

Chương 3. Dinh dưỡng và tăng trưởng ở vi khuẩn

Mục lục

Chương 3. Dinh dưỡng và tăng trưởng ở vi khuẩn	1
3.1. Yêu cầu dinh dưỡng của tế bào	2
3.2. Các yếu tố dinh dưỡng chính.....	2
3.2.1. Carbon và nguồn năng lượng cho sự tăng trưởng của vi khuẩn	3
3.2.2. Nitrogen.....	5
3.2.3. Các yếu tố dinh dưỡng khác: P, S, K, Mg, Ca, Na	5
3.2.4. Sắt	6
3.3. Nguyên tố vi lượng (nguyên tố vết)	7
3.4. Yếu tố cần thiết cho tăng trưởng.....	9
3.5. Ảnh hưởng của yếu tố vật lý và môi trường.....	11
3.5.1. Ảnh hưởng của Oxygen	11
3.5.2. Ảnh hưởng của pH.....	14
3.5.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ.....	16
3.5.4. Thế nước.....	21

3.1. Yêu cầu dinh dưỡng của tế bào

Giống như nhiều sinh vật khác, vi sinh vật tự nó phải tìm kiếm các chất cần thiết trong môi trường để tạo năng lượng và sinh tổng hợp tế bào. Các hợp chất và nguyên tố được prokaryote sử dụng cho tăng trưởng còn gọi là các chất dinh dưỡng hay yêu cầu dinh dưỡng. Nhiều prokaryote có thể phát triển trên môi trường nuôi cấy trong điều kiện thí nghiệm. Đây là những môi trường được thiết kế nhằm cung cấp tất cả dinh dưỡng thiết yếu cho vi khuẩn tăng trưởng. Một số vi khuẩn bắt buộc phải sống ký sinh trong tế bào khác thường là tế bào eukaryote được gọi là khuẩn cộng sinh. Các khuẩn này rất khó phát triển bên ngoài tế bào chủ. Vì vậy chúng là đối tượng cộng sinh hay ký sinh, tế bào chủ phải cung cấp đồng thời dinh dưỡng cho bản thân và cho cả ký sinh sống trên cơ thể mình.

Nhiều vi khuẩn có thể phát hiện được bằng phương pháp phát hiện hay sử dụng các kỹ thuật di truyền. Tuy nhiên những nỗ lực để phân lập và nuôi cấy chúng trên môi trường nhân tạo thì rất hữu dụng. Trong chương này chúng ta đề cập đến một số nét chính về nhu cầu dinh dưỡng và sự tăng trưởng của prokaryote.

3.2. Các yếu tố dinh dưỡng chính

Nhu cầu dinh dưỡng cơ bản của vi khuẩn như *E. coli* thường đòi hỏi các yếu tố gồm C, H, O, N, S, P, K, Mg, Fe, Ca, Mn. Bên cạnh đó là các yếu tố vi lượng Zn, Co, Cu và Mo. Các yếu tố này được tìm thấy ở dạng nước, ion vô cơ, tiểu phân tử và đại phân tử là những chất có vai trò hoặc hình thành cấu trúc tế bào hoặc đóng vai trò là chức năng trong tế bào. Chức năng sinh lý chung của các chất này được liệt kê trong Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Yếu tố dinh dưỡng chính, nguồn gốc và chức năng trong tế bào vi khuẩn.

Yếu tố	% chất khô	Nguồn gốc	Chức năng
Carbon	50	Hợp chất hữu cơ hoặc CO ₂	Thành phần chính của vật chất tế bào
Oxygen	20	H ₂ O, hợp chất hữu cơ, CO ₂ và O ₂	Thành phần của vật chất tế bào và nước trong tế bào; O ₂ là phân tử nhận điện tử ở hệ hô hấp hiếu khí
Nitrogen	14	NH ₃ , NO ₃ , hợp	Thành phần của các amino acid, nucleic

		chất hữu cơ, N ₂	acid, nucleotide và các coenzyme
Hydrogen	8	H ₂ O, hợp chất hữu cơ, H ₂	Thành phần chính của chất hữu cơ và nước trong tế bào
Phospho	3	phosphates vô cơ (PO ₄)	Thành phần của nucleic acid, nucleotide, phospholipid, lipopolysacchride (LPS), teichoic acid
Sulfur	1	SO ₄ , H ₂ S, S ⁰ , hợp chất sulfur hữu cơ	Thành phần của cysteine, methionine, glutathione, vitamin như thiamine, biotin và lipoic acid và một số coenzyme
Potassium	1	Muối potassium	Là cation vô cơ chính trong tế bào và cofactor cho một số enzyme
Magnesium	0,5	Muối magnesium	Cation vô cơ trong tế bào, cofactor cho một số phản ứng của enzyme
Calcium	0,5	Muối calcium	Cation vô cơ của tế bào, cofactor cho một số enzyme, thành phần của nội bào tử
Sắt	0,2	Muối sắt	Thành phần của cytochrome, một số nonheme iron-protein ^(a) và cofactor ^(b) cho một số phản ứng enzyme

(^a) Nonheme iron-protein là protein tham gia các phản ứng oxi hóa khử, có chứa sắt nhưng không có nhóm porphyrin (Lehninger, 1991).

(^b) Cofactor là một phức hợp hóa học không phải dạng protein, là yếu tố cần thiết cho hoạt động của protein có chức năng enzyme. Chúng được xem như là phân tử trợ giúp trong quá trình biến đổi sinh hóa.

3.2.1. Carbon và nguồn năng lượng cho sự tăng trưởng của vi khuẩn

Để tăng trưởng được trong tự nhiên cũng như trong điều kiện thí nghiệm, vi khuẩn cần phải có nguồn năng lượng, đó là nguồn carbon và nguồn dinh dưỡng cần thiết khác; các điều kiện vật lý phù hợp về nồng độ O₂, nhiệt độ và pH. Đôi khi vi khuẩn được xem như là những cá thể hoặc nhóm cá thể đặc trưng dựa trên kiểu tăng trưởng của chúng trong những điều kiện về dinh dưỡng và vật lý. Ví dụ: nhóm quang dưỡng là những vi khuẩn sử dụng ánh sáng làm nguồn năng lượng; nhóm kỵ khí là những vi khuẩn tăng

trưởng trong điều kiện không có oxygen; nhóm hiếu khí là vi khuẩn đòi hỏi có oxygen trong quá trình tăng trưởng; nhóm ưa nhiệt là vi khuẩn tăng trưởng ở nhiệt độ cao,

Tất cả các cơ thể sống đều đòi hỏi nguồn năng lượng cho sự tăng trưởng. Vi sinh vật sử dụng nguồn năng lượng sáng được gọi là vi sinh vật quang dưỡng. Vi sinh vật oxi hóa được carbon hữu cơ được gọi là nhóm dị dưỡng hay còn gọi là nhóm hóa dị dưỡng. Vi sinh vật có khả năng oxi hóa các hợp chất vô cơ được gọi là vi sinh vật vô cơ dưỡng.

Nhu cầu carbon thường là carbon hữu cơ hoặc là carbon ở dạng CO_2 . Vi sinh vật sử dụng carbon hữu cơ là vi sinh vật dị dưỡng và nhóm sử dụng CO_2 như là nguồn carbon cho tăng trưởng được gọi là vi sinh vật tự dưỡng.

Bảng 3.2. Các dạng dinh dưỡng chính của prokaryote.

Dạng dinh dưỡng	Nguồn năng lượng	Nguồn carbon	Ví dụ đại diện
Quang tự dưỡng (Photoautotroph)	Ánh sáng	CO_2	Khuẩn lam, một số vi khuẩn tía và vi khuẩn xanh
Quang dị dưỡng (Photoheterotroph)	Ánh sáng	Các hợp chất hữu cơ	Một số vi khuẩn tía và vi khuẩn xanh
Quang tự dưỡng hoặc vô cơ dưỡng (Lithotroph) hay vô cơ tự dưỡng (Lithoautotroph)	Các hợp chất vô cơ như H_2 , NH_3 , NO_2 , H_2S	CO_2	Một số vi khuẩn và nhiều Cổ khuẩn
Hóa dị dưỡng hoặc dị dưỡng	Các hợp chất hữu cơ	Các hợp chất hữu cơ	Hầu hết vi khuẩn, một số Cổ khuẩn

Trên cơ sở đánh giá nhu cầu về nguồn carbon và năng lượng cho sự tăng trưởng của vi sinh vật, prokaryote có thể được chia thành bốn dạng chính như trình bày ở Bảng 3.2.

Vi khuẩn tía hay còn gọi là khuẩn tía quang tổng hợp thuộc nhóm quang dưỡng. Chúng có khả năng sinh năng lượng qua con đường quang tổng hợp. Nhóm vi khuẩn này tạo sắc tố nhờ kết hợp giữa diệp lục tố vi khuẩn (bacteriochlorophyll) *a* hoặc *b* với nhiều

dạng carotenoid để hình thành nên các dây sắc tố có màu tía, đỏ, nâu và cam. Nhóm này được chia thành hai nhóm: (i) vi khuẩn tía lưu huỳnh và (ii) vi khuẩn tía không có lưu huỳnh (Rhodospirillaceae).

Hầu hết tất cả eukaryote hoặc thuộc nhóm quang tự dưỡng ví dụ như các thực vật và tảo hoặc là nhóm dị dưỡng ví dụ như động vật, động vật nguyên sinh (protozoa) và nấm. Vô cơ dưỡng chỉ có ở prokaryote và quang dị dưỡng thường gặp ở vi khuẩn tía và khuẩn xanh. Hình thức vô cơ dưỡng chỉ xuất hiện ở một số ít tảo eukaryote. Không tìm thấy quang dưỡng ở cổ khuẩn, ngoại trừ nhóm cổ khuẩn không có quang tổng hợp nhưng lấy ánh sáng từ sự tổng hợp ATP thuộc nhóm vi khuẩn ưa mặn cực đoan (extreme halophile).

3.2.2. Nitrogen

Sau carbon là nitrogen, yếu tố được tìm thấy nhiều trong tế bào. Một tế bào điển hình thì nitrogen chiếm 12% trọng lượng khô và yếu tố này có tầm quan trọng trong protein, nucleic acid và các cấu tử khác của tế bào. Trong tự nhiên, nitrogen thường ở cả hai dạng là nitrogen vô cơ và nitrogen hữu cơ. Tuy nhiên một lượng lớn nitrogen thường sẵn có ở dạng vô cơ như amonia (NH_3), nitrate (NO_3^-) hoặc N_2 . Hầu hết vi khuẩn có khả năng sử dụng amonia như là nguồn nitrogen duy nhất và nhiều vi khuẩn cũng có thể sử dụng nitrate. Tuy nhiên nitrogen dạng khí (N_2) chỉ có thể được một số vi khuẩn sử dụng theo cách cố định đạm.

3.2.3. Các yếu tố dinh dưỡng khác: P, S, K, Mg, Ca, Na

Phosphorus xuất hiện trong tự nhiên ở dạng phosphate hữu cơ và vô cơ và tế bào đòi hỏi yếu tố này cho quá trình tổng hợp acid nucleic và phospholipid. Sulfure được đòi hỏi là do vai trò về cấu trúc của chúng trong các amino acid như cystein và methionine và do chúng có mặt trong một số vitamin như thiamine, biotin và lipoic acid cũng như trong một số coenzyme. Sulfure có sẵn và tồn tại ở nhiều dạng trong sinh vật và trải qua nhiều quá trình biến đổi hóa học trong tự nhiên trong đó có nhiều quá trình được vi sinh vật độc quyền thực hiện. Hầu hết sulfure trong tế bào có nguồn gốc từ nguồn vô cơ, hoặc là sulfate (SO_4^{2-}) hoặc là sulfide (HS^-).

Potassium là yếu tố được nhiều sinh vật đòi hỏi. Nhiều enzyme bao gồm các enzyme trong quá trình tổng hợp protein nhất là đòi hỏi potassium cho hoạt động. Chức

năng của magnesium là làm ổn định ribosome, màng và acid nucleic cũng như đòi hỏi cho hoạt động của nhiều enzyme. Calcium không phải là yếu tố thiết yếu cho sự tăng trưởng của nhiều vi sinh vật, nhưng có chức năng giúp ổn định thành tế bào và yếu tố đóng vai trò chính trong khả năng chịu đựng được nhiệt của nội bào tử. Sodium được một số vi sinh vật đòi hỏi nhưng không phải tất cả và sự cần thiết của yếu tố này phản ánh môi trường sống của vi sinh vật. Ví dụ nước biển có hàm lượng sodium cao và vi sinh vật biển thường đòi hỏi sodium cho tăng trưởng. Ngược lại các loài sống ở nước ngọt thường có khả năng tăng trưởng khi không có sodium.

3.2.4. Sắt

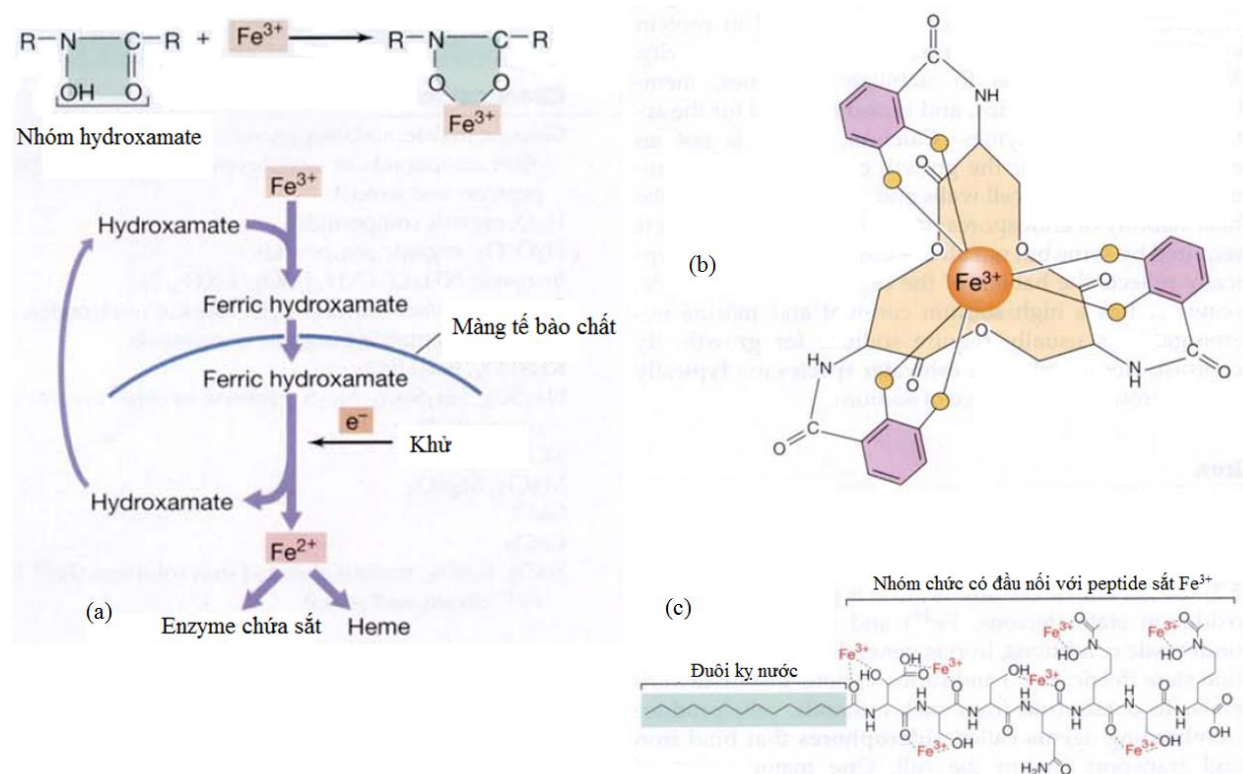
Sắt đóng vai trò chính trong hô hấp tế bào, là thành phần chủ chốt của cytochrome và protein iron-sulfur liên quan đến vận chuyển điện tử. Dưới điều kiện không có oxygen, sắt thường ở trạng thái oxi hóa +2 gọi là ferrous (Fe^{2+}) và hòa tan. Dưới điều kiện có oxygen, sắt thường ở trạng thái oxi hóa +3 gọi là ferric (Fe^{3+}) và ở nhiều dạng khoáng không tan. Để thu nhận sắt ở dạng khoáng không hòa tan này tế bào thường sản sinh ra yếu tố liên kết với sắt được gọi là thể mang sắt (siderophore). Thể này kết nối và vận chuyển sắt vào trong tế bào. Một nhóm chính của thể mang sắt gồm các dẫn xuất từ hydroxamic acid, tạo nên sắt ba dạng kèm kẹp (chelate) rất chắc chắn. Một khi phức hydroxamate-sắt được chuyển vào trong tế bào thì sắt được phóng thích ra và hydroxamate có thể được tiết ra và được sử dụng lại để vận chuyển sắt (Hình 3.1).

Các vi khuẩn như *E.coli*, *Salmonella typhimurium* sản sinh ra phức cấu trúc thể mang sắt phenol được gọi là enterobactin. Các thể mang sắt này là những dẫn xuất của hợp chất thơm catechol và có ái lực liên kết với sắt cực kỳ cao. Khi không có yếu tố liên kết sắt bám chặt như vậy, đối tượng gây bệnh sẽ không có khả năng để khởi đầu xâm nhiễm. Sắt thường là nguồn cung ngắn ở các mô động vật bởi vì hệ thống quét sắt sẽ giữ chặt sắt và như vậy sẽ không có sẵn cho vi sinh vật sử dụng.

Ở nước biển, khó có thể phát hiện thấy sắt, ví dụ nước bề mặt đại dương thường chỉ có một ít sắt ở hàm lượng picogram/ml ($1 \text{ pg} = 10^{-12}\text{g}$). Để thu nhận được sắt ở một lượng cực kỳ nhỏ như vậy, nhiều vi khuẩn sản sinh ra thể mang sắt có cấu trúc phức tạp. Các thể mang sắt này có đầu là nhóm peptide chứa các phức sắt Fe^{3+} và đuôi lipid có thể liên kết với màng tế bào chất. Một khi các phức như aquachelin liên kết với sắt, chúng sẽ

kết hợp vào trong các chuỗi phân tử kiểu như lipid và vận chuyển phức sắt này vào trong tế bào.

Một số prokaryote có thể tăng trưởng khi không có sắt. Ví dụ khuẩn *Lactobacillus plantarum* và khuẩn gây bệnh Lyme *Borrelia burgdorferii* không chứa sắt. Trong những vi khuẩn này, Mn^{2+} thay thế cho sắt đóng vai trò như là thành phần kim loại của những enzyme thường chứa sắt Fe^{2+} .



Hình 3.1. Yếu tố kèm kẹt sắt (chelate) do vi sinh vật sản sinh ra. (a). Hydroxamate: Phức sắt ở dạng Fe^{3+} và được phóng thích vào trong tế bào ở dạng Fe^{2+} . Sau đó hydroxamate thoát ra khỏi tế bào và lặp lại chu trình trên. (b). Thể mang sắt enterobactin của *E.coli*, màu vàng biểu thị cho các nguyên tử oxygen của phân tử catechol. (c). Đuôi peptid của thể mang sắt aquachelin, biểu thị liên kết Fe^{3+} . Đuôi kỵ nước hỗ trợ cho thể mang sắt aquachelin xuyên qua màng để vào trong tế bào.

3.3. Nguyên tố vi lượng (nguyên tố vết)

Nguyên tố vi lượng là ion kim loại được một số tế bào đòi hỏi một lượng nhỏ. Do hàm lượng các chất này khá nhỏ nên khó phát hiện chúng và cũng không cần thiết bổ sung vào trong môi trường nuôi cấy nhân tạo. Do nhu cầu đòi hỏi hàm lượng nhỏ các

nguyên tố này nên sự hiện diện của chúng được xem như không đáng kể trong nước hoặc thành phần khác của môi trường. Các ion kim loại thường hoạt động như các cofactor thiết yếu cho các phản ứng enzyme trong tế bào. Có khi một nguyên tố là vi lượng của vi khuẩn này nhưng có thể là nguyên tố đòi hỏi của vi khuẩn khác và ngược lại. Các nguyên tố vi lượng thường bắt gặp nhất như B, Cr, Mn, Co, Zn, Cu, Mo... . Chi tiết được liệt kê ở Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Các yếu tố dinh dưỡng vi lượng cần thiết cho vi sinh⁽¹⁾.

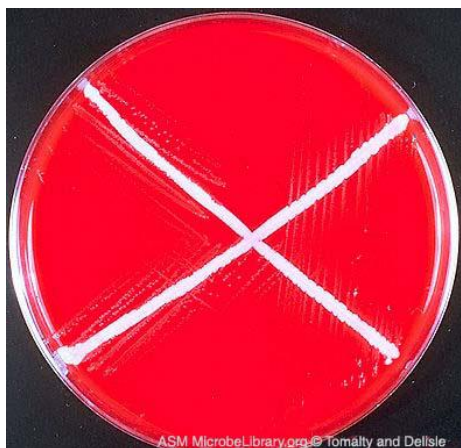
Yếu tố	Chức năng tế bào
Boron (B)	Có mặt trong yếu tố tự cảm ứng (autoinducer) cho chức năng giao tiếp/cảm nhận (quorum sensing) ở vi khuẩn, yếu tố này cũng được tìm thấy trong các kháng sinh polyketide
Chromium (Cr)	Động vật có vú đòi hỏi yếu tố này cho quá trình biến dưỡng glucose, chưa biết được sự đòi hỏi yếu tố này ở vi sinh vật
Cobalt (Co)	Vitamin B12, transcarboxylase (vi khuẩn sinh propionic acid)
Copper (Cu)	Hố hấp, cytochrome c oxidase; quang tổng hợp, plastocyanin, một số superoxide dismutase
Sắt (Fe) ⁽²⁾	Các cytochrome; catalase; peroxidase; protein sulfur sắt; oxygenase; tất cả nitrogenase
Manganese (Mn)	Yếu tố hoạt hóa (activator) của nhiều enzyme, hiện diện trong một số superoxide dismutase và trong enzyme phân cắt nước ở quang dưỡng có oxygen (hệ quang II)
Molybdenum (Mo)	Trong một số enzyme có flavin; một số nitrogenase, nitrate reductase, sulfide oxidase, DMSO-TMAO reductase; một số formate dehydrogenase
Nickel (Ni)	Trong hầu hết hydrogenase; coenzyme F ₄₃₀ của cổ khuẩn sinh methane (methanogen); carbon monoxide dehydrogenase; urease
Selenium (Se)	Formate dehydrogenase; một số hydrogenase; amino acid selenocysteine
Tungsten (W)	Một số formate dehydrogenase; oxotransferase của vi khuẩn ưa nhiệt cao (hyperthermophile)

Vanadium (V)	Vanadium nitrogenase; bromoperoxidase
Zinc (Zn)	Carbon anhydrase; alcohol dehydrogenase; RNA và DNA polymerase; nhiều protein liên kết với DNA

Ghi chú: (1): không phải tất cả vi sinh vật đều đòi hỏi các chất vi lượng được liệt kê, một số kim loại liệt kê được tìm thấy trong các enzyme chỉ hiện diện trong các vi sinh vật đặc biệt; (2): đòi hỏi một lượng lớn hơn so với kim loại vết.

3.4. Yếu tố cần thiết cho tăng trưởng

Các chất được vi khuẩn đòi hỏi một lượng nhỏ và rất cần thiết cho sự tăng trưởng của chúng nhưng tế bào vi khuẩn lại không có khả năng tổng hợp được gọi là yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng.



Hình 3.2. Đường chữ thập được tạo ra giữa *Staphylococcus aureus* và *Haemophilus influenzae* tăng trưởng trên môi trường thạch máu. Trước tiên cấy vi khuẩn *Haemophilus influenzae* thành một đường, sau đó cấy *Staphylococcus aureus* thành một đường chéo. *H. influenzae* là vi khuẩn khó tính đòi hỏi phải có cả hemin và NAD để tăng trưởng. Trong máu có đủ

hemin cho *Haemophilus*, nhưng lại không có NAD. Vì vậy *S. aureus* sẽ tạo NAD và tiết ra môi trường, giúp *Haemophilus* tăng trưởng và chúng ta thấy các khuẩn lạc lân cận của *Haemophilus* có trong môi trường (ASM).

Yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng được tế bào đòi hỏi với một lượng nhỏ là vì chúng có vai trò rất đặc biệt trong sinh tổng hợp. Vai trò quan trọng của yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng đó là chúng có thể ngăn chặn hoặc làm khuyết con đường biến dưỡng trong tế bào. Yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng được chia thành 3 nhóm đó là (1). Purine và pyrimidine, đòi hỏi cho sinh tổng hợp nucleic acid gồm DNA và RNA. (2). Amino acid, đòi hỏi cho sinh tổng hợp protein và (3). Vitamin cần thiết cho các coenzyme và các nhóm chức năng của một số enzyme.

Một số vi khuẩn ví dụ như *E. coli* không đòi hỏi bất kỳ yếu tố cần thiết nào cho sự tăng trưởng vì chúng có khả năng tổng hợp tất cả các chất như purine, pyrimidine, amino

acid và vitamin thiết yếu từ nguồn carbon. Một số vi khuẩn khác ví dụ như *Lactobacillus* đòi hỏi phải có purine, pyrimidine, vitamin và một số amino acid để tăng trưởng. Những hợp chất này phải được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn tăng trưởng. Yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng không được biến dưỡng một cách trực tiếp như là nguồn carbon hoặc năng lượng, mà đúng hơn là các chất này được tế bào đồng hóa để thỏa mãn vai trò chuyên biệt trong biến dưỡng. Chúng vi khuẩn đột biến đòi hỏi một số yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng trong khi chúng hoang dại (bổ mẹ) lại không yêu cầu, các chủng này được gọi là nhóm khuyết dưỡng (auxotroph). Vì vậy chủng *E. coli* đòi hỏi tryptophan để tăng trưởng được gọi là chủng khuyết dưỡng tryptophan và ký hiệu là *E. coli trp⁻*

Một số vi khuẩn thường đòi hỏi một số vitamin đóng vai trò như là các yếu tố thiết yếu cho sự tăng trưởng được liệt kê ở Bảng 3.4. Chức năng của các vitamin này trong các phản ứng thiết yếu của enzyme đóng vai trò như là chất keo. Nếu tế bào không sản xuất ra vitamin này, nó phải được cung cấp từ môi trường ngoại bào để đảm bảo cho sự tăng trưởng.

Bảng 3.4. Các vitamin cần thiết trong nhu cầu dinh dưỡng của một số vi khuẩn.

Vitamin	Dạng coenzyme	Chức năng
p-Aminobenzoic acid (PABA)	-	Tiền chất để sinh tổng hợp folic acid
Folic acid	Tetrahydrofolate	Chuyển các đơn vị có một carbon và dùng để tổng hợp các base thymine, purine; serine, methionine và pantothenate
Biotin	Biotin	Phản ứng sinh tổng hợp đòi hỏi cố định CO ₂
Lipoic acid	Lipoamide	Chuyển nhóm chức acyl trong phản ứng oxy hóa của keto acid
Mercaptoethane-sulfonic acid	Coenzyme M	Tạo CH ₄ nhờ vi khuẩn sinh khí methan
Nicotinic acid	NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) và NADP	Chất mang điện tử Electron trong phản ứng khử hydro
Pantothenic acid	Coenzyme A và protein	Oxi hóa keto acid và chất mang nhóm chức

	mang gốc acyl - Acyl (ACP)	acyl trong quá trình biến dưỡng
Pyridoxine (B ₆)	Pyridoxal phosphate	Chuyển hóa amin, khử gốc amin, khử gốc carboxyl và racemation của amino acid
	flavin mononucleotide	
Riboflavin (B ₂)	(FMN) và flavin adenine dinucleotide (FAD)	Phản ứng oxi hóa khử
Thiamine (B ₁)	Thiamine pyrophosphate (TPP)	Phản ứng khử nhóm carboxyl của keto acid và phản ứng của enzyme transaminase
Vitamin B ₁₂	Cobalamine cặp với adenine nucleoside	Chuyển nhóm methyl
Vitamin K	Quinone và naphthoquinone	Quá trình chuyển điện tử

3.5. Ảnh hưởng của yếu tố vật lý và môi trường

Prokaryote tồn tại trong tự nhiên dưới những điều kiện vật lý rất đa dạng về nồng độ O₂, nồng độ ion hydrogen (pH) và nhiệt độ. Những giới hạn có tính chất loại trừ cuộc sống trên hành tinh thông qua các thông số của môi trường thì luôn có một số vi sinh vật thích nghi được. Thường thấy là prokaryote và thường xuyên hơn cả là Cổ khuẩn. Khi đề cập đến vi sinh vật có khả năng tăng trưởng ở các điều kiện vật lý khác nhau, chúng ta có thể chia thành các nhóm khác nhau dựa trên điều kiện thích nghi của chúng: (a). Nhóm ưa nhiệt (thermophile) phát triển ở nhiệt độ cao, (b). Nhóm ưa acid (acidiphile) phát triển ở pH thấp và (c). Nhóm ưa thẩm thấu (osmophile) phát triển trong môi trường có nồng độ chất hoà tan cao,

3.5.1. Ảnh hưởng của Oxygen

Oxygen là thành phần phổ biến của tế bào và luôn được cung cấp một lượng lớn qua phân tử H₂O. Tuy nhiên prokaryote thích ứng để phản ứng về phân tử oxygen (O₂) trong khoảng từ kỵ khí bắt buộc không có oxygen đến điều kiện bắt buộc phải có phân tử này (Bảng 3.5).

Vi sinh vật hiếu khí bắt buộc (obligate aerobe) là vi sinh vật đòi hỏi O₂ cho sự tăng trưởng; chúng sử dụng O₂ như là chất nhận điện tử cuối trong hô hấp hiếu khí.

Vi sinh vật vi hiếu khí (microaerophile) là những vi sinh vật đòi hỏi một lượng nhỏ oxygen (5%) cho sự tăng trưởng, ví dụ *Campylobacter spp.*

Vi sinh vật kỵ khí bắt buộc (obligate anaerobe) là vi sinh vật không đòi hỏi O_2 cho sự tăng trưởng. Trong thực tế, O_2 là chất độc đối với vi khuẩn thuộc nhóm này. Khi đó O_2 hoặc sẽ tiêu diệt hoặc sẽ ức chế sự tăng trưởng của vi sinh vật. Các prokaryote kỵ khí bắt buộc có thể sống bằng cách lên men, hô hấp kỵ khí, quang tổng hợp ở vi khuẩn hoặc quá trình sinh khí methan.

Bảng 3.5. Thuật ngữ dùng để mô tả mối quan hệ giữa O_2 với vi sinh vật.

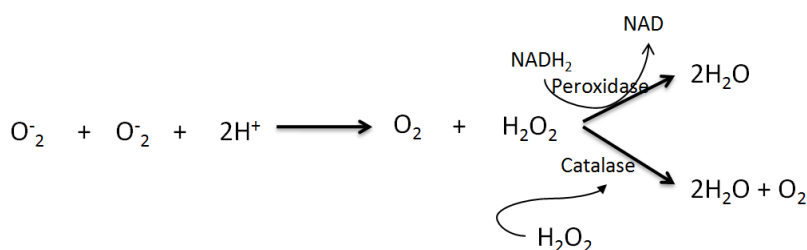
Nhóm vi khuẩn	Hiệu khí	Môi trường	
		Kỵ khí	Ảnh hưởng của O_2
Hiệu khí bắt buộc	Tăng trưởng	Không tăng trưởng	Đòi hỏi sử dụng cho hô hấp hiếu khí
Vi hiếu khí (Microaerophile)	Tăng trưởng khi hàm lượng không quá cao	Không tăng trưởng	Đòi hỏi O_2 nhưng ở hàm lượng dưới 0,2 atm
Kỵ khí bắt buộc	Không tăng trưởng	Tăng trưởng	Sự hiện diện của O_2 là độc tố Không đòi hỏi cho sự tăng trưởng nhưng sử dụng khi có sẵn
Kỵ khí tùy nghi	Tăng trưởng	Tăng trưởng	Không đòi hỏi không sử dụng
Vi khuẩn kỵ khí chịu oxy	Tăng trưởng	Tăng trưởng	

Vi sinh vật kỵ khí tùy nghi (facultative anaerobe) hay hiếu khí tùy nghi là những vi sinh vật có thể xoay sở giữa biến dưỡng hiếu khí và kỵ khí. Dưới những điều kiện kỵ khí không có O_2 chúng tăng trưởng bằng cách lên men hoặc hô hấp kỵ khí, nhưng khi có O_2 hiện diện chúng chuyển sang hô hấp hiếu khí.

Vi sinh vật kỵ khí chịu oxy (aerotolerant anaerobe) là những vi khuẩn có kiểu biến dưỡng hoàn toàn kỵ khí (lên men) nhưng lại không nhạy cảm với sự hiện diện của O_2 . Chúng sống bằng cách lên men dù cho có hoặc không có O_2 hiện diện trong môi trường.

Phản ứng của vi khuẩn đối với O_2 trong môi trường mà chúng sống thì tùy thuộc vào sự xuất hiện và phân bố của các enzyme có phản ứng với phân tử O_2 và phản ứng với các gốc oxygen luôn được tế bào tạo ra khi có sự hiện diện của oxygen. Tất cả các tế bào

chứa enzyme có khả năng phản ứng với O_2 . Ví dụ phản ứng oxi hóa flavoprotein do O_2 luôn hình thành H_2O_2 (peroxide) như là một sản phẩm chủ yếu và nhiều chất chiếm một lượng nhỏ thậm chí có cả gốc tự do có nhiều độc tính, superoxide hay O_2^- . Diệp lục tố và các sắc tố khác trong tế bào cũng có thể phản ứng với O_2 khi có sự hiện diện của ánh sáng và sản sinh ra oxygen ở trạng thái năng lượng cao (singlet oxygen), dạng gốc tự do khác của oxygen là chất có khả năng oxi hóa trong các hệ thống sinh học.



Hình 3.3. Phản ứng của superoxide dismutase, catalase và peroxidase. Các enzyme này khử độc tính của gốc oxygen được sản

sinh trong các hệ thống sống có sự hiện diện của O_2 . Sự phân phối của các enzyme này trong các tế bào xác định khả năng tồn tại của chúng khi có sự hiện diện của O_2 .

Bảng 3.6. Sự phân bố của superoxide dismutase, catalase và peroxidase trong prokaryote có các ngưỡng O_2 khác nhau.

Nhóm vi khuẩn	Superoxide dismutase	Catalase	Peroxidase
Vi khuẩn hiếu khí bắt buộc và hầu hết các vi khuẩn kỵ khí tùy nghi (ví dụ nhóm vi khuẩn đường ruột)	+	+	-
Hầu hết vi khuẩn kỵ khí chịu được oxy (ví dụ <i>Streptococcus</i>)	+	-	+
Vi khuẩn kỵ khí bắt buộc (ví dụ <i>Clostridia</i> , vi khuẩn sinh khí methan, <i>Bacteroides</i>)	-	-	-

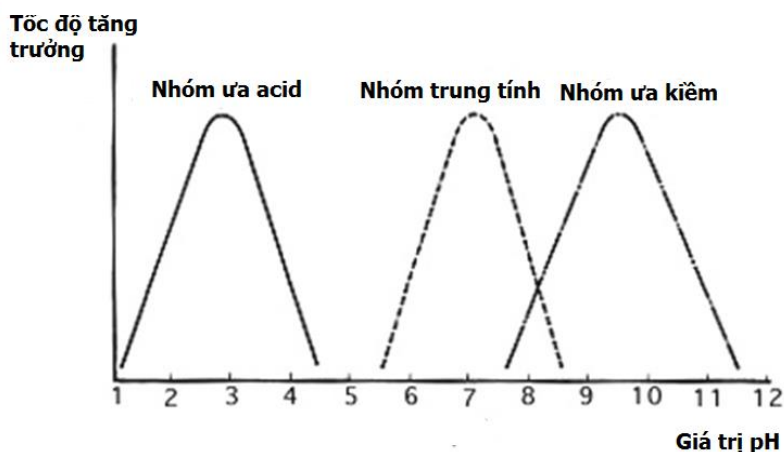
Ở vi khuẩn hiếu khí và vi khuẩn kỵ khí chịu được oxygen, khả năng tích lũy gây chết của superoxide được enzyme superoxide dismutase ngăn chặn. Tất cả vi khuẩn có thể sống khi có O_2 (chúng sử dụng hoặc không sử dụng O_2 để biến dưỡng) thì có superoxide dismutase. Gần như tất cả vi khuẩn đều có enzyme catalase để phân hủy H_2O_2 . Mặc dù một số vi khuẩn chịu được oxy như vi khuẩn lactic thì không có enzyme catalase này,

nhưng chúng phân hủy H_2O_2 bằng enzyme peroxidase. Enzyme này nhận điện tử từ $NADH_2$ để khử peroxide thành H_2O . Vi khuẩn kỵ khí bắt buộc không có enzyme superoxide dismutase và catalase và/hoặc peroxidase và vì vậy phải trải qua các phản ứng oxi hóa gây chết bởi nhiều gốc oxygen khi vi khuẩn nhóm này bị phơi nhiễm với O_2 (Hình 3.3, Bảng 3.6).

Tất cả vi khuẩn quang tổng hợp được bảo vệ khỏi các phản ứng oxi hóa gây chết do singlet oxygen là nhờ chúng có các sắc tố dạng carotenoid. Chất này phản ứng với gốc oxygen ở trạng thái năng lượng cao (singlet oxygen) và chuyển nó sang trạng thái cơ bản (triplet) không độc. Các carotenoid được cho là khắc tinh của các gốc oxygen ở trạng thái năng lượng cao.

3.5.2. Ảnh hưởng của pH

pH, hay nồng độ ion hydrogen $[H^+]$ của môi trường tự nhiên dao động từ khoảng 0,5 trong hầu hết các loại đất có tính acid đến khoảng 10,5 ở hầu hết các hồ nước có tính kiềm. Để xác định chính xác pH cần đo bằng thang đo logarith, $[H^+]$ của môi trường tự nhiên thường biến động trên một triệu lần. Hầu hết các prokaryote có thể phát triển ở giá trị pH > 3, nghĩa là có sự thay đổi $[H^+]$ hàng ngàn lần. Khoảng pH mà vi sinh vật có thể phát triển được xác định bằng ba điểm chính: pH tối thiểu, dưới ngưỡng này vi sinh vật không thể phát triển; pH cực đại, trên ngưỡng này vi sinh vật không thể phát triển và pH



tối thích, tại ngưỡng này vi sinh vật phát triển tốt nhất.

Hình 3.4. Sơ đồ minh họa tốc độ tăng trưởng đối nghịch với pH của ba nhóm prokaryote (K.Todar).

Đối với hầu hết vi khuẩn, tốc độ tăng trưởng gia tăng theo trình tự giữa pH tối thiểu và pH tối thích và tốc độ tăng trưởng giảm theo trình tự tương ứng giữa pH tối thích và pH cực đại. Điều này phản ánh tác động chung của sự thay đổi $[H^+]$ lên tốc độ phản ứng của enzyme (Hình 3.4).

Vi sinh vật tăng trưởng ở pH tối thích dưới giá trị trung tính pH 7,0 được gọi là

nhóm ưa acid (acidophile). Vi sinh vật tăng trưởng tốt nhất ở pH trung tính gọi là nhóm ưa trung tính (neutrophile) và vi sinh vật sống tốt nhất trong những điều kiện môi trường kiềm gọi là nhóm ưa kiềm (alkaliphile). Vi sinh vật ưa acid bắt buộc, thực tế nhóm này đòi hỏi pH thấp cho sự tăng trưởng. Màng của nhóm vi khuẩn này sẽ bị hòa tan và tế bào sẽ bị ly giải ở môi trường trung tính, ví dụ như một số loài *Thiobacillus*. Một số giống Cổ khuẩn gồm *Sulfolobus* và *Thermoplasma* là nhóm ưa acid bắt buộc. Trong số eukaryote, nhiều loài nấm thuộc nhóm ưa acid, nhưng vô địch trong tăng trưởng ở pH thấp là tảo eukaryote, *Cyanidium* có thể tăng trưởng ở pH = 0.

Bảng 3.7. pH tối thiểu, tối thích và tối ưu cho một số prokaryote sự tăng trưởng.

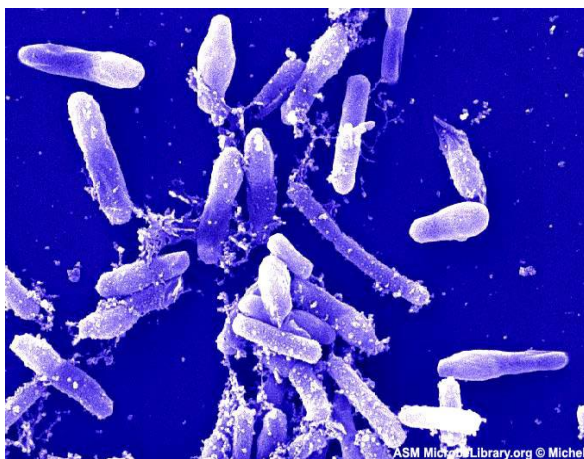
Vi khuẩn	pH tối thiểu	pH tối thích	pH tối đa
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	0,5	2,0 - 2,8	4,0 - 6,0
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	1,0	2,0 - 3,0	5,0
<i>Bacillus acidocaldarius</i>	2,0	4,0	6,0
<i>Zymomonas lindneri</i>	3,5	5,5 - 6,0	7,5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4,0 - 4,6	5,8 - 6,6	6,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,2	7,0 - 7,5	9,3
<i>Escherichia coli</i>	4,4	6,0 - 7,0	9,0
<i>Clostridium sporogenes</i>	5,0 - 5,8	6,0 - 7,6	8,5 - 9,0
<i>Erwinia caratovora</i>	5,6	7,1	9,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	6,6 - 7,0	8,0
<i>Thiobacillus novellus</i>	5,7	7,0	9,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,5	7,8	8,3
<i>Nitrobacter sp</i>	6,6	7,6 - 8,6	10,0

Trong thiết lập và sử dụng môi trường nuôi cấy, cần phải xem xét pH tối thích để vi sinh vật phát triển như mong muốn và các hệ đệm kết hợp để duy trì pH môi trường khi có sự thay đổi do sự tích lũy các sản phẩm thải của vi khuẩn trong quá trình tăng trưởng sinh ra. Nhiều vi khuẩn gây bệnh tăng trưởng trong khoảng pH tương đối hẹp. Hầu hết các môi trường sử dụng để xác định các vi sinh vật gây bệnh ở người có pH gần 7. Trừ

trường hợp sử dụng môi trường chọn lọc cho vi khuẩn *Vibrio* có pH 11 (Bảng 3.7).

3.5.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Vi sinh vật sống được gần như trong tất cả môi trường nước lỏng. Năm 1966, giáo sư Thomas D. Brock, Đại học Indiana, Hoa Kỳ đã công bố khám phá gây ngạc nhiên đó

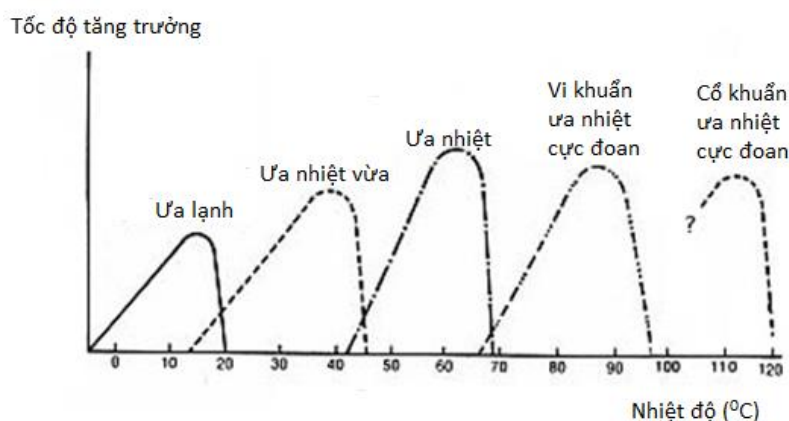


là phát hiện vi khuẩn tăng trưởng ở các suối nước sôi tại Công viên Quốc gia Đá vàng (Hoa Kỳ). Brock đã khám phá rằng vi khuẩn ưa nhiệt này thuộc Cổ khuẩn và các vi khuẩn cực đoan (extremophile) khác.

Hình 3.5. Ảnh *Bacillus* chịu nhiệt dưới kính hiển vi điện tử truyền qua (SEM), phân lập được từ đóng phân ủ ở 55°C. (Nguồn:

Frederick C. Michel).

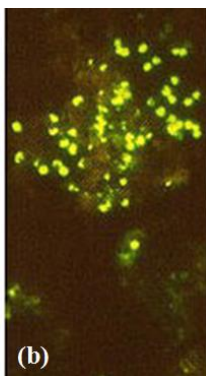
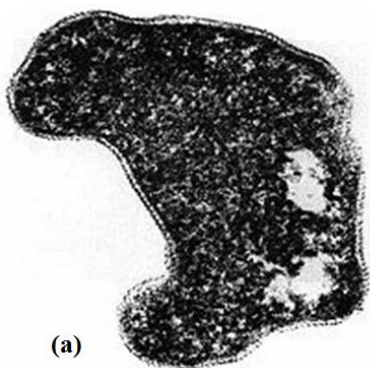
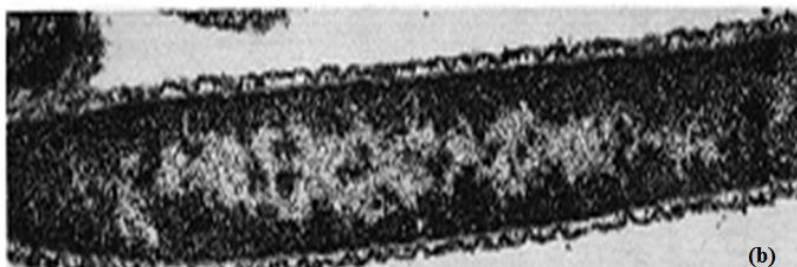
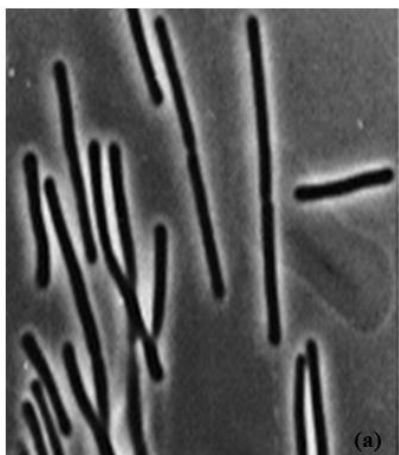
Tiếp đến là các prokaryote được phát hiện xung quanh các ống khói đen và các cột nước nóng ở biển sâu có nhiệt độ 120°C. Vi sinh vật cũng tăng trưởng ở nhiệt độ rất thấp. Trong dung dịch nước siêu lạnh ở -20°C, một số vi sinh vật có thể trích nước để tăng trưởng. Nhiều hình thức của sự sống phát triển trong nước đóng băng ở Nam Cực, cũng như nước ở các tủ lạnh gia đình khi có nhiệt độ gần 0°C.



Hình 3.6. Tốc độ tăng trưởng đối ngược với nhiệt độ đối với năm nhóm môi trường của prokaryote. Hầu hết prokaryote sẽ tăng trưởng ở nhiệt độ trên khoảng 30°C. Các đường cong tăng trưởng biểu thị ba điểm chính: nhiệt

độ tối thiểu, tối thích và cực đại cho sự tăng trưởng. Tốc độ tăng trưởng tăng dần dần trong khoảng nhiệt độ tối thiểu và tối thích, nhưng giảm khi vừa mới qua đỉnh tối thích và nhanh chóng giảm khi tiếp cận tới nhiệt độ cực đại. Sự sống trên trái đất cùng với mối quan tâm về nhiệt độ, sẽ tồn tại ở bất cứ nơi nào mà nước vẫn tồn tại ở

trạng thái lỏng (T.D. Brock). Vì vậy nhóm ưa lạnh tăng trưởng ở những nơi dung dịch nước siêu lỏng dưới 0°C . Nhóm cổ khuẩn ưa nhiệt cực đoan hay nhóm ưa nhiệt cao được xác định tăng trưởng gần ở những lỗ nhiệt ở biển sâu có nhiệt độ trên 120°C .



Hình 3.7. *Thermus aquaticus*, vi khuẩn ưa nhiệt, nguồn cung cấp taq polymerase. A. Ảnh soi ướt; B. Ảnh dưới kính hiển vi điện tử. (T.D. Brock).

Hình 3.8. *Sulfolobus acidocaldarius* là vi khuẩn cực kỳ ưa nhiệt và ưa acid được phát hiện trong các suối acid nóng địa

nhiệt, ở những điểm bùn và đất bề mặt có nhiệt độ từ 60 đến 95°C , pH từ $1 - 5$. (a): Ảnh lát cắt mỏng dưới kính hiển vi điện tử ($85.000\times$), vi khuẩn có hình cầu không đều, thường có dạng thùy. (b): Ảnh phát huỳnh quang của các tế bào có đính tinh thể sulfur. Phụ bộ giống như thể tua đính trên tế bào là tinh thể sulfur (T.D. Brock).

Một vi sinh vật cụ thể sẽ bị ức chế ở khoảng nhiệt độ trên ngưỡng nhiệt độ mà chúng có thể phát triển, được xác định bằng ba điểm căn bản tương tự như đặc điểm của pH (Hình 3.4 và 3.6). Khi xem xét khoảng nhiệt độ mà nước thể lỏng tồn tại, thì prokaryote có thể được chia thành một số nhóm phụ dựa trên một hoặc các điểm chính khác cho sự tăng trưởng. Ví dụ vi sinh vật tăng trưởng trong khoảng nhiệt độ từ $20 - 45^{\circ}\text{C}$ và tăng trưởng tối thích ở nhiệt độ gần 37°C (nhiệt độ của cơ thể động vật máu nóng) được gọi là nhóm ưa nhiệt vừa (mesophile). Vi sinh vật tăng trưởng tối thích trong

khoảng nhiệt độ từ 45°C đến 70°C gọi là nhóm ưa nhiệt (thermophile). Một số Cổ khuẩn tăng trưởng tối thích ở nhiệt độ 80°C hoặc cao hơn và nhiệt độ cực đại ở 115°C được xem là ưa nhiệt cực đoan (extreme thermophile) hoặc ưa nhiệt cao (hyperthermophile). Vi sinh vật thích nhiệt độ lạnh có khả năng tăng trưởng ở 0°C được gọi là nhóm ưa lạnh (psychrophile). Một biến thể của nhóm ưa lạnh là nhóm chịu lạnh (psychrotroph), chúng có khả năng tăng trưởng ở 0°C nhưng tăng trưởng tối thích ở khoảng nhiệt độ 10 – 15°C. Nhóm chịu lạnh có thể làm hư hỏng thực phẩm bảo quản ở nhiệt độ mát.

Bảng 3.8. Thuật ngữ mô tả mối tương quan giữa vi sinh vật và nhiệt độ để chúng tăng trưởng.

Vi sinh vật	Tối thiểu	Nhiệt độ tăng trưởng (°C).		Chú thích
		Tối thích	Cực đại	
Ưa lạnh (Psychrophile)	> 0	10 - 15	< 20	Tăng trưởng tốt nhất ở nhiệt độ tương đối thấp
Chịu lạnh (Psychrotroph)	0	15 - 30	> 25	Có thể tăng trưởng ở nhiệt độ thấp nhưng thích hợp hơn ở nhiệt độ ôn hòa
Ưa nhiệt vừa (Mesophile)	10 - 15	30 - 40	< 45	Hầu hết vi khuẩn nhất là những vi khuẩn sống kết hợp với động vật máu nóng
Ưa nhiệt (Thermophile)	45	50 - 85	> 100	Tất cả các vi khuẩn ưa nhiệt có sự dao động lớn về nhiệt độ tối thích và nhiệt độ cực đại

Vi khuẩn ưa lạnh thích nghi được môi trường lạnh vì màng plasma của chúng có một lượng lớn acid béo không bão hòa. Một số vi khuẩn ưa lạnh thu thập từ Nam cực có acid béo chứa nhiều nối đôi (polyunsaturated fatty acid). Tuy nhiên acid béo dạng này thường không xuất hiện ở prokaryote. Mức độ của chuỗi carbon không bão hòa của acid béo liên quan với nhiệt độ đông đặc của nó hoặc trạng thái chuyển nhiệt.

Ví dụ nhiệt độ làm lipid tan chảy hay đông đặc. Các acid béo không bão hòa vẫn còn giữ thể lỏng khi ở nhiệt độ thấp nhưng lại bị biến tính ở nhiệt độ vừa. Các acid béo

bão hòa trong màng vi khuẩn ưa nhiệt thì bền vững ở nhiệt độ cao nhưng lại bị đông đặc ở nhiệt độ tương đối thấp. Vì vậy acid béo bão hòa (giống như bơ) đông lại ở nhiệt độ phòng (25°C) trong khi các acid béo không bão hòa (tương tự như dầu từ hoa rum) vẫn giữ dạng lỏng ở nhiệt độ tủ lạnh. Acid béo màng ở pha lỏng hoặc pha rắn sẽ tác động đến trạng thái lỏng của màng, điều này ảnh hưởng trực tiếp đến chức năng của màng. Nhóm vi khuẩn ưa lạnh cũng có các enzyme để tiếp tục duy trì chức năng, mặc dù vận tốc xúc tác giảm khi nhiệt độ ở 0°C hoặc gần điểm này. Ở nhóm vi khuẩn ưa lạnh, protein hoặc màng của chúng sẽ không duy trì chức năng ở nhiệt độ cơ thể của động vật máu nóng (37°C), vì vậy vi khuẩn nhóm này không có khả năng tăng trưởng ở nhiệt độ này thậm chí ở nhiệt độ vừa (Bảng 3.8).

Bảng 3.9. Nhiệt độ tối thiểu, tối đa và tối thích cho sự tăng trưởng của một số vi khuẩn và cổ khuẩn.

Vi khuẩn	Nhiệt độ tăng trưởng (°C)		
	Tối thiểu	Tối thích	Cực đại
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	30 - 37	45
<i>Vibrio marinus</i>	4	15	30
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	4	35	41
<i>Thiobacillus novellus</i>	5	25 - 30	42
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	30 - 37	45
<i>Escherichia coli</i>	10	37	45
<i>Clostridium kluyveri</i>	19	35	37
<i>Streptococcus pyogenes</i>	20	37	40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	25	37	42
<i>Bacillus flavothermus</i>	30	60	72
<i>Thermus aquaticus</i>	40	70 - 72	79
<i>Methanococcus jannaschii</i>	60	85	90
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	70	75 - 85	90
<i>Pyrobacterium brockii</i>	80	102 - 105	115

Vi khuẩn ưa nhiệt thích nghi ở nhiệt độ trên 60°C trong nhiều cách. Thông thường

DNA của chúng có hàm lượng G + C cao nên nhiệt độ tan chảy DNA (nhiệt độ làm các mạch đôi xoắn bị tách ra) ít nhất ngang bằng với nhiệt độ tăng trưởng cực đại của vi khuẩn. Nhưng điều này không phải lúc nào cũng vậy và mối tương quan này cho đến nay vẫn còn hoàn hảo. Vì vậy DNA ưa nhiệt vẫn được ổn định trong các tế bào này nhờ các phương tiện khác. Do màng vi khuẩn ưa nhiệt có hàm lượng acid béo bão hòa cao cho phép màng của chúng vẫn ổn định và giữ được chức năng khi ở nhiệt độ cao. Màng của vi khuẩn ưa nhiệt cao ở Cổ khuẩn thì không có acid béo nhưng có sự lặp lại của các tiểu đơn vị của phức hợp gồm 5 carbon (C₅), phytane, chất isoprenoid phân nhánh, bão hòa. Chính phức hợp đặc trưng này góp phần cho cổ khuẩn có khả năng sống trong những môi trường siêu nóng. Các protein cấu trúc như protein ribosome, protein vận chuyển (permease) và enzyme của vi khuẩn ưa nhiệt và ưa nhiệt cao thì rất bền vững với nhiệt khi so sánh với protein cấu trúc thuộc nhóm ưa nhiệt vừa. Các protein này được biến đổi theo nhiều cách gồm khử nước và thông qua những thay đổi nhẹ trong cấu trúc sơ cấp của chúng để giúp bền vững với nhiệt (Bảng 3.9).

Bảng 3.10. Nhiệt độ tối thích cho sự tăng trưởng của một số vi khuẩn prokaryote.

Giống và loài	Nhiệt độ tối thích (°C)
<i>Vibrio cholerae</i>	18 - 37
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	20
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	20
<i>Streptomyces griseus</i>	25
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	25 - 30
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	25 - 30
<i>Erwinia amylovora</i>	27 - 30
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 - 37
<i>Escherichia coli</i>	37
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
<i>Streptococcus pyogenes</i>	37
<i>Treponema pallidum</i>	37

<i>Thermoplasma acidophilum</i>	59
<i>Thermus aquaticus</i>	70
<i>Bacillus caldolyticus</i>	72
<i>Pyrococcus furiosus</i>	100

Bảng 3.11. Cỗ khuẩn ưa nhiệt cao.

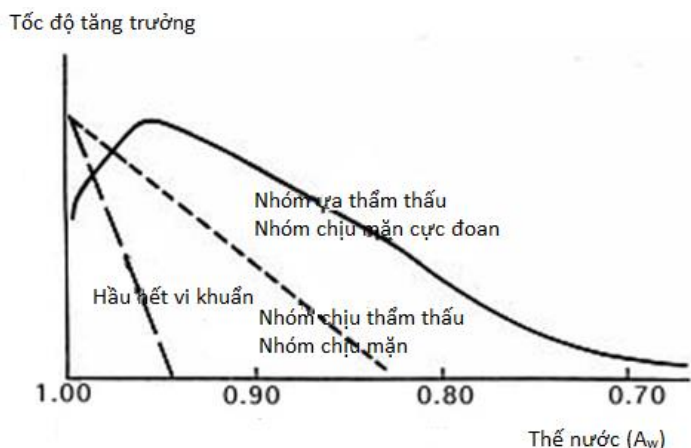
Nhiệt độ cho sự tăng trưởng (°C)				
Giống	Tối thiểu	Tối thích	Cực đại	pH tối thích
<i>Sulfolobus</i>	55	75 - 85	87	2 - 3
<i>Desulfurococcus</i>	60	85	93	6
<i>Methanothermus</i>	60	83	88	6-7
<i>Pyrodictium</i>	82	105	113	6
<i>Methanopyrus</i>	85	100	110	7

3.5.4. Thế nước

Nước là dung môi mà nhiều phân tử của sự sống hòa tan được và vì vậy nước sẵn có là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của tế bào. Nước sẵn có cho tế bào thì phụ thuộc vào sự hiện diện của nó trong khí quyển (liên quan đến độ ẩm) hoặc hiện diện trong dung dịch hoặc trong một chất hóa học, khi đó được gọi là thế nước (water activity). Thế nước (A_w) của nước (H_2O) tinh khiết bằng 1,0, nghĩa là 100% nước. Thế nước bị ảnh hưởng do sự hiện diện của các chất hòa tan như muối hoặc đường hòa tan trong nước. Nồng độ của chất hòa tan cao thì thế nước giảm và ngược lại. Vi sinh vật sống trong khoảng A_w từ 1,0 đến 0,7. A_w của máu người là 0,99; nước biển = 0,98. Thế nước của đất nông nghiệp nằm trong khoảng 0,9 đến 1,0.

Chỉ có một chất hòa tan trong tự nhiên thường xuất hiện ở khoảng nồng độ rộng đó là muối sodium chloride [NaCl] và một số vi sinh vật được đặt tên dựa trên sự tăng trưởng của chúng đối với nồng độ muối này. Vi sinh vật đòi hỏi NaCl cho tăng trưởng gọi là nhóm ưa mặn (halophile). Nhóm ưa mặn nhẹ đòi hỏi 1 – 6 % muối, ưa mặn trung bình đòi hỏi 6 - 15% muối, ưa mặn cực đoan đòi hỏi 15 - 30% NaCl cho tăng trưởng, nhóm này thường phát hiện ở Cỗ khuẩn. Vi khuẩn có khả năng tăng trưởng ở nồng độ muối vừa

phải, thậm chí chúng phát triển tốt khi không có NaCl gọi là nhóm chịu được mặn (halotolerant). Mặc dù nhóm ưa mặn (halophile) còn gọi là nhóm ưa thẩm thấu (osmophile) và nhóm chịu mặn (halotolerant) gọi là nhóm chịu thẩm thấu (osmotolerant), nhưng thuật ngữ ưa thẩm thấu thường được sử dụng cho những vi sinh vật có khả năng sống trong môi trường có nồng độ muối cao. Vi sinh vật sống trong những môi trường khô (khô do thiếu nước) được gọi là nhóm chịu hạn (xerophile).



Hình 3.9. Minh họa tốc độ tăng trưởng tỷ lệ nghịch với độ thẩm thấu (osmolarity) đối với các nhóm khác nhau của prokaryote. Độ thẩm thấu được xác định bằng nồng độ chất tan trong môi trường. Độ thẩm thấu thì tỷ lệ nghịch với thế nước (A_w). Nồng độ chất tan

tăng nghĩa là độ thẩm thấu tăng và A_w giảm. Từ trái sang phải của đồ thị biểu diễn tốc độ tăng trưởng vi khuẩn bình thường không ưa mặn như *E. coli* hay *Pseudomonas*, tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn chịu mặn như *S. aureus* và tốc độ tăng trưởng của nhóm ưa mặn cực đoan như cổ khuẩn *Halococcus*. Ghi chú: trong thực tế nhóm ưa mặn tăng trưởng tốt nhất ở nồng độ muối mà hầu hết vi khuẩn bị ức chế (T.D. Brock).

Quan điểm về thế nước thấp để ngăn chặn sự tăng trưởng của vi khuẩn được sử dụng để bảo quản thực phẩm bằng các phương pháp làm khô hoặc bổ sung thêm muối hoặc đường.

Bảng 3.12. Giới hạn thế nước (A_w) cho sự tăng trưởng của một số prokaryote.

Vi sinh vật	A_w tối thiểu cho tăng trưởng
<i>Caulobacter</i>	1,00
<i>Spirillum</i>	1,00
<i>Pseudomonas</i>	0,91
<i>Salmonella/E. coli</i>	0,91

<i>Lactobacillus</i>	0,90
<i>Bacillus</i>	0,90
<i>Staphylococcus</i>	0,85
<i>Halococcus</i>	0,75

Bảng 3.13. Điều kiện giới hạn sự tăng trưởng của vi khuẩn.

Tên vi khuẩn gây bệnh	A _w tối thiểu (dùng muối)	pH tối thiểu	pH cực đại	Muối cực đại trong nước (%)	Nhiệt độ tối thiểu	Nhiệt độ cực đại	Yêu cầu oxy
<i>Bacillus cereus</i>	0,92	4,3	9,3	10	4°C	55°C	Kỵ khí tùy nghi ⁴
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,987	4,9	9,5	1,7	30°C	45°C	Vi hiếu khí ²
<i>Clostridium botulinum</i> , type A, phân giải protein type B và F	0,935	4,6	9	10	10°C	48°C	Kỵ khí ³
<i>Clostridium botulinum</i> , type E, không phân giải protein type B và F	0,97	5	9	5	3,3°C	45°C	Kỵ khí ³
<i>Clostridium perfringens</i>	0,93	5	9	7	10°C	52°C	Kỵ khí ³
Các chủng <i>E. coli</i> gây bệnh	0,95	4	10	6,5	6,5°C	49,4°C	Kỵ khí tùy nghi ⁴
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92	4,4	9,4	10	-0,4°C	45°C	Kỵ khí tùy nghi ⁴
<i>Salmonella spp.</i>	0,94	3,7	9,5	8			Kỵ khí tùy

Chương 3. Dinh dưỡng và tăng trưởng ở vi khuẩn

					5,2°C	46,2°C	nghi ⁴			
<i>Shigella spp</i>	0,96	4,8	9,3	5,2			Kỵ khí tùy			
					6,1°C	47,1°C	nghi ⁴			
<i>S. aureus</i> tăng	0,83	4	10	20			Kỵ khí tùy			
trưởng					7°C	50°C	nghi ⁴			
<i>S. aureus</i> hình	0,85	4	9,8	10			Kỵ khí tùy			
thành độc tố					10°C	48°C	nghi ⁴			
<i>Vibrio cholerae</i>	0,97	5	10	6			Kỵ khí tùy			
					10°C	43°C	nghi ⁴			
<i>Vibrio</i>							Kỵ khí tùy			
<i>parahaemolyticus</i>	0,94	4,8	11	10	5°C	45,3°C	nghi ⁴			
<i>Vibrio vulnificus</i>	0,96	5	10	5			Kỵ khí tùy			
					8°C	43°C	nghi ⁴			
<i>Yersinia</i>							Kỵ khí tùy			
<i>enterocolitica</i>	0,945	4,2	10	7	-1,3°C	42°C	nghi ⁴			

1. Trì hoãn đáng kể sự tăng trưởng (>24 giờ) ở 55°C; 2. Đòi hỏi mức oxy giới hạn; 3. Đòi hỏi không có oxy; 4. Tăng trưởng trong điều kiện có hoặc không có oxy. Nguồn: FDA.