Đo kích thước tế bào non và tế bào trưởng thành.
- Xác định sinh khối tươi và sinh khối khô bằng phương pháp ly tâm và cân xác định trọng lượng.
- Xác định hàm lượng nitơ tổng số hoặc xác định lượng carbon tổng số.
- Xác định các quá trình trao đổi chất thông qua các cấu tử tham gia quá trình đó như lượng oxy tiêu hao, lượng CO₂ sản sinh ra và các sản phẩm của quá trình lên men.

Sự phát triển

Các vi sinh vật sinh sản bằng phương pháp nhân đôi thường cho lượng sinh khối rất lớn sau một thời gian ngắn. Trong trường hợp sinh sản theo phương pháp này thì trong dịch nuôi cấy sẽ không có tế bào già. Vì rằng tế bào được phân chia thành hai, cứ như vậy tế bào lúc nào cũng ở trạng thái đang phát triển. Ta chỉ phát hiện tế bào già trong trường hợp môi trường thiếu chất dinh dưỡng và tế bào vi sinh vật không có khả năng sinh sản nữa.

Riêng đối với nấm men hiện tượng phát triển tế bào già rất rõ. Nấm men sinh sản bằng cách nảy chồi. Khi chồi non tách khỏi tế bào mẹ để sống độc lập thì nơi tách đó trên

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

tế bào mẹ tạo thành một vết như vết sẹo. Vết sẹo này sẽ không có khả năng tạo ra chồi mới. Cứ như vậy tế bào nấm men mẹ sẽ chuyển thành tế bào già theo thời gian.

Để xác định khả năng phát triển của vi sinh vật hiện nay người ta dùng nhiều phương pháp khác nhau:

- Xác định định số lượng tế bào bằng phương pháp đếm trực tiếp trên kính hiển vi hay gián tiếp trên mặt thạch.

- Đo độ đục của tế bào trong dung dịch nuôi cấy trên cơ sở xây dựng một đồ thị chuẩn của mật độ tế bào.

- Tính thời gian một thế hệ (một lần sinh sản). Thời gian cho một lần phân chia tế bào gọi là thời gian thế hệ G. G được biểu diễn theo công thức sau:

$$G = \frac{t_1 - t_0}{n}$$

Trong đó:

G : Là thời gian phân chia tế bào

t₀ : Thời gian bắt đầu phân chia

t₁ : Thời gian kết thúc phân chia

n : số lần phân chia

Số lần phân chia (n) được tính theo công thức sau:

$$n = \frac{\lg B_1 - \lg B_0}{\lg 2}$$

Trong đó:

B₁ : Số lượng tế bào sau nuôi cấy

B₀ : Số lượng tế bào bắt đầu nuôi cấy

Số lần phân chia trong 1 giờ (C) hay còn gọi là hằng số tốc độ phân chia được tính như sau:

$$C = \frac{n}{t_1 - t_0} = \frac{\lg B_1 - \lg B_0}{\lg 2 (t_1 - t_0)}$$

Mối quan hệ giữa thời gian thế hệ G và hằng số tốc độ C được biểu diễn như sau:

$$G = \frac{1}{C}$$

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Thứ nhất là chất dinh dưỡng trong môi trường giảm và dần đến hết. Vi sinh vật không đủ chất dinh dưỡng để duy trì quá trình trao đổi chất. Thứ hai tế bào đã đến giai đoạn già. Thứ ba là sản phẩm trao đổi chất trong môi trường quá nhiều gây ức chế quá trình trao đổi chất của tế bào. Nếu mục đích của quá trình nuôi cấy là thu nhận các sản phẩm trao đổi chất thì nên kết thúc ở pha này.

** Hiện tượng sinh trưởng kép*

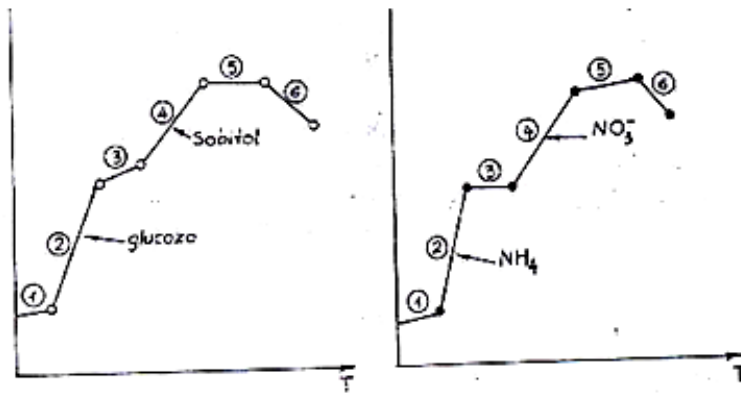
Hiện tượng này xảy ra khi môi trường chứa nguồn cacbon gồm một hỗn hợp của hai chất hữu cơ khác nhau. Lúc đầu vi sinh vật đồng hoá chất hữu cơ nào chúng thấy thích hợp nhất. Mặt khác sản phẩm và cơ chất một sẽ kìm hãm các enzym của cơ chất 2. Quá trình này đòi hỏi một thời gian nhất định. Vì thế, ta thấy xuất hiện hai pha lag và hai pha log. Ta có thể xem đồ thị hình 2.6

** Sinh trưởng và phát triển trong nuôi cấy liên tục*

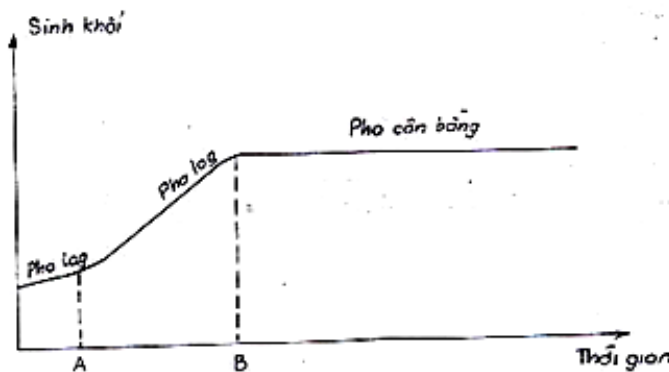
Phương pháp nuôi cấy liên tục là phương pháp người ta cho dòng môi trường mới liên tục vào trong quá trình lên men, đồng thời sẽ lấy liên tục sản phẩm của quá trình lên men đó ra khỏi hệ thống lên men.

Trong phương pháp này người ta giữ thể tích lên men trong thiết bị lên men không thay đổi, bằng cách điều chỉnh tốc độ môi trường mới vào và sản phẩm cuối của quá trình lên men. Tốc độ này thường không thay đổi. Vi sinh vật phát triển trong môi trường nuôi cấy liên tục sẽ có một quy luật riêng. Quá trình tăng sinh khối trong một quy luật riêng. Quá trình tăng sinh khối trong môi trường lên men liên tục cũng trải qua giai đoạn thích ứng ban đầu (pha lag) và giai đoạn tăng sinh khối (pha log). Nhưng sau đó tổng lượng sinh khối sẽ không thay đổi. Ta có thể xem đồ thị sinh trưởng sau:

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật



Hình 2.6. Sinh trưởng kép của vi sinh vật



Hình 2.7. Sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong môi trường cấy liên tục

Các giai đoạn sinh trưởng và phát triển trong nuôi cấy tĩnh

Phương pháp nuôi cấy tĩnh hay phương pháp nuôi cấy theo chu kỳ là phương pháp nuôi cấy ở đó môi trường dinh dưỡng được giữ nguyên khi bắt đầu nuôi cấy đến khi kết thúc quá trình nuôi cấy mà không cho thêm chất dinh dưỡng mới vào.

Đồng thời sản phẩm của quá trình lên men đó chỉ lấy ra khi hết quá trình nuôi cấy.

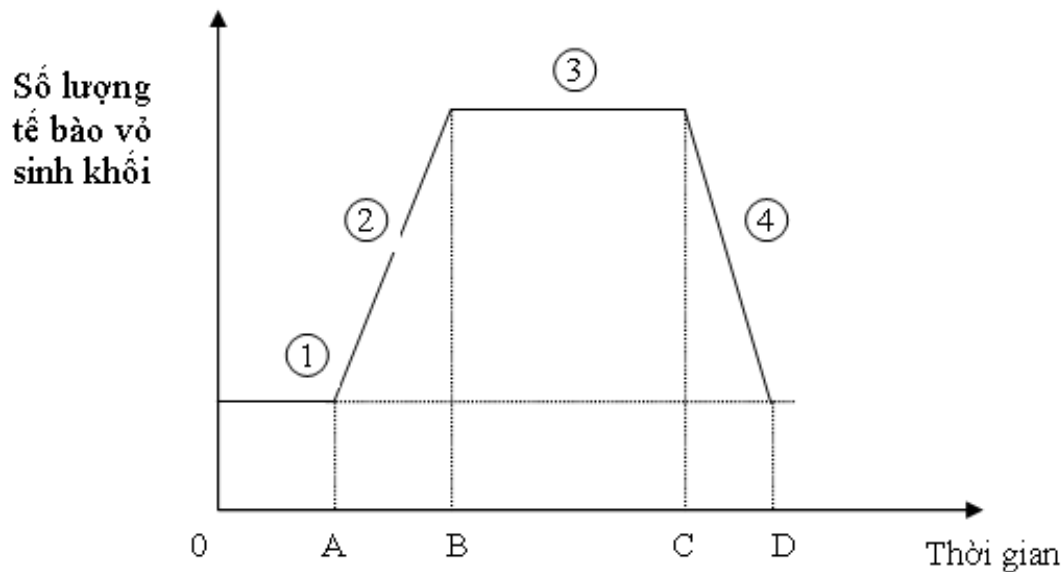
Sự phát triển và sinh trưởng của vi sinh vật trong hệ kín đó tuân theo một quy luật nhất định.

Biểu thị quy luật sinh trưởng và phát triển trong hệ kín này bằng một đồ thị người ta gọi là đồ thị sinh trưởng đơn hay đường cong sinh trưởng đơn.

Sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong hệ kín này phải trải qua 4 giai đoạn sau:

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Giai đoạn thứ nhất (1): Giai đoạn này còn gọi là pha lag - Pha tiền phát. Ở giai đoạn này được tính từ lúc bắt đầu nuôi cấy đến lúc bắt đầu thấy sự sinh trưởng và phát triển nhanh.



Hình 2.5. Đường cong sinh trưởng của vi sinh vật

Ở giai đoạn này vi sinh vật chưa tiến hành sinh sản mà chỉ xảy ra quá trình thích nghi với môi trường nuôi cấy. Kích thước các tế bào bắt đầu tăng dần do sự trao đổi chất với môi trường rất mạnh. Thời gian pha này ngắn hay dài phụ thuộc rất nhiều vào tuổi sinh lý của giống vi sinh vật đưa vào nuôi cấy và chất lượng của thành phần môi trường.

Giai đoạn thứ hai (2): còn gọi là pha cấp số hay pha log. Pha này được biểu hiện rõ nét bởi tốc độ sinh sản của vi sinh vật đạt cực đại. Tế bào vừa sinh sản mạnh, vừa tăng sinh khối. Pha này được biểu thị như một cấp số nhân, nó tăng theo phương trình:

$$B_1 = B_0 \cdot 2^n$$

Trong pha này các chất dinh dưỡng giảm đi rất nhanh do sự đồng hoá chúng bởi vì vi sinh vật phát triển rất mạnh. Ở giai đoạn này vi sinh vật tiến hành tổng hợp enzyme với số lượng và chất lượng rất cao. Vì thế nếu mục đích của quá trình nuôi cấy là thu nhận các chất có hoạt tính sinh học hoặc tế bào có khả năng hoạt động mạnh, người ta thường kết thúc quá trình ở cuối giai đoạn log này.

Giai đoạn thứ ba (3): Là giai đoạn cân bằng hay pha ổn định. Trong pha này quần thể vi sinh vật ở trạng thái cân bằng động. Tổng số tế bào mới sinh ra bao giờ cũng gần bằng tổng số tế bào chết đi.

Các chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy giảm một cách rõ rệt. Các chất tạo ra do quá trình trao đổi chất được tích lũy trong môi trường rất lớn.

ảnh hưởng của yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật

Sinh khối chung trong pha này đạt được là cao nhất trong quá trình nuôi cấy. Vì thế nếu mục đích nuôi cấy là chỉ để thu tổng sinh khối thì nên kết thúc ở giữa pha ổn định.

Giai đoạn thứ tư (4): Còn gọi là pha tử vong. Trong pha này số lượng tế bào sinh ra và tế bào chết không cân bằng. Số lượng tế bào chết tăng rất nhanh.