

Giới thiệu chung về một số phương pháp bảo quản vi sinh vật

Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

Giới thiệu chung về một số phương pháp bảo quản vi sinh vật:

Trong phần này chúng tôi mô tả các phương pháp được dùng chung cho các đối tượng vi sinh vật chính (vi khuẩn, nấm sợi, nấm men, xạ khuẩn, vi tảo).

Phương pháp cấy truyền vi sinh vật:



Hình 1. Bảo quản bằng phương pháp cấy truyền trên môi trường thạch

Đây là phương pháp bảo quản đơn giản, các chủng vi sinh vật được cấy trên môi trường thích hợp (dịch thể hay trên thạch) trong ống nghiệm hay bình tam giác và để

Giới thiệu chung về một số phương pháp bảo quản vi sinh vật

trong điều kiện thích hợp cho vi sinh vật phát triển. Sau đó các chủng vi sinh vật này được chuyển đến nơi bảo quản có nhiệt độ thích hợp. Quá trình này được lặp lại trong một thời hạn nhất định, đảm bảo chủng vi sinh vật luôn được chuyển đến môi trường mới trước khi già và chết. Thực tế có nhiều chủng vi sinh vật thích hợp với phương pháp bảo quản này như: *Staphylococi*, *Coliform*... có thể sống được vài năm theo cách này. Cho dù phương pháp này là phương pháp khá phổ biến được dùng trong các cơ sở nghiên cứu và sử dụng các chủng vi sinh vật đặc biệt là các chủng đang dùng cho nghiên cứu. Tuy nhiên, phương pháp này cũng bộc lộ nhiều nhược điểm sau:

- Dễ bị tạp nhiễm và dễ dẫn đến mất chủng giống gốc.
- Mất hay nhầm lẫn nhãn hiệu giữ các chủng trong quá trình bảo quản.
- Phải nghiên cứu và theo dõi thời gian cấy truyền thích hợp đối với các chủng bảo quản.
- Tốn nhiều công sức để cấy truyền.
- Giống gốc có thể mất do sai sót khi dùng môi trường cấy truyền không thích hợp.
- Chủng vi sinh vật cấy truyền dễ bị thay đổi các đặc điểm sinh học do đột biến xuất hiện sau mỗi lần cấy truyền.

* Phương pháp làm mất nước trong môi trường bảo quản:

Phương pháp này thường dùng cho các chủng nấm sợi và nấm men. Theo phương pháp này các chủng vi sinh vật có thể được bảo quản với các chất mang phổ biến như sau:

a. Trên đất, cát và silicagel. Các nghiên cứu cho thấy là bào tử nấm có thể sống 4-5 năm khi bị làm khô trong đất mà không bị thay đổi các đặc tính sinh học. Ngày nay silicagel là chất mang được dùng phổ biến và có hiệu quả đối với bảo quản nấm men, nấm sợi.

b. Bảo quản trên giấy: Các chủng nấm men và nấm sợi được làm khô trên giấy và sau đó được bọc bằng giấy bạc và đựng trong hộp kín. Ưu thế của phương pháp này là bảo quản được lượng mẫu lớn.

c. Bảo quản trên gelatin: Để thực hiện phương pháp này, người ta tạo dịch huyền phù chủng vi sinh vật trong môi trường có gelatin. Sau đó các giọt mẫu được làm khô trong đĩa petri. Phương pháp này có thể bảo quản được vi khuẩn trong vài năm.

Nhìn chung, không có phương pháp nào là vạn năng cho bảo quản các nhóm vi sinh vật khác nhau. Thực ra là rất khó khi đánh giá một cách đầy đủ xét theo mọi yêu cầu đã được đặt ra ở trên. Chính vì vậy mà các phương pháp bảo quản phải được kiểm nghiệm

Giới thiệu chung về một số phương pháp bảo quản vi sinh vật

thực tế với từng loại vi sinh vật, từ kết quả đó có thể chọn ra phương pháp thích hợp hoặc đồng thời sử dụng các phương pháp khác nhau.

Phương pháp đông khô vi sinh vật và phương pháp đông khô trực tiếp:

Phương pháp đông khô:



Hình 2. Đông khô vi sinh vật.

Đông khô là quá trình mà nước được lấy ra khỏi mẫu khi các mẫu đang ở trạng thái lạnh sâu. Ở đây vi sinh vật được huyền phù trong môi trường thích hợp và được làm lạnh trong môi trường chân không. Thiết bị đông khô sẽ hút nước và cuối cùng mẫu được làm khô đến mức nhất định. Mẫu được hàn kín để cho môi trường chứa mẫu là chân không. Đây là phương pháp phổ biến có hiệu quả cao cho bảo quản các đối tượng vi sinh vật khác nhau như nấm sợi, nấm men, vi khuẩn và một số virus. Tuy nhiên, phương pháp này ít được ứng dụng đối với tảo, động vật nguyên sinh và tế bào động vật.

Phương pháp đông khô dịch thể trực tiếp (L-drying):

Ngoài phương pháp đông khô như mô tả ở trên, còn có phương pháp đông khô trực tiếp. Khác biệt với phương pháp trên ở chỗ dịch huyền phù vi sinh vật được làm khô nhanh ở chế độ chân không thích hợp mà mẫu không cần làm lạnh từ trước. Phương pháp này đặc biệt có ý nghĩa đối với nhóm vi khuẩn không có khả năng sống trong nhiệt độ thấp của giai đoạn tiền đông. Các thông số quan trọng cần được quan tâm khi thực hiện phương pháp này là:

- Tuổi của vi sinh vật bảo quản.

Giới thiệu chung về một số phương pháp bảo quản vi sinh vật

- Thành phần dịch huyền phù tế bào vi sinh vật.
- Tốc độ đông khô.
- Nhiệt độ đông khô thấp nhất.
- Khoảng thời gian làm khô mẫu và độ ẩm cuối cùng của mẫu.

Phương pháp này nhanh và thuận lợi cho các đợt bảo quản số lượng lớn mẫu. Thông thường theo phương pháp này vi sinh vật được bảo quản từ 10-20 năm. Nói chung cả hai phương pháp này có nhiều ưu điểm so với các phương pháp trước như thời gian bảo quản lâu, tiết kiệm được công sức và sai sót nhãn mác và tạp nhiễm. Tuy nhiên, nhược điểm lớn nhất của phương pháp này là giá thành thiết bị. Độ ổn định của các chủng vi sinh vật bảo quản theo các đợt đông khô là khác nhau. Hơn thế nữa các chủng trước khi đem ra sử dụng phải được hoạt hoá trên môi trường thích hợp một số lần để phục hồi các đặc tính sinh học.

Phương pháp bảo quản lạnh sâu:

Đối với phương pháp bảo quản lạnh sâu thì vi sinh vật được bảo quản trong môi trường dịch thể và nước cần cho hoạt động sống của vi sinh vật bị bất hoạt ở nhiệt độ lạnh sâu (-196°C \rightarrow -80°C).





Hình 3. Bảo quản lạnh sâu

Với phương pháp này, tế bào có thể bị vỡ trong quá trình làm lạnh và làm tan mẫu. Một nguyên nhân dẫn đến làm vỡ tế bào là việc tích lũy các chất điện giải trong mẫu bảo quản và hình thành các tinh thể nước trong tế bào. Để khắc phục nhược điểm này người ta đã bổ sung các chất làm hạn chế tốc độ lạnh sâu và làm tan nhanh như glycerol, DMSO (dimethyl sulfoxide). Việc bảo quản theo phương pháp lạnh sâu này được thực hiện ở các thang nhiệt độ khác nhau như -20°C , -30°C , -40°C , -70°C , -140°C và -196°C . Nói chung mức nhiệt độ cao hơn -30°C cho hiệu quả thấp do tế bào chịu nồng độ muối cao sinh ra từ các chất điện giải. Phương pháp bảo quản này có hiệu quả với nhiều nhóm vi sinh vật khác nhau như nấm sợi, nấm men, vi khuẩn, xạ khuẩn và virut.

Đặc biệt với phương pháp bảo quản lạnh sâu trong nitơ lỏng là phương pháp vạm vỡ hơn cả. Phương pháp này thích hợp với nhiều đối tượng vi sinh vật khác nhau như vi khuẩn, nấm sợi, nấm men, virut, tảo và cả các dòng tế bào động vật. Tuy nhiên, phương pháp này cũng bộc lộ một số nhược điểm như đầu tư kinh phí cho thiết bị và điện, nitơ lỏng hoặc rủi ro như cháy nổ... Đặc biệt phương pháp này không thích hợp với các chủng vi sinh vật thường xuyên dùng đến. Nói chung phương pháp này thường được dùng với các chủng vi sinh vật có những đặc tính quý mà không thích hợp với phương pháp đông khô.

Giới thiệu chung về một số phương pháp bảo quản vi sinh vật



Hình 4. Bảo quản trong nơơ lỏng