

[www.mientayvn.com](http://www.mientayvn.com)

Dịch tiếng anh chuyên ngành khoa học tự nhiên và kỹ thuật.

Dịch các bài giảng trong chương trình học liệu mở của học viện MIT, Yale.

Tìm và dịch tài liệu phục vụ cho sinh viên làm seminar, luận văn.

Tại sao mọi thứ đều miễn phí và chuyên nghiệp ???

Trao i tr c tuy n t i:

[www.mientayvn.com/chat\\_box\\_sinh.html](http://www.mientayvn.com/chat_box_sinh.html)

# PHẦN I

## ĐẠI CƯƠNG VỀ VI SINH VẬT HỌC MÔI TRƯỜNG

### CHƯƠNG I

#### HÌNH THÁI, CẤU TẠO VÀ CÁC ĐẶC TÍNH CƠ BẢN CỦA VI SINH VẬT

##### 1.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA VI SINH VẬT

Vi sinh vật là một thế giới sinh vật vô cùng nhỏ bé mà ta không thể quan sát thấy bằng mắt thường. Nó phân bố ở khắp mọi nơi, trong đất, trong nước, trong không khí, trong thực phẩm ... Nó có mặt ở dưới những độ sâu tối của đại dương. Bào tử của nó tung bay trên những tầng cao của bầu khí quyển, chu du theo những đám mây. Nó sống được trên kính, trên da, trên giấy, trên những thiết bị bằng kim loại ...

Vi sinh vật đóng vai trò vô cùng quan trọng trong thiên nhiên cũng như trong cuộc sống của con người. Nó biến đá mẹ thành đất trồng, nó làm giàu chất hữu cơ trong đất, nó tham gia vào tất cả các vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Nó là các khâu quan trọng trong chuỗi thức ăn của các hệ sinh thái. Nó đóng vai trò quyết định trong quá trình tự làm sạch các môi trường tự nhiên.

Từ xa xưa, con người đã biết sử dụng vi sinh vật trong đời sống hàng ngày. Các quá trình làm rượu, làm dấm, làm tương, muối chua thực phẩm ... đều ứng dụng đặc tính sinh học của các nhóm vi sinh vật. Khi khoa học phát triển, biết rõ vai trò của vi sinh vật, thì việc ứng dụng nó trong sản xuất và đời sống ngày càng rộng rãi và có hiệu quả lớn. Ví dụ như việc chế vaccine phòng bệnh, sản xuất chất kháng sinh và các dược phẩm quan trọng khác ... Đặc biệt trong bảo vệ môi trường, người ta đã sử dụng vi sinh vật làm sạch môi trường, xử lý các chất thải độc hại. Sử dụng vi sinh vật trong việc chế tạo phân bón sinh học, thuốc bảo vệ thực vật không gây độc hại cho môi trường, bảo vệ môi cân bằng sinh thái.

Trong thiên nhiên ngoài những nhóm vi sinh vật có ích như trên, còn có những nhóm vi sinh vật gây hại. Ví dụ như các nhóm vi sinh vật gây bệnh cho người, động vật và thực vật, các nhóm vi sinh vật gây ô nhiễm thực phẩm, ô nhiễm các nguồn nước, đất và không khí ... Nếu nắm vững cơ sở sinh học của tất cả các quá trình có lợi hay có hại trên, ta sẽ đưa ra được những biện pháp khoa học để phát

huy những mặt có lợi và hạn chế những mặt gây hại của vi sinh vật, đặc biệt là trong bảo vệ môi trường.

Vi sinh vật (microorganisms) là tên gọi chung để chỉ tất cả các sinh vật có hình thể bé nhỏ, muốn thấy rõ được người ta phải sử dụng tới kính hiển vi.

Virut (Virus) là nhóm vi sinh vật đặc biệt, chúng nhỏ bé tới mức chỉ có thể quan sát được qua kính hiển vi điện tử (electron microscope). Virut chưa có cả cấu trúc tế bào. Các vi sinh vật khác thường là đơn bào hoặc đa bào nhưng có cấu trúc đơn giản và chưa phân hoá thành các cơ quan sinh dưỡng (vegetative organs).

Vi sinh vật không phải là một nhóm riêng biệt trong sinh giới. Chúng thậm chí thuộc về nhiều giới (kingdom) sinh vật khác nhau. Giữa các nhóm có thể không có quan hệ mật thiết với nhau. Chúng có chung những đặc điểm sau đây:

### 1. Kích thước nhỏ bé

Mắt con người khó thấy được rõ những vật nhỏ hơn 1mm. Vậy mà vi sinh vật thường được đo bằng micromet ( $\mu\text{m}$ , micrometre), virut thường được đo bằng nanomet (nm, nanometre).

$1 \mu\text{m} = 10^{-3} \text{ mm}$ ;  $1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ mm}$ ,  $1 \text{ \AA} (\text{angstrom}) = 10^{-7} \text{ mm}$ . Vì vi sinh vật có kích thước nhỏ bé cho nên diện tích bề mặt của một tập đoàn vi sinh vật hết sức lớn. Chẳng hạn số lượng cầu khuẩn chiếm thể tích  $1 \text{ cm}^3$  có diện tích bề mặt là  $6\text{m}^2$ .

### 2. Hấp thu nhiều, chuyển hoá nhanh

Vi sinh vật tuy nhỏ bé chất trong sinh giới nhưng năng lực hấp thu và chuyển hoá của chúng có thể vượt xa các sinh vật bậc cao. Chẳng hạn vi khuẩn lactic (*Lactobacillus*) trong 1 giờ có thể phân giải một lượng đường lactozơ nặng hơn 1000 - 10000 lần khối lượng của chúng. Nếu tính số  $\mu\text{l O}_2$  mà mỗi mg chất khô của cơ thể sinh vật tiêu hao trong 1 giờ (biểu thị là -  $Q_{O_2}$ ) thì ở mô lá hoặc mô rễ thực vật là 0,5 - 4, ở tổ chức gan và thận động vật là 10 - 20, còn ở nấm men rượu (*Sacharomyces cerevisiae*) là 110, ở vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas* là 1200, ở vi khuẩn thuộc chi *Azotobacter* là 2000. Năng lực chuyển hoá sinh hoá mạnh mẽ của vi sinh vật dẫn đến những tác dụng hết sức lớn lao của chúng trong thiên nhiên cũng như trong hoạt động sống của con người.

### 3. Sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh

So với các sinh vật khác thì vi sinh vật có tốc độ sinh trưởng và sinh sôi nảy nở cực kỳ lớn. Vi khuẩn *Escherichia coli* trong các điều kiện thích hợp cứ khoảng 12 - 20 phút lại phân cắt một lần. Nếu lấy thời gian thế hệ (generation time) là 20 phút thì mỗi giờ phân cắt 3 lần, 24 giờ phân cắt 72 lần, từ một tế bào ban đầu sẽ sinh ra 4.722.366.500.000.000.000.000 tế bào (nặng 4711 tấn!). Tất nhiên trong thực tế không thể tạo ra các điều kiện sinh trưởng lý tưởng như vậy được cho nên số lượng vi khuẩn thu được trong 1ml dịch nuôi cấy thường chỉ đạt tới mức độ  $10^8$  -  $10^9$  tế bào. Thời gian thế hệ của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là 120 phút. Khi nuôi cấy để thu nhận sinh khối (biomass) giàu protein phục vụ chăn nuôi người ta nhận thấy tốc độ sinh tổng hợp (biosynthesis) của nấm men này cao hơn của bò tới 100.000 lần. Thời gian thế hệ của tảo *Chlorella* là 7 giờ, của vi khuẩn lam *Nostoc* là 23 giờ.

#### 4. Năng lực thích ứng mạnh và dễ phát sinh biến dị

Năng lực thích ứng của vi sinh vật vượt rất xa so với động vật và thực vật. Trong quá trình tiến hoá lâu dài vi sinh vật đã tạo cho mình những cơ chế điều hoà trao đổi chất để thích ứng được với những điều kiện sống rất bất lợi. Người ta nhận thấy số lượng enzym thích ứng chiếm tới 10% lượng chứa protein trong tế bào vi sinh vật. Sự thích ứng của vi sinh vật nhiều khi vượt quá trí tưởng tượng của con người. Phần lớn vi sinh vật có thể giữ nguyên sức sống ở nhiệt độ của nitơ lỏng ( $-196^{\circ}\text{C}$ ), thậm chí ở nhiệt độ của hydro lỏng ( $-253^{\circ}\text{C}$ ). Một số vi sinh vật có thể sinh trưởng ở nhiệt độ  $250^{\circ}\text{C}$ , thậm chí  $300^{\circ}\text{C}$ . Một số vi sinh vật có thể thích nghi với nồng độ 32% NaCl (muối ăn). Vi khuẩn *Thiobacillus thiooxidans* có thể sinh trưởng ở pH = 0,5 trong khi vi khuẩn *Thiobacillus denitrificans* có thể sinh trưởng ở pH = 10,7. Vi khuẩn *Micrococcus radiodurans* có thể chịu được cường độ bức xạ tới 750.000 rad. Ở nơi sâu nhất trong đại dương (11034 m) nơi có áp lực tới 1103,4 atm vẫn thấy có vi sinh vật sinh sống. Nhiều vi sinh vật thích nghi với điều kiện sống hoàn toàn thiếu oxi (vi sinh vật kỵ khí bắt buộc - obligate anaerobes). Một số nấm sợi có thể phát triển thành váng dày ngay trong bể ngâm xác có nồng độ phenol rất cao.

Vi sinh vật rất dễ phát sinh biến dị bởi vì thường là đơn bào, đơn bội, sinh sản nhanh, số lượng nhiều, tiếp xúc trực tiếp với môi trường sống. Tần số biến dị ở vi sinh vật thường là  $10^{-5}$  -  $10^{-10}$ . Hình thức biến dị thường gặp là đột biến gen (genemutation) và dẫn đến những thay đổi về hình thái, cấu tạo, kiểu trao đổi chất,

sản phẩm trao đổi chất, tính kháng nguyên, tính đề kháng ... Chẳng hạn khi mới tìm thấy khả năng sinh chất kháng sinh của nấm sợi *Penicillium chrysogenum* người ta chỉ đạt tới sản lượng 20 đơn vị penixilin trong 1ml dịch lên men. Ngày nay trong các nhà máy sản xuất penixilin người ta đã đạt tới năng suất 100.000 đơn vị/ml. Bên cạnh các biến dị có lợi, vi sinh vật cũng thường sinh ra những biến dị có hại đối với nhân loại, chẳng hạn biến dị về tính kháng thuốc. Năm 1946 tỷ lệ các chủng *Staphylococcus aureus* kháng thuốc phân lập được ở bệnh viện là khoảng 14%, năm 1996 đã tăng lên đến trên 97%.

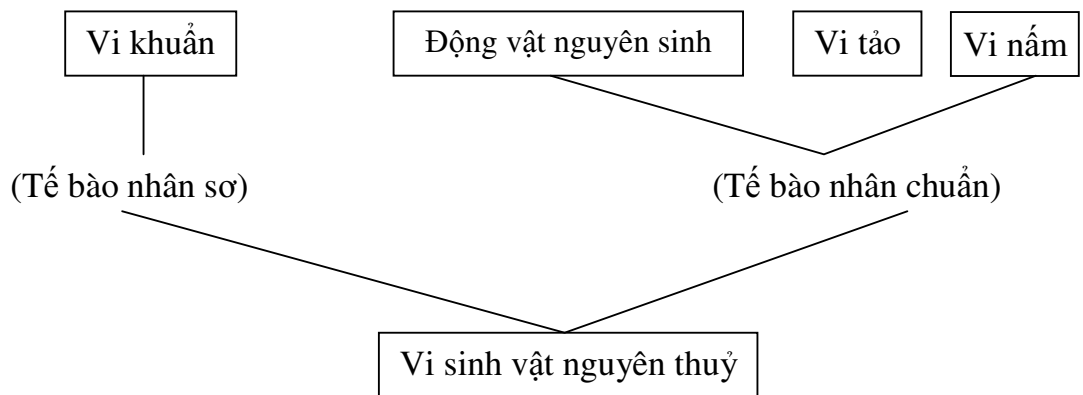
Người ta chỉ tiêm cho bệnh nhân mỗi ngày khoảng 100.000 đơn vị penixilin, ngày nay có lúc phải tiêm đến 10.000.000 - 200.000.000 đơn vị.

### 5. Phân bố rộng, chủng loại nhiều

Vi sinh vật phân bố ở khắp mọi nơi trên trái đất. Chúng có mặt trên cơ thể người, động vật, thực vật, trong đất, trong nước, trong không khí, trên mọi đồ dùng, vật liệu, từ biển khơi đến núi cao, từ nước ngọt, nước ngầm cho đến nước biển ...

Trong đường ruột của người thường có không dưới 100 - 400 loài sinh vật khác nhau, chúng chiếm tới 1/3 khối lượng khô của phân. Chiếm số lượng cao nhất trong đường ruột của người là vi khuẩn *Bacteroides fragilis*, chúng đạt tới số lượng  $10^{10}$  -  $10^{11}$ /g phân (gấp 100 - 1000 lần số lượng vi khuẩn *Escherichia coli*).

Ở độ sâu 10.000 m của Đông Thái Bình Dương, nơi hoàn toàn tối tăm, lạnh lẽo và có áp suất rất cao người ta vẫn phát hiện thấy có khoảng 1 triệu - 10 tỉ vi khuẩn/ml (chủ yếu là vi khuẩn lưu huỳnh).



Hình 1.1. Sơ đồ phát sinh các nhóm vi sinh vật

**6. Vi sinh vật có vai trò to lớn đối với hệ sinh thái cũng như đối với đời sống con người**

- Vi khuẩn và vi nấm là sinh vật phân giải các chất hữu cơ thành các chất vô cơ trong chu trình chuyển hoá vật chất của hệ sinh thái.

- Một số vi khuẩn, vi nấm cũng như một số động vật nguyên sinh là những tác nhân gây nhiều bệnh cho cây trồng, vật nuôi cũng như con người.

- Một số vi khuẩn và vi nấm phá huỷ lương thực thực phẩm, vật liệu xây dựng, kiến trúc, công nghiệp, mỹ thuật.

- Vi sinh vật mang lại lợi ích cho con người trong nhiều lĩnh vực công nghệ chế biến thực phẩm, dược phẩm, công nghệ sinh học và môi trường.

## **1.2. CÁC NHÓM VI SINH VẬT CHÍNH**

Vi sinh vật vô cùng phong phú cả về thành phần và số lượng. Chúng bao gồm các nhóm khác nhau có đặc tính khác nhau về hình dạng, kích thước, cấu tạo và đặc biệt khác nhau về đặc tính sinh lý, sinh hoá.

Dựa vào đặc điểm cấu tạo tế bào, người ta chia ra làm 3 nhóm lớn:

- Nhóm chưa có cấu tạo tế bào bao gồm các loại virus.

- Nhóm có cấu tạo tế bào nhưng chưa có cấu trúc nhân rõ ràng (cấu trúc nhân nguyên thủy) gọi là nhóm Prokaryotes, bao gồm vi khuẩn, xạ khuẩn và tảo lam.

- Nhóm có cấu tạo tế bào, có cấu trúc nhân phức tạp gọi là Eukaryotes bao gồm nấm men, nấm sợi (gọi chung là vi nấm) một số động vật nguyên sinh và tảo đơn bào.

### **1.2.1. Virus**

#### **1.2.1.1. Đặc điểm chung**

Virus là nhóm vi sinh vật chưa có cấu tạo tế bào, có kích thước vô cùng nhỏ bé, có thể chui qua màng lọc vi khuẩn. Nhờ có sự phát triển nhanh chóng của kỹ thuật hiển vi điện tử, siêu ly tâm, nuôi cấy tế bào ... những thành tựu nghiên cứu về virus đã được đẩy mạnh, phát triển thành một ngành khoa học gọi là virus học.

Virus không có khả năng sống độc lập mà phải sống ký sinh trong các tế bào khác từ vi khuẩn cho đến tế bào động vật, thực vật và người, gây các loại bệnh hiểm nghèo cho các đối tượng mà chúng ký sinh. Ví dụ như bệnh AIDS.

Virus là nhóm vi sinh vật được phát hiện ra sau cùng trong các nhóm vi sinh vật chính vì kích thước nhỏ bé và cách sống ký sinh của chúng. Người phát hiện ra virus lần đầu tiên là nhà bác học người Nga - Ivanôpski. Ông là một chuyên gia nghiên cứu về bệnh khảm cây thuốc lá. Khi nghiên cứu về bệnh này ông đã phát

hiện ra rằng: Dịch lọc của lá cây bị bệnh khi cho qua màng lọc vi khuẩn vẫn có khả năng gây bệnh. Từ đó ông rút ra kết luận: Nguyên nhân gây bệnh đốm thuốc lá phải là một loại sinh vật nhỏ hơn vi khuẩn. Phát hiện này được công bố năm 1892, 6 năm sau, năm 1898, nhà khoa học người Hà Lan Beijerinck cũng nghiên cứu về bệnh khảm thuốc lá và có những kết quả tương tự, ông đặt tên mầm gây bệnh khảm thuốc lá là virus. Tiếp đó người ta phát hiện ra một số virus khác gây bệnh cho động vật và người. Đến năm 1915 đã phát hiện ra virus ký sinh trên vi khuẩn, gọi là thực khuẩn thể (Bacteriophage).

### 1.2.1.2. Hình thái và cấu trúc của virus

#### 1.2.1.2.1. Hình thái và kích thước

Virus có kích thước rất nhỏ bé, có thể lọt qua màng lọc vi khuẩn, chỉ có thể quan sát chúng qua kính hiển vi điện tử. Kích thước từ 20 x 30 đến 150 x 300 nanomet ( $1 \text{ nm} = 10^{-6} \text{ mm}$ )

Nhờ kỹ thuật hiển vi điện tử, người ta phát hiện ra 3 loại hình thái chung nhất của virus. Đó là hình cầu, hình que và hình tinh trùng.

Hình que điển hình là virus đốm thuốc lá (virus VTL), chúng có hình que dài với cấu trúc đối xứng xoắn. Các đơn vị cấu trúc xếp theo hình xoắn quanh 1 trục, mỗi đơn vị gọi là capsome.

Loại hình cầu điển hình là một số virus động vật. Các đơn vị cấu trúc xếp theo kiểu đối xứng 4 mặt, 8 mặt hoặc 20 mặt.

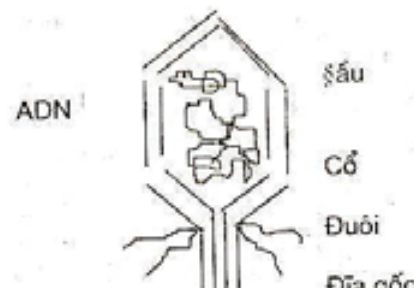
Loại có hình dạng tinh trùng phổ biến hơn cả là các virus ký sinh trên vi khuẩn gọi là thực khuẩn thể hoặc Phage. Loại hình dạng này phần đầu có cấu trúc đối xứng khối phân đuôi là có cấu trúc đối xứng xoắn.

#### 1.2.1.2.2. Cấu trúc điển hình của virus

Kiểu cấu trúc phức tạp nhất của virus là cấu trúc của thực khuẩn thể (Phage). Sau đây ta nghiên cứu cấu trúc của thực khuẩn thể T<sub>4</sub> ký sinh trên vi khuẩn E. Coli.

Thực khuẩn thể T<sub>4</sub> có 3 phần: đầu, cổ và đuôi. Đầu có dạng lăng kính 6 cạnh, đường kính 65 nm dài 95 nm, cấu tạo bởi protein tạo thành vỏ capsit, vỏ capsit được cấu tạo bởi 212 đơn vị capsome. Bên trong phần đầu có chứa một phân tử AND 2 sợi có phân tử lượng  $1,2 \cdot 10^8$ .

Cổ là một đĩa 6 cạnh đường kính 37,5 nm có 6 sợi tua gọi là tua cổ. Đuôi



là một ống rỗng được bao bọc bởi bao đuôi, bao đuôi có cấu tạo protein tạo thành vỏ Capxit, kích thước 8 x 95 nm. Phần rỗng trong đuôi gọi là trụ có đường kính 2,5 - 3,5 nm.

*Hình 1.2. Cấu trúc đơn của thực khuẩn thể (Phage)*

Phần cuối cùng của đuôi là một đĩa gốc hình 6 cạnh giống như đĩa cổ từ đó mọc ra 6 sợi gai gọi là chân bám.

Hình trên là cấu trúc điển hình của thực khuẩn thể T4.

Dựa trên cấu trúc cơ bản đó, thiên nhiên đã tạo ra hàng trăm hàng nghìn loại virus khác nhau. Ví dụ như phần lõi không phải là tất cả các virus đều chứa AND, có rất nhiều loại chứa ARN, chủ yếu là các virus thực vật. Chính từ loại này người ta đã phát hiện ra quá trình sao chép ngược thông tin di truyền : ARN - AND. Sau đây là đặc điểm kích thước và cấu trúc của một số virus điển hình:

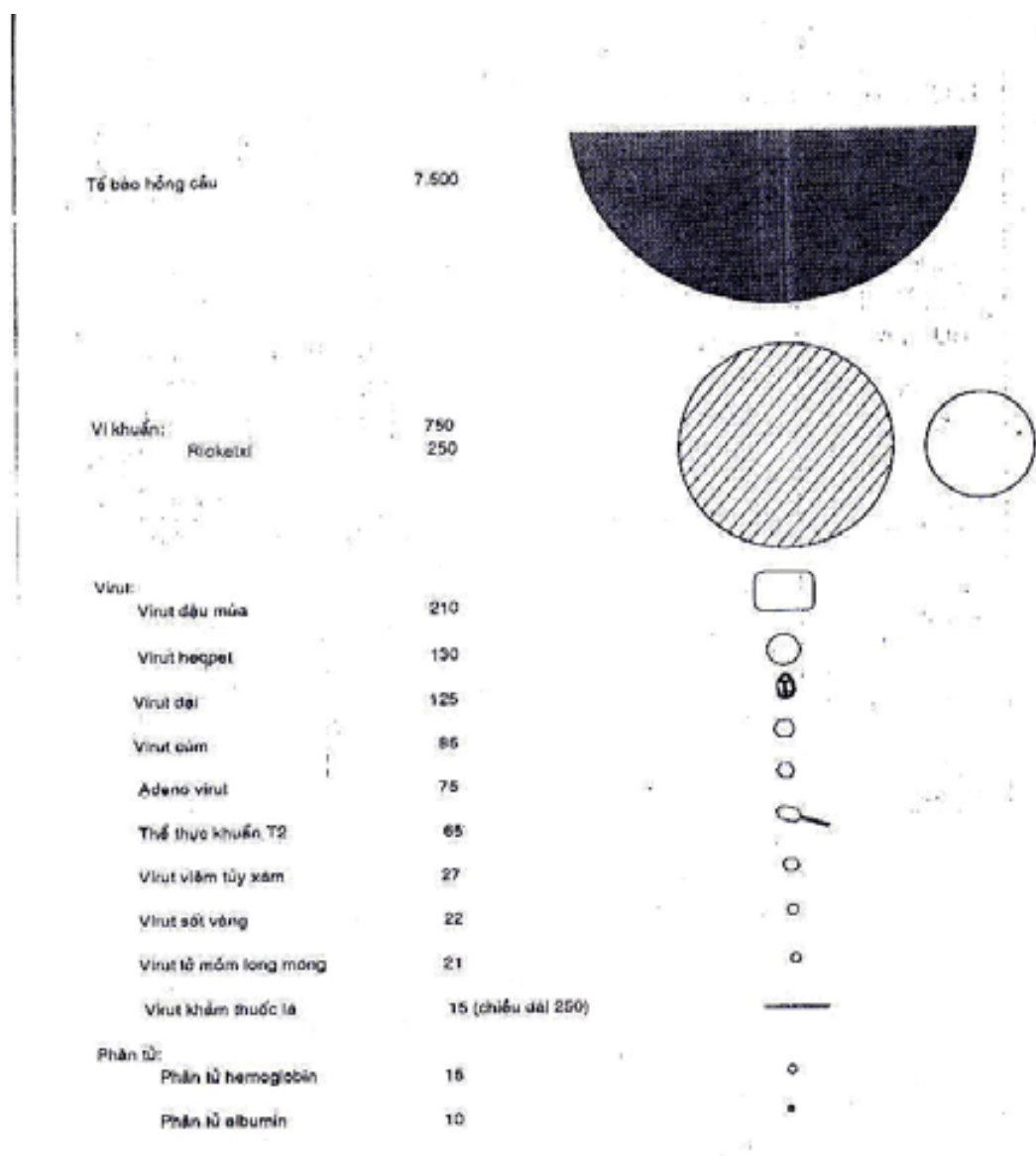
**Bảng 1.1**

Virus	Axit nucleic	Kiểu đối xứng	Kích thước (nm)
VR đậu mùa	AND	Khối	230 x 300
VR cúm	ARN	Xoắn	80 x 200
VR đốm thuốc lá	ARN	Xoắn	200 x 300
VR khoai tây	ARN	Xoắn	480 x 500
TKT T <sub>4</sub>	AND	Khối và xoắn	Đầu : 65 x 95 Đuôi : 8 x 95

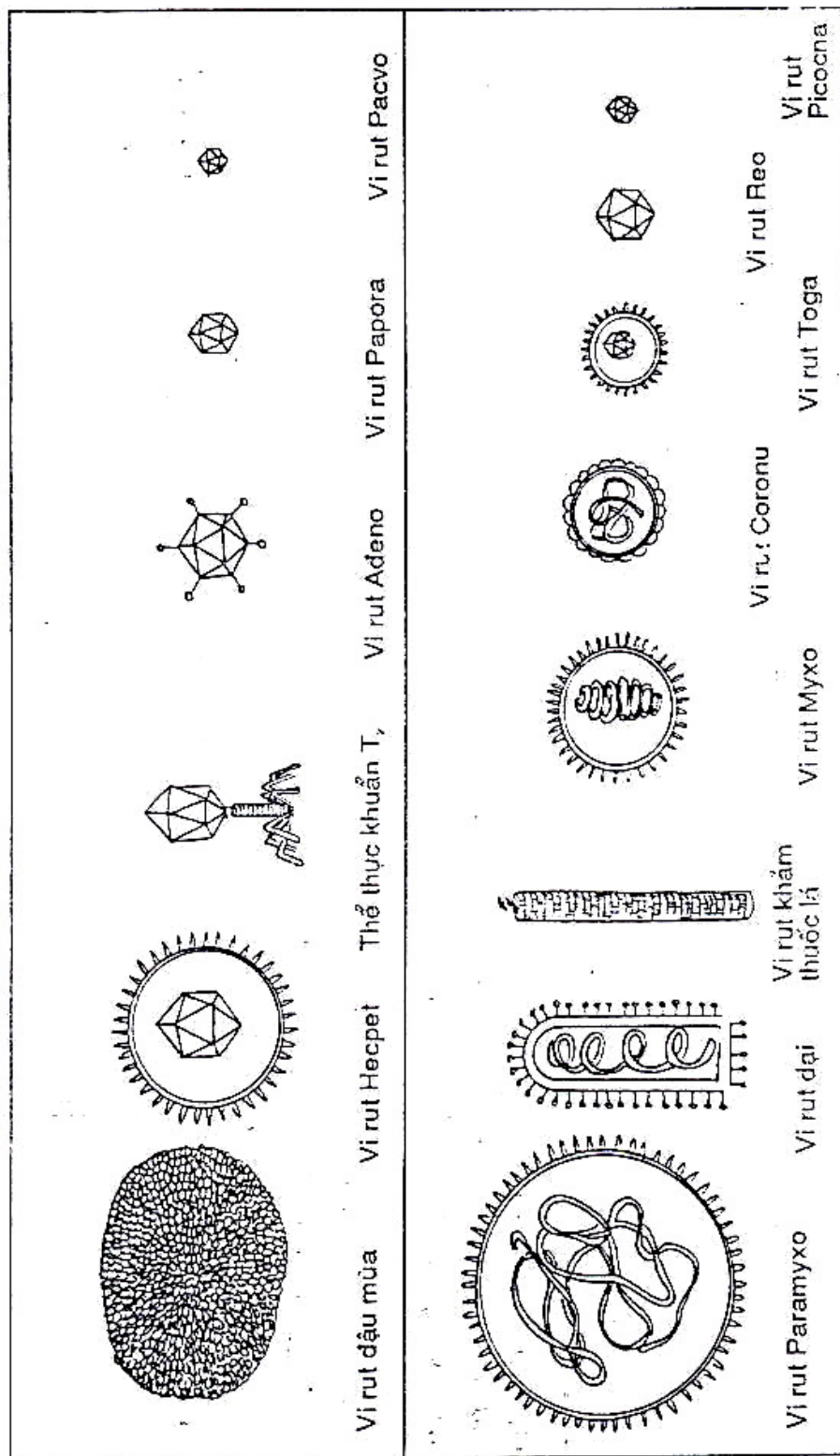
Trong thành phần Protein của virus có 2 loại - Protein cấu trúc và Protein men. Protein cấu trúc cấu tạo nên vỏ capxit từ các đơn vị hình thái capxome và vỏ trong ở một số loại virus có vỏ trong. Protein men bao gồm men ATP - aza và men Lizozym.

ATP - aza có chức năng phân huỷ ATP giải phóng năng lượng cho virus co rút lúc xâm nhập vào tế bào chủ. Lizozym có chức năng phân huỷ màng tế bào vật chủ





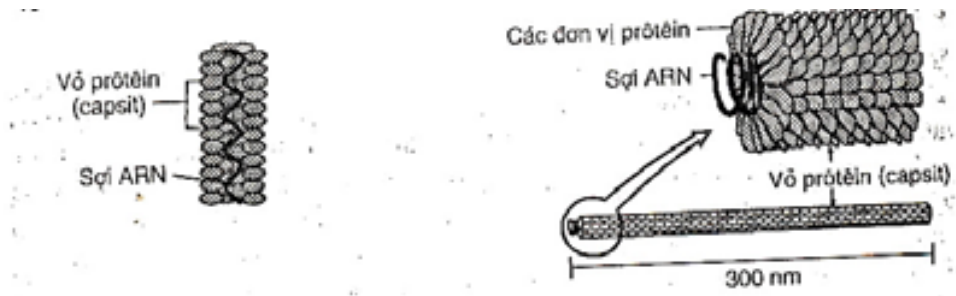
Hình 1.3 So sánh kích thước của virus với phân tử sống và vi khuẩn hồng cầu



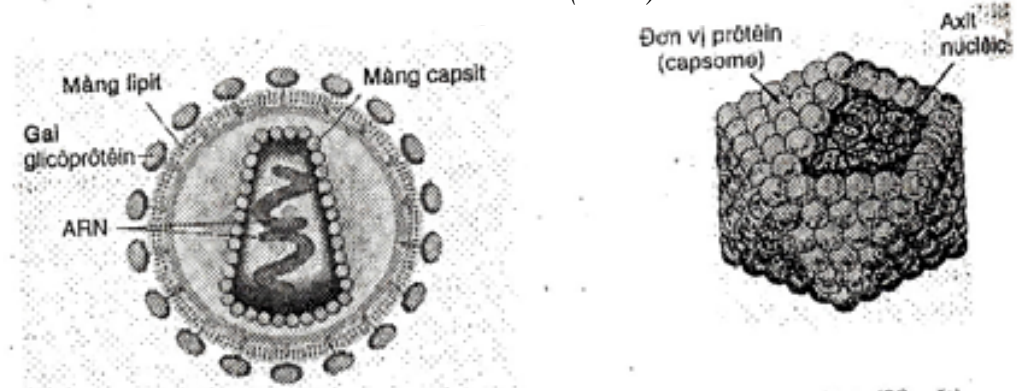
Hình 1.4 : Cấu trúc của các loại vi rút khác nhau

1.2.4. Một số virus điển hình

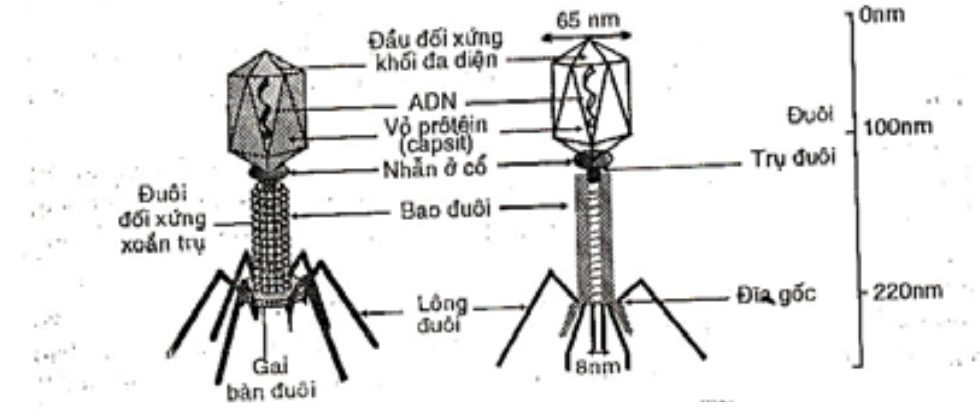
Dựa vào hình thái ngoài của virus người ta chia virus làm 3 loại: hình trụ xoắn, hình khối đa diện và dạng phối hợp. Riêng hình khối đa diện chúng ta xét 2 đại diện virus Adêno và virus trần là HIV là một dạng virus có vỏ bọc. Còn virus hình trụ xoắn chúng ta nghiên cứu đại diện là virus khảm thuốc lá và dạng phối hợp là phagơ T2 là một loại phagơ ở E.Coli.



Hình 1.5. Virus khảm thuốc lá (TMV)



Hình 1.6. Hình thái và cấu trúc phân tử của HIV



Hinh 1.7 c. Virut của E. coli (Phagơ)

### 1.2.1.3. Quá trình hoạt động của virus trong tế bào chủ

Virus không có khả năng sống độc lập, chúng sống ký sinh trong tế bào sống. Kết quả của quá trình ký sinh có thể xảy ra 2 khả năng: Khả năng thứ nhất là phá vỡ tế bào làm tế bào chết và tiếp tục xâm nhập rồi phá vỡ các tế bào lân cận. Khả năng thứ 2 là tạo thành trạng thái tiềm tan trong tế bào chủ, nghĩa là tạm thời không phá vỡ tế bào mà chỉ hoạt động sinh sản cùng nhịp điệu với tế bào chủ. Ở những điều kiện môi trường nhất định, trạng thái tiềm tan có thể biến thành trạng thái tan phá vỡ tế bào. Những virus có khả năng phá vỡ tế bào gọi virus độc, những virus có khả năng tạo nên trạng thái tiềm tan gọi là virus không độc.

#### 1.2.1.3.1. Quá trình hoạt động của virus độc

Quá trình của virus độc chia làm 4 giai đoạn:

- Giai đoạn hấp thụ của hạt virus tự do trên tế bào chủ: Các hạt virus tự do tồn tại ngoài tế bào không có khả năng hoạt động, chúng ở trạng thái tiềm sinh gọi là hạt Virion. Khi gặp tế bào chủ, phụ thuộc vào tần số va chạm giữa hạt virion và tế bào, va chạm càng nhiều càng có khả năng tìm ra các điểm thụ cảm trên bề mặt tế bào gọi là các receptor. Lúc đó điểm thụ cảm của tế bào chủ và gốc đuôi của virus kết hợp với nhau theo cơ chế kháng nguyên - kháng thể nhờ có thành phần hoá học phù hợp với nhau. Kết quả là virus bám chặt lên bề mặt tế bào chủ. Mỗi loại virus có khả năng hấp thụ lên một hoặc vài loại tế bào nhất định. Điều này giải thích được tại sao mỗi loại virus chỉ gây bệnh cho một vài loại nhất định.

- Giai đoạn xâm nhập của virus vào tế bào chủ:

Quá trình xâm nhập của virus vào tế bào chủ xảy ra theo nhiều cơ chế khác nhau phụ thuộc vào từng loại virus và tế bào chủ.

Ở thực khuẩn thể  $T_4$  sau khi virus bám vào điểm thụ cảm của tế bào chủ, nó tiết ra men Lizozym thuỷ phân thành tế bào vi khuẩn. Sau đó dưới tác dụng của ATP - aza bao đuôi của phage co rút làm cho trụ đuôi xuyên qua thành tế bào và phân tử ADN được bơm vào bên trong tế bào chủ. Vỏ capxit vẫn nằm ở ngoài. Người ta chứng minh được cơ chế trên nhờ phương pháp nguyên tử đánh dấu.

Ngoài cơ chế trên còn có một số cơ chế khác: ở một số virus động vật, sau khi tiết ra men phân huỷ thành tế bào chủ, toàn bộ hạt virion lọt vào trong tế bào, sau đó các men bên trong tế bào mới tiến hành phân huỷ vỏ Capxit giải phóng ADN. Người ta gọi là quá trình này là quá trình “cởi áo”. Một số tế bào chủ lại có

khả năng bao bọc virion rồi “nuốt” theo kiểu thực bào. Sau đó có quá trình “cởi áo” giải phóng ADN của virus.

- Giai đoạn sinh sản của virus trong tế bào chủ (sao chép và nhân lên).

Quá trình sinh sản của virus còn gọi là sự nhân lên của chúng. Đây là vấn đề rất hấp dẫn của sinh học phân tử trong thời gian gần đây. Bằng các phương pháp hiện đại người ta đã làm sáng tỏ quá trình nhân lên của virus. Sau khi phân tử ADN của virus lọt vào tế bào chủ, quá trình tổng hợp ADN của tế bào chủ lập tức bị đình chỉ. Sau đó quá trình tổng hợp protein của tế bào cũng ngừng và bắt đầu quá trình tổng hợp các enzym này còn gọi là protein sớm vì nó là những protein được tổng hợp đầu tiên sau quá trình xâm nhập. Khi các enzym này được hoàn thành, bắt đầu xúc tác cho quá trình tổng hợp ADN của virus bằng nguyên liệu ADN của tế bào chủ bị phân huỷ. Sau khi các phân tử ADN virus được tổng hợp đến một số lượng nhất định quá trình này ngừng và bắt đầu quá trình tổng hợp Protein muộn bao gồm vỏ Capxit của virus và các enzym có trong thành phần của virus trưởng thành. Các quá trình này được tiến hành do sự điều khiển của bộ gen virus. Như vậy, 2 phần vỏ và lõi virus được tổng hợp riêng biệt.

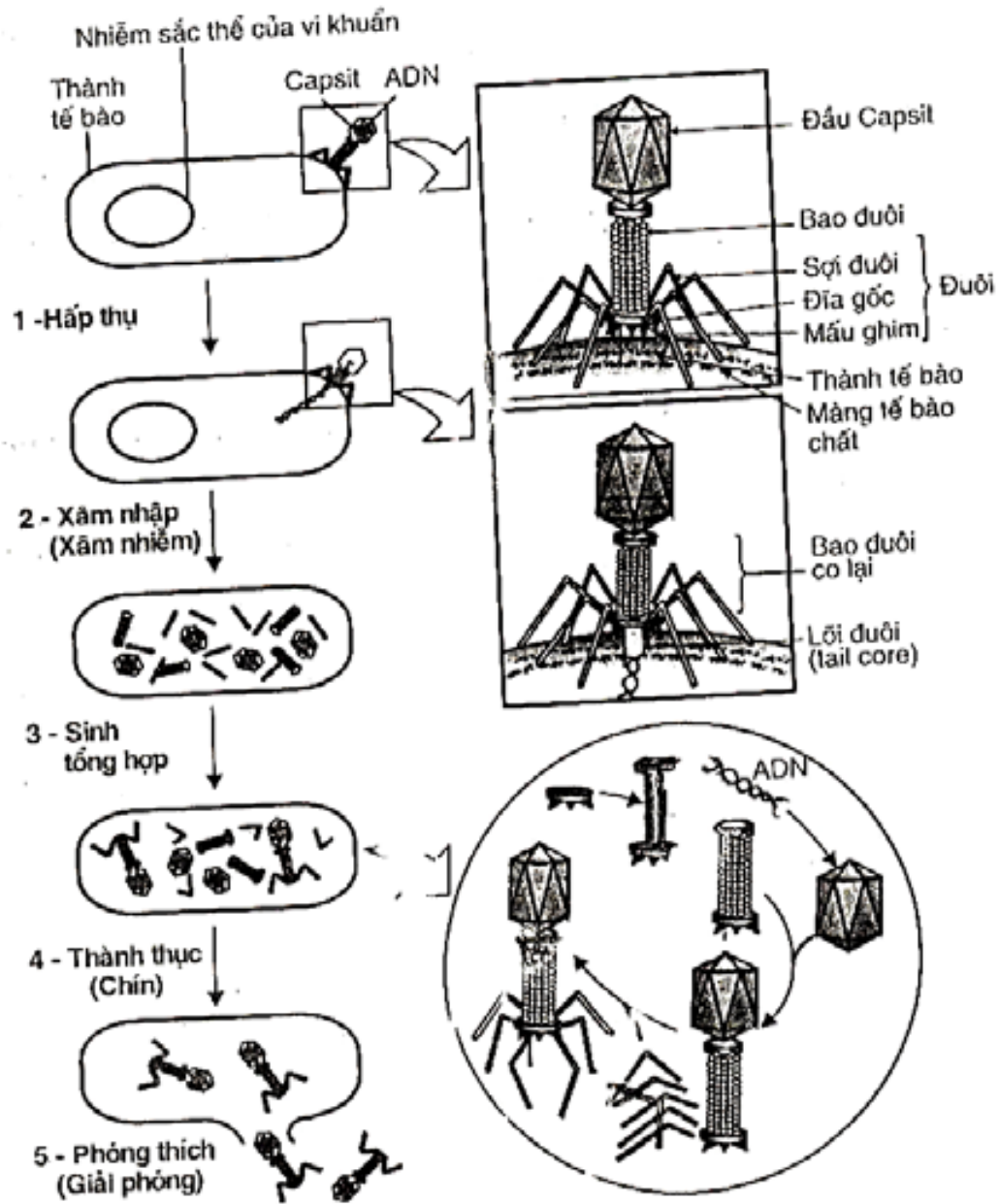
- Giai đoạn lắp ráp hạt virus và giải phóng chúng ra khỏi tế bào: Giai đoạn này còn gọi là sự chín của virus. Sau khi các bộ phận của virus được tổng hợp riêng biệt (axit nucleic, vỏ capxit, bao đuôi, đĩa gốc, lông đuôi) các thành phần lắp ráp lại với nhau thành hạt virus trưởng thành, kết thúc thời kỳ tiềm ẩn, tức là thời kỳ trong tế bào chưa xuất hiện virus trưởng thành. Thời kỳ tiềm ẩn kéo dài bao lâu tùy thuộc từng loại virus/ Trong nhiều trường hợp các virus trưởng thành tiết men lizozym phân huỷ thành tế bào và ra ngoài, tế bào bị phá vỡ. Các virus con tiếp tục xâm nhập vào các tế bào xung quang và phá vỡ chúng. Ở một số virus, virus trưởng thành không phá vỡ tế bào mà chui ra qua lỗ liên bào sang tế bào bên cạnh hoặc được phóng thích nhờ quá trình đào thải của tế bào. Trong tế bào đầu tiên vẫn tiếp tục quá trình tổng hợp virus mới. Ở cả 2 cơ chế, tế bào chủ sớm muộn cũng bị chết hàng loạt. Đó là quá trình hoạt động của virus độc. Sau đây ta nghiên cứu quá trình hoạt động của virus không độc.

#### *1.2.1.3.2. Quá trình hoạt động của virus không độc*

Virus không độc còn gọi là virus ôn hoà, hoạt động của nó không làm chết tế bào chủ mà chỉ gây nên trạng thái tiềm tan, gọi là trạng thái Lyzogen. Virus sống chung với tế bào chủ, sinh sản cùng nhịp điệu với nó.

Hiện tượng Lyzogen được phát hiện trên vi khuẩn, các phage này được gọi là phage ôn hoà hoặc prophage. Tế bào có chứa prophage có khả năng miễn dịch với các phage khác. Nguyên nhân của hiện tượng này là do prophage có khả năng tổng hợp nên các protein có tác dụng kìm hãm sự nhân lên của virus lạ cũng như bản thân prophage. Một số tác nhân đột biến làm mất hoạt tính hoặc làm ngừng sự tổng hợp chất kìm hãm trên, dẫn đến sự thay đổi trạng thái Lyzogen, tức là biến trạng thái tiềm tan thành trạng thái tan. Lúc đó phage ôn hoà biến thành phage độc và tế bào chủ sẽ bị phá vỡ. Quá trình này ngoài tác nhân đột biến còn phụ thuộc vào hệ gen của prophage và trạng thái sinh lý của tế bào cũng như đặc điểm nuôi cấy. Bởi vậy, cùng một loài vi khuẩn, có những chủng cảm ứng với phage, có chủng không. Khi nuôi chung hai chủng với nhau trên môi trường thạch đĩa có thể thấy rõ những vết bị tan trong thảm vi khuẩn không bị tan. Trong điều kiện tự nhiên, tần số biến trạng thái tiềm tan thành trạng thái tan chỉ là  $10^{-2}$  -  $10^{-5}$ .

## SỰ NHẬN LÊN CỦA VIRUS TRONG TẾ BÀO CHỦ



Hình 1.8 Các giai đoạn xâm nhiễm và phát triển của phago

#### ***1.2.1.4. Hiện tượng Interference và ứng dụng của nó***

Interference là hiện tượng khi gây nhiễm một loại virus cho tế bào thì việc gây nhiễm virus khác sẽ bị ức chế. Hiện tượng ức chế này không có tính đặc hiệu đối với virus. Các virus hoàn toàn khác nhau có thể ức chế nhau, ví dụ virus AND có thể ức chế sự xâm nhiễm của virus ARN và ngược lại. Một virus đã bị làm bất hoạt bởi tia cực tím vẫn có khả năng gây ra hiện tượng Interference đối với virus sống. Song hiện tượng này lại có tính đặc hiệu đối với loài thuộc tế bào chủ. Chất ức chế gọi là Interferon sinh ra bởi tế bào thuộc loài nào thì chỉ có tác dụng đối với các tế bào thuộc loại ấy. Ví dụ Interferon sinh ra ở tế bào gà thì không có tác dụng ức chế ở tế bào bò hoặc lợn.

Interferon là một loại protein đặc biệt được sinh ra trong tế bào sau khi bị nhiễm virus. Chính nó đã ức chế quá trình tổng hợp ARN của virus lạ, từ đó không thể có quá trình tổng hợp AND hay protein. Bởi vậy mà virus lạ có thể xâm nhập vào tế bào nhưng không phát triển nhân lên được. Cường độ của hiện tượng này phụ thuộc vào số lượng virus gây nhiễm lần thứ 1 và thời gian từ lúc đó đến lúc gây nhiễm lần thứ 2, thường khoảng 2 giờ thì có tác dụng.

Người ta đã ứng dụng hiện tượng Interference trong việc phòng chống bệnh do virus gây nên. Chất Interferon có thể ức chế rộng rãi nhiều loại virus khác nhau vì nó không có tính đặc hiệu đối với virus mà chỉ có tính đặc hiệu đối với tế bào chủ.

#### ***1.2.1.5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của virus***

##### ***- Ý nghĩa khoa học***

Virus có cấu tạo vô cùng đơn giản, điển hình cho sự sống ở mức độ dưới tế bào. Bởi thế mà nó trở thành mô hình lý tưởng của sinh học phân tử và di truyền học hiện đại. Rất nhiều thành tựu của sinh học phân tử và di truyền học hiện đại dựa trên mô hình virus. Ví dụ như việc dùng virus để chuyển các gen cần thiết từ tế bào này sang tế bào khác, tạo nên các đặc tính di truyền mong muốn.



*- Ý nghĩa thực tiễn*

Rất nhiều bệnh tật của con người, động vật, thực vật mà nguyên nhân gây ra là virus. Đặc điểm sống của virus là ký sinh trên tế bào, bởi vậy chữa bệnh do virus gây ra là rất khó khăn và phức tạp. Đối với người một trong những căn bệnh nguy hiểm nhất hiện nay là AIDS do virus HIV gây ra. Loại virus này làm suy giảm khả năng miễn dịch làm cho người bị bệnh AIDS có thể chết bởi bất cứ một bệnh thông thường nào khác mà bình thường cơ thể có thể chống chịu được. Đối với nông nghiệp, hầu hết các bệnh nguy hiểm cho cây trồng đều do virus gây ra làm giảm năng suất mùa màng, nhiều khi bị thất thu hoàn toàn.

Tuy nhiên, có thể ứng dụng hiện tượng Interference để chế các vaccin chống virus gây bệnh. Vaccin này ưu việt hơn vaccin chế từ vi khuẩn ở chỗ một loại vaccin có thể phòng nhiều bệnh virus khác nhau.

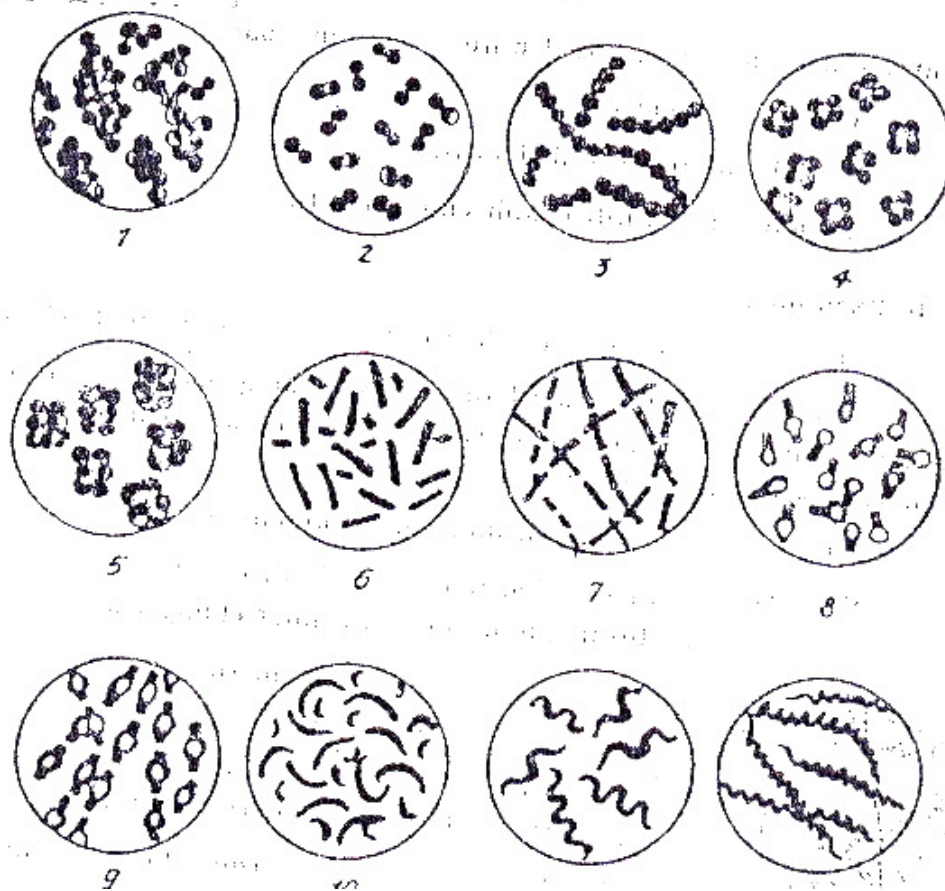
Ngoài ra, người ta còn dùng các virus gây bệnh côn trùng để tiêu diệt côn trùng có hại mà vẫn giữ được các loại côn trùng khác trong mỗi cân bằng sinh thái. Đó là một ưu điểm đáng kể so với các thuốc hoá học diệt côn trùng có khả năng tiêu diệt nhiều loại côn trùng một lúc, cả có ích lẫn có hại. Điều đó ảnh hưởng không nhỏ đến cân bằng sinh thái trong thiên nhiên.

**1.2.2. Vi khuẩn (Bacteria)**

Vi khuẩn là nhóm vi sinh vật có cấu tạo tế bào nhưng chưa có cấu trúc nhân phức tạp, thuộc nhóm Prokaryotes. Nhân tế bào chỉ gồm một chuỗi AND không có thành phần protein không có màng nhân.

**1.2.2.1. Hình thái và kích thước**

Vi khuẩn có nhiều hình thái khác nhau: hình cầu, hình que, hình xoắn, hình dấu phẩy, hình sợi ... Kích thước thay đổi tùy theo các loại hình và trong một loại hình kích thước cũng khác nhau. So với virus, kích thước của vi khuẩn lớn hơn nhiều, có thể quan sát vi khuẩn dưới kính hiển vi quang học. Dựa vào loại hình có thể chia ra một số nhóm sau:



Hình 1.9. Các hình dạng chính của vi khuẩn

- Cầu khuẩn 1, 2, 3, 4, 5
- Trục khuẩn 6, 7, 8, 9
- Xoắn khuẩn 10, 11, 12

**1. Cầu khuẩn** (*Coccus* - từ tiếng Hy Lạp *Kokkos* - hạt quả): là loại vi khuẩn có hình cầu. Nhưng có nhiều loại không hẳn hình cầu thí dụ như hình ngọn nến như phé cầu khuẩn - *Diplococcus pneumoniae* hoặc hạt cà phê (lậu cầu khuẩn *Neisseria gonorrhoeae*).

Kích thước của vi khuẩn thường thay đổi trong khoảng 0,5 ( $1\mu = 10^{-3}$  mm). Tuy theo từng loài mà chúng có những dạng khác nhau.

Đặc tính chung của cầu khuẩn:

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

#### *Giống Monococcus*

Thường đứng riêng lẻ từng tế bào một, đa số chúng thuộc loại hoại sinh. Thường thấy chúng sống trong đất, nước và trong không khí (Thí dụ như *Micrococcus agilis*, *M. roseus*, *M. luteus*)

#### *Giống Diplococcus*

(Từ tiếng Hy Lạp - Diplos - thành đôi) phân cách theo một mặt phẳng xác định và dính nhau thành từng đôi một. Trong số này có một số có khả năng gây bệnh như giống *Neisseria* - Lậu cầu khuẩn *N meningitidis* gonorrhoeae - Não mô cầu khuẩn).

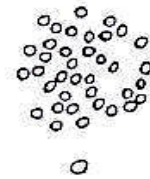
#### *Giống Tetracoccus*

Thường liên kết với nhau thành từng nhóm 4 tế bào một. Chúng thường gây bệnh cho người và một số có thể gây bệnh cho động vật.

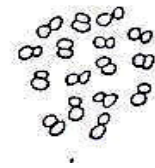
#### *Giống Streptococcus*

Từ tiếng Hy Lạp (Streptos - chuỗi) chúng phân cách theo một mặt phẳng xác định và dính với nhau thành từng chuỗi một dài. Thí dụ như *Streptococcus lactic*. *Strep-pyogenes*.

#### *Giống Monococcus*



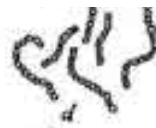
#### *Giống Diplococcus*



#### *Giống Tetracoccus*



#### *Giống Streptococcus*



#### *Giống Sarcina*



#### *Giống Staphitococcus*



*Giống Sarcina*

Từ tiếng Hy Lạp Saricio - gói hàng. Phân cách theo 3 mặt phẳng trục giao với nhau, tạo thành những khối từ 8 - 16 tế bào (hoặc nhiều hơn nữa). Trong không khí chúng ta thường gặp một số loài như Sarcinalutea, Sarcina auratiaca. Chúng thường nhiễm vào các môi trường để trong phòng thí nghiệm và tạo thành màu vàng.

*Giống Staphilococcus*

Từ tiếng Hy Lạp Staphile - chùm nho. Thường chúng liên kết với nhau thành những đám trông như chùm nho. Chúng phân cách theo một mặt phẳng bất kỳ và sau đó dính lại với nhau thành từng đám như hình chùm nho. Bên cạnh các loài hoại sinh còn có một số loài gây bệnh ở người và động vật (Staph. Curcreus, Staph. Emidermidis ...)

**2. Trục khuẩn**

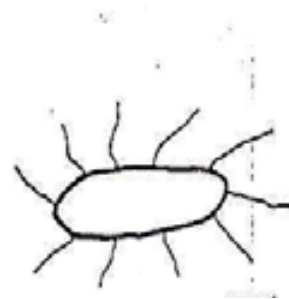
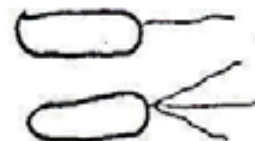
Là tên chung chỉ tất cả các vi khuẩn có hình que. Kích thước của chúng thường từ 0,5 - 1,0 x 1 - 4  $\mu$ .

Thường gặp các loài trục khuẩn sau đây:

- *Bacillus* (Viết tắt là *Bac*) 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 tế bào không thay đổi hình dạng chúng thường thuộc loài hiếu khí hoặc kỵ khí không bắt buộc.

- *Bacterium* (viết tắt là *Bact*)

Trục khuẩn gram âm không sinh bào tử. Thường có tiên mao mọc xung quanh tế bào người ta gọi là chu mao. Các giống Salmonella, Shigella, Erwina, Serratia đều có hình thái giống Bacterium.

*Bacillus* (Viết tắt là *Bac*)*Bacterium* (Viết tắt là *Bact*)*Pseudomonas* (Viết tắt là *P.s*)

- *Pseudomonas* (viết tắt là *Ps*)

Trực khuẩn gram âm, không sinh bào tử, có một tiên mao (hoặc một chùm tiên mao) ở một đầu. Chúng thường sinh ra sắc tố. Các giống *Xanthomonas*, *Photobacterium*, *Azotomonas*, *Aeromonas*, *Zyomonas*, *Protaminobacter*, *Alginomonas*, *Mycoplazma*, *Halobacterium*, *Methanomonas*, *Hydroginomonas*, *Carloxydomonas*, *Acetobater*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* 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. Trực khuẩn bạch cầu (*Corynebacterium diphtheriae*) có bắt màu ở hai đầu làm tế bào có hình dạng giống quả tạ. Một số khác có hình thái giống *Corynebacterium* gồm có *Listeria*, *Erysipelothric*, *Microbacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter*.

- *Clostridium* (Viết tắt là *Cl*, tiếng Hy Lạp *Kloster* - con thoi)

Thường là trực khuẩn gram dương. Kích thước thường vào khoảng 0,4 - 1 x 3- 8

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.

Chúng thường thuộc loại kỵ khí bắt buộc, có nhiều loài có ích. Thí dụ như các loài cố định nitơ. Một số loài khác gây bệnh. Thí dụ vi khuẩn uốn ván ... *Cl. Botulium*

- *Phẩy khuẩn*

Là tên chung chỉ các vi khuẩn hình que uốn cong giống như dấu phẩy. Giống điển hình là giống *Vibro* (Từ chữ La tinh *Vibrare* - dao động nhanh). Một số giống phẩy khuẩn có khả năng phân giải xenluloza (*Cellvibrio*, *Cellfalcicula*) hoặc có khả năng khử sunfat (*Desulfovibrio*).

Vi khuẩn *Clostridium*



Phẩy khuẩn *Vibrio*



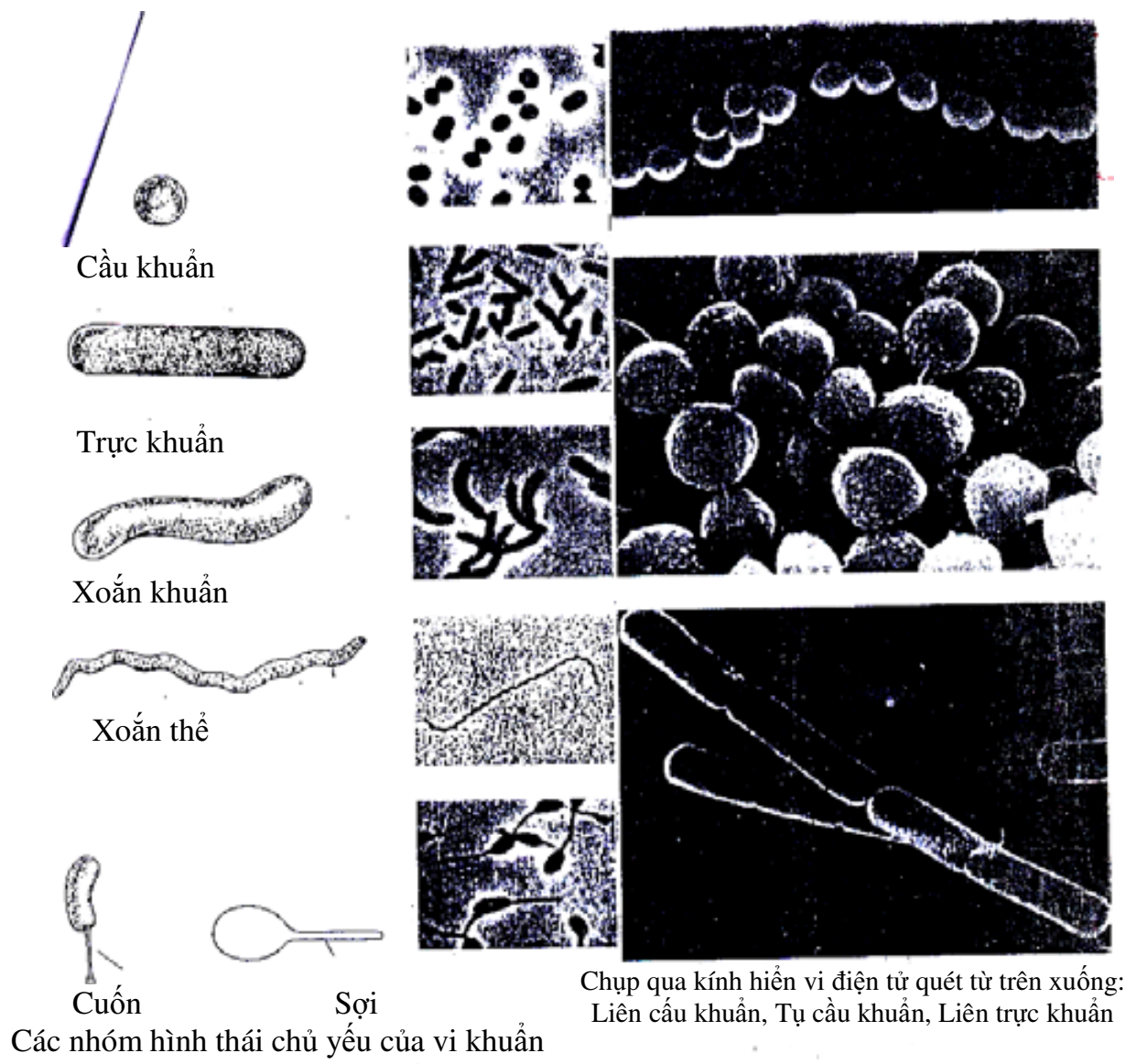
*Xoắn khuẩn*

Spirillum - Từ chữ Spira - Hình cong, xoắn gồm tất cả các vi khuẩn có hai vòng xoắn trở lên. Là loại gram dương, di động được nhờ có một hay nhiều tiên mao mọc ở đỉnh.

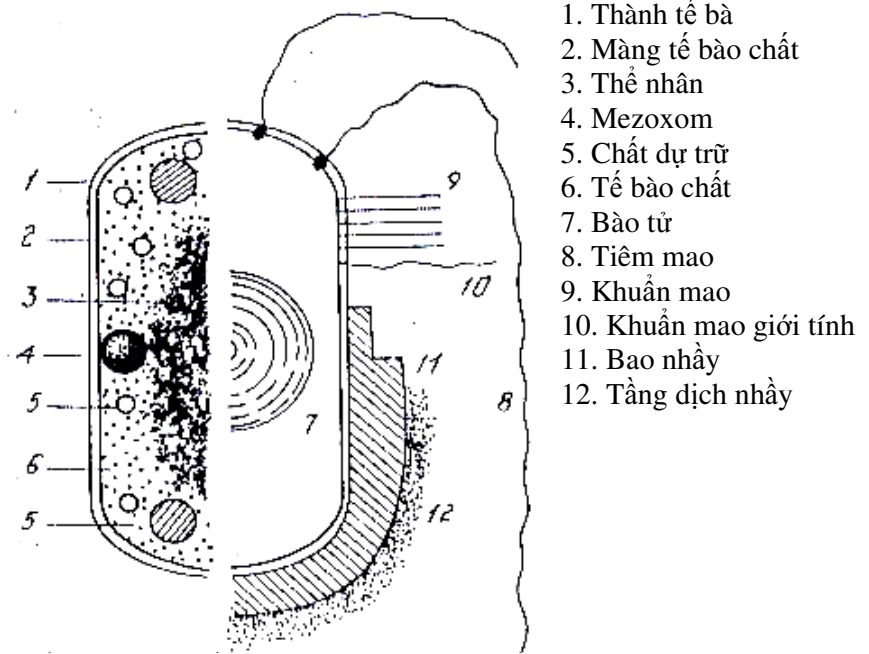
Đa số chúng thuộc loại hoại sinh, một số rất ít có khả năng gây bệnh (SP. Minus) có kích thước thay đổi 0,5 - 3,0 - 5 - 40 $\mu$ .



*Xoắn khuẩn*



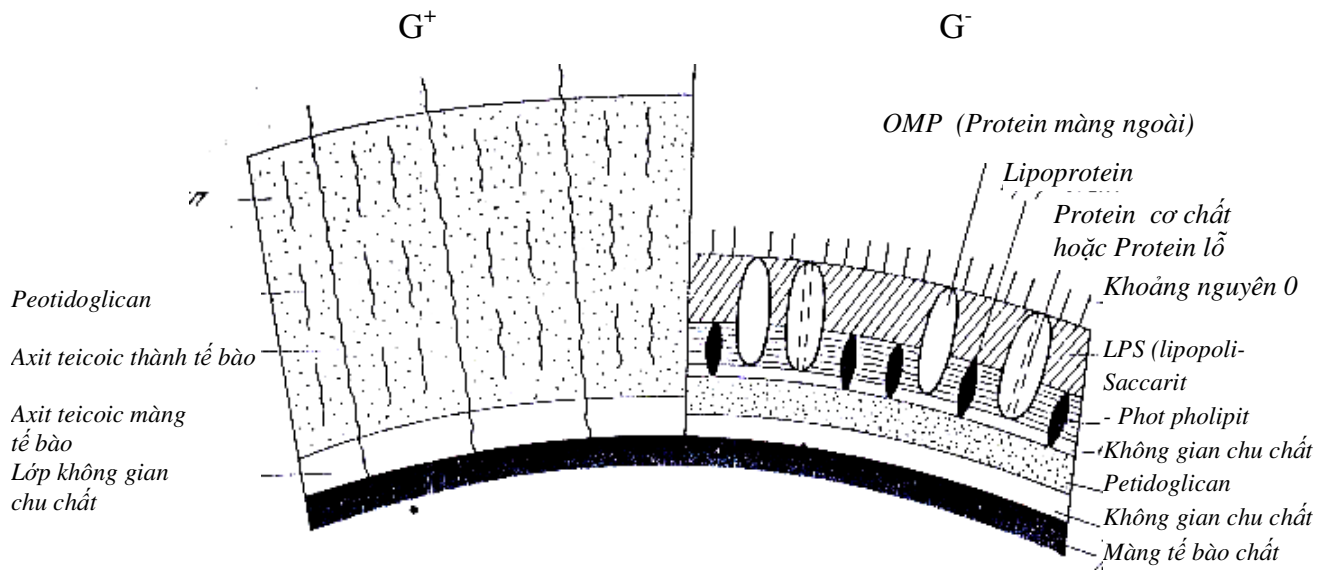
Hình 1.11 Các loại vi khuẩn



1. Thành tế bào
2. Màng tế bào chất
3. Thể nhân
4. Mezoxom
5. Chất dự trữ
6. Tế bào chất
7. Bào tử
8. Tiêm mao
9. Khuẩn mao
10. Khuẩn mao giới tính
11. Bao nhầy
12. Tầng dịch nhầy

- Cấu tạo chung + cấu tạo đặc biệt

Hình 1.12 Mô hình cấu trúc tế bào vi khuẩn



Hình 1.12 Mô hình cấu của thành tế bào vi khuẩn  $G^+$  và vi khuẩn  $G^-$

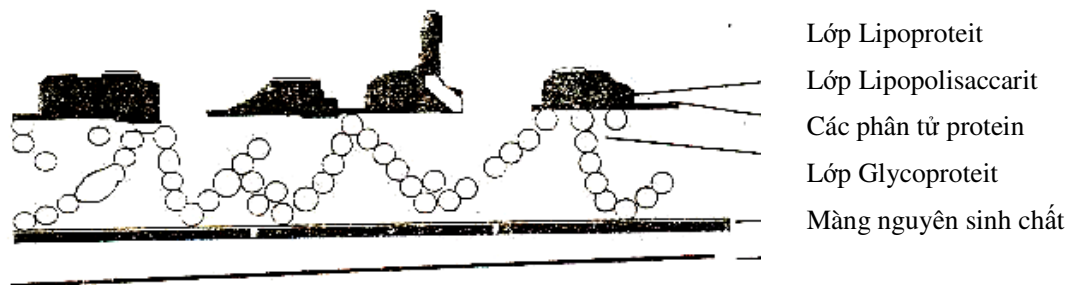


### 1.2.2.2. Cấu tạo tế bào

#### 1. Thành tế bào

Thành tế bào là lớp ngoài cùng bao bọc vi khuẩn, giữ cho chúng có hình dạng nhất định, chiếm 15 - 30% trọng lượng khô của tế bào. Thành tế bào có những chức năng sinh lý rất quan trọng như duy trì hình thái tế bào và áp suất thẩm thấu bên trong tế bào, bảo vệ tế bào trước những tác nhân vật lý, hoá học của môi trường, thực hiện việc tích điện ở bề mặt tế bào. Thành tế bào chính là nơi bám của Phage và chứa nội độc tố của một số vi khuẩn có độc tố. Có một số vi khuẩn không có thành tế bào (Mycoplasma), một số trường hợp vi khuẩn bị phá vỡ thành tế bào mà vẫn sống (Protoplast ...)

Thành phần hoá học của thành tế bào vi khuẩn rất phức tạp, bao gồm nhiều hợp chất khác nhau như Peptidoglycan, Polisaccarit, Protein, Lipoprotein, Axit teicoic, Lipoit v.v.... Dựa vào tính chất hoá học của thành tế bào và tính chất bắt màu của nó, người ta chia ra làm 2 loại Gram + và Gram -. Với cùng một phương pháp nhuộm như nhau, trong đó có hai loại thuốc nhuộm Cristal Violet màu tím và Fushsin màu hồng, vi khuẩn gram + bắt màu tím, vi khuẩn gram - bắt màu hồng. Nguyên nhân là do cấu tạo thành tế bào của hai loại khác nhau. Ngoài hai loại trên, còn có loại gram biến đổi (gram variable) có khả năng biến đổi từ gram + sang gram - và ngược lại. Sau đây là sơ đồ cấu tạo của thành tế bào vi khuẩn E.coli.

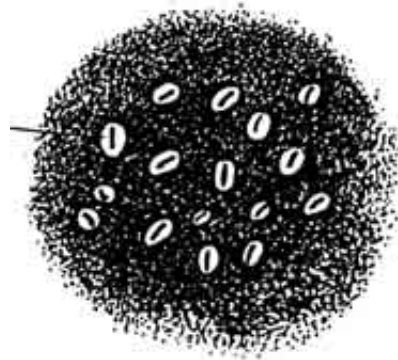


Hình 1.13. Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn

#### 2. Vỏ nhày (Capsul)

Nhiều loại vi khuẩn bên ngoài thành tế bào còn có một lớp vỏ dày hay lớp dịch nhày. Kích thước của lớp vỏ nhày khác nhau tùy theo loài vi khuẩn. Ở vi khuẩn *Azotobacter chroococum* khi phát triển trên môi trường giàu hydrat cacbon có thể hình thành lớp vỏ nhày dày hơn chính bản thân tế bào.

Vỏ nhày có tác dụng bảo vệ vi khuẩn tránh tác dụng thực bào của bạch cầu. Chính vì thế mà ở một số vi khuẩn gây bệnh chỉ khi có lớp vỏ nhày mới có khả năng gây bệnh. Khi mất lớp vỏ nhày, lập tức bị bạch cầu tiêu diệt khi xâm nhập vào cơ thể chủ. Vi khuẩn có vỏ nhày tạo thành khuẩn lạc trơn bóng khi mọc trên môi trường thạch gọi là dạng S, ngược lại dạng R có khuẩn lạc xù xì.



Hình 1.14. Vỏ nhày của *Klebsiella pneumoniae* trong suốt hiện  
Rõ trên nền đen mực đỏ

Vỏ nhày còn là một nơi dự trữ các chất dinh dưỡng. Khi nuôi cấy vi khuẩn có vỏ nhày trên môi trường nghèo dinh dưỡng, lớp vỏ nhày bị tiêu biến dần do bị sử dụng làm chất dinh dưỡng.

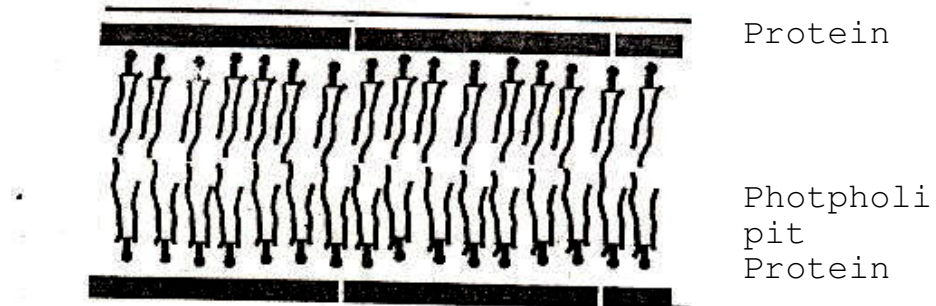
Ở một số vi khuẩn vỏ nhày được dùng để bám vào giá thể. Các chất trong vỏ nhày là do thành tế bào tiết ra, thành phần của nó tùy thuộc vào loại vi khuẩn. Đa số trường hợp vỏ nhày được cấu tạo bởi polysaccharit, đôi khi có cấu tạo bởi polypeptit. Thành phần hoá học của vỏ nhày quyết định tính kháng nguyên của vi khuẩn.

### 3. Màng tế bào chất (Cell membran)

Màng tế bào chất còn gọi là màng nguyên sinh chất là một lớp màng nằm dưới thành tế bào, có độ dày khoảng 4 - 5 nm, chiếm 10 - 15% trọng lượng tế bào vi khuẩn.

Màng tế bào chất có nhiều chức năng quan trọng: Duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào, đảm bảo việc chủ động tích lũy chất dinh dưỡng và thải các sản phẩm trao đổi chất ra khỏi tế bào. Màng tế bào chất là nơi sinh tổng hợp một số thành phần của tế bào, đặc biệt là thành phần của thành tế bào và vỏ nhày, là nơi chứa một số men quan trọng như Permeaza, ATP-aza v.v... Màng tế bào chất còn là nơi tiến hành quá trình hô hấp và quang hợp (ở vi khuẩn quang dưỡng).

Thành phần hoá học của màng tế bào chất đơn giản hơn của thành tế bào nhiều. Bao gồm photpholipit và protein và protein sắp xếp thành 3 lớp: lớp giữa là photpholipit bao gồm hai lớp phân mỗi phân tử gồm 1 đầu chứa gốc photphat háo nước và một đầu chứa hydratcacbon, đầu háo nước của hai lớp phân tử photpholipit quay ra ngoài, ở đây chứa các men vận chuyển Pecmeaza. Hai lớp ngoài và trong và Protein.



Hình 1.15. Cấu tạo màng tế bào chất của vi khuẩn

Màng tế bào chất còn là nơi gắn của nhiễm sắc thể. Ngoài hai thành phần chính trên, màng tế bào chất còn chứa một số chất khác như hydratcacbon, glycolipit, v.v...

#### 4. Tế bào chất (Cytoplasm)

Tế bào chất là thành phần chính của tế bào vi khuẩn, đó là một khối chất keo bán lỏng chứa 80 - 90% nước, còn lại là protein, hydratcacbon, lipit, axit nucleic v.v... Hệ keo có tính chất dị thể, trạng thái phân tán, luôn luôn biến đổi phụ thuộc vào điều kiện môi trường. Khi còn non tế bào chất có cấu tạo đồng chất, bắt màu giống nhau. Khi già do xuất hiện không bào và các thể ẩn nhập, tế bào chất có trạng thái lộn nhon, bắt màu không đều. Tế bào chất là nơi chứa có cơ quan quan trọng của tế bào như: nhân tế bào, Mezoxom, Riboxom và các hạt khác.

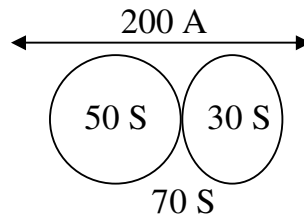
#### 5. Mezoxom

Mezoxom là một thể hình cầu trong giống như cái bong bóng gồm nhiều lớp màng cuộn lại với nhau, có đường kính khoảng 250 nm. Mezoxom chỉ xuất hiện khi tế bào phân chia, nó có vai trò quan trọng trong việc phân chia tế bào và hình thành vách ngăn ngang. Ở nhiều loài vi khuẩn, Mezoxom là một thành phần của màng tế bào chất phát triển ăn sâu vào tế bào chất. Một số enzym phân huỷ chất kháng sinh như Penicilinaza được sinh ra từ Mezoxom.

6. Riboxom

Riboxom là nơi tổng hợp protein của tế bào, chứa chủ yếu là ARN và protein.

Ngoài ra có chứa một ít lipid, và một số chất khoáng. Riboxom có đường kính khoảng 200A, cấu tạo bởi 2 tiểu thể - 1 lớn, 1 nhỏ. Tiểu thể lớn có hằng số lắng là 50S, tiểu thể nhỏ 30S (1S =  $10^{-13}$  cm/giây)



Mỗi tế bào vi khuẩn có trên 1000 riboxom, trong thời kỳ phát triển mạnh của nó, số lượng riboxom tăng lên. Không phải tất cả các riboxom đều ở trạng thái hoạt động. Chỉ khoảng 5 - 10% riboxom tham gia vào quá trình tổng hợp protein. Chúng liên kết nhau thành một chuỗi gọi là polyxom nhờ sợi ARN thông tin.

Trong quá trình tổng hợp protein, các riboxom trượt dọc theo sợi ARN thông tin như kiểu đọc thông tin. Qua mỗi bước đọc, một axit amin lại được gắn thêm vào chuỗi polypeptit.

8. Thể nhân (Nuclear body)

Vi khuẩn thuộc loại procaryotic, bởi vậy cấu tạo nhân rất đơn giản, chưa có màng nhân. Thể nhân vi khuẩn chỉ gồm một nhiễm sắc thể hình vòng do một phân tử AND cấu tạo nên dính một đầu vào màng tế bào chất không có thành phần protein như nhân tế bào bậc cao. Chiều dài phân tử AND thường gấp 1000 lần chiều dài tế bào, mang toàn bộ thông tin di truyền của tế bào vi khuẩn. Ngoài nhiễm sắc thể, một số vi khuẩn còn có Plasmic, đó là những phân tử AND hình vòng kín kích thước nhỏ, mang thông tin di truyền, có khả năng sao chép độc lập.

Ở những vi khuẩn kháng thuốc, đặc tính kháng thuốc thường được quy định bởi các gen nằm trên các plasmic này.

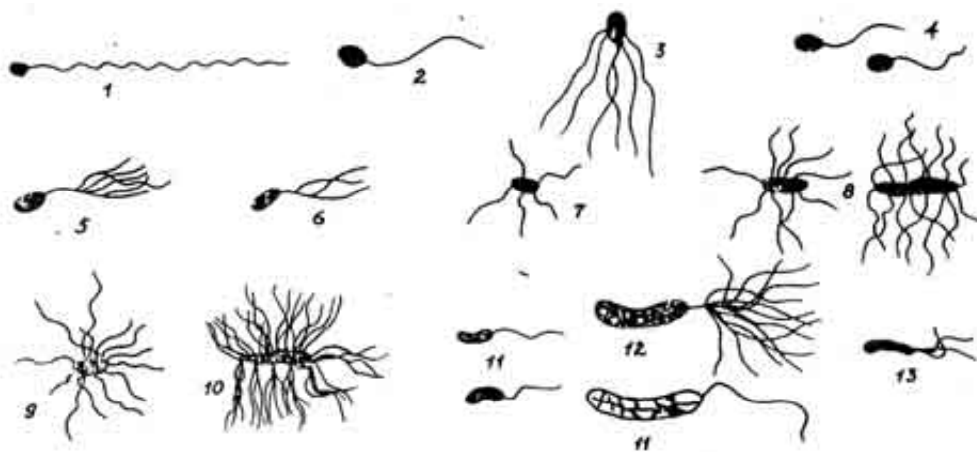
10. Các hạt khác trong tế bào

Trong tế bào vi khuẩn ngoài các cấu trúc nói trên còn có một số hạt mà số lượng và thành phần của nó không nhất định. Sự có mặt của chúng phụ thuộc vào điều kiện môi trường và vào giai đoạn phát triển của vi khuẩn. Nhiều loại hạt có tính chất như chất dự trữ, được hình thành khi tế bào tổng hợp thừa các chất đó và được tiêu hao khi tế bào cần đến. Các hạt này bao gồm hạt hydratcacbon, hạt polyphotphat vô cơ, các giọt lipid, lưu huỳnh, các tinh thể Ca và các hạt sắc tố. Đặc biệt, trong tế bào của một số vi khuẩn gây bệnh cho côn trùng (*Bacillus thuringiensis*) còn có các tinh thể diệt côn trùng có hình thoi hoặc hình khối. Sự có mặt của các tinh thể này liên quan đến khả năng gây bệnh côn trùng của vi khuẩn. Người ta đã lợi dụng đặc tính này nghiên cứu, sản xuất ra những chế phẩm diệt côn trùng gây hại.

### 11. Tiên mao và nhung mao

Tiên mao là những cơ quan di động của vi khuẩn, nhưng không phải tất cả các vi khuẩn đều có tiên mao. Tiên mao thường có chiều rộng 10 - 25  $\mu\text{m}$ , chiều dài thay đổi tùy theo loài vi khuẩn. Số lượng tiên mao cũng phụ thuộc vào loài vi khuẩn. Loại có 1 tiên mao gọi là đơn mao, mọc ra ở một cực của tế bào, loại có 2 gọi là song mao mọc ra từ một cực tế bào, loại có nhiều gọi là chùm mao cũng mọc ra từ một cực tế bào, có loại mọc ra từ hai cực của tế bào. Loại mọc quanh mình thành một vành đai như chiếc thắt lưng có lông gọi là chu mao.

Các vi sinh vật khác nhau có số lượng và sự sắp xếp các tiên mao trên tế bào khác nhau.



Hình 1.16. Các kiểu tế bào vi khuẩn có tiên mao

Đơn mao khuẩn: 1, 2, 4, 11

Chùm mao khuẩn: 3, 5, 6, 12, 13

Chu mao khuẩn: 7, 8, 9, 10

Tiên mao có bản chất protein, bị phân giải ở nhiệt độ 60<sup>0</sup>C hoặc ở môi trường axit. Tùy theo kiểu tiên mao mà vi khuẩn có các kiểu di động khác nhau. Loại đơn mao di động theo hình sin, loại chùm mao di động theo kiểu xoáy tròn ốc v.v....

- Nhung mao: Khác với tiên mao, nhung mao không phải là cơ quan di động của vi khuẩn. Chúng là những sợi lông mọc khắp bề mặt của một số vi khuẩn, làm tăng diện tiếp xúc với thức ăn, ngoài ra còn dùng để bám vào giá thể. Ở một số vi khuẩn, nhung mao còn được dùng làm cầu nối nguyên sinh chất trong quá trình tiếp hợp giữa hai vi khuẩn.

### 10. Bào tử (Spore)

Bào tử là một hình thức tiềm sinh của vi khuẩn. Khi gặp điều kiện khó khăn, vi khuẩn có khả năng hình thành bào tử. Bào tử được hình thành bên trong tế bào, có khi to hơn kích thước tế bào làm tế bào phình ra so với bình thường. Ví dụ như ở Clostridium, khi hình thành bào tử, tế bào hình thành hình dùi trống hoặc hình thoi. Bào tử có 3 lớp vỏ bọc, những lớp vỏ bọc này tránh cho bào tử những tác động của môi trường như: nhiệt độ, pH, tác động của men, v.v.... Ở nhiệt độ 100<sup>0</sup>C trong khi các tế bào dinh dưỡng bị tiêu diệt thì bào tử Bacillus cereus có thể chịu được 2,5 phút, Bacillus subtilis thậm chí chịu được 180 phút. Bào tử của vi khuẩn gây ngộ độc ở 180<sup>0</sup>C vẫn sống được tới 10 phút. Trong phenol 5% tế bào dinh dưỡng chết ngay trong khi bào tử có thể sống được đến 15 ngày.

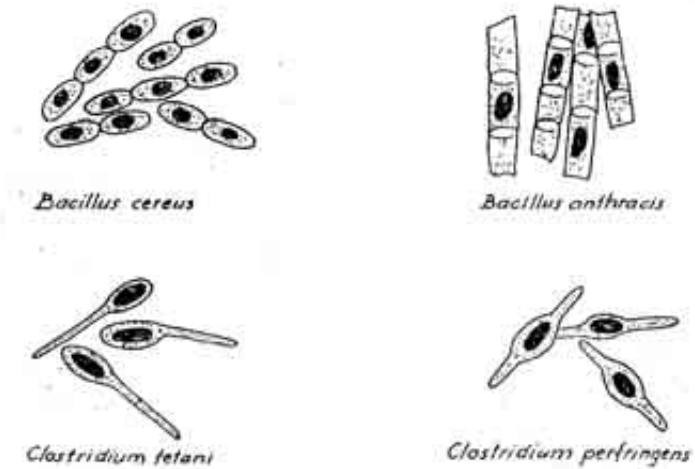
Sở dĩ bào tử có thể có khả năng chịu được những điều kiện khó khăn vì nó có cấu tạo khác với tế bào. Nước trong bào tử phần lớn ở trạng thái liên kết, trong khi đó nước trong tế bào ở trạng thái tự do. Các enzym trong tế bào phần lớn ở trạng thái không hoạt động. Các thành phần hoá học khác của bào tử cũng khác với tế bào dinh dưỡng. Thí dụ như ở bào tử có hàm lượng ion Ca<sup>++</sup> cao hơn v.v...

Nguyên nhân của việc hình thành bào tử cho đến nay còn có nhiều tranh luận.

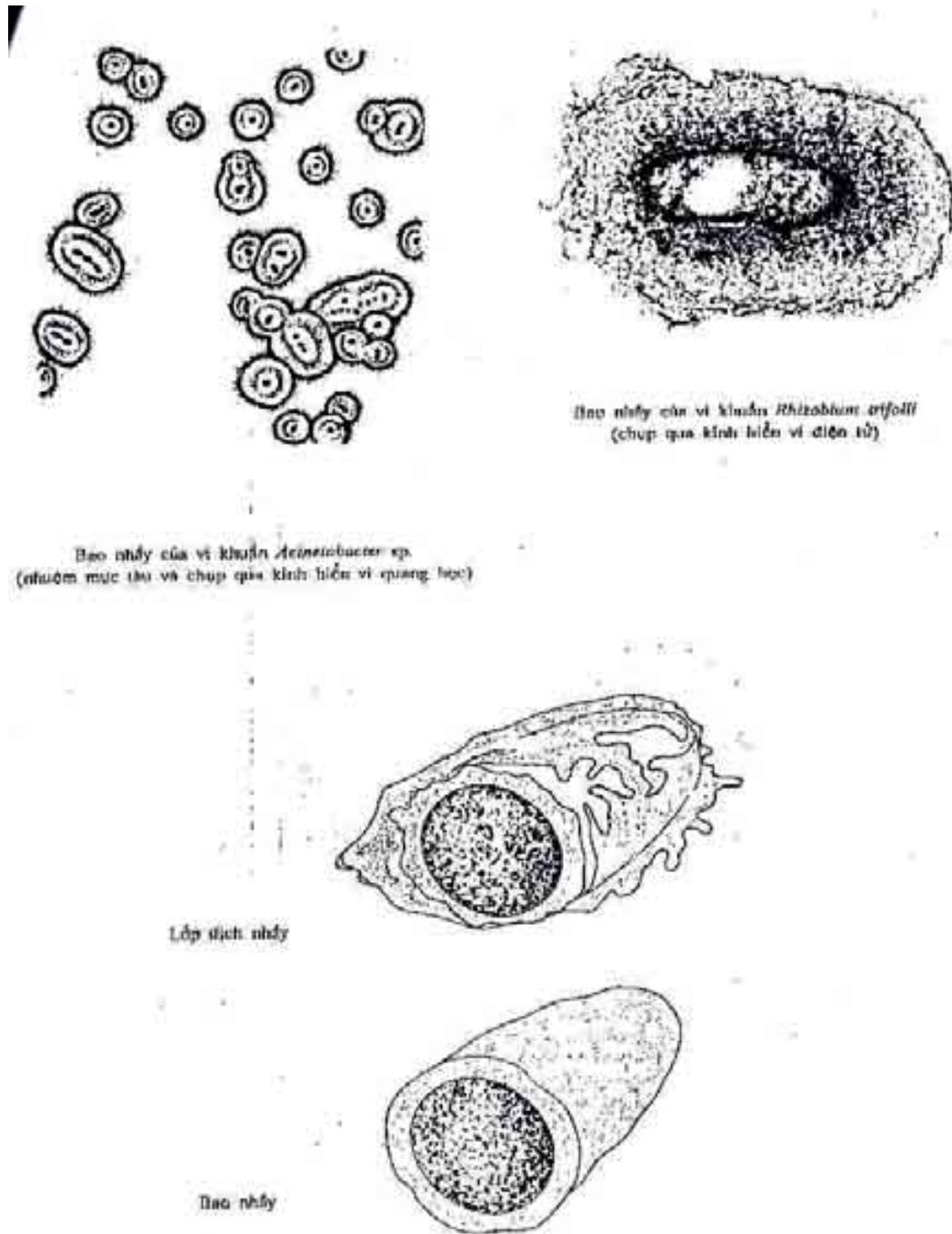
Một số cho rằng tế bào hình thành bào tử khi gặp điều kiện khó khăn nhằm tồn tại qua thời kỳ khó khăn đó. Nhưng một số người khác cho rằng: Sự hình thành bào tử là một hình thức đổi mới tế bào do sự kết hợp của các phần nguyên sinh chất trong quá trình hình thành bào tử mà tế bào được đổi mới, ý kiến này dựa trên một số thí nghiệm bác bỏ luận thuyết trên. Ở một số môi trường dinh dưỡng tốt bào tử

lại được hình thành nhiều hơn ở môi trường nghèo dinh dưỡng. Ở đa số vi sinh vật đất, ngay ở những điều kiện bất lợi cũng không thấy hình thành bào tử.

Bào tử khi gặp điều kiện thuận lợi thì nảy mầm thành tế bào dinh dưỡng, bào tử thường nảy mầm ở một cực, có khi nảy mầm ở cả hai phía. Một số vi khuẩn ở những điều kiện nhất định có thể bị mất khả năng hình thành bào tử.

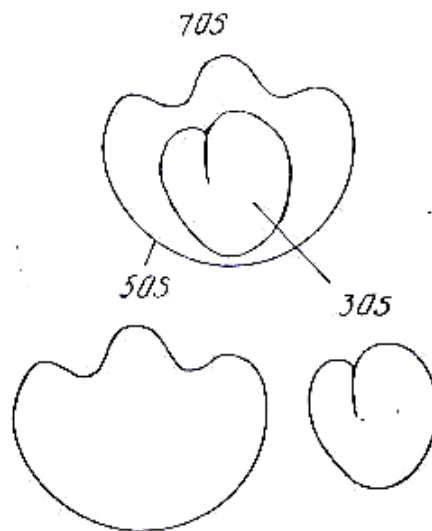


Hình 1.17. Hình dạng tế bào vi khuẩn mang bào tử

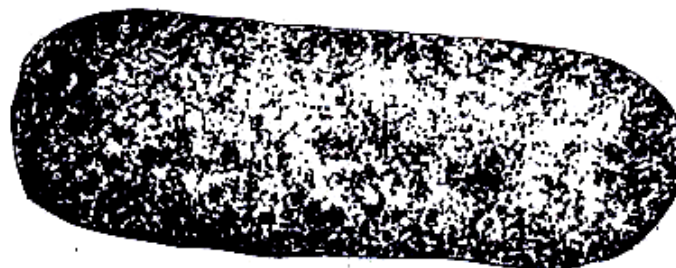


Hình 1.18a. Bao nhũ của vi khuẩn

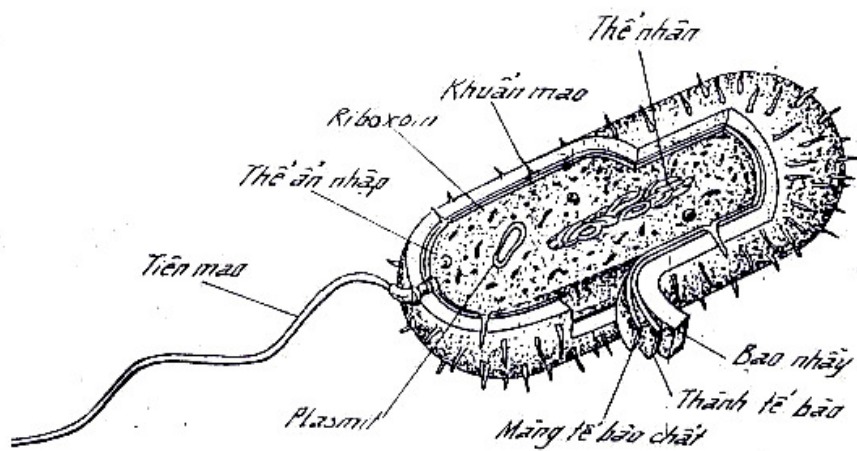




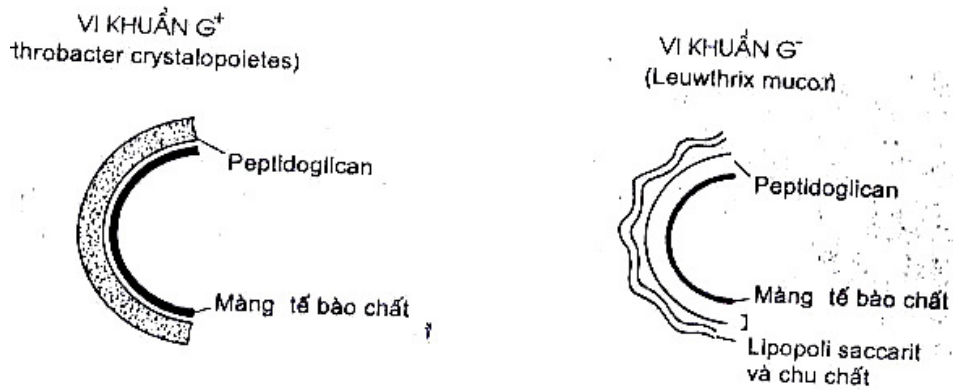
Hình 1.18b. Riboxom của vi khuẩn



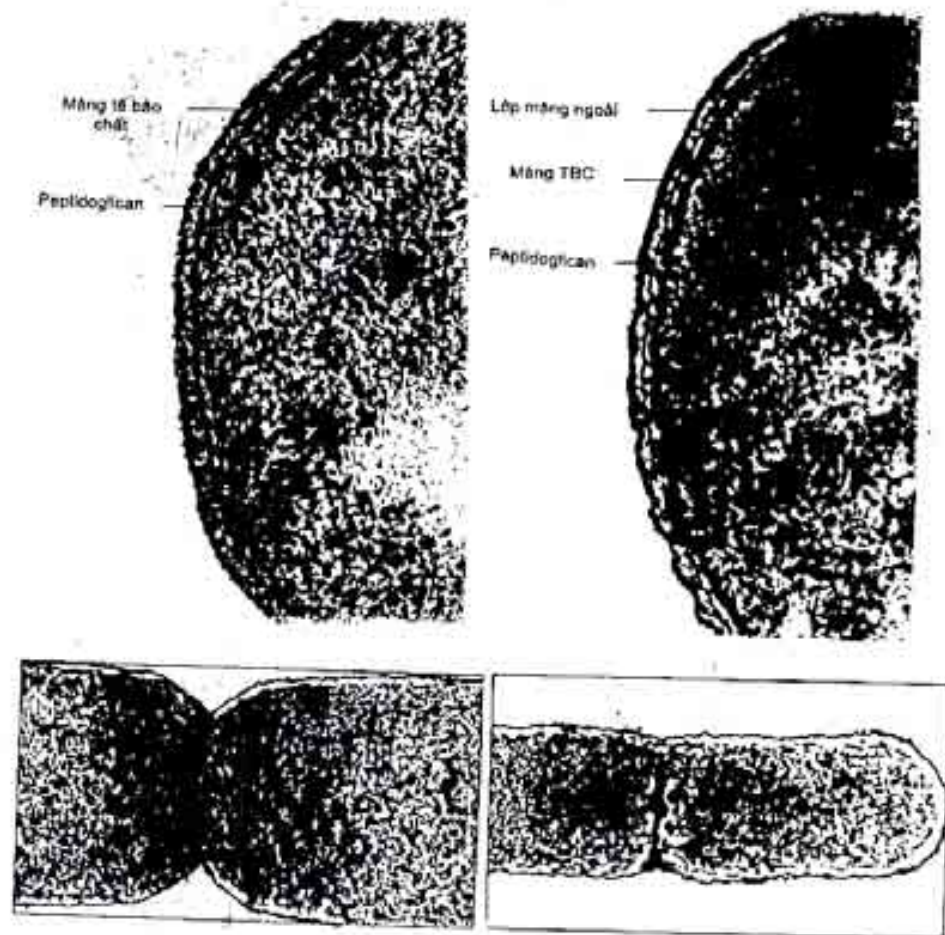
Hình 1.18c. Thể nhân ở vi khuẩn (ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử lát cắt mỏng qua tế bào E.coli)



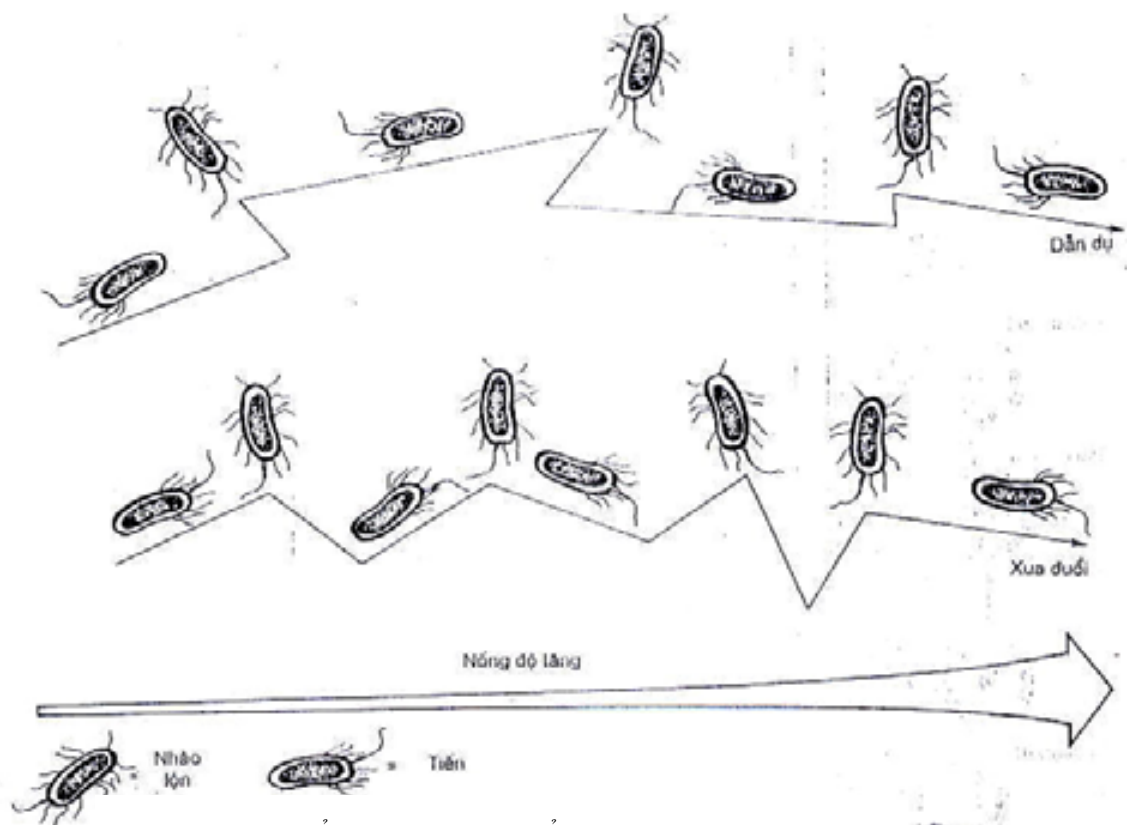
Hình 1.19. Sơ đồ cấu trúc tế bào vi khuẩn



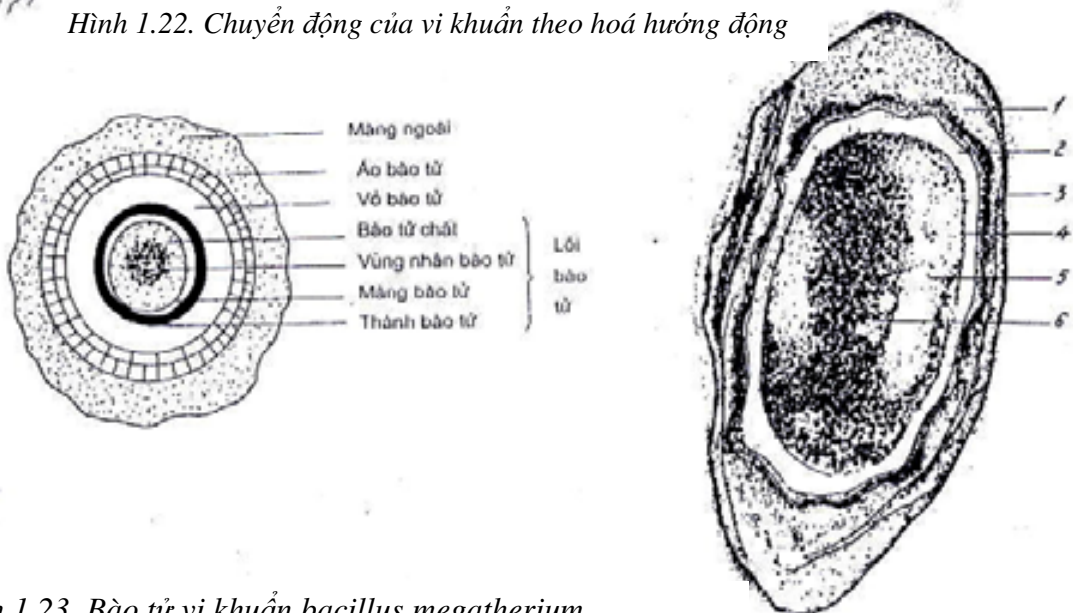
Hình 1.20. Sự khác nhau giữa màng tế bào vi khuẩn Gr (-) và vi khuẩn Gr (+)



Hình 1.21. So sánh tế bào vi khuẩn  $G^+$  và  $G^-$

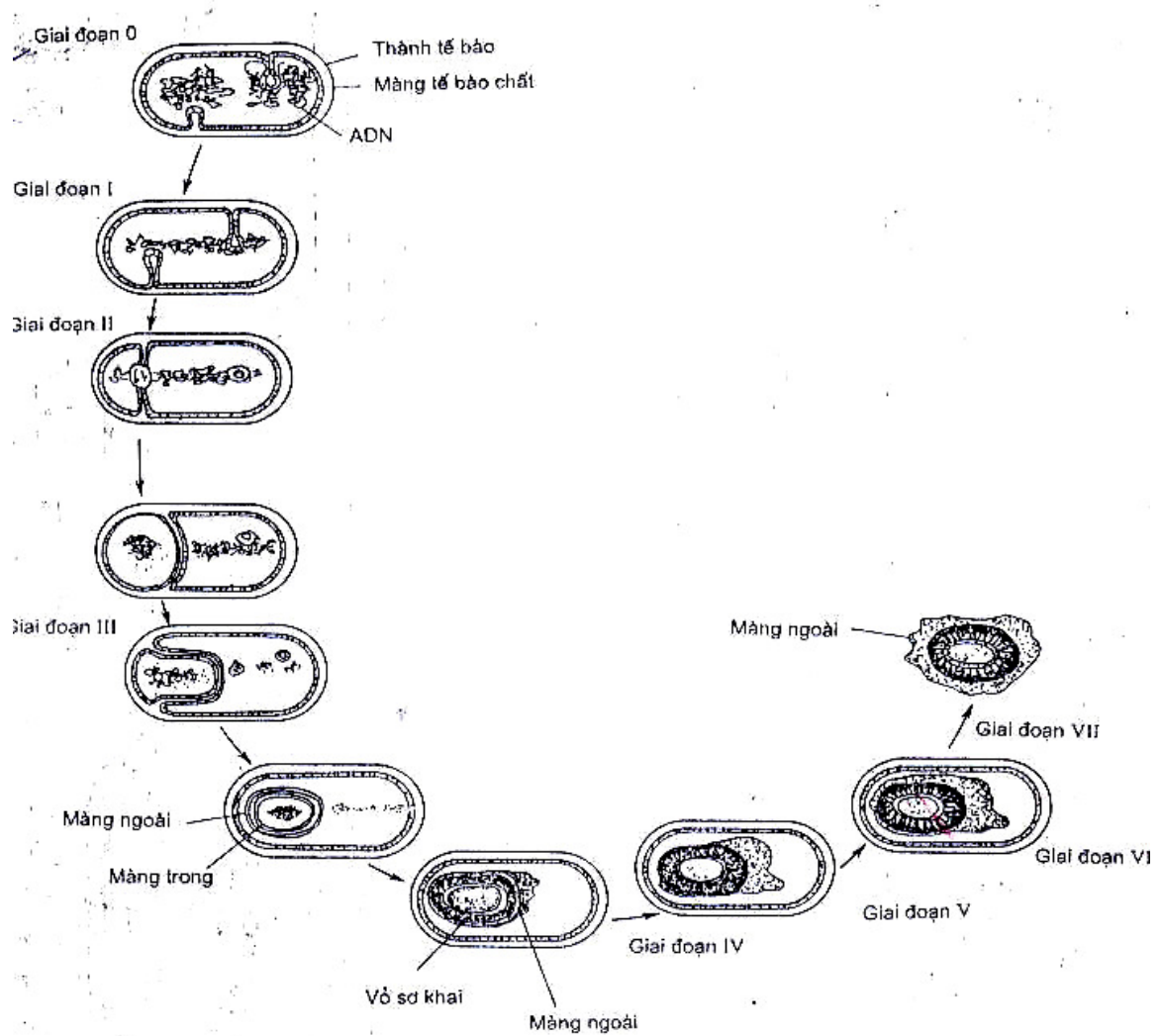


Hình 1.22. Chuyển động của vi khuẩn theo hoá hướng động

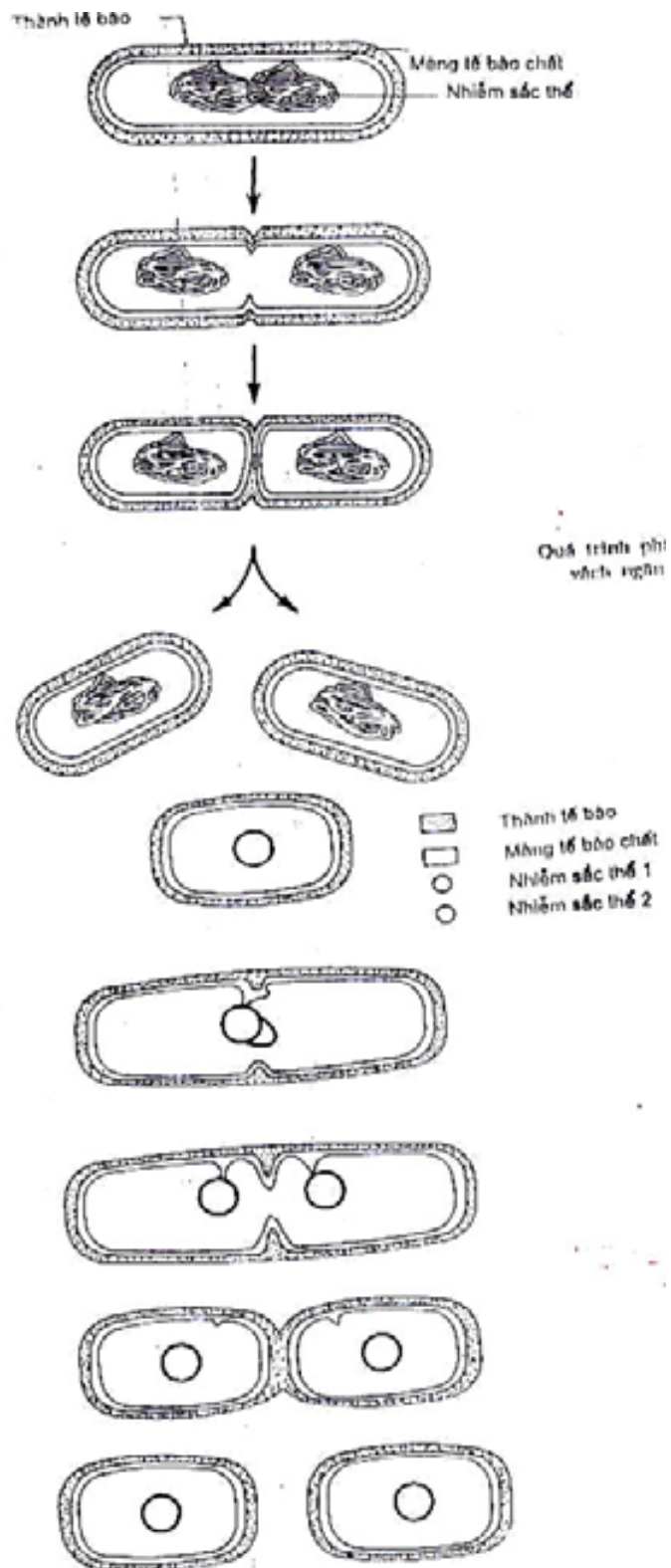


Hình 1.23. Bào tử vi khuẩn bacillus megatherium

1. Áo bào tử
2. Vỏ bào tử
3. Màng ngoài
4. Thành lõi (core wall)
5. AND;
6. Riboxom



Hình 1.24. Các giai đoạn của quá trình hình thành bào tử



Hình 1.25. Sinh sản của vi khuẩn

### ***1.2.2.3. Sinh sản của vi khuẩn***

Vi khuẩn sinh sản chủ yếu bằng hình thức nhân đôi tế bào. Từ một tế bào mẹ phân cắt thành 2 tế bào con. Tế bào con được hình thành sau một thời gian sinh trưởng nhất định lại tiến hành phân cắt. Bằng hình thức đó, số lượng tế bào tăng lên theo cấp số nhân. Tùy từng loài vi khuẩn, cứ khoảng 10 đến 30 phút lại cho ra một thế hệ.

Về sinh sản hữu tính ở vi khuẩn, người ta chỉ mới phát hiện ra hình thức tiếp hợp giữa hai tế bào, hệ gen của tế bào cho sẽ qua cầu nguyên sinh chất chuyển sang tế bào nhận, thường chỉ chuyển một phần. Tế bào nhận có thêm một phần hệ gen của thể cho khi phân cắt sẽ sinh ra những tế bào mới mang đặc tính lai giữa hai tế bào.

Có quan điểm cho rằng: bào tử cũng là một hình thức sinh sản và đổi mới tế bào của vi khuẩn. Vì lúc tế bào bình thường nảy mầm từ bào tử, nó đã được đổi mới không còn như trước nữa.

### ***1.2.2.4. Ý nghĩa thực tiễn của vi khuẩn***

Vi khuẩn chiếm đa số trong các vi sinh vật, có những mẫu đất vi khuẩn chiếm tới 90%, bởi vậy nó đóng vai trò quyết định trong các quá trình chuyển hoá vật chất. Vi khuẩn tham gia vào hầu hết các vòng tuần hoàn vật chất trong đất và trong thiên nhiên. Tuy vậy, rất nhiều vi khuẩn gây bệnh cho người và động vật, thực vật, gây nên những tổn thất nghiêm trọng về sức khoẻ con người cũng như sản xuất nông nghiệp. Ngày nay với những thành tựu của khoa học hiện đại, người ta đã tìm ra những biện pháp hạn chế tác hại do vi khuẩn gây ra, ví dụ như việc chế vaccine phòng bệnh, sử dụng chất kháng sinh v.v...

## **1.2.3. Xạ khuẩn (Actinomycetes)**

Xạ khuẩn thuộc nhóm Procaryotes, có cấu tạo nhân đơn giản giống như vi khuẩn. Tuy vậy, đa số tế bào xạ khuẩn lại có cấu tạo dạng sợi, phân nhánh phức tạp và có nhiều màu sắc giống như nấm mốc.

### ***1.2.3.1. Hình thái và kích thước***

Đa số xạ khuẩn có cấu tạo dạng sợi, các sợi kết với nhau tạo thành khuẩn lạc có nhiều màu sắc khác nhau: trắng, vàng, nâu, tím, xám v.v.... Màu sắc của xạ khuẩn là một đặc điểm phân loại quan trọng. Đường kính sợi của xạ khuẩn khoảng từ 0,1 - 0,5  $\mu\text{m}$ . Có thể phân biệt được hai loại sợi khác nhau.

Sợi khí sinh là hệ sợi mọc trên bề mặt môi trường tạo thành bề mặt của khuẩn lạc xạ khuẩn. Từ đây phát sinh ra bào tử. Sợi cơ chất là sợi cắm sâu vào môi trường làm nhiệm vụ hấp thu chất dinh dưỡng. Sợi cơ chất sinh ra sắc tố thấm vào môi trường, sắc tố này thường có màu khác với màu của sợi khí sinh. Đây cũng là một đặc điểm phân loại quan trọng.

Một số xạ khuẩn không có sợi khí sinh mà chỉ có sợi cơ chất, loại sợi này làm cho bề mặt xạ khuẩn nhẵn và khó tách ra khi cấy truyền. Loại chỉ có sợi khí sinh thì ngược lại, rất dễ tách toàn bộ khuẩn lạc khỏi môi trường.

Khuẩn lạc xạ khuẩn thường rắn chắc, xù xì, có thể có dạng da, dạng phấn, dạng nhung, dạng vôi phụ thuộc vào kích thước bào tử. Trường hợp không có sợi khí sinh khuẩn lạc có dạng màng dẻo. Kích thước khuẩn lạc thay đổi tùy loài xạ khuẩn và tùy điều kiện nuôi cấy. Khuẩn lạc thường có dạng phóng xạ (vì thế mà gọi là xạ khuẩn), một số có dạng những vòng tròn đồng tâm cách nhau một khoảng nhất định. Nguyên nhân của hiện tượng vòng tròn đồng tâm là do xạ khuẩn sinh ra chất ức chế sinh trưởng, khi sợi mọc qua vùng này chúng sinh trưởng yếu đi, qua được vùng có chất ức chế chúng lại sinh trưởng mạnh thành vòng tiếp theo, vòng này lại sinh ra chất ức chế sinh trưởng sát với nó khiến khuẩn ty lại phát triển yếu đi. Cứ thế tạo thành khuẩn lạc có dạng các vòng tròn đồng tâm.

#### ***1.2.3.2. Cấu tạo tế bào***

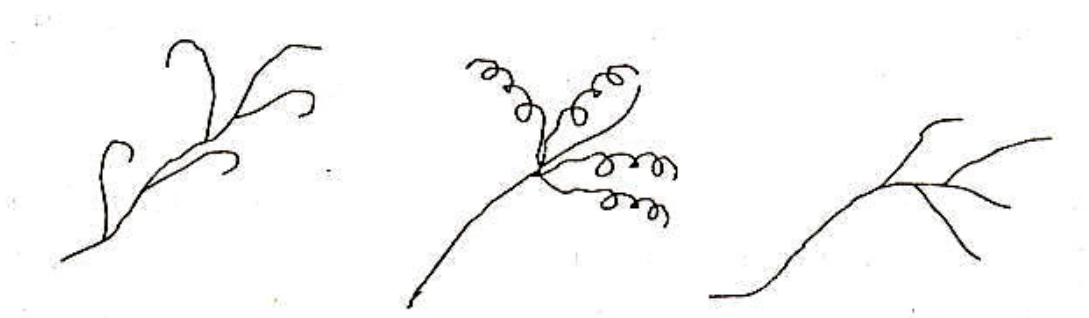
Khuẩn lạc xạ khuẩn tuy có dạng sợi phân nhánh phức tạp đan xen nhau nhưng toàn bộ hệ sợi chỉ là một tế bào có nhiều nhân, không có vách ngăn ngang. Giống như vi khuẩn, nhân thuộc loại đơn giản, không có màng nhân.

Thành tế bào xạ khuẩn giống với thành tế bào vi khuẩn gram +. Màng tế bào chất dày khoảng 50 nm và có cấu trúc tương tự như màng tế bào chất của vi khuẩn. Nhân không có cấu trúc điển hình, chỉ là những nhiễm sắc thể không có màng. Khi còn non, toàn bộ tế bào chỉ có một nhiễm sắc thể sau đó hình thành nhiều hạt rải rác trong toàn bộ hệ khuẩn ty (gọi là hạt Cromatin).

#### ***1.2.3.3. Sinh sản***



Xạ khuẩn sinh sản sinh dưỡng bằng bào tử. Bào tử được hình thành trên các nhánh phân hoá từ khuẩn ty khí sinh gọi là cuống sinh bào tử. Cuống sinh bào tử ở các loài xạ khuẩn có kích thước và hình dạng khác nhau. Có loài dài tới 100 - 200 nm, có loài chỉ khoảng 20 - 30 nm. Có loài cấu trúc theo hình lượn sóng, có loài lò xo hay xoắn ốc. Sắp xếp của các cuống sinh bào tử cũng khác nhau. Chúng có thể sắp xếp theo kiểu mọc đơn, mọc đôi, mọc vòng hoặc từng chùm. Đặc điểm hình dạng của cuống sinh bào tử là một tiêu chuẩn phân loại xạ khuẩn.



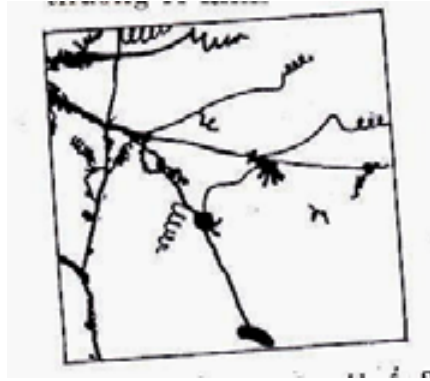
Bào tử được hình thành từ cuống sinh bào tử theo kiểu kết đoạn (fragmentation) hoặc cắt khúc (segmentation).

- Kiểu kết đoạn:

Hạt cromatin trong cuống sinh bào tử được phân chia thành nhiều hạt phân bố đồng đều dọc theo sợi cuống sinh bào tử. Sau đó tế bào chất tập trung bao bọc quang mỗi hạt cromatin gọi là tiền bào tử. Tiền bào tử hình thành màng tạo thành bào tử nằm trong cuống sinh bào tử. Bào tử thường có hình cầu hoặc ôvan, được giải phóng khi màng cuống sinh bào tử bị phân giải hoặc bị tách ra.

- Kiểu cắt khúc:

Hạt cromatin phân chia phân bố đồng đều dọc theo cuống sinh bào tử. Sau đó giữa các hạt hình thành vách ngăn ngang, mỗi phần đều có tế bào chất. Bào tử hình thành theo kiểu này thường có hình viên trụ hoặc hình que.

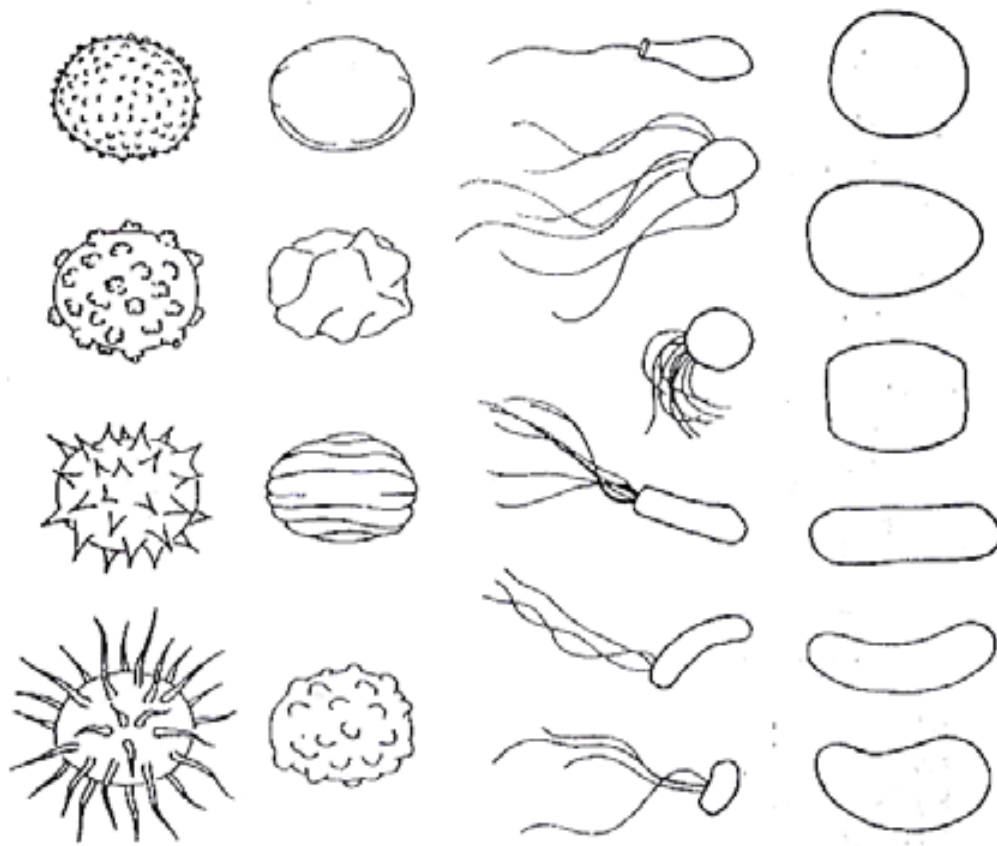


Hình 1.26 hình dạng  
cuốn bào tử xạ khuẩn  
*Strep. Griseus*

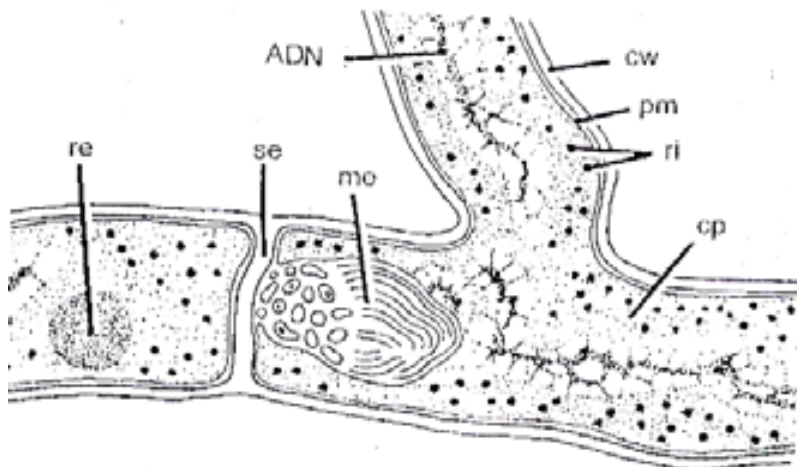
Ngoài hình thức sinh sản bằng bào tử, xạ khuẩn còn có thể sinh sản bằng khuẩn ty. Các đoạn khuẩn ty gãy ra môi trường phát triển thành hệ khuẩn ty. Thuộc nhóm Procaryotes ngoài xạ khuẩn và vi khuẩn còn có niêm vi khuẩn, xoắn thể, rickettsia và Mycoplasma. Các nhóm này đều có cấu tạo nhân đơn giản. Cấu tạo tế bào và hoạt tính sinh lý có nhiều sai khác. Ví dụ như Mycoplasma có kích thước rất nhỏ bé so với vi khuẩn, không có màng tế bào, vì thế hình dạng luôn biến đổi. Rickettsia cũng có kích thước nhỏ bé, sống ký sinh bắt buộc v.v...

#### ***1.2.3.4. Ý nghĩa thực tiễn của xạ khuẩn***

Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong đất, chúng tham gia vào các quá trình phân giải các hợp chất hữu cơ trong đất như xenluloza, tinh bột v.v.... góp phần khép kín vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Đặc tính này còn được ứng dụng trong quá trình chế biến phân huỷ rác v.v... Nhiều xạ khuẩn có khả năng sinh chất kháng sinh. Đặc điểm này được sử dụng trong nghiên cứu sản xuất các chất kháng sinh dùng trong y học, nông nghiệp và bảo quản thực phẩm.

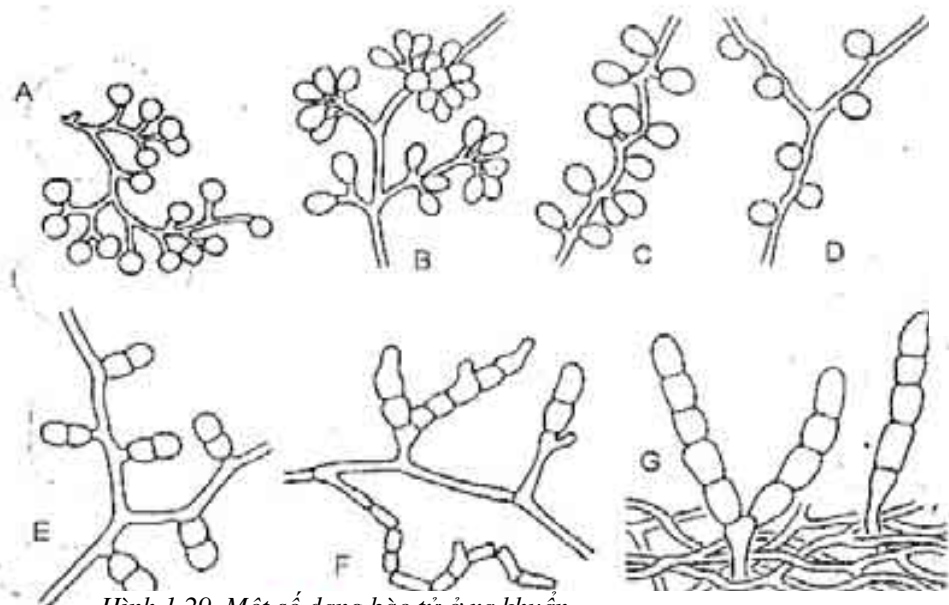


Hình 1.27. Các dạng bào tử ở xạ khuẩn

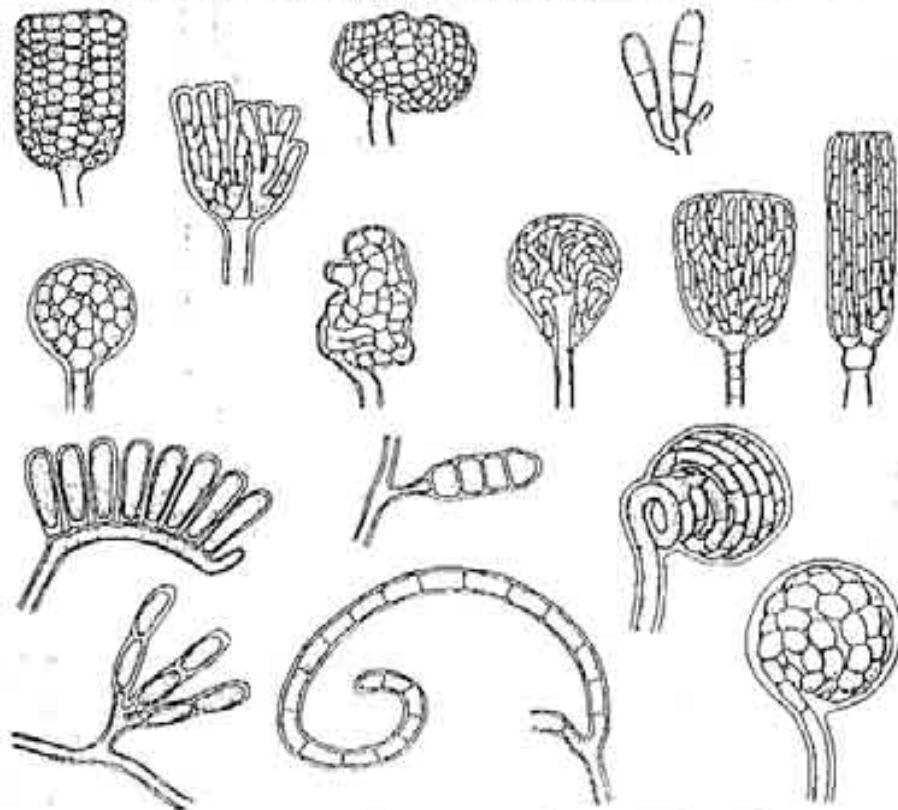


Hình 1.28 Cấu trúc của khuẩn ti ở xạ khuẩn  
 cp: tế bào chất  
 pm: màng tế bào chất  
 cw: thành tế bào

se: vách ngăn  
 ri: riboxom  
 re: chất dự trữ



Hình 1.29. Một số dạng bào tử ở xạ khuẩn  
- Bào tử đơn (monosporous)



Hình 1.30. Sự hình thành bào tử trong bao bào tử (Sporangia) ở xạ khuẩn

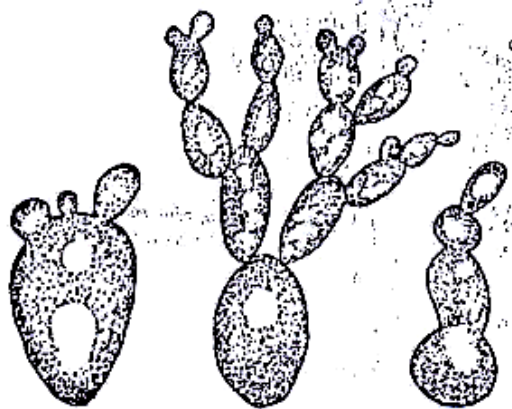
### 1.2.4. Vi nấm

Vi nấm là nhóm nấm có kích thước hiển vi. Vi nấm khác với vi khuẩn và xạ khuẩn, chúng có cấu tạo nhân điển hình, vì vậy chúng được xếp vào nhóm Eukaryotes. Vi nấm gồm 2 nhóm lớn - Nấm men và nấm sợi, nấm men có cấu trúc đơn bào, nấm sợi có cấu trúc đa bào. Nấm sợi còn gọi là nấm mốc. Vi nấm được xếp loại trong giới nấm (Fungi) bao gồm cả các nấm lớn.

#### 1.2.4.1. Nấm men (*Yeas*)

##### 1.2.4.1.1. Hình thái và kích thước

Nấm men thường có hình cầu hoặc hình bầu dục, một số loại có hình que và một số hình dạng khác. Kích thước trung bình của nấm men là 3 - 5 x 5 - 10 $\mu$ m. Một số loài nấm men sau khi phân cắt bằng phương pháp nảy chồi, tế bào con không rời khỏi tế bào mẹ và lại tiếp tục mọc chồi. Bởi vậy nó có hình thái giống như cây xương rồng khi quan sát dưới kính hiển vi.



Hình 1.31 Nấm *Saccharomyces Cerevisiae*

##### 1.2.4.1.2. Cấu tạo tế bào

Khác với vi khuẩn và xạ khuẩn, nấm men có cấu tạo tế bào khá phức tạp, gần giống như tế bào thực vật. Có đầy đủ các cấu tạo thành tế bào, màng tế bào chất, tế bào chất, ty thể, riboxom, nhân, không bào và các hạt dự trữ.

##### - Thành tế bào

Thành tế bào nấm men được cấu tạo bởi hai lớp phân tử bao gồm 90% là hợp chất glucan và mannan, phần còn lại là protein, lipid và glucozamin. Glucan là hợp chất cao phân tử của D - Glucoza, mannan là hợp chất cao phân tử của D - Manosa.

Trên thành tế bào có nhiều lỗ, qua đó các chất dinh dưỡng được hấp thu và các sản phẩm của quá trình trao đổi chất được thải ra.

- Màng nguyên sinh chất

Màng nguyên sinh chất của tế bào nấm men dày khoảng 8 nm có cấu tạo tương tự như màng nguyên sinh chất của vi khuẩn.

Tế bào chất của nấm men cũng tương tự như tế bào chất của vi khuẩn, độ nhớt của tế bào chất cao hơn của nước 800 lần.

Nhân tế bào nấm men là nhân điển hình, có màng nhân, bên trong là chất dịch nhân có chứa hạch nhân. Cũng như nhân tế bào của vi sinh vật bậc cao, nhân tế bào nấm men ngoài AND còn có protein và nhiều loại men. Hạch nhân của tế bào nấm men không phải chỉ gồm một phân tử AND như ở vi khuẩn mà đã có cấu tạo nhiễm sắc thể điển hình và có quá trình phân bào nguyên nhiễm còn gọi là gián phân. Quá trình gián phân gồm 4 giai đoạn như ở vi sinh vật bậc cao. Số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào nấm men khác nhau tùy loại nấm men. Ở *Saccharomyces cerevisiae* là nhóm nấm men phân bố rộng rãi nhất, thể đơn bội của nó có  $n = 17$  nhiễm sắc thể, thể lưỡng bội có  $2n = 34$ . Ngoài nhiễm sắc thể ra, trong nhân tế bào *S. cerevisiae* còn có từ 50 đến 100 plasmic có cấu tạo là 1 phân tử AND hình vòng kín có kích thước 2  $\mu\text{m}$ , có khả năng sao chép độc lập, mang thông tin di truyền.

- Ty thể:

Khác với vi khuẩn, nấm men đã có ty thể giống như ở tế bào bậc cao, đó là cơ quan sinh năng lượng của tế bào. Ty thể nấm men có hình bầu dục, được bao bọc bởi hai lớp màng, màng trong gấp khúc thành nhiều tấm răng lược học nhiều ống nhỏ làm cho diện tích bề mặt của màng trong tăng lên. Cấu trúc của hai lớp màng ty thể giống cấu trúc của màng nguyên sinh chất. Trên bề mặt của màng trong có đính vô số các hạt nhỏ hình cầu. Các hạt này có chức năng sinh năng lượng và giải phóng năng lượng của ty thể. Trong ty thể còn có một phân tử AND có cấu trúc hình vòng, có khả năng tự sao chép. Những đột biến tạo ra tế bào nấm men không có AND ty thể làm cho tế bào nấm men phát triển rất yếu, khuẩn lạc nhỏ bé. Trong ty thể còn có cả các thành phần cần cho quá trình tổng hợp protein như ribosom, các loại ARN và các loại enzym cần thiết cho sự tổng hợp protein. Các thành phần này không giống với các thành phần tương tự của tế bào nấm men nhưng lại rất giống của vi khuẩn. AND của ty thể rất nhỏ nên chỉ có thể mang mật mã tổng hợp cho một số

protein của ty thể, số còn lại do tế bào tổng hợp rồi đưa vào ty thể. Người ta đã chứng minh được quá trình tự tổng hợp protein của ty thể. Quá trình này bị kìm hãm bởi cloramfenicol giống như ở vi khuẩn, trong khi đó chất kháng sinh này không kìm hãm được quá trình tổng hợp protein ở tế bào nấm men.

- Riboxom của tế bào nấm men có hai loại : loại 80S gồm 2 tiểu thể 60S và 40S nằm trong tế bào chất, một số khác gắn với màng tế bào chất. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng: các riboxom gắn với màng tế bào chất có hoạt tính tổng hợp protein cao hơn. loại 70S là loại riboxom có trong ti thể.

Ngoài các cơ quan trên, nấm men còn có không bào và các hạt dự trữ như hạt Volutin, hạt này không những mang vai trò chất dự trữ mà còn dùng làm nguồn năng lượng cho nhiều quá trình sinh hoá học của tế bào. Ngoài hạt Volutin trong tế bào còn có các hạt dự trữ khác như glycogen và lipit. Một số nấm men có khả năng hình thành một lượng lớn lipit.

- Bào tử: Nhiều nấm men có khả năng hình thành bào tử, đó là một hình thức sinh sản của nấm men. Có 2 loại bào tử: bào tử trần và bào tử túi. Bào tử túi là những bào tử được hình thành trong một túi nhỏ còn gọi là nang. Trong nang thường chứa từ 1-8 bào tử, đôi khi đến 12 bào tử. Phương thức hình thành túi phụ thuộc vào hình thức sinh sản của nấm men. Bào tử trần là những bào tử úau khi hình thành nhờ năng lượng của tế bào bắn mạnh về phía đối diện. Đó là một hình thức phát tán bào tử. Có thể quan sát bào tử trần bằng cách nuôi cấy nấm men trên đĩa petri, vài ngày sau thấy xuất hiện trên nắp hộp phía đối diện thành một lớp mờ mờ. Dem nắp hộp soi dưới kính hiển vi sẽ thấy rõ các bào tử.

#### 1.2.4.1.3. Sinh sản

Ở 3 nấm men có 3 hình thức sinh sản

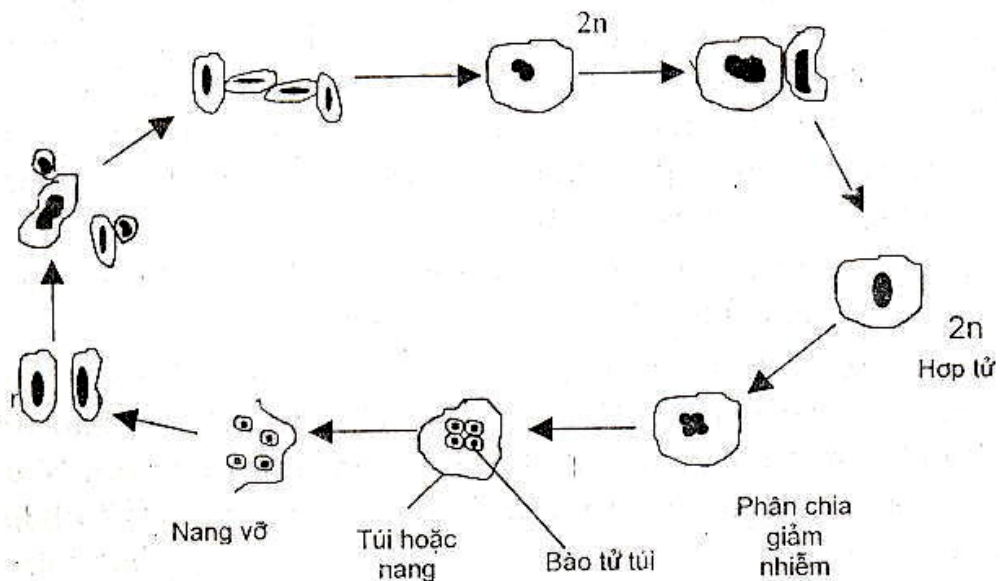
- Sinh sản sinh dưỡng : là hình thức sinh sản đơn giản nhất của nấm men. Có 2 hình thức sinh sản sinh dưỡng: nảy chồi và hình thức ngang phân đôi tế bào như vi khuẩn. Ở hình thức nảy chồi, từ một cực của tế bào mẹ nảy chồi thành một tế bào con, sau đó hình thành vách ngăn ngang giữa hai tế bào. Tế bào còn có thể tách khỏi tế bào mẹ hoặc có thể dính với tế bào mẹ và lại tiếp tục nảy chồi làm cho nấm men giống như hình dạng cây xương rồng tai nhỏ.

- Sinh sản đơn tính: bằng hai hình thức bào tử túi và bào tử trần như đã nói ở phần bào tử.

- Sinh sản hữu tính: do hai tế bào nấm men kết hợp với nhau hình thành hợp tử. Hợp tử phân chia thành các bào tử nằm trong nang, nang chín bào tử được phát tán ra ngoài. Nếu 2 tế bào nấm men có hình thái kích thước giống nhau tiếp hợp với nhau thì được gọi là tiếp hợp đẳng giao. Nếu 2 tế bào nấm men khác nhau thì gọi là tiếp hợp dị giao.

Trong chu trình sống của nhiều loài nấm men, có sự kết hợp các hình thức sinh sản khác nhau. Sau đây là quá trình sinh sản của *S. cerevisiae* - một loài nấm men phân bố rộng rãi trong thiên nhiên. Chu trình sống của nấm men này có 2 giai đoạn đơn bội và lưỡng bội. Đầu tiên tế bào sinh dưỡng đơn bội ( $n$ ) sinh sôi nảy nở theo lối nảy chồi. Sau đó 2 tế bào đơn bội kết hợp với nhau, có sự trao đổi của tế bào chất và nhân hình thành tế bào lưỡng bội ( $2n$ ). Tế bào lưỡng bội lại nảy chồi (sinh sản sinh dưỡng) thành nhiều tế bào lưỡng bội khác, cuối cùng hình thành hợp tử. Nhân của hợp tử phân chia giảm nhiễm thành 4 nhân đơn bội. Mỗi nhân đơn bội được bao bọc nguyên sinh chất, hình thành màng, tạo thành 4 bào tử nằm trong một túi gọi là bào tử túi. Khi túi vỡ, bào tử ra ngoài phát triển thành tế bào dinh dưỡng và lại phân chia theo lối này rồi tiếp tục chu trình sống.

Ngoài hình thức sinh sản như ở *S. cerevisiae*, một số loài nấm men khác có những hình thức sinh sản về cơ bản cũng giống như trên nhưng có một số sai khác. Ví dụ như là *Schizosaccharomyces octosporus* hợp tử lưỡng bội phân chia 3 lần, lần đầu giảm nhiễm sinh ra 8 bào tử nằm trong nang.



Hình 1.32. Chu trình sinh sản của nấm men





Hình 1.33. Các kiểu nảy chồi và các hình dạng của tế bào, bào tử ở nấm men  
 A. Nảy chồi nhiều cực; B. Nảy chồi đơn cực; C. Nảy chồi lưỡng cực; D. Phân cắt  
 E. Khuẩn ti già; F. Khuẩn ti; G. Bào tử đốt; H. Nội bào tử; I. Bào tử bản;  
 J. Bào tử trần

#### 1.2.4.1.4. Ý nghĩa thực tiễn của nấm men

Nấm men là nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong thiên nhiên, nó tham gia vào các quá trình chuyển hoá vật chất, phân huỷ chất hữu cơ trong đất. Hoạt tính sinh lý của nhiều loài nấm men được ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm, nông nghiệp và các ngành khác. Đặc biệt trong quá trình sản xuất các loại rượu, cồn, nước giải khát lên men, làm thức ăn gia súc ... Ngoài hoạt tính sinh lý, bản thân tế bào nấm men có rất nhiều loại vitamin và các axit amin, đặc biệt là axit amin không thay thế. Đặc tính này được dùng để chế tạo thức ăn gia súc từ nấm men, thậm chí thức ăn dùng cho người cũng có thể chế tạo từ nấm men.

#### 1.2.4.2. Nấm mốc (nấm sợi)

Nấm mốc cũng thuộc nhóm vi nấm, có kích thước hiển vi. Khác với nấm men, có không phải là những tế bào riêng biệt mà là một hệ sợi phức tạp, đa bào có màu sắc phong phú.

##### 1.2.4.2.1. Hình thái và kích thước

Nấm mốc có cấu tạo hình sợi phân nhánh, tạo thành một hệ sợi chằng chịt phát triển rất nhanh gọi là khuẩn ti thể hay hệ sợi nấm. Chiều ngang của khuẩn ti thay đổi từ 3 - 10  $\mu\text{m}$ . Nấm mốc cũng có 2 loại khuẩn ti: khuẩn ti khí sinh mọc trên bề mặt môi trường, từ đây sinh ra những cơ quan sinh sản. Khuẩn ti cơ chế mọc sâu vào môi trường.

Khuẩn lạc của nấm mốc cũng có nhiều màu sắc như khuẩn lạc xạ khuẩn. Khuẩn lạc nấm mốc khác với xạ khuẩn ở chỗ nó phát triển nhanh hơn, thường to hơn xạ khuẩn ở chỗ nó phát triển nhanh hơn, thường to hơn khuẩn lạc xạ khuẩn nhiều lần. Dạng xộp hơn do kích thích khuẩn ti to hơn. Thường thì mỗi khuẩn lạc sau 3 ngày phát triển có kích thước 5 - 10 mm, trong khi đó khuẩn lạc xạ khuẩn chỉ khoảng 0,5 - 2 mm.

##### 1.2.4.2.2. Cấu tạo tế bào

Cũng như nấm men, nấm mốc có cấu tạo tế bào điển hình như ở sinh vật bậc cao. Thành phần hoá học và chức năng của các cấu trúc này cũng tương tự như ở nấm men. Điều sai khác cơ bản giữa nấm mốc và nấm men là ở tổ chức tế bào.

Nấm men chỉ là những tế bào riêng rẽ hoặc xếp với nhau theo kiểu cây xương rồng như đã nói ở phần trên. Nấm mốc có tổ chức tế bào phức tạp hơn, trừ

một số nấm mốc bậc thấp có cấu tạo đơn bào phân nhánh. Ở những nấm mốc bậc thấp này, cơ thể là một hệ sợi nhiều nhân không có vách ngăn.

Đa số nấm mốc có cấu tạo đa bào, tạo thành những tổ chức khác nhau như sợi khí sinh, sợi cơ chất. Sợi cơ chất của nấm mốc không đơn giản như ở xạ khuẩn mà phức tạp hơn. Có những loài có sợi cơ chất giống như rễ chùm ở thực vật gọi là rễ giả, ví dụ như ở *Aspergillus niger*. Ở những loài nấm mốc ký sinh trên thực vật, sợi cơ chất tạo thành những cấu trúc đặc biệt gọi là vòi hút.

Ở một số loài nấm mốc, các sợi nấm nối với nhau thông qua các cầu nối, các cầu nối hình thành giữa các sợi nằm gần nhau gọi là sự hợp nối do có hiện tượng 2 khối nguyên sinh chất trộn lẫn với nhau. Đó có thể là một hình thức lai dinh dưỡng.

Một số loài nấm mốc có cấu tạo gần giống mô thực vật gọi là mô giả. Đó là các tổ chức sợi xếp gồm các sợi nấm xếp song song với nhau tạo thành một tổ chức sợi xếp. Ngoài tổ chức sợi xếp còn có tổ chức màng mỏng giả gần giống như màng mỏng ở thực vật bậc cao. Chúng gồm những tế bào có kích thước xấp xỉ nhau hình bầu dục, xếp lại với nhau. Hai tổ chức trên có ở thể đệm và hạch nấm. Thể đệm cấu tạo bởi nhiều khuẩn ti kết lại với nhau, từ đó sinh ra các cơ quan sinh sản của nấm mốc. Hạch nấm thường có hình tròn hoặc hình bầu dục không đều, kích thước tùy theo loài, từ dưới 1 mm đến vài cm. Đặc biệt có loài có kích thước hạch nấm tới vài chục cm. Hạch nấm là một tổ chức giúp cho nấm sống qua những điều kiện ngoại cảnh bất lợi. Sợi nấm tồn tại trong hạch không phát triển. Khi gặp điều kiện thuận lợi hạch sẽ nảy mầm và phát triển bình thường.

#### 1.2.4.2.3. Sinh sản

Nấm mốc có 3 hình thức sinh sản chính

##### a. Sinh sản dinh dưỡng

- Sinh sản dinh dưỡng bằng khuẩn ti: là hình thức từ một khuẩn ti gây ra những đoạn nhỏ, những đoạn nhỏ này phát triển thành một hệ khuẩn ti.

- Sinh sản dinh dưỡng bằng hạch nấm: như đã nói ở phần trên.

- Sinh sản dinh dưỡng bằng bào tử dày: trên phần giữa của khuẩn ti hoặc phần đầu khuẩn ti hình thành tế bào có màng dày bao bọc, bên trong chứa nhiều chất dự trữ. Gặp điều kiện thuận lợi bào tử dày sẽ nảy mầm thành một hệ sợi nấm. Bào tử dày thường là đơn bào, đôi khi là 2 hoặc nhiều tế bào.

##### b. Sinh sản vô tính

Sinh sản vô tính ở nấm mốc có hai hình thức:

- Bào tử kín: là bào tử hình thành trong một nang kín. Từ một khuẩn ti mọc lên cuống nang, cuống nang thường có đường kính lớn hơn đường kính khuẩn ti. Cuống nang có loại phân nhánh và có loại không phân nhánh. Trên cuống nang hình thành nang bào tử. Cuống nang có phần ăn sâu vào trong nang gọi là nang trụ. Nang trụ có hình dạng khác nhau tùy loài. Ở một số loài, bào tử nằm trong nang có tiên mao, khi nang vỡ bào tử có khả năng di động trong nước gọi là động bào tử (Zoospore).

Sự khác nhau giữa bào tử dày ở sinh sản dinh dưỡng và bào tử kín ở sinh sản vô tính: bào tử dày chính là một hoặc một vài tế bào trong một sợi nấm hình thành màng dày bọc lại. Bào tử kín phức tạp hơn, có cơ quan mang bào tử là nang, có nang trụ, cuống nang ...

- Bào tử đính: là hình thức bào tử được hình thành bên ngoài cơ quan sinh bào tử chứ không nằm trong nang kín. Hình thức này có nhiều loại khác nhau.

Có loại bào tử nằm hoàn toàn bên ngoài cơ quan sinh bào tử. Từ sợi nấm mọc lên cuống sinh bào tử, cuống sinh bào tử có thể phân nhánh hoặc không. Từ đỉnh của cuống sinh bào tử bằng cách phân cắt cùng một lúc từ một sợi thành nhiều bào tử. Có loại mọc chồi thành bào tử thứ nhất rồi bào tử thứ nhất lại mọc chồi thành bào tử thứ hai, cứ như thế tạo thành chuỗi, trong chuỗi kiểu này bào tử ở cuối chuỗi non nhất, bào tử ở sát cuống sinh bào tử già nhất, gọi là chuỗi gốc già. Có loại các bào tử được liên tiếp mọc ra từ đỉnh cuống sinh bào tử đẩy dần thành một chuỗi trong đó bào tử ở cuối chuỗi được sinh ra đầu tiên gọi là chuỗi gốc non.

Ở một số loài bào tử nằm trong thể bình, phương thức sinh bào tử cũng tương tự như ở cơ chế trên (phân cắt cùng một lúc, chuỗi gốc nhà, chuỗi gốc non). Đặc điểm khác cơ bản là cuống sinh và bào tử nằm trong một thể hình bình, các bào tử sinh ra được đẩy dần ra khỏi miệng bình. Khác với bào tử kín, nang phải vỡ ra bào tử mới ra ngoài được.

Ngoài các hình thức trên còn một số hình thức khác nữa. Trên cùng một loài nấm mốc có thể có nhiều hình thức sinh sản khác nhau. Ví dụ như Fusarium có bào tử dày và bào tử đính. Cách phát sinh bào tử khác nhau cũng có thể có cùng ở một loại nấm.

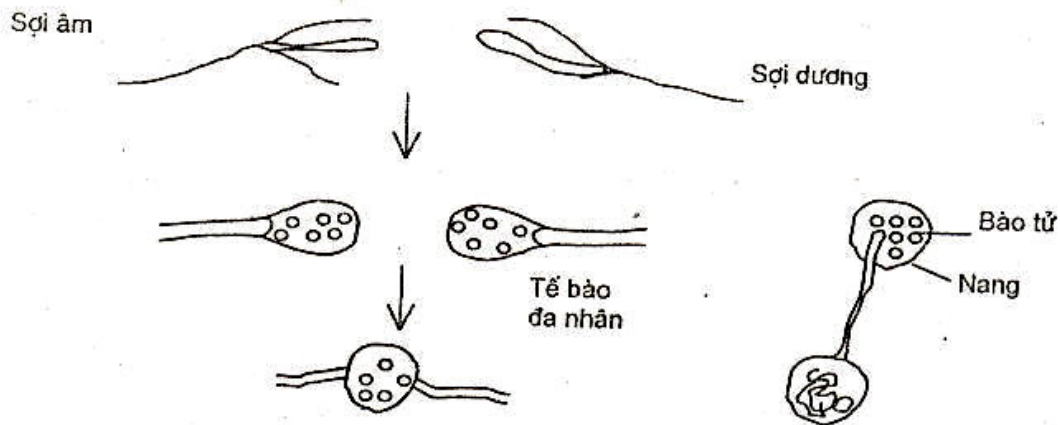
### c. Sinh sản hữu tính

Nấm mốc có 3 hình thức sinh sản hữu tính - đẳng giao, dị giao và tiếp hợp.

- Đẳng giao: Từ sợi khuẩn ti sinh ra các túi giao tử trong có chứa giao tử.

Các giao tử sau khi ra khỏi túi kết hợp với nhau thành hợp tử. Hợp tử phân chia giảm nhiễm thành các bào tử. Mỗi bào tử khi được giải phóng ra từ hợp tử có thể phát sinh thành sợi nấm. Các giao tử và túi giao tử hoàn toàn giống nhau giữa cơ thể “đực” và cơ thể “cái”.

- Dị giao: là trường hợp các giao tử và túi giao tử ở cơ thể “đực” và “cái” khác nhau. Ở lớp nấm noãn (Oomycetes) cơ quan sinh sản cái gọi là noãn khí ở trong chứa noãn cầu. Cơ quan sinh sản đực gọi là hùng khí có hình ống cong. Có thể có nhiều hùng khí mọc hướng về phía noãn khí, trong hùng khí chứa các tinh trùng. Khi hùng khí mọc vươn tới noãn khí, từ hùng khí tạo thành các ống xuyên qua đó tinh trùng vào thụ tinh noãn cầu tạo thành noãn bào tử. Noãn bào tử được bao bọc bởi một màng dày, sau một thời gian phân chia giảm nhiễm và phát triển thành sợi nấm mốc.



Hình 1.34. Sinh sản hữu tính: Dị giao

- Tiếp hợp: Hình thức sinh sản thường có ở nấm tiếp hợp. Từ 2 khuẩn ti khác nhau gọi là sợi âm và sợi dương mọc ra 2 mấu lồi gọi là nguyên phối nang. Các nguyên phối nang mọc hướng vào nhau dần dần hình thành màng ngăn với khuẩn ti sinh ra nó tạo thành tế bào đa nhân. Hai tế bào đa nhân tiếp hợp với nhau tạo thành

hợp tử đa nhân gọi là bào tử tiếp hợp có màng dày. Hợp tử sau một thời gian nảy mầm mọc thành một ống mầm. Đầu ống mầm sau phát triển thành một nang vô tính chứa những bào tử. Ống mầm trở thành cuống nang giống như trường hợp hình thành bào tử kín. Sau một thời gian nang vỡ giải phóng bào tử ra ngoài. Mỗi bào tử phát triển thành một sợi nấm.

Ngoài các hình thức sinh sản điển hình trên, ở nấm mốc còn có hình thức sinh sản phân nào phức tạp hơn, gần giống với thực vật. Đó là ở một số loài thuộc lớp nấm đảm (Basidiomycetes).

#### **2.4.2.4. Ý nghĩa thực tiễn của nấm mốc**

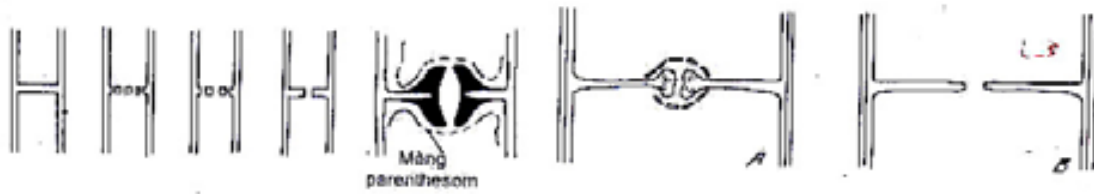
Nấm mốc (hay nấm sợi) là một nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong thiên nhiên. Chúng tham gia tích cực vào các quá trình chuyển hoá vật chất, khép kín các vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Khả năng chuyển hoá vật chất của chúng được ứng dụng trong nhiều ngành, đặc biệt là chế biến thực phẩm (làm rượu, làm tương, nước chấm v.v....). Mặt khác, có nhiều loại nấm mốc mọc trên các nguyên, vật liệu, đồ dùng, thực phẩm ... phá hỏng hoặc làm giảm chất lượng của chúng. Một số loài còn gây bệnh cho người, động vật thực vật (bệnh lang ben, vẩy nến ở người, nấm rỉ sắt ở thực vật v.v...).

Ngoài các nhóm vi sinh vật chính đã mô tả ở trên, thuộc về các vi sinh vật có kích thước hiển vi có thể xếp vào đối tượng của vi sinh vật học còn có các nhóm tảo đơn bào gọi là vi tảo, các nhóm nguyên sinh động vật như trùng roi, amip v.v...

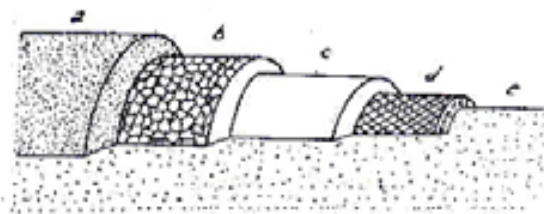
Tất cả những sinh vật nhỏ bé nói trên tạo thành thế giới vi sinh vật vô cùng phong phú, chúng phân bố ở khắp mọi nơi trên hành tinh chúng ta. Chúng tham gia vào các quá trình chuyển hoá vật chất, khép kín các vòng tuần hoàn vật chất trong thiên nhiên, làm cho sự cân bằng vật chất được ổn định và từ đó bảo vệ sự cân bằng sinh thái. Người ta có thể sử dụng nhiều nhóm vi sinh vật vào mục đích bảo vệ môi trường. Ví dụ như nhóm vi sinh vật phân huỷ chất hữu cơ trong rác thải, nhóm vi sinh vật phân huỷ các chất độc hại thành chất không độc. Trong công nghệ xử lý chất thải bằng phương pháp sinh học có sử dụng rất nhiều nhóm vi sinh vật khác nhau. Vi sinh vật còn được ứng dụng trong nhiều ngành sản xuất như chế tạo phân bón sinh học, thuốc bảo vệ thực vật sinh học ... nhằm mục đích thay thế các chất hoá học độc hại với môi trường. Sự phân bố rộng rãi của vi sinh vật trong các môi trường tự nhiên đóng vai trò quyết định vào khả năng tự làm sạch môi trường đó,

cùng với những yếu tố lý học, hoá học và sinh học khác. Vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong việc làm nên khả năng chịu tải của môi trường, đó chính là khả năng tự làm sạch môi trường, giữ cho môi trường tự nhiên không bị ô nhiễm.

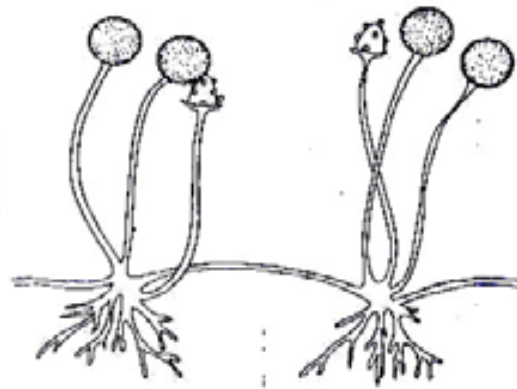
Tuy nhiên, bên cạnh những nhóm vi sinh vật có khả năng làm sạch môi trường, lại có những nhóm gây ô nhiễm môi trường. Đó chính là nhóm các vi sinh vật gây các bệnh vô cùng nguy hiểm cho người, động vật và thực vật.



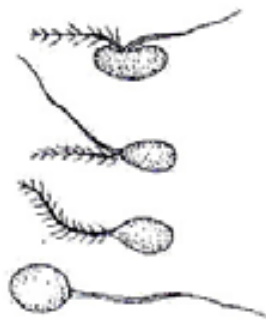
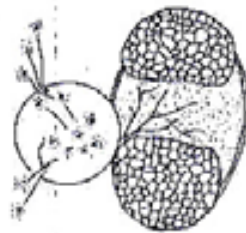
Các dạng vách ngăn ở vi nấm



Cấu trúc của thành tế bào ở vi nấm  
 a - Tầng glucan vô định hình  
 b - Mạng glicô-protein  
 c - Tầng protein  
 d - Sợi nhỏ kitin  
 e - Màng tế bào chất

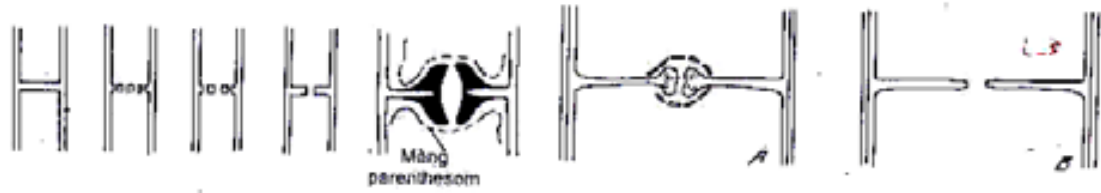


Màng bào tử túi và bào tử túi ở nấm *Rhizopus*

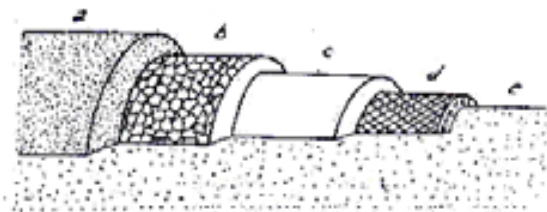


Hình 1.35. Sự hình thành động bào tử và các kiểu động bào tử

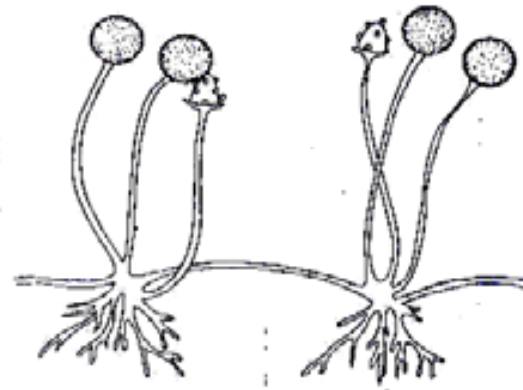




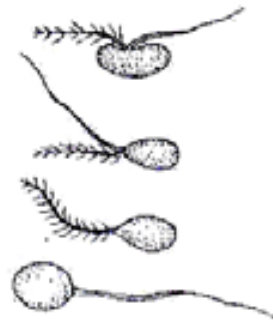
Các dạng vách ngăn ở vi nấm



Cấu trúc của thành tế bào ở vi nấm  
 a - Tầng glucan vô định hình  
 b - Mạng gluco-protein  
 c - Tầng protein  
 d - Sợi nhỏ kitin  
 e - Màng tế bào chất



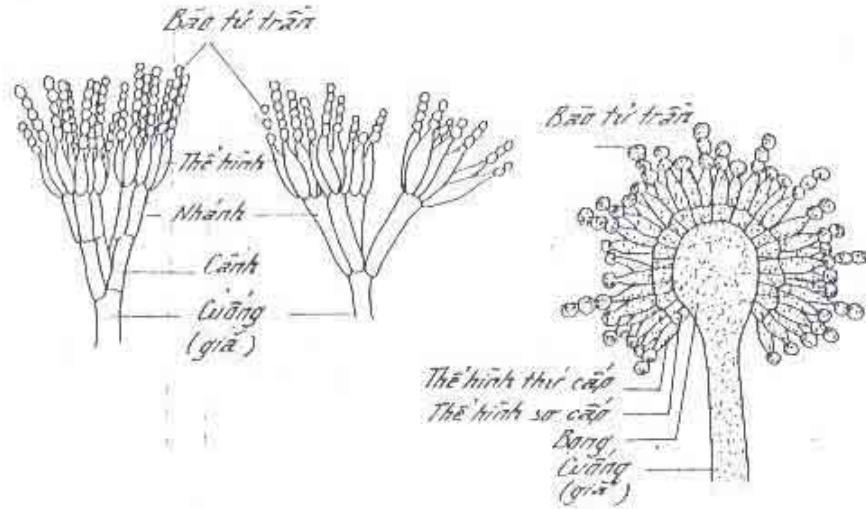
Màng bào tử túi và bào tử túi ở nấm *Rhizopus*



Hình 1.36. Các loại bào tử túi

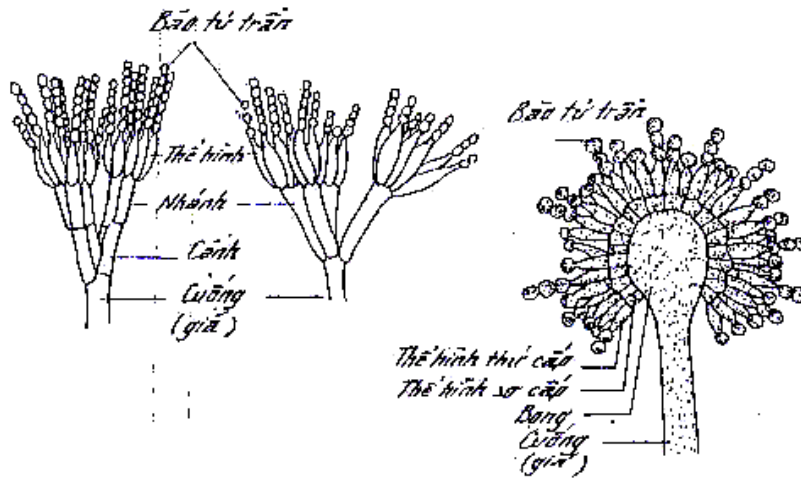
Đĩa gỗ

Cụm gỗ

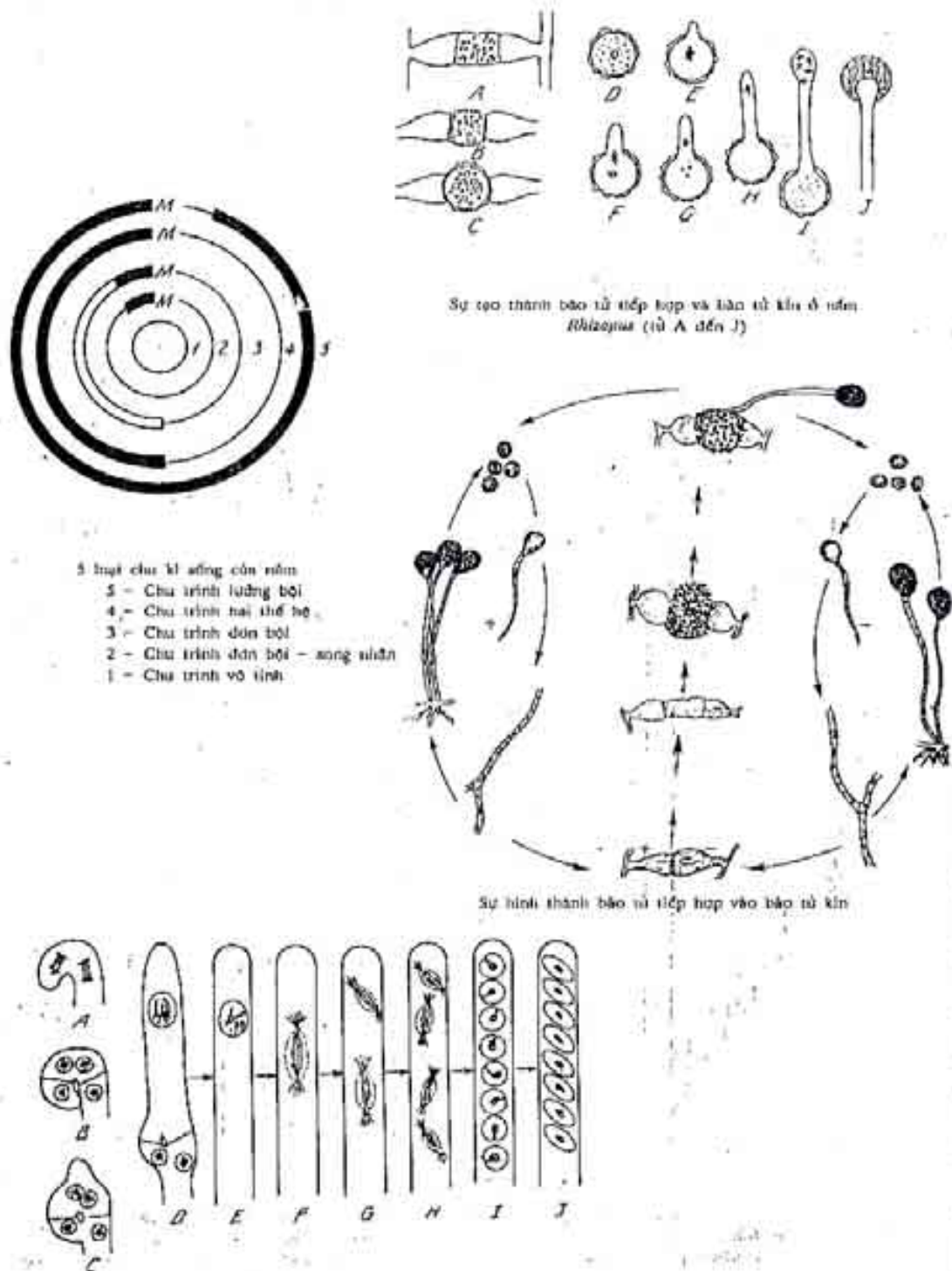


Đĩa gỗ

Cụm gỗ



Hình 1.37. Các loại bào tử trần



Hình 1.38. Quá trình hình thành bào tử túi (từ A đến J)

## CHƯƠNG II

### SINH LÝ ĐẠI CƯƠNG VI SINH VẬT

#### 2.1. DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT

##### 2.1.1. Thành phần tế bào của vi sinh vật

Các chất dinh dưỡng đối với vi sinh vật là bất kỳ chất nào được vi sinh vật hấp thụ từ môi trường xung quanh và được chúng sử dụng làm nguyên liệu để cung cấp cho các quá trình sinh tổng hợp tạo ra các thành phần của tế bào hoặc để cung cấp cho các quá trình trao đổi năng lượng.

Quá trình hấp thụ các chất dinh dưỡng để thoả mãn mọi nhu cầu sinh trưởng và phát triển được gọi là quá trình dinh dưỡng.

Hiểu biết về quá trình dinh dưỡng là cơ sở tất yếu để có thể nghiên cứu, ứng dụng hoặc ức chế vi sinh vật.

Không phải mọi thành phần của môi trường nuôi cấy vi sinh vật đều được coi là chất dinh dưỡng. Một số chất rắn cần thiết cho vi sinh vật nhưng chỉ làm nhiệm vụ bảo đảm các điều kiện thích hợp về thế oxi hoá - khử, về pH, về áp suất thẩm thấu, về cân bằng lớn ... Chất dinh dưỡng phải là những hợp chất có tham gia vào các quá trình trao đổi chất nội bào.

Thành phần hoá học của tế bào vi sinh vật quyết định nhu cầu dinh dưỡng của chúng. Thành phần hoá học cấu tạo bởi các nguyên tố C, H, O, N, các nguyên tố khoáng đa lượng và các nguyên tố khoáng vi lượng. Chỉ riêng các nguyên tố C, H, O, N, P, S, K, Na đã chiếm đến 98% khối lượng khô của tế bào vi khuẩn *E.Coli*.

*Bảng 2.1. Thành phần các nguyên tố chủ yếu của tế bào vi khuẩn E.Coli (S.E.Luria)*

Nguyên tố	% Chất khô		Nguyên tố	% Chất khô
C	50		Na	1,0
O	20		Ca	0,5
N	14		Mg	0,5
H	8		Cl	0,2
P	3		Fe	
S	1		Các nguyên	0,3
K	1		tổ khác	

Lượng chứa các nguyên tố ở các vi sinh vật khác nhau là không giống nhau. Ở các điều kiện nuôi cấy khác nhau, các giai đoạn khác nhau lượng chứa các nguyên tố trong cùng một loài vi sinh vật cũng không giống nhau. Trong tế bào vi sinh vật các hợp chất được phân thành 2 nhóm lớn: (1). Nước và các muối khoáng; (2). Các chất hữu cơ.

Bảng 2.2. Các nhóm hợp chất chủ yếu của tế bào vi khuẩn E. Coli

Loại hợp chất	Nước	Protein	ADN	ARN	Hidrat C	Lipit	Chất hữu cơ phân tử nhỏ	Các phân tử vô cơ
Lượng chứa (%)	70	15	1	6	3	2	2	1

### 2.1.1.1. Nước và muối khoáng

Nước chiếm đến 70 - 90% khối lượng cơ thể sinh vật. Tất cả các phản ứng xảy ra trong tế bào vi sinh vật đều đòi hỏi có sự tồn tại của nước. Ở vi khuẩn lượng chứa nước thường là 70 - 85%, ở nấm sợi thường là 85 - 90%.

Từ cổ xưa người ta đã biết sử dụng phương pháp sấy khô thực phẩm để đình chỉ sự phát triển của vi sinh vật. Việc sử dụng muối hoặc đường để bảo quản thực phẩm chẳng qua cũng chỉ nhằm tạo ra một sự khô cạn sinh lý không thích hợp cho sự phát triển của vi sinh vật.

Yêu cầu của vi sinh vật đối với nước được biểu thị một cách định lượng bằng độ hoạt động của nước (water activity,  $a_w$ ) trong môi trường. Độ hoạt động của nước còn được gọi là thế năng của nước (water potential,  $p_w$ ):

$$a_w = \frac{p}{p_0}$$

Ở đây  $p$  là áp lực hơi của dung dịch còn  $p_0$  là áp lực hơi nước. Nước nguyên chất có  $a_w = 1$ , nước biển có  $a_w = 0,980$ , máu người có  $a_w = 0,995$ , cá muối có  $a_w = 0,750$ ; kẹo, mứt có  $a_w = 0,700$ .

Mỗi sinh vật thường có một trị số  $a_w$  tối thích và một trị số  $a_w$  tối thiểu. Một số sinh vật có thể phát triển được trong môi trường có trị số  $a_w$  rất thấp, người ta gọi chúng là các vi sinh vật chịu áp (osmophyl). Chẳng hạn  $a_w$  có thể chấp nhận được của *Saccharomyces rouxii* là 0,850; của *Saccharomyces bailii*; của *Penicillium* là 0,800; của *Halobacterium*, *Halococcus* là 0,750; của *Xeromyces bisporus* là 0,700 ...

Phần nước có thể tham gia vào các quá trình trao đổi chất của vi sinh vật được gọi là nước tự do. Đa phần nước trong tế bào vi sinh vật tồn tại ở dạng nước tự do.

Nước kết hợp là phần nước liên kết với các hợp chất hữu cơ cao phân tử trong tế bào (protein, lipid, hidrat cacbon ...). Nước liên kết mất khả năng hoà tan và lưu động.

Muối khoáng chiếm khoảng 2 - 5% khối lượng khô của tế bào. Chúng thường tồn tại dưới dạng các muối sunphat, photphat, cacbonat, clorua ... Trong tế bào chúng thường ở dạng các ion. Dạng cation chẳng hạn như  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  ... Dạng anion chẳng hạn như  $HPO_4^{2-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $Cl^-$  ... Các ion trong tế bào vi sinh vật luôn tồn tại ở những tỷ lệ nhất định nhằm duy trì độ pH và lực thẩm thấu thích hợp cho từng loại vi sinh vật.

Bảng 2.3. Mức  $a_w$  thấp nhất đối với một số vi sinh vật

Số thứ tự	Nhóm vi sinh vật	$a_w$ thấp nhất
1	Phần lớn vi khuẩn gram (-)	0,97
2	Phần lớn vi khuẩn gram (+)	0,90
3	Phần lớn nấm men	0,88
4	Phần lớn nấm sợi	0,80
5	Vi khuẩn ưa mặn	0,75

Cụ thể hơn ta có thể tham khảo bảng sau về khả năng phát triển của vi sinh vật ở những giá trị  $a_w$  khác nhau.

Bảng 2.4. Khả năng phát triển của vi sinh vật ở giá trị  $a_w$  tối thiểu khác nhau

Số thứ tự	Vi sinh vật	$a_w$
1	Candia scottii	0,92
2	Trichosporon pullulans	0,91
3	Candida zeylanoides	0,90
4	Staphylococcus aureus	0,86
5	Atternaria citri	0,84

### 2.1.1.2. Chất hữu cơ

Chất hữu cơ trong tế bào vi sinh vật chủ yếu cấu tạo bởi các nguyên tố C, H, O, N, P, S ... Riêng 4 nguyên tố C, H, O, N đã chiếm tới 90 - 97% toàn bộ chất khô của tế bào. Đó là các nguyên tố chủ chốt để cấu tạo nên protein, axit nucleic, lipid, hidrat cacbon. Trong tế bào vi khuẩn các hợp chất đại phân tử thường chiếm tới 96% khối

lượng khô, các chất đơn phân tử chỉ chiếm có 3,5% còn các ion vô cơ chỉ có 1% mà thôi.

*Bảng 2.5. Thành phần hoá học của một tế bào vi khuẩn  
(F.C Neidhardt, 1987)*

Phân tử	% khối lượng khô (1)	Số phân tử/ tế bào	Số loại phân tử
Nước	-		1
Tổng số các đại phân tử	96	24.609.802	khoảng 2500
Protein	55	2.350.000	khoảng 1850
Polisaccarit	5	4.300	2 (2)
Lipit	9,1	22.000.000	4 (3)
ADN	3,1	2,1	1
ARN	20,5	255.500	khoảng 660
Tổng số các đơn phân tử	3,5		khoảng 350
Axit amin và tiền thể	0,5		khoảng 100
Đường và tiền thể	2		khoảng 50
Nucleotic và tiền thể	0,5		khoảng 200
Các ion vô cơ	1		18
Tổng cộng	100		

**Chú thích :**

(1) khối lượng khô của 1 tế bào vi khuẩn E.Coli đang sinh trưởng mạnh là  $2,8 \times 10^{-13}$  g.

(2) : Peptidoglican và glicogen

(3) : Đó là 4 loại photpholipit, mỗi loại có nhiều nhóm khác nhau phụ thuộc vào thành phần axit béo.

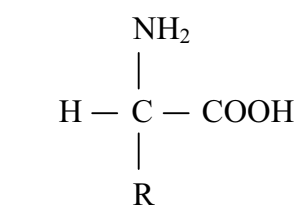
a. Protein : cấu tạo chủ yếu bởi các nguyên tố : C (50 - 55%), O (21 - 24%), N (15 - 18%), H (6,5 - 7,3%), S (0 - 0,24%), ngoài ra còn có thể có một lượng rất nhỏ các nguyên tố khác nhau P, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca ...

Protein được tạo thành từ các axit amin.

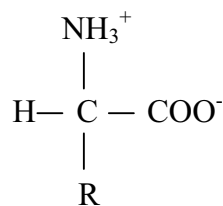
Khi hình thành protein các axit amin nối liền với nhau qua liên kết peptit (liên kết cộng hoá trị). Liên kết này (-CO-NH-) được tạo thành do phản ứng kết hợp giữa

nhóm  $\alpha$ -cacboxyl  $\left( \begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ -\text{C} \\ | \\ \text{O}^- \end{array} \right)$  của một axit amin này với nhóm  $\alpha$ -amin ( $^+\text{H}_3\text{N}-$ ) của một

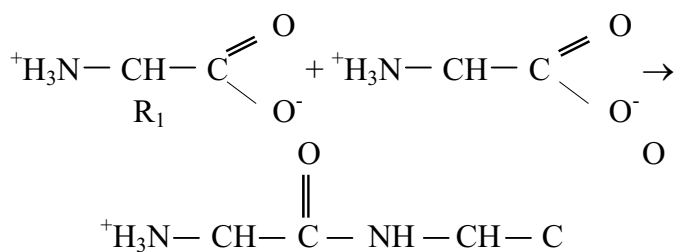
axit amin khác và loại đi một phân tử nước :



Dạng không ion hoá của axit amin

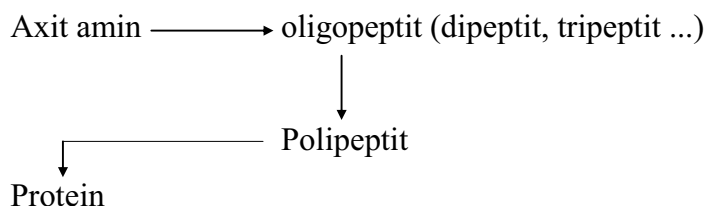


Dạng ion lưỡng cực của axit amin



Tuỳ số lượng axit amin liên kết với nhau mà ta có các dipeptit, tripeptit, tetrapeptot, pentapeptit ... Từ phân tử có 15 liên kết peptit trở lên ta gọi là polipeptit. Polipeptit này còn được gọi là protein. Có lúc 1 protein được tạo thành do vài polipeptit liên kết lại với nhau.

Có 20 loại axit amin tham gia vào cấu trúc của protein, số gốc axit amin là rất lớn vì vậy có thể tạo ra được tới  $20^{18}$  loại protein khác nhau (hiện đã biết rõ cấu trúc 3 chiều của khoảng trên 100 loại protein). Các protein này có thể được xếp loại theo hình dạng, theo cấu trúc hoặc theo chức năng.





- Xếp loại theo hình dạng : - Protein hình sợi
  - Protein hình cầu
- Xếp loại theo cấu trúc :
  - Protein đơn giản
  - Protein phức tạp (protein kết hợp)
    - Nucleoprotein  
(Protein + axit nucleic)
    - Glicoprotein  
(Protein + hidrat cacbon)
    - Mucoprotein  
(Protein + mucopolisaccarit)
    - Photphoprotein  
(Protein + axit photphoric)
    - Cromoprotein  
(Protein + hợp chất có màu)
    - Metaloprotein  
(Protein + kim loại)

- Xếp loại theo chức năng

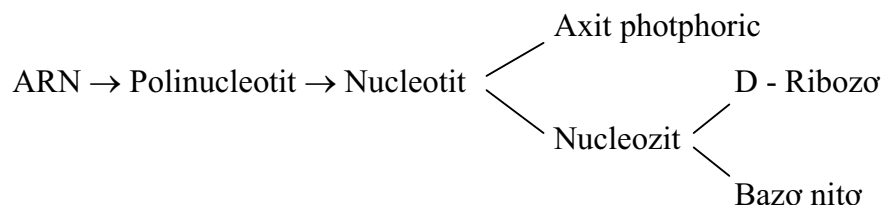
- Protein phi hoạt tính (kiến tạo, dự trữ ...)

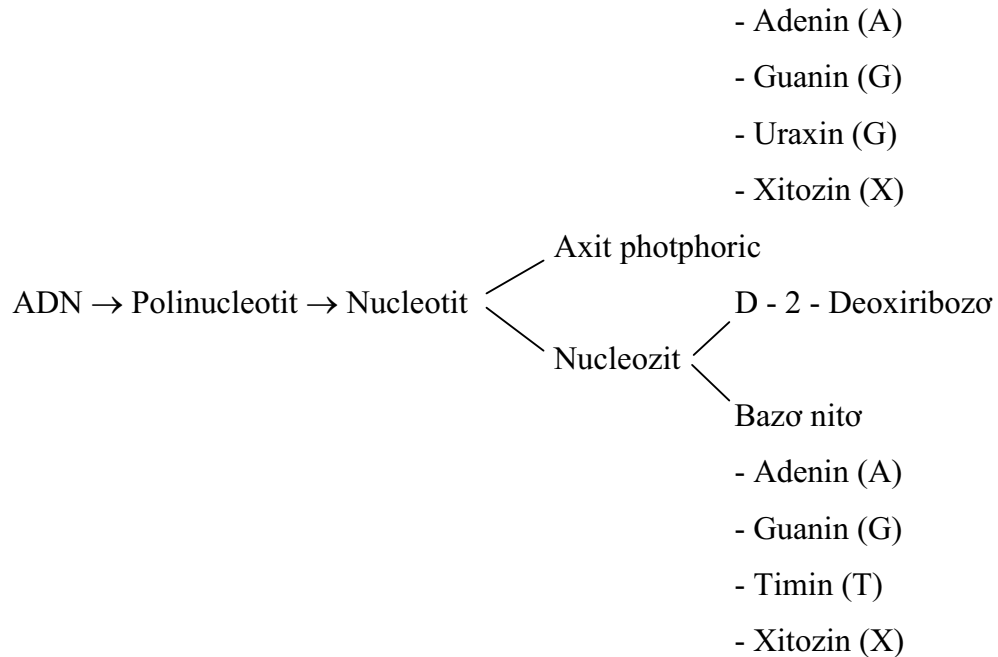
- Protein hoạt tính (xúc tác, vận tải, chuyển động, truyền xung thần kinh, điều hoà, bảo vệ ...)

Trong tế bào vi sinh vật ngoài protein, peptit còn có cả những axit amin ở trạng thái tự do.

Axit nucleic cấu tạo chủ yếu bởi N (1 - 16%), P (9 - 10%), phần còn lại là C, H, O. Căn cứ vào đường pentozơ trong phân tử mà axit nucleic được chia thành 2 loại: ADN (axit deoxiribonucleic, chứa deoxiribozơ) và ARN (axit ribonucleic, chứa ribozơ).

Các sản phẩm thuỷ phân của 2 loại axit nucleic này là như sau:





Tỷ lệ G + X ở các vi sinh vật khác nhau là có thể không giống nhau. Đây là một chỉ tiêu quan trọng được sử dụng trong phân loại vi sinh vật trong giai đoạn hiện nay.

**b. Hydrat cacbon** (cấu tạo bởi C, H, O) ở vi sinh vật có thể chia thành 3 nhóm:

- Monosaccarit:

+ Pentozơ : ribozơ, deoxiribozơ

+ Hexozơ : glucozơ, fructozơ, galactozơ

- Oligosaccarit:

+ Disaccarit : saccarozơ, lactozơ, maltozơ ...

+ Trisaccarit : rafinozơ ...

- Poligosaccarit : tinh bột, glixerin, dextrin, xenlulozơ, axit hialuronic ...

**c. Lipit** trong tế bào vi sinh vật thường có 2 nhóm: lipit đơn giản và lipit phức tạp (lipoit).

- Lipit đơn giản (este của glixerin và axit béo): chủ yếu là triaxinglixerol.

- Lipit phức tạp:

+ Photpholipit : chủ yếu là photphoglixerit ...

+ Glicolipit : galactozylglixerit, sulfoglucozylglixerit ...

Có những loại nấm men lượng lipid chứa tới 50 - 60% lipid. Photpholipit kết hợp với protein tạo thành lipoprotein. Chúng tham gia vào cấu trúc của màng tế bào chất, màng ti thể ...

d. Vitamin : Có sự khác nhau rất lớn trong nhu cầu của vi sinh vật. Có những vi sinh vật tự dưỡng chất sinh trưởng (auxoautotroph) chúng có thể tự tổng hợp ra các vitamin cần thiết. Nhưng cũng có nhiều loại vi sinh vật dị dưỡng chất sinh trưởng (auxoheterotroph), chúng đòi hỏi phải cung cấp ít hoặc nhiều loại vitamin khác nhau. Vai trò của một số vitamin trong hoạt động sống của vi sinh vật được hiểu tóm tắt như sau :

Bảng 2.6. Vai trò của vitamin đối với vi sinh vật

Vitamin	Dạng coenzim	Chức năng
Tiamin (avevrin, B <sub>1</sub> )	Tiamin pirophotphat (TPP)	Oxi hoá và khử cacboxyl các ketoaxit, chuyển nhóm aldeit
Riboflavin (lactoflavin, B <sub>2</sub> )	Flavinmononucleotit (FMN), flavin adenin dinucleotit (FAD)	Chuyển hydro
Axit pantotenic (B <sub>3</sub> )	Coenzim A	Oxi hoá ketoaxit và tham gia vào trao đổi chất của axit béo
Niaxin (a. nicotinic, nicotinamin, B <sub>5</sub> )	Nicotin adenin Dinucleotit (NAD) và NADP	Khử hydro và chuyển hydro
Piridoxin (pirdoxal, piridoxamin, B <sub>6</sub> )	Piridoxal photphat	Chuyển amin, khử amin, khử cacboxyl raxemin hoá axit amin
Biotin (B <sub>7</sub> , H) Axit folic (folaxin, B <sub>9</sub> , M, Bc ...)	Biotin Axit tetrahydrofolic	Chuyển CO <sub>2</sub> và nhóm cacboxilic Chuyển đơn vị 1 cacbon Chuyển CO <sub>2</sub> các nhóm cacboxilic
(Axit APAB paraaminobenzoic, B <sub>10</sub> )	Axit tetrahydrofolic	Chuyển đơn vị 1 cacbon
Xianocobalamin	Metilxianocobalamin	Chuyển nhóm metyl

(cobalamin, B <sub>12</sub> )		
Axit lipoic	Lipoamit	Chuyển nhóm axyl và nguyên tử hydro
Axit ascoctic (Vitamin C)		Là cofacto trong hydroxyl hoá
Ecgocanxiferol (Vitamin D <sub>2</sub> )	1,25 - dihidroxicole- canxiferol	Trao đổi canxi và photpho

### 2.1.2. Các nguồn dinh dưỡng chính của vi sinh vật

#### 2.1.2.1. Nguồn thức ăn cacbon của vi sinh vật

Căn cứ vào nguồn thức ăn cacbon mà người ta chia vi sinh vật thành các nhóm sinh lý sau đây:

\* Nhóm 1: Tự dưỡng

- Tự dưỡng quang năng. Nguồn C là CO<sub>2</sub>, nguồn năng lượng là ánh sáng.

- Tự dưỡng hoá năng. Nguồn C là CO<sub>2</sub>, nguồn năng lượng là một số hợp chất vô cơ đơn giản.

\* Nhóm 2: Dị dưỡng

- Dị dưỡng quang năng

Nguồn C là chất hữu cơ ..., nguồn năng lượng là ánh sáng, ví dụ ở vi khuẩn không lưu huỳnh màu tía.

- Dị dưỡng hoá năng:

Nguồn C là chất hữu cơ, nguồn năng lượng là từ sự chuyển hoá trao đổi chất của chất nguyên sinh của một cơ thể khác. Ví dụ ở động vật nguyên sinh, nấm, một số vi khuẩn.

- Hoại sinh:

Nguồn C là chất hữu cơ. Nguồn năng lượng là từ sự trao đổi chất của chất nguyên sinh các xác hữu cơ. Ví dụ ở nhiều nấm, vi khuẩn.

- Ký sinh :

Nguồn C là chất hữu cơ. Nguồn năng lượng là lấy từ các tổ chức hoặc dịch thể của một cơ thể sống. Ví dụ các vi sinh vật gây bệnh cho người, động vật, thực vật.

Như vậy là tùy nhóm vi sinh vật mà nguồn cacbon được cung cấp có thể là chất vô cơ ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CaCO}_3$  ...) hoặc chất hữu cơ. Giá trị dinh dưỡng và khả năng hấp thụ các nguồn thức ăn cacbon khác nhau phụ thuộc vào 2 yếu tố : một là thành phần hoá học và tính chất sinh lý của nguồn thức ăn này, hai là đặc điểm sinh lý của từng loại vi sinh vật. Trên thế giới hầu như không có hợp chất cacbon hữu cơ nào mà không bị hoặc nhóm vi sinh vật này hoặc nhóm vi sinh vật khác phân giải. Không ít vi sinh vật có thể đồng hóa được cả các hợp chất cacbon rất bền vững như cao su, chất dẻo, dầu mỡ, parafin, khí thiên nhiên. Ngay focmon là một hoá chất diệt khuẩn rất mạnh nhưng cũng có nhóm nấm sợi sử dụng làm thức ăn.

Nhiều chất hữu cơ vì không tan được trong nước hoặc vì có khối lượng phân tử quá lớn cho nên trước khi được hấp thụ, vi sinh vật phải tiết ra các enzym thuỷ phân (amilaza, xenlulaza, pectinaza, lipaza ...) để chuyển hoá chúng thành các hợp chất dễ hấp thụ (đường, axit amin, axit béo ...)

Người ta thường sử dụng đường để làm thức ăn cacbon khi nuôi cấy phần lớn các vi sinh vật dị dưỡng. Cần chú ý rằng đường đơn ở nhiệt độ cao có thể bị chuyển hoá thành loại hợp chất có màu tối gọi là đường cháy rất khó hấp thụ. Trong môi trường kiềm sau khi khử trùng đường còn dễ bị axit hoá và làm biến đổi pH môi trường. Để tránh các hiện tượng này khi khử trùng môi trường chứa đường người ta thường chỉ hấp ở áp lực 0,5 atm ( $112,5^\circ\text{C}$ ) và duy trì trong 30 phút. Với các loại đường đơn tốt nhất là nên sử dụng phương pháp hấp gián đoạn (phương pháp Tyndal) hoặc lọc riêng dung dịch đường (thường dùng nồng độ 20%) bằng nển lọc hoặc màng lọc vi khuẩn sau đó mới dùng thao tác vô trùng để bổ sung vào các môi trường đã khử trùng.

Khi chế tạo các môi trường chứa tinh bột trước hết phải hồ hoá tinh bột ở nhiệt độ  $60 - 70^\circ\text{C}$  sau đó đun sôi rồi mới đưa đi khử trùng ở nồi hấp áp lực.

Xenlulozơ được đưa vào các môi trường nuôi cấy vi sinh vật phân giải xenlulozơ dưới dạng giấy lọc, bông hoặc các loại bột xenlulozơ (cellulose powder, avicel ...)

Khi sử dụng lipit, parafin, dầu mỏ ... để làm nguồn cacbon nuôi cấy một số loại vi sinh vật phải thông khí mạnh để cho từng giọt nhỏ có thể tiếp xúc được với thành tế bào từng vi sinh vật.

Để nuôi cấy các loại vi sinh vật khác nhau người ta dùng các nồng độ đường không giống nhau. Với vi khuẩn, xạ khuẩn người ta thường dùng 0,5 - 0,2% đường còn đối với nấm men, nấm sợi lại thường dùng 3 - 10% đường.

Hầu hết vi sinh vật chỉ đồng hoá được các loại đường ở dạng đồng phân D. Cũng may là phần lớn các đồng phân của đường đơn trong tự nhiên đều là thuộc loại D chứ không phải loại L.

Các hợp chất hữu cơ chứa cả C và N (pepton, nước thịt, nước chiết ngô, nước chiết nấm men, nước chiết đại mạch, nước chiết giá đậu ...) có thể sử dụng vừa làm nguồn C vừa làm nguồn N đối với vi sinh vật.

Phạm vi đồng hoá các nguồn thức ăn cacbon của từng loài vi sinh vật cụ thể rất khác nhau. Có thực nghiệm cho thấy loài vi khuẩn *Pseudomonas cepacia* có thể đồng hoá trên 90 loại nguồn thức ăn cacbon khác nhau, trong khi đó các vi khuẩn sinh metan chỉ có thể đồng hoá được  $CO_2$  và vài loài hợp chất chứa 1C hoặc 2C mà thôi.

Với vi sinh vật dị dưỡng nguồn thức ăn cacbon làm cả hai chức năng : nguồn dinh dưỡng và nguồn năng lượng.

Một số vi khuẩn dị dưỡng, nhất là các vi khuẩn gây bệnh sống trong máu, trong các tổ chức hoặc trong ruột của người và động vật muốn sinh trưởng được ngoài nguồn cacbon hữu cơ còn cần phải được cung cấp một lượng nhỏ  $CO_2$  thì mới phát triển được.

Trong công nghiệp lên men nguồn ri đường là nguồn cacbon rẻ tiền và rất thích hợp sử dụng đối với nhiều loại vi sinh vật khác nhau.

*Bảng 2.7. Thành phần hoá học của ri đường mía và ri đường củ cải*

Thành phần	Tỷ lệ	Ri đường củ cải	Ri đường mía
Đường tổng số	%	48 - 52	48 - 56
Chất hữu cơ khác đường	%	12 - 17	9 - 12

Protein (N x 6,25)	%	6 - 10	2 - 4
Kali	%	2,0 - 7,0	1,5 - 5,0
Canxi	%	0,1 - 0,5	0,4 - 0,8
Magie	%	khoảng 0,09	khoảng 0,06
Photpho	%	0,02 - 0,07	0,6 - 2,0
Biotin	Mg/kg	0,02 - 0,15	1,0 - 3,0
Axit pantotenic	Mg/kg	50 - 110	15 - 55
Inozitol	Mg/kg	5000 - 8000	2500 - 6000
Tiamin	Mg/kg	khoảng 1,3	khoảng 1,8

### 2.1.2.2. Nguồn thức ăn Nitơ của vi sinh vật

Nguồn Nitơ dễ hấp thụ nhất đối với vi sinh vật là  $\text{NH}_3$  và  $\text{NH}_4^+$ . Trước đây có quan điểm cho rằng một số vi khuẩn không có khả năng đồng hoá muối amon. Quan điểm này không đúng. Ngày nay người ta cho rằng tất cả các loại vi sinh vật đều có khả năng sử dụng muối amon. Đôi khi có những loại vi sinh vật không phát triển được trên các môi trường chứa muối amon thì nguyên nhân không phải ở bản thân gốc  $\text{NH}_4^+$  mà là ở độ chua sinh lý do các muối này tạo ra. Sau khi đồng hóa gốc  $\text{NH}_4^+$  trong môi trường sẽ tích lũy các anion vô cơ ( $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  ...) và vì thế mà làm hạ thấp rất nhiều trị số pH của môi trường. Muối amon của các axit hữu cơ ít làm chua môi trường hơn do đó có lúc được sử dụng nhiều hơn (mặc dầu đắt hơn). Ure là nguồn thức ăn nitơ trung tính về mặt sinh lý. Khi bị phân giải bởi enzym ureaza, ure sẽ giải phóng thành  $\text{NH}_3$  và  $\text{CO}_2$ . Phần  $\text{NH}_3$  được vi sinh vật sử dụng mà không làm chua môi trường như đối với các muối amon :



Nhiều khi để nuôi cấy vi sinh vật bằng nguồn nitơ là ure người ta phải bổ sung thêm muối amon (như amon sunfat chẳng hạn). Sở dĩ như vậy là bởi vì phải có thức ăn nitơ dễ hấp thụ cho vi sinh vật phát triển đã thì mới có thể sản sinh ra được ureaza để thủy phân ure.

Cũng có loại vi sinh vật sở dĩ không phát triển được trên môi trường chỉ có nguồn thức ăn nitơ là muối amon không phải vì không đồng hoá được muối này mà là

do chúng đòi hỏi phải được cung cấp thêm một vài loại axit amin không thay thế nào đó.

Muối nitrat là nguồn thức ăn nitơ thích hợp đối với nhiều loại tảo, nấm sợi và xạ khuẩn nhưng ít thích hợp đối với nhiều loại nấm men và vi khuẩn. Sau khi vi sinh vật sử dụng hết gốc  $\text{NO}_3^-$  các ion kim loại còn lại ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ...) sẽ làm kiềm hoá môi trường. Để tránh hiện tượng này người ta thường sử dụng muối  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  để làm nguồn nitơ cho nhiều loại vi sinh vật. Tuy nhiên gốc  $\text{NH}_4^+$  thường bị hấp thụ nhanh hơn, rồi mới hấp thụ đến gốc  $\text{NO}_3^-$ .

Nguồn nitơ có dự trữ nhiều nhất trong tự nhiên là nguồn khí nitơ tự do ( $\text{N}_2$ ) trong khí quyển. Chúng chiếm tỷ lệ rất cao trong không khí (75,5% theo khối lượng hoặc 78,16% theo thể tích). Số lượng nitơ trong lớp khí quyển bên trên mỗi ha đất đai nhiều tới 85000 tấn, còn tổng số nitơ trong cả khí quyển là khoảng 4.000.000.000.000.000 tấn. Trong khí Nitơ ( $\text{N}_2$ ) hai nguyên tử N liên kết với nhau bằng 3 dây nối rất bền vững ( $\text{N} \equiv \text{N}$ ). Năng lượng của 3 dây nối này cao tới 225 kcal/M. Chính vì vậy mà  $\text{N}_2$  rất khó kết hợp với các nguyên tố khác và nitơ có rất nhiều chung quanh ta mà cả người, cả động vật lẫn cây trồng đều luôn luôn thiếu thốn thức ăn nitơ. Chẳng hạn ở nhà máy phân đạm hoá học, muốn làm cho  $\text{N}_2$  liên kết được với  $\text{N}_2$  để tạo thành  $\text{NH}_3$  người ta đã phải dùng một nhiệt độ là  $500^\circ\text{C}$  và một áp suất cao tới 350 atm.

Đa số vi sinh vật không có khả năng đồng hoá  $\text{N}_2$  trong không khí. Tuy nhiên có những vi sinh vật có thể chuyển hoá  $\text{N}_2$  thành  $\text{NH}_3$  nhờ hoạt động xúc tác của một hệ thống enzym có tên gọi là nitrogenaza. Người ta gọi các vi sinh vật này là vi sinh vật cố định nitơ (nitrogen - fixing microorganisms) còn quá trình này được gọi là quá trình cố định nitơ (nitrogen fixation). Chúng ta sẽ xem xét quá trình này ở một chương khác.

Vi sinh vật còn có khả năng đồng hoá rất tốt nitơ chứa trong các thức ăn hữu cơ. Các thức ăn này sẽ vừa là nguồn cacbon vừa là nguồn nitơ cung cấp cho vi sinh vật. Vi sinh vật không có khả năng hấp thụ trực tiếp các protein cao phân tử. Chỉ có các polipeptit chứa không quá 5 gốc axit amin mới có thể di truyền trực tiếp qua màng tế bào chất của vi sinh vật. Rất nhiều vi sinh vật có khả năng sản sinh proteaza xúc tác việc thủy phân protein thành các hợp chất phân tử thấp có khả năng xâm nhập vào tế bào vi sinh vật.



Nguồn nitơ hữu cơ thường được sử dụng để nuôi cấy vi sinh vật là pepton loại chế phẩm thủy phân không triệt để của một nguồn protein nào đấy. Chúng khác nhau về lượng chứa các loại polipeptit và lượng chứa axit amin tự do.

Về axit amin người ta nhận thấy có thể có ba quan hệ khác nhau đối với từng loại vi sinh vật. Có những loại vi sinh vật không cần đòi hỏi phải được cung cấp bất kỳ loại axit amin nào. Chúng có khả năng tổng hợp ra toàn bộ các axit amin mà chúng cần thiết từ  $\text{NH}_4^+$  và các chất hữu cơ không chứa nitơ. Người ta gọi nhóm vi sinh vật này là nhóm tự dưỡng amin. Có những loại vi sinh vật ngược lại bắt buộc phải được cung cấp một hoặc nhiều axit amin mà chúng cần thiết. Chúng không có khả năng tự tổng hợp ra được các axit amin này. Người ta gọi chúng là nhóm dị dưỡng amin. Loại thứ ba là loại các vi sinh vật không có các axit amin trong môi trường vẫn phát triển được, nhưng nếu có mặt một số axit amin nào đó thì sự phát triển của chúng sẽ được tăng cường hơn nhiều.

Nhu cầu về axit amin của các loại vi sinh vật khác nhau là rất khác nhau. Trong khi các loài động vật khác nhau rất xa thường cũng chỉ có nhu cầu giống nhau về các axit amin thì giữa các loài vi sinh vật rất giống nhau về hình thái và rất gần nhau về vị trí phân loại lại có thể đòi hỏi rất khác nhau về các axit amin. Các axit amin mà cơ thể sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp (cũng tức là các axit amin mà cơ thể sinh vật không tự tổng hợp được) gọi là các axit amin không thay thế. Danh sách các axit amin không thay thế đối với mỗi loài sinh vật được gọi là aminogram của loài ấy. Aminogram của vi sinh vật rất khác nhau. Nhiều loại vi khuẩn tùy thuộc nhóm dị dưỡng amin nhưng chỉ đòi hỏi 1 - 2 loại axit amin nào đó. Trong khi đó có loại vi sinh vật nếu không được cung cấp đầy đủ 17 - 18 loại axit amin thì không thể phát triển được. Không có các axit amin không thay thế chung cho tất cả các vi sinh vật. Cái là cần thiết với loại vi sinh vật này có thể là hoàn toàn không cần thiết đối với loại vi sinh vật khác.

Đối với đa số các loài vi khuẩn người ta thường nuôi cấy có thành phần như sau :

Pepton	5g
Cao thịt	3g
NaCl	8g
Nước cất	1000 ml

Nếu làm môi trường đặc thì bổ sung thêm 15 - 20g thạch (tùy theo chất lượng của thạch).

Tuy vậy có những vi sinh vật để nuôi cấy được ta phải chuẩn bị môi trường với rất nhiều thành phần khác nhau.

Các đồng phân axit amin dãy D thường không được vi sinh vật hấp thụ. Chúng thường mạnh tính độc tính đối với tế bào. Người ta biết các D - axit amin có thể có mặt trong một số loại chất kháng sinh (như gramixidin, polimixin, actonomixin ...). Chỉ có một số loại nấm mốc có chứa enzym raxemaza mới có khả năng chuyển hoá D - axit amin thành L -axit amin.

Để tìm hiểu mối quan hệ với axit amin của một chủng vi sinh vật nào đó trước hết người ta cấy chủng vi sinh vật này lên một môi trường dinh dưỡng có nguồn Nitơ duy nhất là muối amon. Nếu chúng phát triển được thì chúng tỏ chúng thuộc nhóm tự dưỡng amin. Nếu chúng không phát triển được và sau khi bổ sung hỗn dịch axit amin (dịch thủy phân casein có trộn thêm triptophan) lại phát triển tốt chứng tỏ chúng thuộc nhóm dị dưỡng amin. Nếu bổ sung hỗn dịch axit amin rồi mà chúng vẫn không phát triển được thì phải tìm xem còn những nhu cầu nào khác chưa được đáp ứng (về nguồn cacbon, về vitamin, về chất khoáng, về pH, về thế ôxi hoá khử của môi trường).

Muốn biết rõ mối quan hệ của một chủng vi sinh vật với từng loại axit amin riêng biệt, người ta phải sử dụng những môi trường có chứa đầy đủ nguồn thức ăn cacbon, khoáng, vitamin (ở dạng hoá chất tinh khiết) nhưng không chứa axit amin. Lần lượt bổ sung từng loại axit amin vào môi trường và theo dõi ảnh hưởng của chúng đối với sự phát triển của chủng vi sinh vật này. Cũng có thể dựa vào môi trường một hỗn dịch đầy đủ các axit amin và các hỗn dịch đã loại bỏ mộ cách phân biệt từng axit amin một. Theo dõi sự phát triển của vi sinh vật sẽ xác định được nhu cầu của chúng đối với từng loại axit amin.

Kết quả thực nghiệm trình bày trong bảng dưới đây cho thấy trong số các vi sinh vật dị dưỡng amin tùy loài, thậm chí tùy từng typ khác nhau, mà có những mối quan hệ rất khác nhau đối với các axit amin.

Nói chung các vi khuẩn gây bệnh, vi khuẩn gây thối, vi khuẩn lactic (sống trong sữa) ... thường đòi hỏi phải được cung cấp nhiều axit amin có sẵn. Các loài vi khuẩn thường sống trong đất (*Azotobacter*, *Clostridium pasteurianum*, các vi khuẩn tự dưỡng hoá năng ...) có khả năng tự tổng hợp tất cả các axit amin cần thiết đối với chúng. Nấm

mốc, nấm men và xạ khuẩn cũng thường không đòi hỏi các axit amin có sẵn. Tuy nhiên sự có mặt của các axit amin trong môi trường sẽ làm nâng cao tốc độ phát triển của chúng.

Bảng 2.8. Mối quan hệ của VSV với các axit amin khác nhau

Loại axit amin	LOẠI SINH VẬT						
	Động vật có vú	<i>Staphy- lococcus gây tan máu</i>	<i>Lacto- bacterium casei</i>	<i>Streptococ- us faecalis</i>	<i>Corynebacterium diphtheria</i>		<i>Staphy- tococcus aureus</i>
					HY	PW8	
Lizin	+	+	(+)	+	-	-	-
Acginin	(+)	+	+	+	-	-	-
Histidin	+	+	(+)	-	+	-	-
Phenylatanin	+	+	+	-	+	-	-
Tirozin	-	+	+	(+)	-	-	-
Triptophan	+	+	+	+	+	-	+
Prolin	-	+	-	-	-	-	-
Glixin	-	+	-	+	+	-	-
Alanin	-	+	(+)	+	-	-	-
Valin	+	+	+	-	+	+	-
Loxin	+	+	+	+	-	+	-
Izoloxin	+	+	(+)	+	-	-	-
Xerin	-	+	+	+	-	-	-
Treonin	+	+	(+)	+	-	-	-
Xixtein	-	+	+	(+)	+	+	-
Metionin	+	+	(+)	-	+	+	+
Axit asparaginic	-	+	+	+	-	-	-
Axit glutamic	-	-	+	+	+	+	-

**Ghi chú :** + : Cần thiết  
 - : Không cần thiết  
 (+) : Có tác dụng kích thích

Nhiều loại vi sinh vật có khả năng dùng một loại axit amin nào đó làm nguồn thức ăn nitơ duy nhất. Chúng sẽ phân giải axit amin này thành  $\text{NH}_3$  rồi sau đó tự tổng hợp nên hàng loạt các axit amin khác.

Có những chủng vi sinh vật biểu hiện mối quan hệ rất mật thiết giữa nồng độ của một axit amin nào đó trong môi trường và mức độ phát triển của chúng. Người ta gọi chúng là những vi sinh vật chỉ thị và dùng chúng trong việc định lượng axit amin.

### **2.1.2.3. Nguồn thức ăn khoáng của vi sinh vật**

Khi sử dụng các môi trường thiên nhiên để nuôi cấy vi sinh vật người ta thường không cần thiết bổ sung các nguyên tố khoáng. Trong nguyên liệu dùng làm các môi trường này (khoai tây, nước thịt, sữa, huyết thanh, pepton, giá đậu ...) thường có chứa đủ các nguyên tố khoáng cần thiết đối với vi sinh vật. Ngược lại khi làm các môi trường tổng hợp (dùng nguyên liệu là hoá chất) bắt buộc phải bổ sung đủ các nguyên tố khoáng cần thiết. Những nguyên tố khoáng mà vi sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp với liều lượng lớn được gọi là các nguyên tố đại lượng. Còn những nguyên tố khoáng mà vi sinh vật chỉ đòi hỏi với những liều lượng rất nhỏ được gọi là các nguyên tố vi lượng.

Nồng độ cần thiết của từng nguyên tố vi lượng trong môi trường thường chỉ vào khoản  $10^{-6}$  -  $10^{-8}\text{M}$ .

Hàm lượng các chất khoáng chứa trong nguyên sinh chất vi sinh vật thường thay đổi tùy loài, tùy giai đoạn phát triển và tùy điều kiện nuôi cấy. Thành phần khoáng của tế bào các loài vi sinh vật khác nhau thường là chênh lệch nhau rất nhiều. Chẳng hạn có nghiên cứu (Mesrobiana và Peuneska, 1963) cho biết thành phần khoáng ở một số vi khuẩn gây bệnh như sau (% chất khoáng) :

$\text{P}_2\text{O}_5$	4,93 - 74,38	$\text{Na}_2\text{O}$	0,2 - 28,08
$\text{K}_2\text{O}$	2,4 - 39,8	Cl	0,03 - 43,69
$\text{SO}_3$	0,5 - 28,8	MgO	0,12 - 12,0
CaO	0,3 - 14,0		

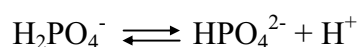
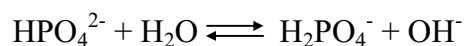
Nhu cầu của vi sinh vật cũng không giống nhau đối với tùy loài, tùy giai đoạn phát triển. Người ta nhận thấy nồng độ cần thiết về các muối khoáng đối với vi khuẩn, nấm và xạ khuẩn thường thay đổi trong các phạm vi sau đây :

Bảng 2.9. Nồng độ cần thiết về muối khoáng của vi sinh vật

Muối khoáng	Nồng độ cần thiết (g/l)	
	Đối với vi khuẩn	Đối với nấm và xạ khuẩn
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,2 - 0,5	1 - 2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2 - 0,5	1 - 2
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,1 - 0,2	0,2 - 0,5
MnSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0,005 - 0,01	0,02 - 0,1
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,005 - 0,01	0,05 - 0,02
Na <sub>2</sub> MO <sub>4</sub>	0,001 - 0,05	0,01 - 0,02
ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	-	0,02 - 0,1
CoCl <sub>2</sub>	tới 0,03	tới 0,06
CaCl <sub>2</sub>	0,01 - 0,03	0,02 - 0,1
CaSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0,001 - 0,005	0,01 - 0,05

Thành phần môi trường có thể thay đổi tùy theo một sự tính toán nào đó để sao cho nồng độ chung của mỗi cation hoặc mỗi anion phù hợp với số lượng đã nêu lên trong bảng nói trên.

- P bao giờ cũng chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các nguyên tố khoáng của tế bào vi sinh vật (nhiều khi P chiếm đến 50% so với tổng số chất khoáng). P có mặt trong cấu tạo của nhiều thành phần quan trọng của tế bào (axit nucleic, photphoprotein, photpholipit, nhiều coenzim quan trọng như ADP, ATP, UDP, UTP, XDP, XTP, NAD, NADP, Flavin ... ; một số vitamin như tiamin, biotin ...) Để đảm bảo nguồn dinh dưỡng photpho, người ta thường sử dụng các loại photphat vô cơ. Việc bổ sung photphat (nhất là photphat kali) vào các môi trường dinh dưỡng ngoài tác dụng cung cấp P còn có tác dụng tạo ra tính đệm của môi trường. Với các tỷ lệ thích hợp hỗn hợp muối KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> và K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> có thể tạo ra những mức pH ổn định trong khoảng pH = 4,5 - 8,0 trong môi trường axit K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sẽ tạo ra ion H<sup>+</sup> :



- S cũng là một nguyên tố khoáng quan trọng trong tế bào vi sinh vật. S có mặt trong một số axit amin (xixtin, xixtein, metionin), một số vitamin (biton, tiamin ...). xixtin, xixtein và một tripeptit là glutation không những tham gia vào cấu trúc protein mà còn có vai trò quan trọng trong các quá trình oxi hoá khử. Việc chuyển nhóm sunphidrin thành nhóm disunphit có vai trò rất lớn trong quá trình chuyển điện tử từ nguyên liệu hô hấp đến oxi phân tử.



Các hợp chất hữu cơ có chứa lưu huỳnh ở dạng oxi hoá thường có tác dụng độc đối với tế bào vi sinh vật (có thể kể tới trường hợp streptoxit và các sunphamit khác). Trong khi đó các muối sunphat vô cơ với nguyên tử lưu huỳnh cũng ở trạng thái oxi hoá thì lại được cơ thể vi sinh vật đồng hoá rất tốt. Một số vi sinh vật có thể dùng cả  $S_2O_3^{2-}$  (tiosunphat) làm nguồn thức ăn lưu huỳnh. Một số vi sinh vật khác lại đòi hỏi các thức ăn chứa lưu huỳnh ở dạng khử ( $H_2S$ , xixtin, xixtein ...)

- Fe là nguyên tố rất cần thiết để giúp vi sinh vật có thể tổng hợp một số men loại pocphirin chứa sắt (như xitocrom, xitocromoxidaza, peroxidaza, catataza ...). Nguyên tử nitơ của 4 nhân piron nhờ các liên kết hoá học thông thường là các liên kết hoá học phụ. Một số vi sinh vật tự dưỡng quang năng còn sử dụng sắt để tổng hợp ra các sắc tố quang hợp có cấu trúc pocphirin (clorophin, bacterioclorophin).

- Mg là nguyên tố được vi sinh vật đòi hỏi cũng với lượng khá cao ( $10^{-3}$  -  $10^{-4}$ M). Mg mang tính chất một cofacto, chúng tham gia vào nhiều phản ứng enzym có liên quan đến các quá trình photphoryl hoá (chuyển  $H_3PO_4$  từ một hợp chất hữu cơ này sang một hợp chất hữu cơ khác).  $Mg^{2+}$  có thể làm hoạt hoá các hexokinaza, ATP-aza, pirophotphataza, photphopheraza, transaxetylaza, photphoglucomutaza, cacboxylaza, enolaza, các men trao đổi protein, các men oxi hoá khử của chu trình Krebs (tất cả khoảng trên 80 enzym khác nhau).  $Mg^{2+}$  còn có vai trò quan trọng trong việc làm liên kết các tiểu phần riboxom với nhau.

- Ca mặc dầu là nguyên tố ít tham gia vào việc xây dựng nên các hợp chất hữu cơ nhưng nó có vai trò đáng kể trong việc xây dựng các cấu trúc tinh vi của tế bào. Canxi đóng vai trò cầu nối trung gian giữa nhiều thành phần quan trọng của tế bào sống (như giữa ADN và protein trong nhân, giữa các nucleotit với nhau, giữa ARN và protein trong riboxom). Canxi rất cần thiết đối với việc hình thành các cấu trúc không gian ổn định của nhiều bào quan như riboxom, ti thể, nhân ...

- Zn cũng là một cofacto tham gia vào nhiều quá trình enzym. Zn có tác dụng đáng kể trong việc hoạt hoá các enzym như cacboanhidraza, enolaza, photphataza kiềm, pirôphataza, loxitinaza ..

- Mn có chứa trong một số enzym hô hấp. Mn cũng có vai trò quan trọng trong việc làm hoạt hoá một số enzym như photphomonoesteraza, cacboxylaza, ATP-aza, hidroxlamin reductaza, acginaza, aminopeptidaza, enolaza, photphoglucomutaza ...

Việc hoạt hoá các enzym không phải lúc nào cũng mang tính chất đặc hiệu. Lấy ví dụ như enzym izoxitratliaza (tách từ vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*) có thể được hoạt hoá bởi nhiều ion khác nhau ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  hoặc  $Co^{2+}$ ). Có trường hợp một ion kim loại này lại có tác dụng đối với một ion kim loại khác. Chẳng hạn ion  $Na^+$  có thể làm ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus casei* nhưng tác dụng ức chế này có thể bị mất đi nếu bổ sung thêm vào môi trường các ion  $K^+$  chắc rằng đã có sự cạnh tranh giữa hai ion này trong việc liên kết với các enzym hoặc coenzim.

Cũng có những nguyên tố hoá học ta chưa hiểu rõ về vai trò sinh lý của chúng. Trong số các nguyên tố này phải kể đến Kali.

- K là nguyên tố chiếm một tỷ lệ khá cao trong thành phần khoáng của tế bào vi sinh vật, nhưng cho đến nay người ta chưa thấy Kali tham gia vào bất kỳ thành phần nào của nguyên sinh chất, cũng chưa tìm thấy bất kỳ enzym nào có chứa K. Người ta nhận thấy Kali thường tồn tại trong dạng ion  $K^+$  ở mặt ngoài cấu trúc tế bào. Kali làm tăng độ ngậm nước của các hệ thống keo do đó ảnh hưởng đến các quá trình trao đổi chất, nhất là các quá trình tổng hợp. Kali có thể còn tham gia vào quá trình tổng hợp một số vitamin (như tiamin ...) và có những ảnh hưởng đáng kể đến quá trình hô hấp của tế bào vi sinh vật.

- Na và Cl cũng là các nguyên tố mà nhiều vi sinh vật đòi hỏi với lượng không nhỏ, nhưng cho đến nay người ta vẫn còn biết rất ít về vai trò sinh lý của chúng. Hàm lượng Na và Cl đặc biệt cao trong tế bào các vi sinh vật ưa mặn sống trong nước biển, đất vùng ven biển hoặc sống trên các loại thực phẩm ướp mặn. Các vi sinh vật có thể được chia thành 3 nhóm : nhóm ưa mặn, thích hợp phát triển trên môi trường chứa 2 - 5% (khối lượng : thể tích) NaCl, nhóm ưa mặn vừa, thích hợp phát triển trên môi trường chứa 5 - 20% NaCl và nhóm ưa mặn cao, thích hợp phát triển trên môi trường chứa đến 20 - 30% NaCl.



Bình thường khi nuôi cấy vi sinh vật, người ta không cần bổ sung các nguyên tố vi lượng. Những nguyên tố này thường có sẵn trong nước máy, trong các hoá chất dùng làm môi trường hoặc có lẫn ngay trong thuỷ tinh của các dụng cụ nuôi cấy. Trong một số trường hợp cụ thể người ta phải bổ sung các nguyên tố vi lượng vào môi trường nuôi cấy vi sinh vật. Chẳng hạn bổ sung Zn vào các môi trường nuôi cấy nấm mốc, bổ sung Co vào các môi trường nuôi cấy vi sinh vật tổng hợp vitamin B<sub>12</sub>, bổ sung B và Mo vào môi trường nuôi cấy các vi sinh vật cố định đạm ...

Sự tồn tại một cách dư thừa các nguyên tố khoáng là không cần thiết và có thể dẫn đến những ảnh hưởng xấu. Chẳng hạn việc thừa P có thể làm giảm thấp hiệu suất tích lũy một số chất kháng sinh, thừa Fe sẽ làm cản trở quá trình tích lũy vitamin B<sub>2</sub> hoặc vitamin B<sub>12</sub>.

#### **2.1.2.4. Nhu cầu về chất sinh trưởng của vi sinh vật**

Vấn đề một số vi sinh vật muốn phát triển cần phải được cung cấp những chất sinh trưởng nào đó thật ra đã được L. Pasteur phát hiện từ khoảng các năm 1859 - 1864. Pasteur nuôi cấy vi sinh vật trên các môi trường chứa thức ăn cacbon (đường, rượu, axit hữu cơ), muối amon và một số muối khoáng khác. Ông nhận thấy vi sinh vật phát triển rất yếu. Nhưng nếu bổ sung thêm một ít nước chiết các nguyên liệu thiên nhiên vào các môi trường nói trên thì sự phát triển của vi sinh vật sẽ tăng lên rất nhiều.

Về bản chất thì hiện nay ta đã xác định được phần lớn các vitamin là những thành phần của coenzim. Những hợp chất hữu cơ có bản chất phi protein tham gia vào những biến đổi do enzym xúc tác với tính chất là những yếu tố phù hợp không thể thiếu được.

Tuy nhiên, khái niệm “chất sinh trưởng” đối với vi sinh vật không hoàn toàn giống như khái niệm “vitamin” đối với cơ thể người và động vật. Đối với vi sinh vật thì chất sinh trưởng là một khái niệm rất linh động. Nó chỉ có ý nghĩa là những chất hữu cơ cần thiết đối với hoạt động sống mà một loại vi sinh vật nào đó không tự tổng hợp được ra chúng từ các chất khác.

Tùy thuộc vào khả năng sinh tổng hợp của từng loài vi sinh vật mà cùng một chất có thể là hoàn toàn không cần thiết (nếu vi sinh vật này tự tổng hợp nó) có thể là có tác dụng kích thích sinh trưởng (nếu vi sinh vật nào tự tổng hợp được nhưng nhanh chóng tiêu thụ hết) hoặc có thể là rất cần thiết đối với quá trình sinh trưởng phát triển, giống như là trường hợp các vitamin đối với người và động vật (nếu vi sinh vật này hoàn toàn không có khả năng tự tổng hợp được ra nó).

Như vậy là những chất được coi là chất sinh trưởng của loại vi sinh vật này hoàn toàn có thể không phải là chất sinh trưởng đối với một loại vi sinh vật khác. Hầu như không có chất nào là chất sinh trưởng chung đối với tất cả các loại vi sinh vật.

Đặc điểm của môi trường sống một mặt ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp chất sinh trưởng của vi sinh vật, mặt khác ảnh hưởng đến đặc điểm trao đổi chất của chúng. Chính thông qua các ảnh hưởng này mà môi trường sống của từng loại vi sinh vật đã góp phần quyết định nhu cầu của chúng về các chất sinh trưởng. Khi sống lâu dài trong các môi trường thiếu các chất sinh trưởng, vi sinh vật sẽ dần dần tạo ra được khả năng tự tổng hợp các chất sinh trưởng mà chúng cần thiết. Mặt khác do sống trong các điều kiện môi trường khác nhau, các loại vi sinh vật sẽ có thể có những kiểu trao đổi chất khác nhau cũng có nghĩa là đòi hỏi các hệ thống enzym khác nhau (do đó đòi hỏi các chất sinh trưởng khác nhau). Việc một loại vi sinh vật không đòi hỏi một chất sinh trưởng nào đó có thể do hai nguyên nhân : một là vi sinh vật này không tự tổng hợp ra được chất sinh trưởng đó, hai là trong quá trình trao đổi chất của loại vi sinh vật này không có sự tham gia của loại coenzim chứa chất sinh trưởng đó.

Cùng một loài sinh vật nhưng nếu nuôi cấy trong các điều kiện khác nhau cũng có thể có những nhu cầu khác nhau về chất sinh trưởng. Chẳng hạn nấm mốc *Mucor rouxii* được chứng minh là chỉ cần biotin và tiamin khi phát triển trong điều kiện kỵ khí. Khi nuôi cấy trong điều kiện hiếu khí, chúng sẽ tự tổng hợp ra được các chất sinh trưởng này. Điều kiện pH và nhiệt độ của môi trường nhiều khi cũng ảnh hưởng rõ rệt đến nhu cầu và chất sinh trưởng của vi sinh vật. Sự có mặt của một số chất dinh dưỡng có khi cũng ảnh hưởng đến nhu cầu và chất sinh trưởng của vi sinh vật. Chẳng hạn việc đòi hỏi axit pantotenic của một số vi sinh vật (ví dụ vi khuẩn bạch hầu *Corynebacterium diphtheriae*) có thể thoả mãn khi chỉ cần cung cấp cho chúng  $\beta$ -alanin. Chúng có thể tự tổng hợp được axit pnatonic mà như chúng ta đã biết axit pnatonic cấu tạo từ axit pnatonic và  $\beta$ -alanin.

Những sinh vật nào có thể tự túc về mặt chất sinh trưởng được gọi là các vi sinh vật «tự dưỡng chất sinh trưởng», còn ngược lại những vi sinh vật đòi hỏi phải được cung cấp một hoặc nhiều chất sinh trưởng được gọi là các vi sinh vật «dị dưỡng chất sinh trưởng». Hoặc có thể dùng thêm một khái niệm khác là : Tất cả các vi sinh vật dị dưỡng amin và dị dưỡng chất sinh trưởng được xếp chung vào nhóm « dinh dưỡng chất sinh trưởng » còn tất cả các vi sinh vật có thể phát triển được mà không cần đòi

hỏi bất kỳ một axit amin hoặc một chất sinh trưởng nào thì được xếp vào nhóm «nguyên sinh dưỡng».

Thông thường các chất được coi là chất sinh trưởng đối với một loại nào đó có thể thuộc về một trong các loại sau đây : các gốc kiềm purin, pirimidin và các dẫn xuất của chúng, các axit béo và các thành phần của màng tế bào, các vitamin thông thường ...

### **2.1.3. Các kiểu dinh dưỡng ở vi sinh vật**

Vi sinh vật có thể sử dụng các nguồn cơ chất rất khác nhau để tồn tại và phát triển. Bởi vậy có rất nhiều kiểu dinh dưỡng khác nhau dựa vào nguồn chất dinh dưỡng hoặc dựa vào kiểu trao đổi năng lượng.

#### **2.1.3.1. Dựa vào nguồn chất dinh dưỡng**

+ Nguồn dinh dưỡng cacbon

##### a. Tự dưỡng cacbon :

Các vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này có khả năng đồng hoá  $\text{CO}_2$  hoặc các muối cacbonat để tạo nên các hợp chất cacbon hữu cơ của cơ thể. Một số loài như vi khuẩn nitrat hoá chỉ có thể sống trên nguồn cacbon vô cơ là  $\text{CO}_2$  hoặc muối cacbonat gọi là tự dưỡng bắt buộc. Một số có khả năng sống trên nguồn cacbon vô cơ hoặc hữu cơ gọi là tự dưỡng không bắt buộc.

##### b. Dị dưỡng cacbon

Các vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này không có khả năng đồng hoá các hợp chất cacbon vô cơ như  $\text{CO}_2$ , muối cacbonat. Nguồn dinh dưỡng cacbon bắt buộc đối với chúng phải là các hợp chất hữu cơ, thường là các loại đường đơn.

Nhóm này lại được chia làm 2 nhóm dựa vào nhu cầu các chất hữu cơ : nhóm Prototroph chỉ yêu cầu một nguồn đường duy nhất và các loại muối khoáng. Nhóm Auxotroph ngoài đường và các loại muối khoáng còn đòi hỏi các chất sinh trưởng nhất định như vitamin, axit amin hay các bazơ purin hoặc purimidin.

+ Nguồn dinh dưỡng nitơ :

##### c. Tự dưỡng amin

Các vi sinh vật thuộc nhóm tự dưỡng amin có khả năng tự tổng hợp các axit amin của cơ thể từ các nguồn nitơ vô cơ hoặc hữu cơ, các muối amon của axit hữu cơ thích hợp hơn muối amôn của axit vô cơ. Vì ở các muối amôn vô cơ, sau khi phân  $\text{NH}_4^+$  được vi sinh vật hấp thụ, phần anion còn lại như  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  sẽ kết hợp với ion  $\text{H}^+$  có trong môi trường tạo thành các axit làm cho pH môi trường giảm xuống. Thuộc

nhóm tự dưỡng amin bao gồm một số nhóm như nhóm vi khuẩn cố định nitơ, nhóm vi khuẩn amôn hoá, nitrat hoá v.v...

#### d. Di dưỡng amin

Các vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này không có khả năng tự tổng hợp các axit amin cho cơ thể mà phải hấp thụ các axit amin có sẵn từ môi trường. Thuộc nhóm này gồm có các vi khuẩn ký sinh và các vi khuẩn gây thối háo khí. Chúng có khả năng tiết ra men poteaza để phân huỷ phân tử protein thành các axit amin rồi hấp thụ vào tế bào.

#### **2.1.3.2. Dựa vào nguồn năng lượng**

Dựa vào nguồn năng lượng người ta còn chia các kiểu dinh dưỡng của vi sinh vật ra các loại sau :

##### + Dinh dưỡng quang năng (quang dưỡng)

Vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng sử dụng trực tiếp năng lượng của ánh sáng mặt trời. Thuộc nhóm này lại có 2 nhóm nhỏ :

a. Dinh dưỡng quang năng vô cơ : còn gọi là tự dưỡng quang năng. Vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng dùng các chất vô cơ ngoại bào để làm nguồn cung cấp electron cho quá trình tạo năng lượng của tế bào. Thuộc nhóm này bao gồm các loại vi khuẩn lưu huỳnh. Chúng sử dụng các hợp chất lưu huỳnh làm nguồn cung cấp electron trong các phản ứng tạo thành ATP của cơ thể.

##### b. Dinh dưỡng quang năng hữu cơ :

Vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng dùng các chất hữu cơ làm nguồn cung cấp electron cho quá trình hình thành ATP của tế bào.

Vi sinh vật thuộc cả 2 nhóm trên đều có sắc tố quang hợp, chính nhờ sắc tố quang hợp mà vi sinh vật thuộc nhóm này có khả năng hấp thụ năng lượng mặt trời, chuyển hoá thành năng lượng hoá học tích trữ trong phân tử ATP. Sắc tố quang hợp ở vi khuẩn không phải chlorofil như ở cây xanh mà bao gồm nhiều loại khác nhau như Bacterilchlorofil a, b, c, d ... mỗi loại có một phổ hấp thụ ánh sáng riêng.

##### + Dinh dưỡng hoá năng (hoá dưỡng)

Vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng hoá năng có khả năng sử dụng năng lượng chứa trong các hợp chất hoá học có trong môi trường để tạo thành nguồn năng lượng của bản thân.

##### c. Dinh dưỡng hoá năng vô cơ

Vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng hoá năng vô cơ còn gọi là nhóm tự dưỡng hoá năng.

Nó có khả năng sử dụng năng lượng sinh ra trong quá trình ôxy hoá một chất vô cơ nào đó để đồng hóa  $\text{CO}_2$  trong không khí tạo thành các chất hữu cơ của tế bào. Trong trường hợp này chất cho electron là chất vô cơ, chất nhận electron là oxy hoặc một chất vô cơ khác.

Trong số các vi khuẩn háo khí thuộc nhóm này có *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Thiobacillus* ..., vi khuẩn kỵ khí gồm có : *Thiobacillus denitrificant*, *Micrococcus denitroficans* ...

#### d. Dinh dưỡng hoá năng hữu cơ

Vi sinh vật thuộc kiểu dinh dưỡng này còn gọi là nhóm dị dưỡng hoá năng. Chúng sử dụng hợp chất hữu cơ trong môi trường làm cơ chất oxy hoá sinh năng lượng. Trong trường hợp này, chất cho electron là chất hữu cơ. Chất nhận electron ở những vi sinh vật háo khí là oxy, ở những vi sinh vật kỵ khí là chất hữu cơ hoặc vô cơ. Ở trường hợp chất nhận electron là chất hữu cơ người ta thường gọi là quá trình lên men. Trường hợp chất nhận electron là chất vô cơ người ta mới chỉ phát hiện ở 2 loại vi khuẩn : vi khuẩn phản natri hoá, chất nhận điện tử là  $\text{NO}_3^-$ , vi khuẩn phản sunfat hoá chất nhận điện tử là  $\text{SO}_4^{2-}$ . Hai trường hợp này còn gọi là hô hấp nitrat và hô hấp sunfat.

Bảng 2.10. Các kiểu dinh dưỡng ở vi sinh vật

Kiểu dinh dưỡng	Nguồn năng lượng	Nguồn cacbon chủ yếu	Ví dụ
1. Quang tự dưỡng	Ánh sáng	$\text{CO}_2$	Tảo, các vi khuẩn quang hợp
2. Quang dị dưỡng	Ánh sáng	Chất hữu cơ	Vi khuẩn tía, vi khuẩn lục
3. Hoá tự dưỡng	Chất vô cơ ( $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{H}_2$ , $\text{H}_2\text{S}$ , $\text{Fe}^{2+}$ ..)	$\text{CO}_2$	Vi khuẩn nitrat hoá, vi khuẩn ôxi hoá lưu huỳnh, vi khuẩn hiđrô ...
4. Hoá dị dưỡng	Chất hữu cơ	Chất hữu cơ	Hầu hết vi sinh vật

#### 2.1.4. Cơ chế vận chuyển thức ăn vào tế bào vi sinh vật

Trong quá trình sống vi sinh vật thường xuyên hấp thụ các chất dinh dưỡng từ môi trường và thải các sản phẩm trao đổi chất vào môi trường. Màng tế bào chất chính là nơi điều chỉnh sự ra vào của các chất khác nhau. Có hai cơ chế chính trong việc vận chuyển các chất qua màng.

#### 1. Khuếch tán đơn giản:

Các chất đi qua màng theo cơ chế này dựa trên sự chênh lệch nồng độ hoặc sự chênh lệch điện thế giữa hai phía của màng. Sự khuếch tán này không cần đến năng lượng của tế bào. Chỉ có một số chất đi qua màng theo cơ chế này: nước,  $O_2$ ,  $CO_2$ , axit béo và một số chất tan trong lipid.

#### 2. Khuếch tán xúc tiến: Tức là vận chuyển nhờ Pecmeaza:

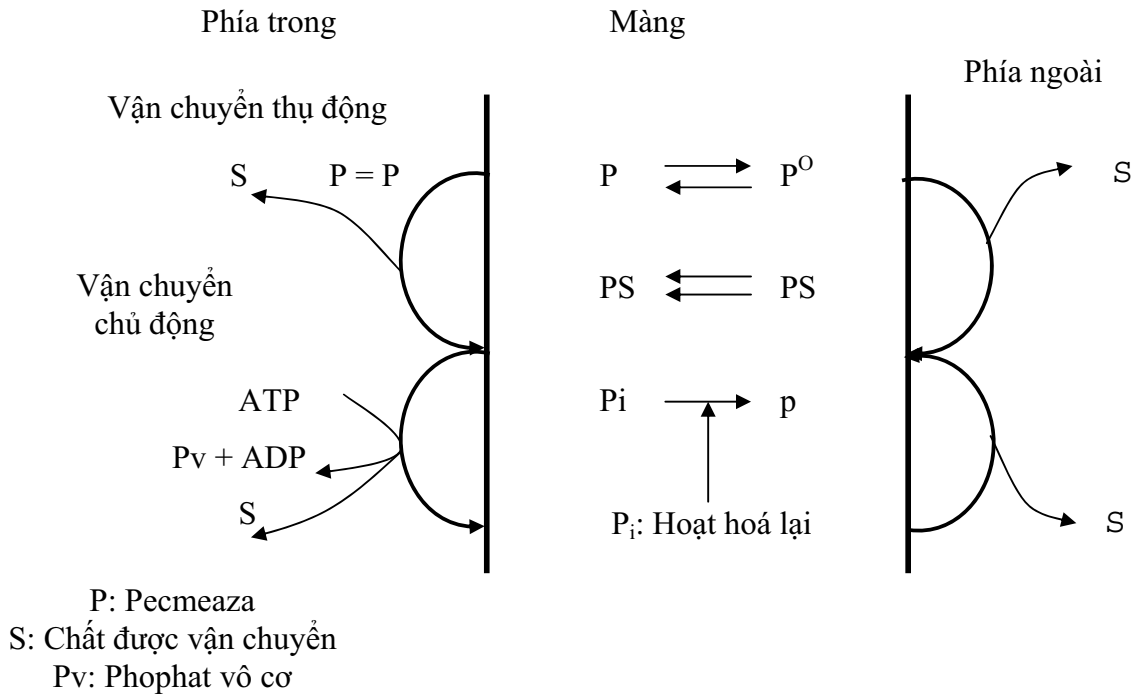
Theo cơ chế vận chuyển này, các chất đi qua màng phải được liên kết với phân tử vận chuyển gọi là Pecmeaza có bản chất protein. Có hai loại vận chuyển nhờ Pecmeaza:

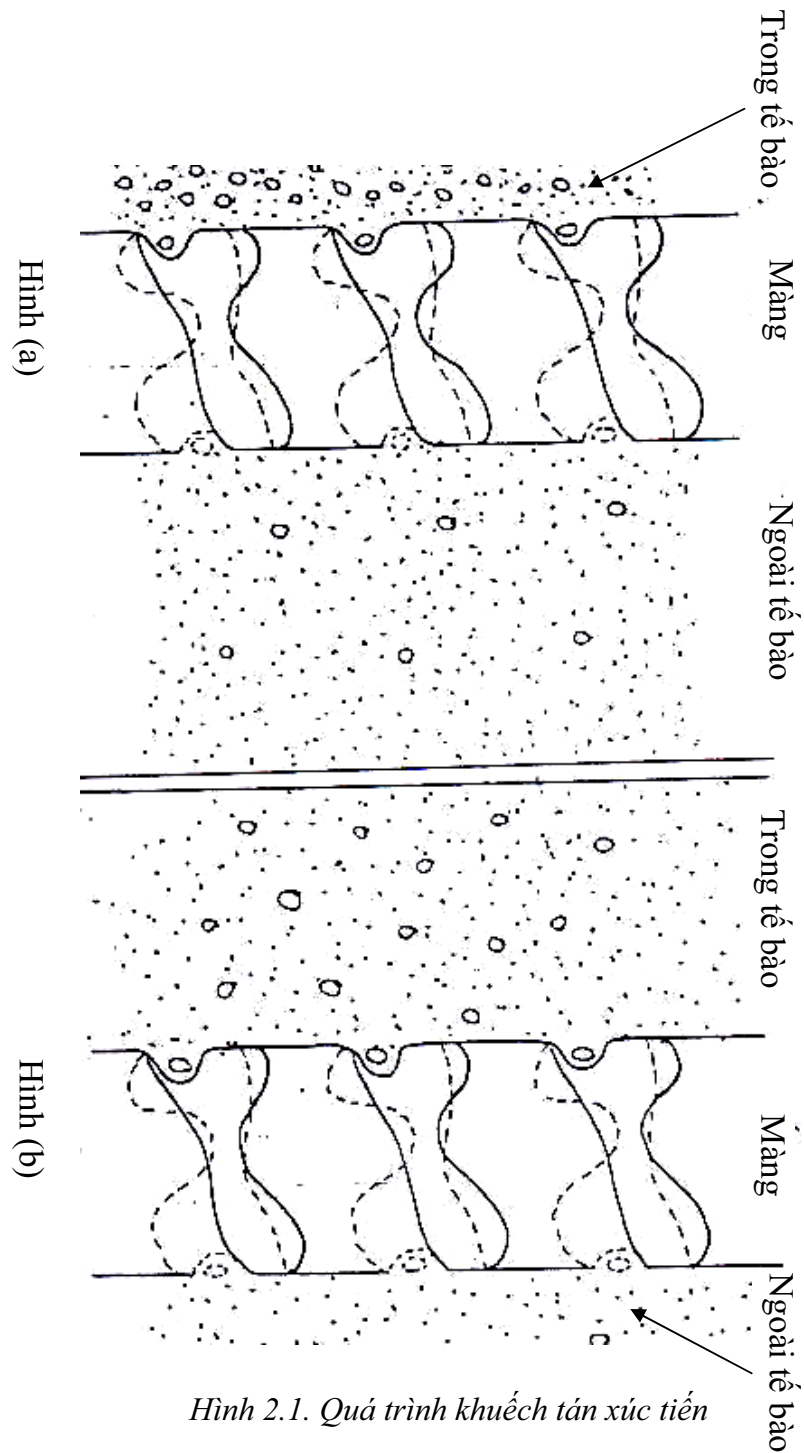
##### a. Vận chuyển thụ động:

Kiểu vận chuyển này không tiêu tốn năng lượng của tế bào. Các chất hoà tan (S) liên kết thuận nghịch với phân tử Pecmeaza (P) thành phức hợp “chất hoà tan - Pecmeaza”, PS phức hợp này đi qua màng nhờ sự chênh lệch nồng độ của chất hoà tan đó. Kiểu vận chuyển này còn gọi là vận chuyển "xuôi dòng". Trong sự vận chuyển thụ động P được di động thuận nghịch hoặc ở dạng đơn độc (P) hoặc ở dạng phức hợp với S (PS), hướng di chuyển của S phụ thuộc vào nồng độ của S ở hai phía của màng.

##### b. Vận chuyển chủ động

Kiểu vận chuyển này cần có năng lượng của tế bào, nó diễn ra theo kiểu "ngược dòng"; Năng lượng tiêu thụ do ATP hình thành trong meazoxom hoặc tế bào chất cung cấp năng lượng để chuyển hoá nó. Một Pecmeaza có thể làm cả hai nhiệm vụ vận chuyển chủ động và vận chuyển thụ động, tùy theo sự có mặt hay vắng mặt của ATP. Trong sự vận chuyển chủ động có ATP cung cấp năng lượng P bị chuyển thành dạng Pi bất hoạt ở phía bên trong màng có ái lực rất thấp đối với S. Sau khi S được tách khỏi phức hợp PS và được chuyển vào tế bào chất Pi lại được chuyển thành P hoạt động ở phía ngoài của màng nhờ một phản ứng cung cấp năng lượng nào đó.

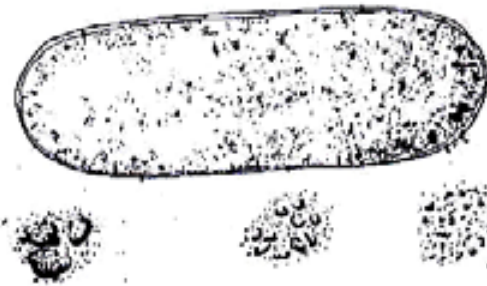
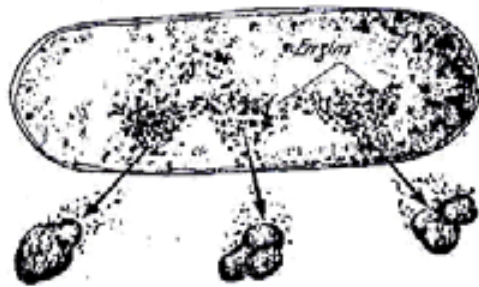
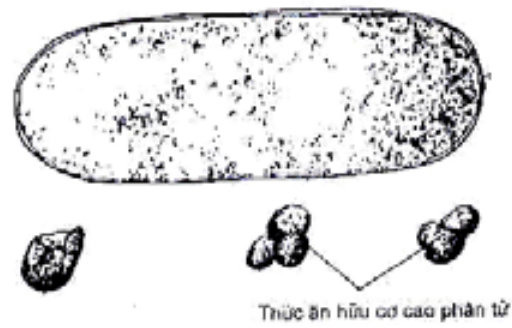




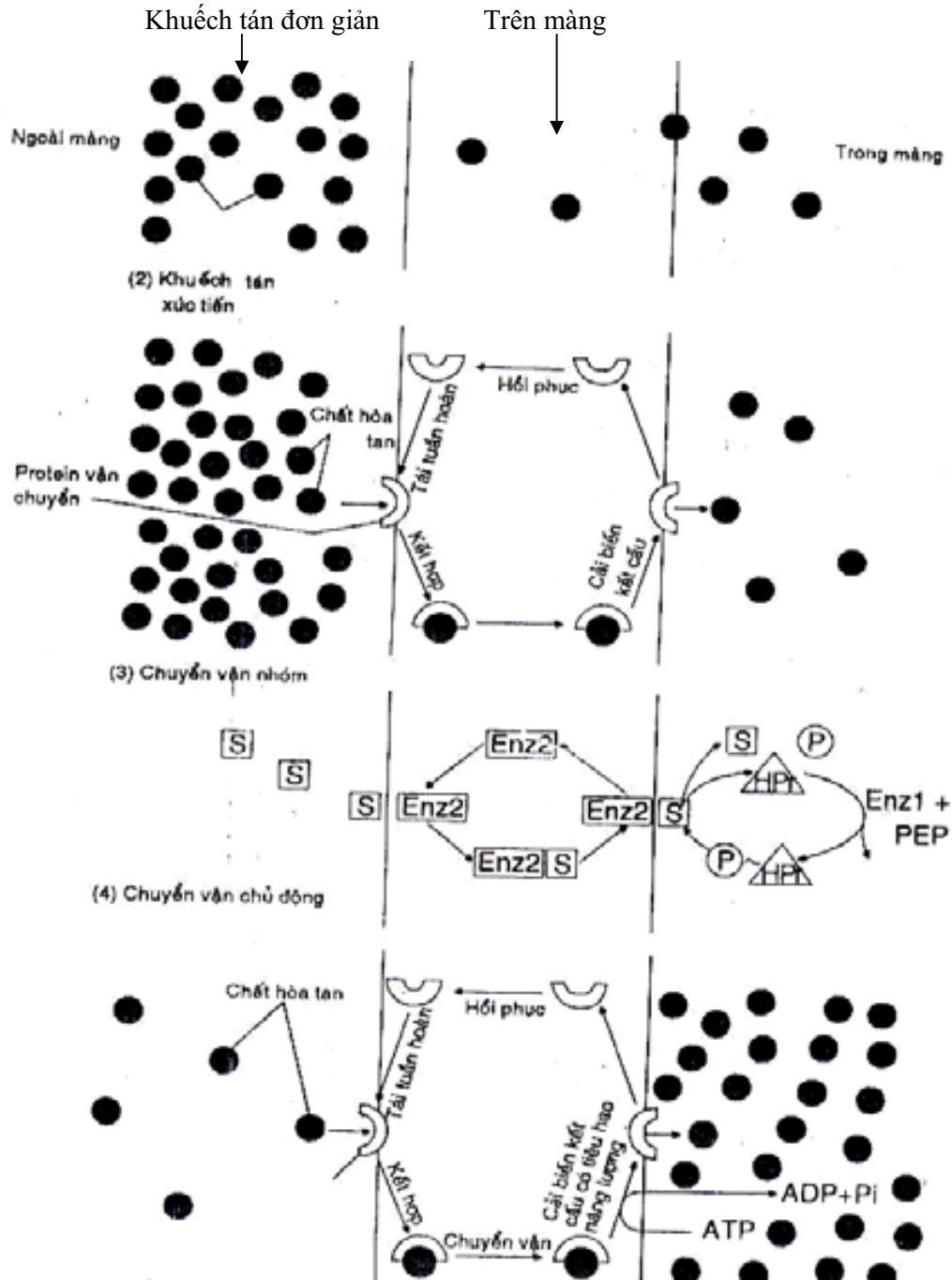
Hình 2.1. Quá trình khuếch tán xúc tiến

**Chú thích:** Nồng độ chất cần vận chuyển ngoài tế bào ở hình (a) nhỏ hơn nhiều so với ở hình (b), nhưng do số lượng protein vận chuyển tương đối ổn định do đó hiệu suất vận chuyển như nhau.





Hình 2.2. Vi khuẩn sản sinh enzym phân giải các thức ăn hữu cơ cao phân tử trước khi hấp thụ



Hình 2.3. Bốn kiểu vận chuyển chất dinh dưỡng vào tế bào

Chú thích về kiểu vận nhóm: khác với kiểu vận chuyển chủ động ở chỗ chất hòa tan trước và sau quá trình chuyển vận có biến đổi kết cấu (HPr - heat - stable carrier protein - protein vận chuyển bền nhiệt, PEP = photphoenolpiruvat, PA - axit piruvic)

## 2.2. TRAO ĐỔI CHẤT VÀ TRAO ĐỔI NĂNG LƯỢNG CỦA VI SINH VẬT

Trao đổi chất là quá trình hấp thu thức ăn từ môi trường vào cơ thể, chế biến nó thành các chất của cơ thể và thải các sản phẩm cuối cùng ra môi trường.

Quá trình hấp thu các chất dinh dưỡng gọi là quá trình dinh dưỡng. Quá trình chế biến các chất dinh dưỡng thành các chất của cơ thể gọi là quá trình đồng hoá. Quá trình phân huỷ các thành phần của cơ thể gọi là quá trình dị hoá. Quá trình oxy hoá các chất dinh dưỡng để tạo ra năng lượng được gọi là quá trình trao đổi năng lượng. Vì vi sinh vật không có mô dự trữ nên chúng phải oxy hoá trực tiếp các chất dinh dưỡng để tạo ra năng lượng.

Trao đổi chất và trao đổi năng lượng liên quan chặt chẽ với nhau. Cơ thể vi sinh vật muốn tạo ra năng lượng để hoạt động sống phải dựa vào nguồn dinh dưỡng được hấp thu do quá trình trao đổi chất. Quá trình trao đổi chất thực hiện được là nhờ vào năng lượng của tế bào.

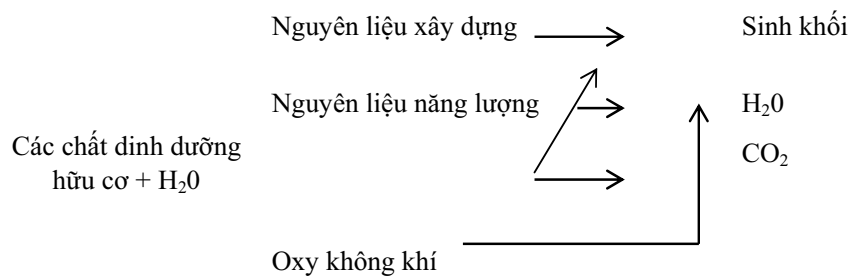
Hai quá trình này có những đặc trưng riêng biệt tùy theo đặc điểm sống của từng nhóm vi sinh vật.

- Nhóm sinh dưỡng quang năng có khả năng sử dụng trực tiếp năng lượng của ánh sáng mặt trời để đồng hoá  $\text{CO}_2$  tạo thành chất hữu cơ của cơ thể.

- Nhóm dinh dưỡng hoá năng vô cơ sử dụng năng lượng sinh ra trong quá trình oxy hoá một chất vô cơ nào đó để đồng hoá  $\text{CO}_2$  trong không khí.

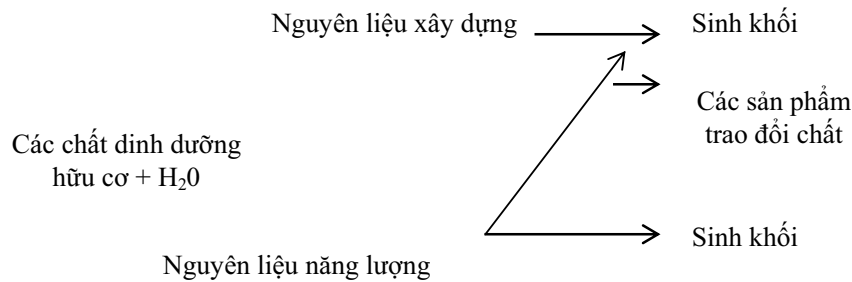
- Nhóm dinh dưỡng hoá năng hữu cơ sử dụng chất hữu cơ làm chất ôxy hoá sinh năng lượng.

Trong nhóm này, nhóm háo khí có quá trình ôxy hoá năng lượng kèm theo việc liên kết với ôxy của không khí.

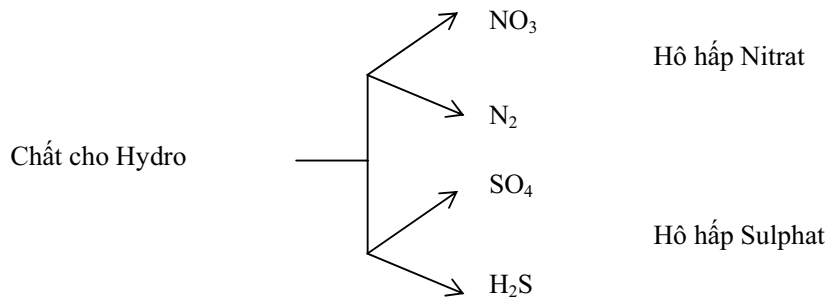


Nhóm kị khí có quá trình ôxy hoá sinh năng lượng không kèm theo việc liên kết với ôxy của không khí (chất nhận điện tử không phải là oxy mà là một chất hữu cơ hoặc một chất vô cơ).

Trường hợp chất nhận điện tử là chất hữu cơ.

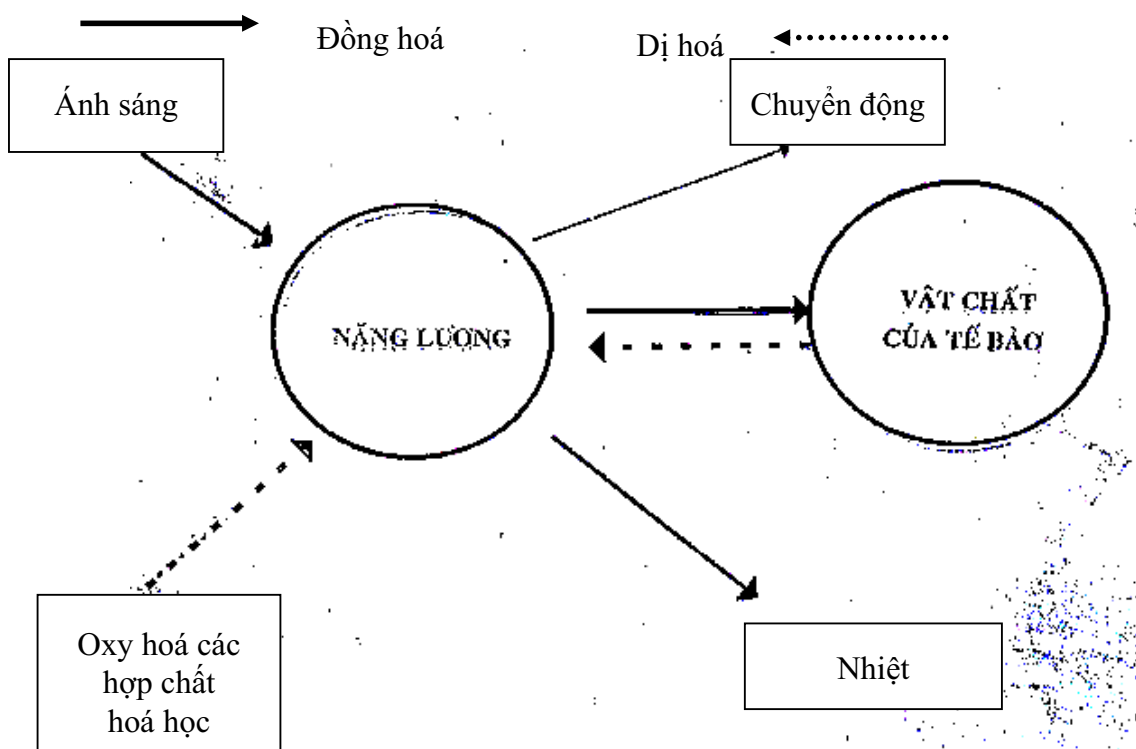


Trường hợp chất nhận điện tử là chất vô cơ.



Năng lượng giải phóng ra từ các phản ứng oxy hoá trong các quá trình trên được giữ lại trong một số hợp chất giàu năng lượng của tế bào, phổ biến nhất là ATP. Năng lượng trong phân tử này được tích lũy ở liên kết cao năng giữa P và O (Bởi vậy còn gọi là quá trình photphoryl hoá). Khi cần đến năng lượng, ATP được oxy hoá để giải phóng năng lượng.

Như trên là những khái niệm cơ bản nhất về các quá trình trao đổi chất và trao đổi năng lượng ở vi sinh vật. Để có được hai quá trình này phải có quá trình dinh dưỡng. Tất cả các quá trình trên là cơ sở vi sinh vật học của các quá trình chuyển hoá vật chất trong các môi trường tự nhiên. Nhờ sự chuyển hoá vật chất mà sự cân bằng vật chất được giữ vững. Từ đó có được sự cân bằng sinh thái trong môi trường tự nhiên.



Hình 2.4. Biến dưỡng năng lượng ở vi khuẩn

Bảng 2.11. Các dạng chuyển hoá chính

Chất cho Hydro	Chất nhận Hydro		
	Oxy	Chất vô cơ	Hợp chất hữu cơ
Chất vô cơ Hoá dưỡng vô cơ	(Hô hấp) Nhóm 1 Hoá dưỡng vô cơ hiếu khí	(Hô hấp hiếu khí) Nhóm 2 Hoá dưỡng vô cơ yếm khí	(Lên men)
Chất hữu cơ Hoá dưỡng hữu cơ	Nhóm 3 Hoá dưỡng hữu cơ hiếu khí	Nhóm 4 Hoá dưỡng hữu cơ yếm khí	Nhóm 5 Có khả năng lên men

Bảng 2.12. Các dạng dinh dưỡng chính của vi sinh vật

<b>CÁC DẠNG DINH DƯỠNG CHÍNH</b>	
Vi sinh vật tự dưỡng, quang hợp vô cơ	Năng lượng ánh sáng
Vi sinh vật dị dưỡng, quang hợp hữu cơ	Chất vô cơ cho hydro/ điện tử
	Nguồn cacbon là CO <sub>2</sub>
	Năng lượng ánh sáng
	Chất hữu cơ cho hydro/ điện tử
	Nguồn cacbon hữu cơ (CO <sub>2</sub> có thể được sử dụng)
Vi sinh vật tự dưỡng, hoá dưỡng vô cơ	Nguồn năng lượng hoá học (vô cơ)
	Chất vô cơ cho hydro/ điện tử
	Nguồn cacbon là CO <sub>2</sub>
Vi sinh vật tự dưỡng, hoá dưỡng hữu cơ	Nguồn năng lượng hoá học (hữu cơ)
	Chất hữu cơ cho hydro/ điện tử
	Nguồn cacbon hữu cơ

### NGUỒN NĂNG LƯỢNG HYDRO/ ĐIỆN TỬ, CACBON

### VI SINH VẬT - ĐẠI DIỆN

Tảo	
Vi khuẩn tía và lục sử dụng S	
Vi khuẩn lam	
Vi khuẩn tía không sử dụng được lưu huỳnh	
Vi khuẩn lục không sử dụng được lưu huỳnh	
Vi khuẩn oxy hoá lưu huỳnh	
Vi khuẩn oxy hoá hydro	
Vi khuẩn nitrit hoá	
Vi khuẩn sắt	
Nguyên sinh động vật	
Mycètes	
Đa số các vi sinh vật không quang hợp	

### 2.3. ẢNH HƯỞNG CÁC YẾU TỐ BÊN NGOÀI ĐẾN HOẠT ĐỘNG CỦA VI SINH VẬT

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

#### 2.3.1. Ảnh hưởng của những yếu tố lý học

##### 2.3.1.1. 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  $26 - 32^{\circ}\text{C}$ .

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  $60 - 80^{\circ}\text{C}$ . Một số khá chết ở nhiệt độ cao hơn. Đặc

biệt bào tử có khả năng tồn tại ở nhiệt độ  $> 100^{\circ}\text{C}$ . 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  $15 - 20^{\circ}\text{C}$ . Nhiệt độ cao nhất cho chúng tồn tại là  $30 - 35^{\circ}\text{C}$ , và nhiệt độ thấp nhất của chúng là  $0^{\circ}\text{C}$  có khi là  $-6^{\circ}\text{C}$ . Một số nấm mốc có khả năng tồn tại ở  $-11^{\circ}\text{C}$ .

*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  $25 - 36^{\circ}\text{C}$ . Tối thiểu là  $10^{\circ}\text{C}$  và tối đa là  $43 - 50^{\circ}\text{C}$ .

*Nhóm vi sinh vật ưa nóng:* Thường phát triển ở nhiệt độ tương đối cao. Nhiệt độ tối ưu cho chúng phát triển là  $50 - 60^{\circ}\text{C}$ . Tối thiểu là  $35^{\circ}\text{C}$  và tối đa là  $80^{\circ}\text{C}$ . 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	$40 \div 45^{\circ}\text{C}$	$55 \div 75^{\circ}\text{C}$	$60 \div 70^{\circ}\text{C}$
2	Ưa ấm	$5 \div 15$	$30 \div 40$	$40 \div 47$
3	Ưa lạnh			
3.1	Ưa lạnh bắt buộc	$(-5) \div 5$	$12 \div 15$	$15 \div 20$
3.2	Ưa lạnh không bắt buộc	$(-5) \div 5$	$25 \div 30$	$30 \div 35$

### 2.3.1.2. 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 thuỷ 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.

### ***2.3.1.3. 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.

### ***2.3.1.4. 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.

### ***2.3.1.5. 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.

### ***2.3.1.6. 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%.

### 2.3.2. 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:

#### 2.3.2.1. 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. Tuy 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.

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 phần 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	Kiểm 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 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.

### *2.3.2.2. 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 hãn 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*

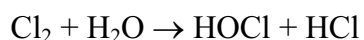
- NaOH 0,1% với pH = 10, trong nồng độ này vi sinh vật bị tiêu diệt trong 1 - 2 phút ở nhiệt độ 40<sup>0</sup>C (không được dùng với thiết bị làm bằng nhôm).

- NaCO<sub>3</sub> 1% hay 0,5% thường sử dụng ở nhiệt độ 55<sup>0</sup>C.

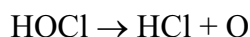
\* Halogen và những dẫn xuất

- *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  $\text{ClO}_2$  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  $\text{CaOCl}_2$  là dạng hypochlorit 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.

*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 đầu 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 0 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.

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

Nồng độ phocmalin 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% focmalin.

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

#### 2.3.2.4. 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.

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.

### 2.3.3. 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.

#### 2.3.3.1. Quan hệ cộng 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 nito.

#### 2.3.3.2. 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.

#### 2.3.3.3. 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).

### 2.3.4. 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.

#### **2.3.4.1. 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 cacbon 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 CO<sub>2</sub> sản sinh ra và các sản phẩm của quá trình lên men.

#### **2.3.4.2. 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 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 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

$t_0$  : Thời gian bắt đầu phân chia

$t_1$  : Thời gian kết thúc phân chia

n : số lần phân chia

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

$$n = \frac{\lg B_1 - \lg B_2}{\lg 2}$$

*Trong đó:*

$B_1$  : Số lượng tế bào sau nuôi cấy

$B_0$  : 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:

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

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*

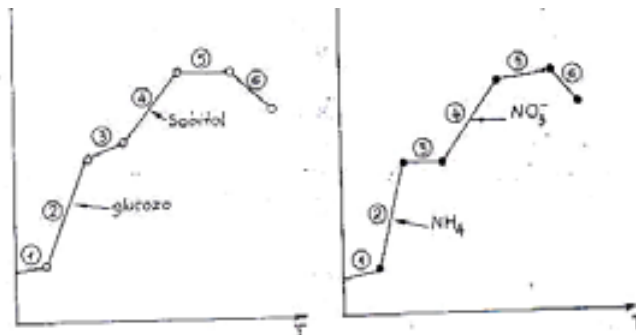
Hiện tượng này xảy ra khi môi trường chứa nguồn cacbon gồm một hỗn hợp của hai chất hữu cơ khác nhau. Lúc đầu vi sinh vật đồng hoá chất hữu cơ nào chúng

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

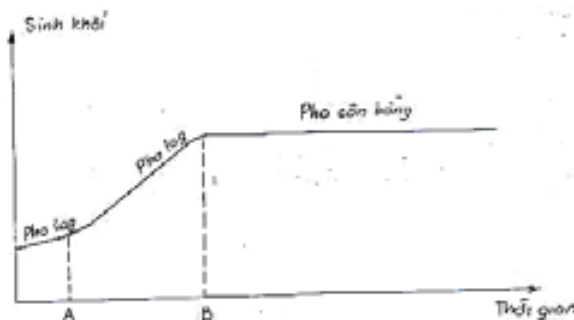
*\* Sinh trưởng và phát triển trong nuôi cấy liên tục*

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 cùng 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:



Hình 2.6. Sinh trưởng kép của vi sinh vật



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

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.

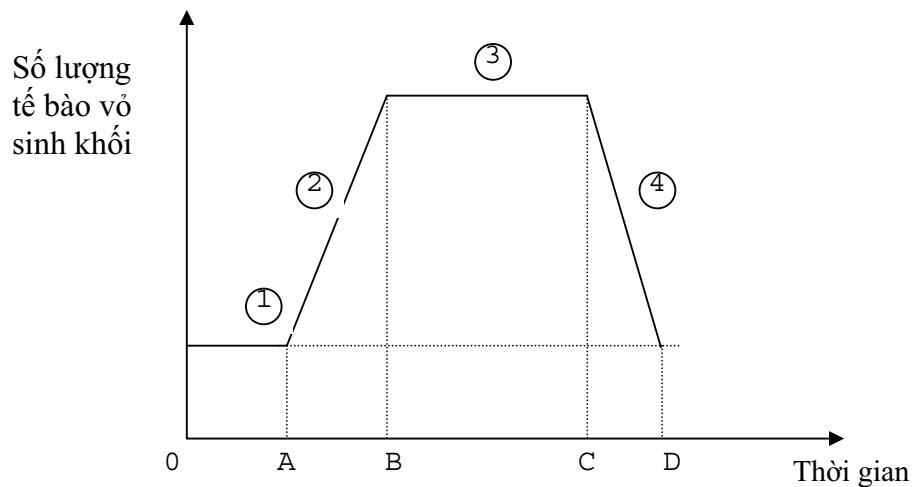
Đồng thời sản phẩm của quá trình lên men đó chỉ lấy ra khi hết quá trình nuôi cấy.

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:

*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 enzym 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.

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.

## CHƯƠNG III

# SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN

### 3.1. MÔI TRƯỜNG ĐẤT VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG ĐẤT

#### 3.1.1. Môi trường đất

Môi trường đất là cả một thế giới - một hệ sinh thái phức tạp được hình thành qua nhiều quá trình sinh học, vật lý và hoá học. Sự tích lũy các chất hữu cơ đầu tiên trên bề mặt đá mẹ là nhờ các vi sinh vật tự dưỡng. Đó là các vi sinh vật sống bằng chất vô cơ, phân huỷ các chất vô cơ, tổng hợp nên các chất hữu cơ của cơ thể mình. Khi các vi sinh vật đó chết đi, một lượng các chất hữu cơ được tích lũy lại. vi sinh vật dị dưỡng nhờ các chất hữu cơ đó mà sống. Sau đó các thực vật bậc thấp như tảo, rêu, địa y bắt đầu mọc trên tầng chất hữu cơ đầu tiên đó. Khi lớp thực vật này chết đi, các vi sinh vật dị dưỡng sẽ phân huỷ chúng làm cho lớp chất hữu cơ càng thêm phong phú. Nhờ đó mà các thực vật bậc cao có thể phát triển. Lá cành của thực vật bậc cao rụng xuống lại cung cấp một lượng lớn chất hữu cơ làm cho các loại vi sinh vật dị dưỡng phát triển mạnh mẽ. Các tế bào vi sinh vật này lại là nguồn thức ăn của các nhóm nguyên sinh động vật như trùng roi, amip ... Nguyên sinh động vật lại là thức ăn của các động vật khác trong đất như giun, nhuyễn thể, côn trùng ... Các động vật này trong quá trình sống cũng tiết ra các chất hữu cơ và bản thân chúng khi chết đi cũng là một nguồn hữu cơ lớn cho vi sinh vật và thực vật phát triển. Các loại sinh vật cứ tác động lẫn nhau như thế trong những điều kiện môi trường nhất định như độ ẩm, nhiệt độ, chất dinh dưỡng, năng lượng mặt trời ... tạo thành một hệ sinh thái đất vô cùng phong phú mà không có nó thì không thể có sự sống, không thể có đất trồng trọt - nguồn nuôi sống con người. Vậy hệ sinh thái đất là một thể thống nhất bao gồm các nhóm sinh vật sống trong đất, có quan hệ tương hỗ lẫn nhau dưới tác động của môi trường sống, có sự trao đổi vật chất và năng lượng. Trong hệ sinh thái đất, vi sinh vật đóng vai trò quan trọng, chúng chiếm đại đa số về thành phần cũng như số lượng so với các sinh vật khác.

Đất là môi trường thích hợp nhất đối với vi sinh vật, bởi vậy nó là nơi cư trú rộng rãi nhất của vi sinh vật, cả về thành phần cũng như số lượng so với các môi trường khác. Sở dĩ như vậy vì trong đất nói chung và trong đất trồng trọt nói riêng có

một khối lượng lớn chất hữu cơ. Đó là nguồn thức ăn cho các nhóm vi sinh vật dị dưỡng, ví dụ như nhóm vi sinh vật các hợp chất các bon hữu cơ, nhóm vi sinh vật phân huỷ các hợp chất Nitơ hữu cơ ... Các chất vô cơ có trong đất cũng là nguồn dinh dưỡng cho các nhóm vi sinh vật tự dưỡng. Đó là các nhóm phân huỷ các chất vô cơ, chuyển hoá các chất hợp chất S, P, Fe ...

Các chất dinh dưỡng không những tập trung nhiều ở tầng đất mà còn phân tán xuống các tầng đất sâu. Bởi vậy ở các tầng đất khác nhau, sự phân bố vi sinh vật khác nhau phụ thuộc vào hàm lượng các chất dinh dưỡng.

Mức độ thoáng khí của đất cũng là một điều kiện ảnh hưởng đến sự phân bố của vi sinh vật. Các nhóm hiếu khí phát triển ở nhiều nơi có nồng độ oxy cao. Những nơi yếm khí, hàm lượng oxy thấp thường phân bố nhiều loại vi sinh vật kỵ khí.

Độ ẩm và nhiệt độ trong đất cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật đất. Đất vùng nhiệt đới thường có độ ẩm 70 - 80% và nhiệt độ 20<sup>0</sup>C - 30<sup>0</sup>C. Đó là nhiệt độ và độ ẩm thích hợp với đa số vi sinh vật. Bởi vậy trong mỗi gram đất thường có hàng chục triệu đến hàng tỷ tế bào vi sinh vật bao gồm nhiều nhóm, khác nhau về vị trí phân loại cũng như hoạt tính sinh lý, sinh hoá. Đó là cả một thế giới phong phú chứa trong một nắm đất nhỏ bé mà bình thường ta không thể hình dung ra được. Chúng ta có thể tưởng tượng: một nắm đất là một vương quốc bao gồm các sắc tộc khác nhau sống chen chúc, tấp nập và hoạt động sôi nổi.

### **3.1.2. Sự phân bố của vi sinh vật trong đất và mối quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật**

#### ***3.1.2.1. Sự phân bố của vi sinh vật trong đất***

Vi sinh vật là những cơ thể nhỏ bé dễ dàng phát tán nhờ gió, nước và các sinh vật khác. Bởi vậy nó có thể di chuyển một cách dễ dàng đến mọi nơi trong thiên nhiên. Nhất là những vi sinh vật có bào tử, bào tử của chúng có khả năng sống tiềm sinh trong các điều kiện khó khăn. Khi gặp điều kiện thuận lợi, chúng lại phát triển, sinh sôi. Bởi vậy trên trái đất này, nếu có một loại sinh vật nào phân bố rộng rãi nhất, phong phú nhất thì đó chính là vi sinh vật. Nó phân bố ở khắp mọi nơi. Tuy nhiên, đất là nơi vi sinh vật cư trú nhiều nhất so với các môi trường khác. Sự phân bố của vi sinh vật đất còn gọi là khu hệ vi sinh vật đất.

Chúng bao gồm các nhóm có đặc tính hình thái, sinh lý và sinh hoá rất khác nhau. Các nhóm vi sinh vật chính cư trú trong đất bao gồm: Vi khuẩn, Vi nấm, Xạ

khuẩn, Virus, Tảo, Nguyên sinh động vật. Trong đó vi khuẩn là nhóm chiếm nhiều nhất về số lượng. Chúng bao gồm vi khuẩn hiếu khí, vi khuẩn kỵ khí, vi khuẩn tự dưỡng, vi khuẩn dị dưỡng ... Nếu chia theo các nguồn dinh dưỡng thì lại có nhóm tự dưỡng cacbon, tự dưỡng amin, dị dưỡng amin, vi khuẩn cố định nitơ v.v...

Số lượng và thành phần vi sinh vật trong đất thay đổi khá nhiều. Trước hết số lượng và thành phần vi sinh vật trên bề mặt đất rất ít do ngay trên bề mặt đất độ ẩm không phải là thích hợp cho vi sinh vật phát triển, hai nữa bề mặt đất bị mặt trời chiếu rọi nên vi sinh vật bị tiêu diệt.

Số lượng và thành phần vi sinh vật thấy nhiều hơn khi chiều sâu đất 10 - 20 cm so với bề mặt, ở tầng lớp này độ ẩm vừa thích hợp, các chất dinh dưỡng tích lũy nhiều, không bị tác dụng của ánh sáng mặt trời nên vi sinh vật phát triển nhanh, các quá trình chuyển hoá quan trọng trong đất chủ yếu xảy ra trong tầng đất này. Số lượng và thành phần vi sinh vật sẽ giảm đi khi độ sâu của đất hơn 30 cm và sâu 4 - 5m hầu như rất ít (trừ trường hợp đất có mạch nước ngầm). Rõ ràng là vi sinh vật ở tầng đất này phải là loài yếm khí đồng thời phải chịu được áp suất lớn mới phát triển được. Hai nữa ở lớp đất này hầu như các chất hữu cơ rất hiếm.

Số lượng và thành phần vi sinh vật trong đất còn thay đổi tùy chất đất, ở nơi đất nhiều chất hữu cơ, giàu chất mùn có độ ẩm thích hợp vi sinh vật phát triển mạnh, thí dụ ở đầm lầy, đồng nước trũng, ao hồ, khúc sông chết, cống rãnh, ... Còn ở những nơi đất có đá, đất có cát số lượng và thành phần vi sinh vật ít hơn. Lợi dụng sự có mặt của vi sinh vật trong đất mà người ta phân lập, tuyển chọn, đồng thời duy trì những chuyển hoá có lợi phục vụ cho cuộc sống.

*Bảng 3.1. Lượng vi khuẩn trong đất xác định theo chiều sâu đất*

<b>Chiều sâu đất (cm)</b>	<b>Vi khuẩn</b>	<b>Xạ khuẩn</b>	<b>Nấm mốc</b>	<b>Rong tảo</b>
3 - 8	9.750.000	2.080.000	119.000	25.000
20 - 25	2.179.000	245.000	50.000	5.000
35 - 40	570.000	49.000	14.000	500
65 - 75	11.000	5.000	6.000	100
135- 145	1.400		3.000	

Theo nhiều tài liệu đáng tin cậy thì trung bình trong đất vi khuẩn chiếm khoảng 90% tổng số. Xạ khuẩn chiếm khoảng 8%, vi nấm 1%, còn lại 1% là tảo, nguyên sinh

động vật. Tỷ lệ này thay đổi tùy theo các loại đất khác nhau cũng như khu vực địa lý, tầng đất, thời vụ, chế độ canh tác v.v... Ở những đất có đầy đủ chất dinh dưỡng, độ thoáng khí tốt, nhiệt độ, độ ẩm và pH thích hợp thì vi sinh vật phát triển nhiều về số lượng và thành phần. Sự phát triển của vi sinh vật lại chính là nhân tố làm cho đất thêm phì nhiêu, màu mỡ.

Bởi vậy, khi đánh giá độ phì nhiêu của đất phải tính đến thành phần và số lượng vi sinh vật. Nếu chỉ tính đến hàm lượng chất hữu cơ thì khó giải thích được tại sao ở một vùng đất chiêm trũng hàm lượng chất hữu cơ, chất mùn, đạm, lân đều cao mà cây trồng phát triển lại kém. Đó là do điều kiện yếm khí của đất hạn chế các loại vi sinh vật hiếu khí phát triển làm cho các chất hữu cơ không được phân giải. Các dạng chất khó tiêu đối với cây trồng không được chuyển thành dạng dễ tiêu. Các chất độc tích lũy trong đất trong quá trình trao đổi chất của cây cũng không được phân giải nhờ vi sinh vật, gây ảnh hưởng xấu đến cây trồng. Sự phân bố của vi sinh vật trong đất có thể chia ra theo các kiểu phân loại sau đây:

#### 1. Phân bố theo chiều sâu:

Quần thể vi sinh vật thường tập trung nhiều nhất ở tầng canh tác. Đó là nơi tập trung rễ cây, chất dinh dưỡng, có cường độ chiếu sáng, nhiệt độ, độ ẩm thích hợp nhất. Số lượng vi sinh vật giảm dần theo tầng đất, càng xuống sâu càng ít vi sinh vật. Theo số liệu của Hoàng Lương Việt: ở tầng đất 9 - 20 cm của đất đồi Mộc Châu - Sơn La có tới 70,3 triệu vi sinh vật trong 1 gram đất. Tầng từ 20 - 40 cm có chứa 48,6 triệu, tầng 40 - 80cm có 45,8 triệu, tầng 80 - 120cm có chứa 40,7 triệu.

Riêng đối với đất bạc màu, do hiện tượng rửa trôi, tầng 0 - 20 cm ít chất hữu cơ hơn tầng 20 - 40cm. Bởi vậy ở tầng này số lượng vi sinh vật nhiều hơn tầng trên. Sau đó giảm dần ở các tầng dưới.

Thành phần vi sinh vật cũng thay đổi theo tầng đất: vi khuẩn hiếu khí, vi nấm, xạ khuẩn thường tập trung ở tầng mặt vì tầng này có nhiều oxy. Càng xuống sâu, các nhóm vi sinh vật hiếu khí càng giảm mạnh. Ngược lại, các nhóm vi khuẩn kỵ khí như vi khuẩn phân nitrat hoá phát triển mạnh ở độ sâu 20 - 40cm. Ở vùng khí hậu nhiệt đới nóng ẩm thường có quá trình rửa trôi, xói mòn nên tầng 0 - 20cm dễ biến động, tầng 20 - 40cm ổn định hơn.

#### 2. Phân bố theo các loại đất



Các loại đất khác nhau có điều kiện dinh dưỡng, độ ẩm, độ thoáng khí, pH khác nhau. Bởi vậy sự phân bố của vi sinh vật cũng khác nhau. Ở đất lúa nước, tình trạng ngập nước lâu ngày làm ảnh hưởng đến độ thông khí, chế độ nhiệt, chất dinh dưỡng ... Chỉ có một lớp mỏng ở trên, khoảng 0 - 3 cm là có quá trình oxy hoá, ở tầng dưới quá trình khử oxy chiếm ưu thế. Bởi vậy, trong đất lúa nước ác loại vi sinh vật kỵ khí phát triển mạnh. Ví dụ như vi khuẩn amôn hoá, vi khuẩn phản nitrat hoá. Ngược lại, các loại vi sinh vật hiếu khí như vi khuẩn nitrat hoá, vi khuẩn cố định nitơ, vi nấm và xạ khuẩn đều rất ít. Tỷ lệ giữa vi khuẩn hiếu khí/ yếm khí luôn luôn nhỏ hơn 1.

Ở đất trồng màu, không khí lưu thông tốt, quá trình ôxy hoá chiếm ưu thế, bởi thế các loài sinh vật hiếu khí phát triển mạnh, vi sinh vật yếm khí phát triển yếu. Tỷ lệ giữa vi khuẩn hiếu khí và yếm khí thường lớn hơn 1, có trường hợp đạt tới 4 - 5. Ở đất giàu chất dinh dưỡng như phù sa sông Hồng, số lượng vi sinh vật tổng số rất cao. Ngược lại, vùng đất bạc màu Hà Bắc có số lượng vi sinh vật ít nhất.

#### + Phân bố theo cây trồng

Đối với tất cả các loại cây trồng, vùng rễ cây là vùng vi sinh vật phát triển mạnh nhất so với vùng không có rễ. Sở dĩ như thế vì rễ cây cung cấp một lượng lớn chất hữu cơ khi nó chết đi. Khi còn sống, bản thân rễ cây cũng thường xuyên tiết ra các chất hữu cơ làm nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật. Rễ cây còn làm cho đất thoáng khí, giữ được độ ẩm. Tất cả những nhân tố đó làm cho số lượng vi sinh vật ở vùng rễ phát triển mạnh hơn vùng ngoài rễ.

Tuy nhiên, mỗi loại cây trồng trong quá trình sống của nó thường tiết qua bộ rễ những chất khác nhau. Bộ rễ khi chết đi cũng có thành phần các chất khác nhau. Thành phần và số lượng các chất hữu cơ tiết ra từ bộ rễ quyết định thành phần và số lượng vi sinh vật sống trong vùng rễ đó. Ví dụ như vùng rễ cây họ Đậu thường phân bố nhóm vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh còn ở vùng rễ Lúa là nơi cư trú của các nhóm cố định nitơ tự do hoặc nội sinh ... Số lượng và thành phần vi sinh vật cũng thay đổi theo các giai đoạn phát triển của cây trồng. Ở đất vùng phù sa sông Hồng, số lượng vi sinh vật đạt cực đại ở giai đoạn lúa hồi nhanh, đẻ nhánh, giai đoạn này là cây lúa sinh trưởng mạnh. Bởi vậy thành phần và số lượng chất hữu cơ tiết qua bộ rễ cũng lớn - đó là nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật vùng rễ. Số lượng vi sinh vật đạt cực tiểu ở thời kỳ lúa chín. Thành phần vi sinh vật cũng biến động theo các giai đoạn phát triển của cây phù hợp với hàm lượng các chất tiết qua bộ rễ.

### 3.1.2.2. *Mối quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật trong đất*

Sự phân bố của vi sinh vật trong đất vô cùng phong phú cả về số lượng cũng như thành phần. Trong quá trình sống chung như thế, chúng có một mối quan hệ tương hỗ vô cùng chặt chẽ. Dựa vào tính chất của các loại quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật, người ta chia ra làm 4 loại quan hệ: ký sinh, cộng sinh, hỗ sinh và kháng sinh.

#### 1. Quan hệ ký sinh:

Quan hệ ký sinh là hiện tượng vi sinh vật này sống ký sinh trên vi sinh vật, hoàn toàn ăn bám và gây hại cho vật chủ. Ví dụ như các loại virus sống ký sinh trong tế bào vi khuẩn hoặc một vài loài vi khuẩn sống ký sinh trên vi nấm. Các loại vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh thường hay bị một loại thực khuẩn thể ký sinh và tiêu diệt. Khi nuôi cấy vi khuẩn *Rhizobium* trên môi trường dịch thể thường có hiện tượng môi trường đang đục trở nên trong. Nguyên nhân là do thực khuẩn thể xâm nhập và làm tan tất cả các tế bào vi khuẩn - gọi là hiện tượng sinh tan. Khi nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường đặc cũng có hiện tượng như vậy. Các thực khuẩn thể này tồn tại ở trong đất trồng cây họ Đậu làm ảnh hưởng rất lớn đến quá trình hình thành nốt sần ở cây Đậu.

#### 2. Quan hệ cộng sinh:

Quan hệ cộng sinh là quan hệ hai bên cùng có lợi, bên này không thể thiếu bên kia trong quá trình sống. Ở vi sinh vật người ta ít quan sát thấy quan hệ cộng sinh. Có một số giả thiết cho rằng: Ty thể - cơ quan hô hấp của tế bào vi nấm chính là một vi khuẩn cộng sinh với vi nấm. Giả thiết đó dựa trên cấu tạo của ty thể có cả bộ máy ADN riêng biệt, có thể tự sao chép như một cơ thể độc lập. Giả thiết này còn chưa được công nhận hoàn toàn. Lại có giả thiết cho rằng: Các plasmid có trong vi nấm và vi khuẩn chính là sự cộng sinh giữa virus và vi nấm hay vi khuẩn đó. Ví dụ như các plasmid mang gen kháng thuốc đã mang lại mối lợi cho vi khuẩn chủ là kháng được thuốc kháng sinh. Vì thế mà hai bên cùng có lợi và gọi là quan hệ cộng sinh.

#### 3. Quan hệ hỗ sinh:

Quan hệ hỗ sinh là quan hệ hai bên cùng có lợi nhưng không nhất thiết phải có nhau mới sống được như quan hệ cộng sinh. Quan hệ này thường thấy trong sự sống của vi sinh vật vùng rễ. Ví dụ như mối quan hệ giữa nấm mốc phân hủy tinh bột thành

đường và nhóm vi khuẩn phân giải loại đường đó. Mỗi quan hệ giữa nhóm vi khuẩn phân giải photpho và nhóm vi khuẩn phân giải protein cũng là quan hệ hỗ sinh, trong đó nhóm thứ nhất cung cấp P cho nhóm thứ hai và nhóm thứ hai cung cấp N cho nhóm thứ nhất.

#### 4. Quan hệ kháng sinh:

Quan hệ kháng sinh là mối quan hệ đối kháng lẫn nhau giữa hai nhóm vi sinh vật. Loại này thường tiêu diệt loại kia hoặc hạn chế quá trình sống của nó. Ví dụ điển hình là xạ khuẩn kháng sinh và nhóm vi khuẩn mẫn cảm với chất kháng sinh do xạ khuẩn sinh ra. Khi nuôi cấy 2 nhóm này trên môi trường thạch đĩa, ta có thể thấy rõ hiện tượng kháng sinh: xung quang nơi xạ khuẩn có một vòng vô khuẩn, tại đó vi khuẩn không mọc được. Người ta căn cứ vào đường kính của vòng vô khuẩn đó mà đánh giá khả năng sinh kháng sinh của xạ khuẩn. Tất cả các mối quan hệ trên đây của khu hệ vi sinh vật đất tạo nên những hệ sinh thái vô cùng phong phú trong từng loại đất.

Chúng làm nên độ màu mỡ của đất, thay đổi tính chất lý hoá của đất và từ đó ảnh hưởng đến cây trồng.

### 3.1.3. Mối quan hệ giữa đất, vi sinh vật và thực vật

#### 3.1.3.1. Quan hệ giữa đất và vi sinh vật đất

Đất có kết cấu từ những hạt nhỏ liên kết với nhau thành cấu trúc đoàn lạp của đất. Vậy yếu tố nào đã liên kết các hạt đất với nhau. Có quan điểm cho rằng vi sinh vật đóng vai trò gián tiếp trong sự liên kết các hạt đất với nhau. Hoạt động của vi sinh vật, nhất là nhóm háo khí đã hình thành nên một thành phần của mùn là axit humic. Các muối của axit humic tác dụng với ion Canxi tạo thành một chất dẻo gắn kết những hạt đất với nhau. Sau này người ta đã tìm ra vai trò trực tiếp của vi sinh vật trong việc tạo thành kết cấu đất: Trong quá trình phân giải chất hữu cơ, nấm mốc và xạ khuẩn phát triển một hệ khuẩn ti khá lớn trong đất. Khi nấm mốc và xạ khuẩn chết đi, vi khuẩn phân giải chúng tạo thành các chất dẻo có khả năng kết dính các hạt đất với nhau. Bản thân vi khuẩn chết đi và tự phân huỷ cũng tạo thành các chất kết dính. Ngoài ra lớp dịch nhày bao quanh các vi khuẩn có vỏ nhày cũng có khả năng kết dính các hạt đất với nhau.

Genxe - một nhà nghiên cứu về kết cấu đã nhận xét rằng: khi bón vào đất những chất như Xenluloza và Protein thì kết cấu của đất được cải thiện. Đó là do vi sinh vật

phân giải xenluloza và protein đã phát triển mạnh mẽ, các sản phẩm phân giải của chúng và các chất tiết trong quá trình sống của chúng đã liên kết các hạt đất với nhau tạo nên cấu trúc đất.

Rudacop khi nghiên cứu về kết cấu đoàn lạp ở đất trồng cây họ đậu đã kết luận rằng: Nhân tố kết dính các hạt đất trong đất trồng cây họ đậu chính là một sản phẩm kết hợp giữa axit galactorunic và sản phẩm tự dung giải của vi khuẩn *Clostridium polymyxa*. Axit galactorenic là sản phẩm của thực vật được hình thành dưới tác dụng của enzym protopectinaza do vi khuẩn tiết ra. Các chất kết dính tạo thành kết cấu đất còn được gọi là mùn hoạt tính. Như vậy mùn không những là nơi tích lũy chất hữu cơ làm nên độ phì nhiêu của đất mà còn là nhân tố tạo nên kết cấu đất. Sự hình thành và phân giải mùn đều do vi sinh vật đóng vai trò tích cực. Vì vậy các điều kiện ngoại cảnh ảnh hưởng đến vi sinh vật cũng ảnh hưởng đến hàm lượng mùn trong đất. Đặc biệt nước ra ở trong vùng nhiệt đới nóng ẩm, sự hoạt động của vi sinh vật rất mạnh ảnh hưởng rất lớn đến sự tích lũy và phân giải mùn. Các biện pháp canh tác như cày bừa, xới xáo, bón phân ... đều ảnh hưởng trực tiếp đến vi sinh vật và qua đó ảnh hưởng đến hàm lượng mùn trong đất.

#### 1. Tác động của sự cày xới, đảo trộn đất đến vi sinh vật đất

Cày xới, đảo trộn có tác dụng điều hoà chất dinh dưỡng, làm đất thoáng khí tạo điều kiện cho vi sinh vật phát triển mạnh. Theo thí nghiệm của Mitxustin và Nhiacôp, các phương pháp cày xới khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến số lượng và thành phần vi sinh vật. Từ đó cường độ các quá trình sinh học trong đất cũng khác nhau. Khi xới lớp đất canh tác nhưng không lật mặt, số lượng vi sinh vật cũng như cường độ hoạt động có tăng lên nhưng không nhiều bằng xới đất có lật mặt hoặc cày sâu. Tuy nhiên không phải đất nào cũng theo quy luật đó, đối với đất úng ngập, quy luật trên thể hiện rõ hơn trong khi đó ở đất cát nhẹ khô hạn thì việc xới xáo không hợp lý lại làm giảm lượng vi sinh vật.

#### 2. Tác động của phân bón đến vi sinh vật đất

Khi ta bón các loại phân hữu cơ và vô cơ vào đất, phân tác dụng nhanh hay chậm đến cây trồng là nhờ hoạt động của vi sinh vật. Vi sinh vật phân giải hữu cơ thành dạng vô cơ cho cây trồng hấp thụ, biến dạng vô cơ khó tan thành dễ tan ...

Ngược lại các loại phân bón cũng ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong đất.

Phân hữu cơ như phân chuồng, phân xanh, bùn ao ... đặc biệt làm tăng số lượng vi sinh vật vì bản thân trong đó đã có một số lượng lớn vi sinh vật. Chất hữu cơ vào đất lại làm tăng số lượng vi sinh vật sẵn có trong đất, đặc biệt là vi sinh vật phân giải xenluloza, phân giải protein và nguyên sinh động vật. Tuy vậy, các loại phân hữu cơ khác nhau tác động đến sự phát triển của vi sinh vật đất ở các mức độ khác nhau tùy thuộc vào tỷ lệ C/N của phân bón.

Phân vô cơ cũng có tác dụng thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật đất vì nó có các nguyên tố N, P, K, Ca, vi lượng rất cần thiết cho vi sinh vật. Đặc biệt là khi bón phối hợp các loại phân vô cơ với phân hữu cơ sẽ làm tăng số lượng vi sinh vật lên từ 3 - 4 lần so với bón phân khoáng đơn thuần, đặc biệt là các vi khuẩn *Azotobacter*, vi khuẩn amôn hoá, nitrat hoá, phân giải xenluloza. Khi trong đất có nhiều phân hữu cơ thì việc bón các loại phân vô cơ có tác dụng kích thích hoạt động phân giải chất hữu cơ của vi sinh vật. Bón vôi có tác dụng cải thiện tính chất lý hoá của đất, làm tăng cường hoạt động của vi sinh vật, nhất là đối với đất chua, mặn, bạc màu.

### 3. Tác động của chế độ nước đối với vi sinh vật:

Đại đa số các loại vi khuẩn có ích đều phát triển mạnh mẽ ở độ ẩm 60 - 80%.

Độ ẩm quá thấp hoặc quá cao đều ức chế vi sinh vật. Chỉ có nấm mốc và xạ khuẩn là có thể phát triển được ở điều kiện khô. Ở các ruộng lúa nước các loại vi khuẩn đã thích hợp với độ ẩm cao, tuy nhiên ở những ruộng có tính thấm nước cao được làm ải, sự phát triển vi sinh vật cũng tốt hơn. Đặc biệt là cân đối được tỷ lệ giữa hai loại háo khí và yếm khí.

### 4. Tác động đến chế độ canh tác khác tới vi sinh vật

Ngoài các chế độ phân bón, nước, làm đất, các chế độ canh tác khác cũng có tác dụng rõ rệt tới hoạt động của vi sinh vật. Ví dụ như chế độ luân canh cây trồng. Mỗi loại cây trồng đều có một khu hệ vi sinh vật đặc trưng sống trong vùng rễ của nó. Bởi vậy luân canh cây trồng làm cho khu hệ vi sinh vật đất cân đối và phong phú hơn. Người ta thường luân canh các loại cây trồng khác với cây họ đậu để tăng cường hàm lượng đạm cho đất.

Các loại thuốc hoá học trừ sâu, diệt cỏ gây tác động có hại tới vi sinh vật cũng như hệ sinh thái đất nói chung. Việc dùng các loại thuốc hoá học làm ô nhiễm môi trường đất, tiêu diệt phần lớn các loại vi sinh vật và động vật nguyên sinh trong đất.

Tất cả những biện pháp canh tác nói trên có ảnh hưởng trực tiếp và sâu sắc đến sự phát triển của vi sinh vật trong đất, từ đó ảnh hưởng đến quá trình hoạt động sinh học, cụ thể là sự chuyển hoá các chất hữu cơ và vô cơ trong đất, ảnh hưởng đến quá trình hình thành mùn và kết cấu đất. Những yếu tố này lại ảnh hưởng trực tiếp đến cây trồng. Bởi vậy, việc nghiên cứu đất sao cho thích hợp với năng suất cây trồng không thể bỏ qua yếu tố sinh học đất.

### ***3.1.3.2. Mối quan hệ giữa vi sinh vật và thực vật***

Mỗi loại cây đều có một khu hệ vi sinh vật vùng rễ đặc trưng cho cây đó bởi vì rễ thực vật thường tiết ra một lượng lớn các chất hữu cơ và vô cơ, các chất sinh trưởng ..., thành phần và số lượng của các chất đó khác nhau tùy loại cây. Những chất tiết của rễ có ảnh hưởng quan trọng đến vi sinh vật vùng rễ. Trên bề mặt và lớp đất nằm sát rễ chứa nhiều chất dinh dưỡng nên tập trung vi sinh vật với số lượng lớn. Càng xa rễ số lượng vi sinh vật càng giảm đi.

Thành phần vi sinh vật vùng rễ không những phụ thuộc vào loại cây trồng mà còn phụ thuộc vào thời kỳ phát triển của cây. Vi sinh vật phân giải xenluloza có rất ít khi cây còn non nhưng khi cây già thì rất nhiều. Điều đó chứng tỏ vi sinh vật không những sử dụng các chất tiết của rễ mà còn phân huỷ rễ khi rễ cây già, chết đi.

Vi sinh vật sống trong vùng rễ có quan hệ mật thiết với cây, chúng sử dụng những chất tiết của cây làm chất dinh dưỡng, đồng thời cung cấp chất dinh dưỡng cho cây qua quá trình hoạt động phân giải của mình. Vi sinh vật còn tiết ra các vitamin và chất sinh trưởng có lợi đối với cây trồng. Bên cạnh đó có rất nhiều vi sinh vật gây bệnh cho cây, có những loại ức chế sự sinh trưởng của cây, có những loại tàn phá mùa màng nghiêm trọng.

Trong khu hệ vi sinh vật vùng rễ ngoài những nhóm vi sinh vật có ích, có rất nhiều vi sinh vật gây bệnh cây. Đó là mối quan hệ ký sinh của vi sinh vật trên thực vật. Nhóm vi sinh vật gây bệnh cây thuộc loại dị dưỡng, sống nhờ vào chất hữu cơ của thực vật đang sống ( khác với nhóm hoại sinh- sống trên những tế bào thực vật đã chết).

Hàng năm bệnh cây đã gây thiệt hại to lớn cho sản xuất nông nghiệp. Vi sinh vật gây bệnh không chỉ làm giảm sản lượng mà còn làm giảm phẩm chất nông sản. Vi sinh vật sử dụng các chất hữu cơ của cây bằng cách tiết ra các loại men phân huỷ

chúng. Trong quá trình sống chúng tiết ra các chất độc làm cây chết. Ví dụ như độc tố Lycomarasmin do nấm *Fusarium heterosporum* tiết ra có thể làm cây chết.

Vi sinh vật gây bệnh có khả năng tồn tại trong đất hoặc trên tàn dư thực vật từ vụ này qua vụ khác dưới dạng bào tử hoặc các dạng tiềm sinh khác gọi là nguồn bệnh tiềm tàng. Từ nguồn bệnh tiềm tàng vi sinh vật được phát tán đi khắp nơi nhờ gió, nước mưa, dụng cụ lao động, động vật và người, đặc biệt là qua côn trùng môi giới. Qua các con đường đó nguồn bệnh lây lan sang các khoẻ và bắt đầu xâm nhiễm vào cây khi gặp điều kiện thuận lợi. Các bào tử nằm trên bề mặt cây khi gặp độ ẩm và nhiệt độ thích hợp sẽ nảy mầm và xâm nhập vào cây. Sau khi xâm nhập vào cây chúng bắt đầu sử dụng các chất của cây và tiết chất độc làm cây suy yếu hoặc chết. Qua quá trình hoạt động của vi sinh vật cây bị thay đổi các quá trình sinh lý, sinh hoá, sau đó thay đổi về cấu tạo và hình thái tế bào cuối cùng là xuất hiện những triệu chứng bệnh như những đốm trên lá, trên thân. Nếu bệnh xuất hiện ở bó mạch thì biểu hiện triệu chứng héo lá, héo thân ...Sau một thời gian phát triển vi sinh vật bắt đầu hình thành cơ quan sinh sản mọc ra ngoài bề mặt của cây và từ đó lại lan truyền đi.

Để tránh bệnh cho cây người ta dùng nhiều biện pháp hoá học, biện pháp sinh vật học, biện pháp tổng hợp bảo vệ cây trồng ... Ngày nay người ta hạn chế việc chống bệnh bằng hoá học vì biện pháp này thường phá hoại sự cân bằng sinh thái, ô nhiễm môi trường. Các biện pháp sinh học đang được nghiên cứu và áp dụng ngày càng nhiều do những ưu điểm của nó. Đó là những biện pháp dùng vi sinh vật chống côn trùng hại cây. Một biện pháp hiện đại đang được nghiên cứu và áp dụng nữa là tạo cho cây những đặc tính chống chịu mới bằng biện pháp công nghệ sinh học - truyền gen chống chịu cho cây. Người ta đã tạo được những giống thuốc lá chống chịu bệnh virus hoặc những giống khoai tây, cà chua chống bệnh vi khuẩn nhờ việc cấy gen của một loại vi khuẩn nào đó có khả năng chống bệnh vào tế bào thực vật.

### **3.2. MÔI TRƯỜNG NƯỚC VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG NƯỚC**

#### **3.2.1. Môi trường nước**

Tất cả những nơi có chứa nước trên bề mặt hay dưới lòng đất đều được coi là môi trường nước. Ví dụ như ao, hồ, sông, biển, nước ngầm ... Những địa điểm chứa nước đó còn gọi là các thủy vực. Trong các thủy vực khác nhau, tính chất hoá học và vật lý rất khác nhau. Bởi vậy môi trường sống ở từng thủy vực đều có đặc trưng riêng biệt và sự phân bố của vi sinh vật phụ thuộc vào những đặc trưng riêng biệt đó.

- Nước ngầm có trong những lớp đất nằm dưới mặt đất do các nguồn nước khác thấm vào. Nước ngầm có hàm lượng muối khoáng khác nhau tùy từng vùng, có vùng chứa nhiều  $\text{CaCO}_3$  gọi là nước cứng, có vùng chứa ít  $\text{CaCO}_3$  gọi là nước mềm. Nói chung nước ngầm rất nghèo chất dinh dưỡng do đã được lọc qua các tầng đất.

- Nước bề mặt bao gồm suối, sông, hồ, biển. Suối được tạo thành ở những nơi nước ngầm chảy ra bề mặt đất hoặc từ khe của các núi đá. Tùy theo vùng địa lý nước suối có thể rất khác nhau về nhiệt độ và thành phần hoá học. Có những suối nước nóng chảy ra từ các vùng núi lửa hoặc từ độ sâu lớn. Có những suối có thành phần chất khoáng điển hình có tác dụng chữa bệnh. Tùy theo thành phần và hàm lượng chất khoáng mà người ta phân biệt suối mặn, suối chua, suối sắt, suối lưu huỳnh ... Sông có lượng nước nhiều hơn suối. Tính chất lý học và hóa học của sông cũng khác nhau tùy thuộc vào vùng địa lý. Sông ở vùng đồng bằng thường giàu chất dinh dưỡng hơn vùng núi nhưng lại bị ô nhiễm hơn do chất thải công nghiệp và sinh hoạt.

Hồ là những vùng trũng ngập đầy nước trong đất liền. Tính chất lý học và hoá học của các loại hồ cũng rất khác nhau. Hồ ở các vùng núi đá có nguồn nước ngầm chảy ra và hồ ở vùng đồng bằng khác nhau rất lớn về nhiệt độ cũng như thành phần chất dinh dưỡng. Ngay ở trong một hồ cũng có sự phân tầng, ở mỗi tầng lại có một điều kiện môi trường khác nhau. Có những hồ có nồng độ muối cao gọi là hồ nước mặn, nồng độ muối có thể lên tới 28%.

Biển bao phủ gần 3/4 bề mặt trái đất, khác với các thủy vực trong đất liền điển hình về hàm lượng muối cao tới 35%. Ngoài ra biển còn có thành phần các chất khoáng khác với các thủy vực trong đất liền. Các vùng biển và các tầng của biển cũng có các đặc trưng môi trường khác nhau. Thí dụ như về nhiệt độ, áp lực thủy tĩnh, ánh sáng, pH, thành phần hoá học ... Tất cả những yếu tố khác nhau đó đều ảnh hưởng trực tiếp đến sự phân bố của vi sinh vật trong các môi trường nước.

### **3.2.2. Sự phân bố của vi sinh vật trong các môi trường nước**

Vi sinh vật có mặt ở khắp nơi trong các nguồn nước. Sự phân bố của chúng hoàn toàn không đồng nhất mà rất khác nhau tùy thuộc vào đặc trưng của từng loại môi trường. Các yếu tố môi trường quan trọng quyết định sự phân bố của vi sinh vật là hàm lượng muối, chất hữu cơ, pH, nhiệt độ và ánh sáng. Nguồn nhiễm vi sinh vật cũng rất quan trọng vì ngoài những nhóm chuyên sống ở nước ta còn có những nhóm nhiễm từ các môi trường khác vào. Ví dụ như từ đất, từ chất thải của người và động vật.



Nước nguyên chất không phải là nguồn môi trường thuận lợi cho vi sinh vật phát triển, vì nước nguyên chất không phải là môi trường giàu dinh dưỡng. Trong nước có hoà tan nhiều chất hữu cơ và muối khoáng khác nhau. Những chất hoà tan này rất thuận lợi cho vi sinh vật sinh trưởng và phát triển.

Vi sinh vật trong nước được đưa từ nhiều nguồn khác nhau:

- Có thể từ đất do bụi bay lên, nguồn nước này chủ yếu bị nhiễm vi sinh vật trên bề mặt.
- Có thể do nước mưa sau khi chảy qua những vùng đất khác nhau cuốn theo nhiều vi sinh vật nơi nước chảy qua.
- Do nước ngầm hoặc nguồn nước khác qua những nơi nhiễm bẩn nghiêm trọng.
- Số lượng và thành phần vi sinh vật thấy trong nước mang đặc trưng vùng đất bị nhiễm mà nước chảy qua.

Ở môi trường nước ngọt, đặc biệt là những nơi luôn có sự nhiễm khuẩn từ đất, hầu hết các nhóm vi sinh vật có trong đất đều có mặt trong nước, tuy nhiên với tỷ lệ khác biệt. Nước ngầm và nước suối thường nghèo vi sinh vật nhất do ở những nơi này nghèo chất dinh dưỡng. Trong các suối có hàm lượng sắt cao thường chứa các vi khuẩn sắt như *Leptothrix ochracea*. Ở các suối chứa lưu huỳnh thường có mặt nhóm vi khuẩn lưu huỳnh màu lục hoặc màu tím. Những nhóm này đều thuộc loại từ dưỡng hoá năng và quang năng. Ở những suối nước nóng thường chỉ tồn tại các nhóm vi khuẩn ưa nhiệt như *Leptothrix thermalis*.

Ở ao, hồ và sông do hàm lượng chất dinh dưỡng cao hơn nước ngầm và suối nên số lượng và thành phần vi sinh vật phong phú hơn nhiều. Ngoài những vi sinh vật tự dưỡng còn có rất nhiều các nhóm vi sinh vật dị dưỡng có khả năng phân huỷ các chất hữu cơ. Hầu hết các nhóm vi sinh vật trong đất đều có mặt ở đây. Ở những nơi bị nhiễm bẩn bởi nước thải sinh hoạt còn có mặt các vi khuẩn đường ruột và các vi sinh vật gây bệnh khác. Tuy những vi khuẩn này chỉ sống trong nước một thời gian nhất định nhưng nguồn nước thải lại được đổ vào thường xuyên nên lúc nào chúng cũng có mặt. Đây chính là nguồn ô nhiễm vi sinh nguy hiểm đối với sức khoẻ con người.

Ở những thủy vực có nguồn nước thải công nghiệp đổ vào thì thành phần vi sinh vật cũng bị ảnh hưởng theo các hướng khác nhau tùy thuộc vào tính chất của

nước thải. Những nguồn nước thải có chứa nhiều axit thường làm tiêu diệt các nhóm vi sinh vật ưa trung tính có trong thủy vực.

Tuy cũng là môi trường nước ngọt nhưng sự phân bố của vi sinh vật ở hồ và sông rất khác nhau. Ở các hồ nghèo dinh dưỡng, tỷ lệ vi khuẩn có khả năng hình thành bào tử thường cao hơn so với nhóm không có bào tử. Ở các tầng hồ khác nhau sự phân bố của vi sinh vật cũng khác nhau. Ở tầng mặt nhiều ánh sáng hơn thường có những nhóm vi sinh vật tự dưỡng quang năng. Dưới đáy hồ giàu chất hữu cơ thường có các nhóm vi khuẩn dị dưỡng phân giải chất hữu cơ. Ở những tầng đáy có sự phân huỷ chất hữu cơ mạnh tiêu thụ nhiều oxy tạo ra những vùng không có oxy hoà tan thì chỉ có một nhóm kỵ khí bắt buộc không có khả năng tồn tại khi có oxy.

Ở môi trường nước mặn bao gồm hồ nước mặn và biển, sự phân bố của vi sinh vật khác hẳn so với môi trường nước ngọt do nồng độ muối ở những nơi này cao. Tùy thuộc vào thành phần và nồng độ muối, thành phần và số lượng vi sinh vật cũng khác nhau rất nhiều. Tuy nhiên tất cả đều thuộc nhóm ưa mặn ít có mặt ở môi trường nước ngọt. Có những nhóm phát triển được ở những môi trường có nồng độ muối cao gọi là nhóm ưa mặn cực đoan. Nhóm này có mặt ở cả các ruộng muối và các thực phẩm ướp muối. Đại diện của nhóm này là *Halobacterium* có thể sống được ở dung dịch muối bão hoà. Có những nhóm ưa mặn vừa phải sống ở nồng độ muối từ 5 đến 20%, nhóm ưa mặn yếu sống được ở nồng độ dưới 5%. Ngoài ra có những nhóm chịu mặn sống được ở môi trường có nồng độ muối thấp, đồng thời cũng có thể sống ở môi trường nước ngọt.

Các vi sinh vật sống trong môi trường nước mặn nói chung có khả năng sử dụng chất dinh dưỡng có nồng độ rất thấp. Chúng phát triển chậm hơn nhiều so với vi sinh vật đất. Chúng thường bám vào các hạt phù sa để sống. Vi sinh vật ở biển thường thuộc nhóm ưa lạnh, có thể sống được ở nhiệt độ từ 0 đến 4<sup>0</sup>C. Chúng thường có khả năng chịu được áp lực lớn nhất là ở những vùng biển sâu.

Nói chung các nhóm vi sinh vật sống ở các nguồn nước khác nhau rất đa dạng về hình thái cũng như hoạt tính sinh học. Chúng tham gia vào việc chuyển hoá vật chất cũng như các vi sinh vật sống trong môi trường đất. Ở trong môi trường nước cũng có mặt đầy đủ các nhóm tham gia vào các chu trình chuyển hoá các hợp chất cacbon, nitơ và các chất khoáng khác. Mối quan hệ giữa các nhóm với nhau cũng rất phức tạp, cũng có các quan hệ ký sinh, cộng sinh, hỗ sinh, kháng sinh như trong môi trường đất. Có

quan điểm cho rằng vi sinh vật sống trong môi trường nước và đất đều có chung một nguồn gốc ban đầu. Do quá trình sống trong những môi trường khác nhau mà chúng có những biến đổi thích nghi. Chỉ cần một tác nhân đột biến cũng có thể biến từ dạng này sang dạng khác do cơ thể và bộ máy di truyền của vi sinh vật rất đơn giản so với những sinh vật bậc cao.

Ngày nay các nguồn nước, ngay cả nước ngầm và nước biển ở những mức độ khác nhau đã bị ô nhiễm do các nguồn chất thải khác nhau. Do đó khu hệ vi sinh vật bị ảnh hưởng rất nhiều và do đó khả năng tự làm sạch các nguồn nước do hoạt động phân giải của vi sinh vật cũng bị ảnh hưởng

### **3.3. MÔI TRƯỜNG KHÔNG KHÍ VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG KHÔNG KHÍ**

#### **3.3.1. Môi trường không khí**

Môi trường khí không phải là đồng nhất, tùy từng vùng khác nhau, môi trường khí rất khác nhau về thành phần các loại khí. Thí dụ như thành phần oxy, nitơ, CO<sub>2</sub> và các hợp chất bay hơi khác như H<sub>2</sub>S, SO<sub>2</sub> v.v... Môi trường khí còn khác nhau về nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng ... Ở những vùng không khí trong lành như vùng núi, tỷ lệ khí O<sub>2</sub> thường cao. Ở những vùng không khí bị ô nhiễm, tỷ lệ các khí độc như H<sub>2</sub>S, SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ... thường cao, nhất là ở các thành phố và các khu công nghiệp.

#### **3.3.2. Sự phân bố của vi sinh vật trong không khí**

Sự phân bố của vi sinh vật trong không khí cũng khác nhau tùy từng vùng. Không khí không phải là môi trường sống của vi sinh vật. Tuy nhiên trong không khí có rất nhiều vi sinh vật tồn tại. Nguồn gốc của những vi sinh vật này là từ đất, từ nước, từ con người, động vật, thực vật, theo gió, theo bụi phát tán đi khắp nơi trong không khí. Một hạt bụi có thể mang theo rất nhiều vi sinh vật, đặc biệt là những vi sinh vật có bào tử có khả năng tồn tại lâu trong không khí. Nếu đó là những vi sinh vật gây bệnh thì đó chính là nguồn gây bệnh có trong không khí. Ví dụ như các vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp có thể tồn tại lâu trong không khí. Khi người khỏe hít phải không khí có nhiễm khuẩn đó sẽ có khả năng nhiễm bệnh. Những vi khuẩn gây bệnh thực vật như nấm rỉ sắt có thể theo gió bay đi và lây bệnh cho các cánh đồng ở rất xa nguồn bệnh.

Sự phân bố của vi sinh vật trong môi trường không khí phụ thuộc vào 3 yếu tố sau:

##### **1. Phụ thuộc khí hậu trong năm**

Thường vào mùa đông, lượng vi sinh vật hầu như ít nhất so với các mùa khác trong năm. Ngược lại lượng vi sinh vật nhiều nhất vào mùa hè. Có lẽ do độ ẩm không

khí, nhiệt độ cao, gió mưa, do các hoạt động khác của thiên nhiên. Theo kết quả nghiên cứu của Omelansku lượng vi sinh vật trong các mùa thay đổi như sau (số lượng trung bình trong 10 năm).

Bảng 3.2. Lượng vi sinh vật trong  $1m^3$  không khí

	Vi khuẩn	Nấm mốc
Mùa đông	4305	1345
Mùa xuân	8080	2275
Mùa hè	9845	2500
Mùa thu	5665	2185

### 2. Phụ thuộc vùng địa lý

- Lượng vi sinh vật gần khu quốc lộ có nhiều xe qua lại bao giờ cũng nhiều vi sinh vật trong không khí hơn vùng nơi khác.

- Không khí vùng núi và vùng biển bao giờ cũng ít vi sinh vật hơn vùng khác.

Đặc biệt trong không khí ngoài biển lượng vi sinh vật rất ít.

- Ngoài ra nó còn phụ thuộc chiều cao lớp không khí. Không khí càng cao so với mặt đất, lượng vi sinh vật càng ít, kết quả nghiên cứu trên bầu trời Matxcova cho thấy:

Bảng 3.3. Lượng vi sinh vật trong một lít không khí

Độ cao (m)	Lượng tế bào
500	2,3
1000	1,5
2000	0,5
5000 - 7000	Lượng vi sinh vật ít hơn 3 - 4 lần

### 3. Phụ thuộc hoạt động sống của con người

Con người và động vật là một trong những nguyên nhân gây nạn ô nhiễm không khí. Thí dụ như trong giao thông, vận tải, trong chăn nuôi, trong sản xuất công nông nghiệp, do bệnh tật hoặc do các hoạt động khác của con người và động vật mà lượng vi sinh vật tăng hay giảm.

Kết quả thí nghiệm trong một nhà máy bánh mì thấy rằng lượng vi sinh vật/ $1m^3$  không khí.

Bảng 3.4.

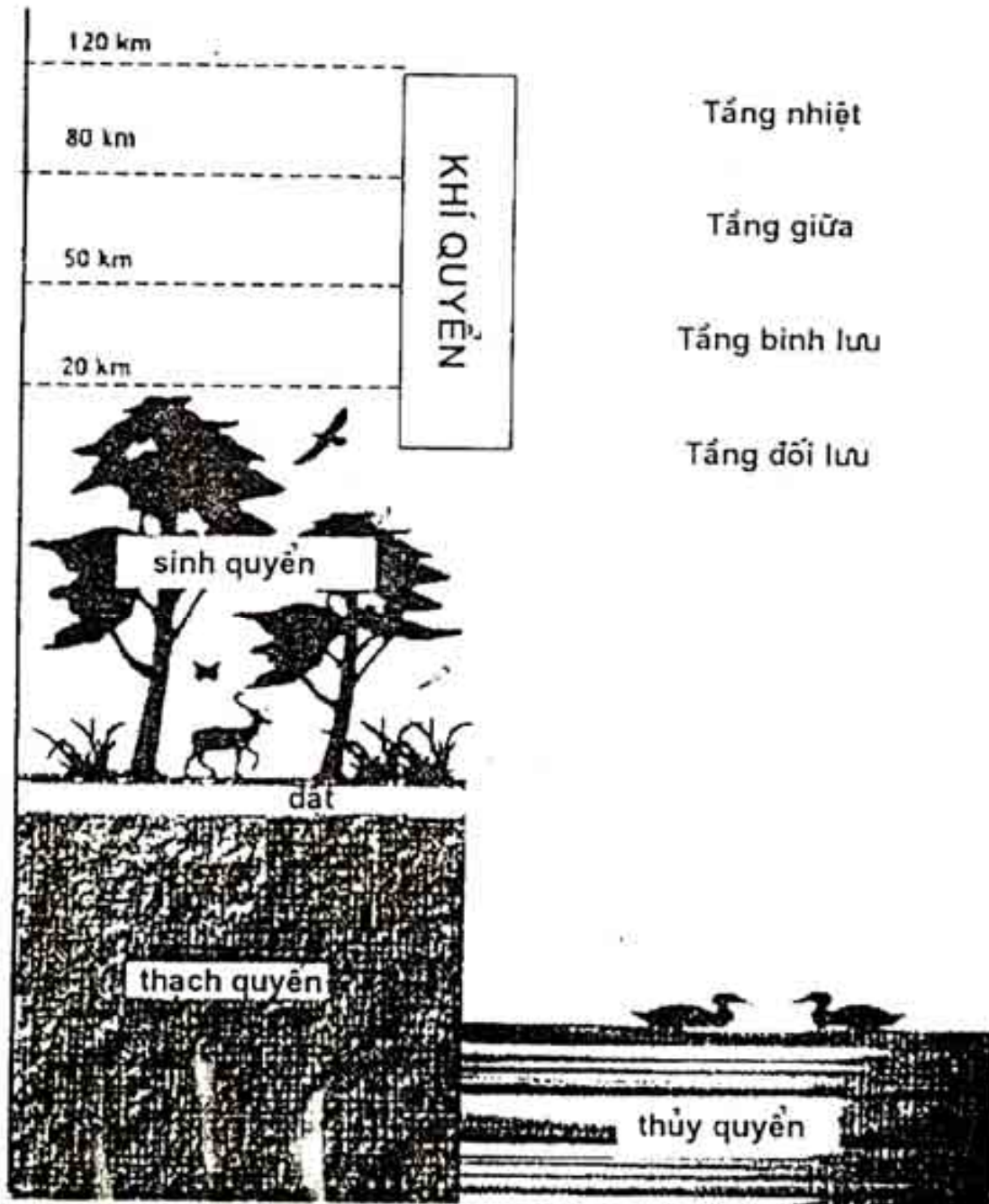
Phân xưởng	Nấm mốc (th/ $m^3$ kk)	Vi khuẩn (th/ $m^3$ kk)
Bột	4250	2450
Nhào bột	700	360
Lên men	650	810
Nuôi nấm men	410	720
Tạo hình	830	1160
Nướng bánh	750	950
Bảo quản	2370	1410

Kết quả chung cho thấy khu vực SX khác nhau cho thấy lượng vi sinh vật trong không khí khác nhau.

Bảng 3.5. Lượng vi sinh vật/ $1m^3$  không khí ở các vùng khác nhau

Nơi chăn nuôi	1.000.000 - 2.000.000
---------------	-----------------------

Khu cư xá	20.000
Đường phố	5.000
Công viên trong thành phố	200
Ngoài biển	1 - 2



Hình 3.3. earth (Trái đất): the principal layers and compartments of the earth  
(các lớp chính và các quyển của Trái đất)

## CHƯƠNG IV

### KHẢ NĂNG CHUYỂN HÓA VẬT CHẤT CỦA VI SINH VẬT TRONG CÁC MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN

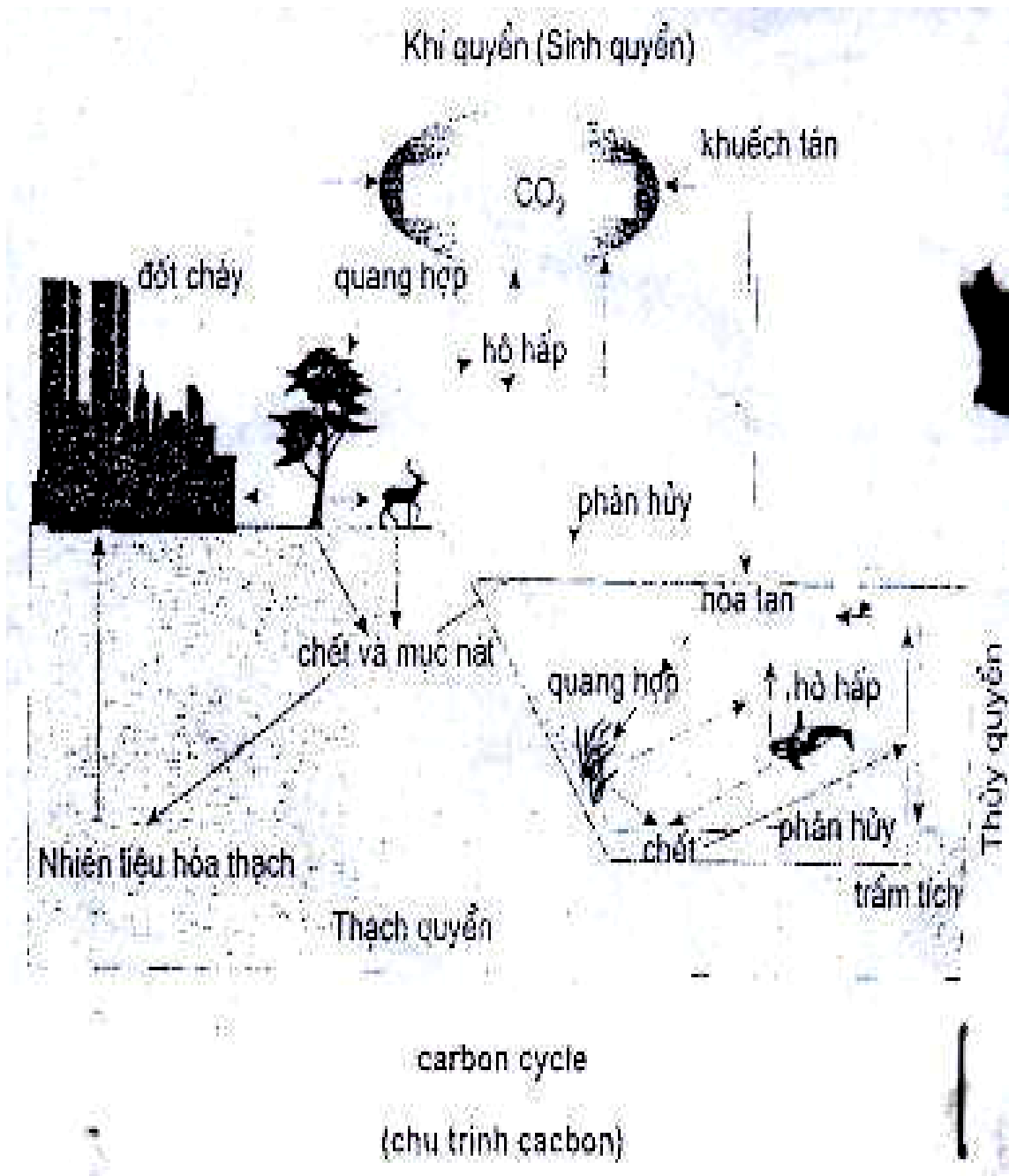
Sự chuyển hoá vật chất liên tục của vi sinh vật trong môi trường tự nhiên chính là yếu tố quyết định của sự tồn tại môi trường sống xung quanh chúng ta. Trong thiên nhiên vật chất luôn luôn chuyển hoá từ dạng này sang dạng khác tạo thành những vòng tuần hoàn vật chất. Sự sống có được trên hành tinh chúng ta chính nhờ sự luân chuyển đó.

Trong các khâu của các chu trình chuyển hoá vật chất, vi sinh vật đóng vai trò vô cùng quan trọng. Các nhóm vi sinh vật khác nhau tham gia vào các khâu chuyển hoá khác nhau. Nếu như vắng mặt một nhóm nào đó thì toàn bộ quá trình chuyển hoá sẽ bị dừng lại, điều này sẽ ảnh hưởng đến toàn bộ hệ sinh thái vì sự tồn tại của các loài sinh vật trong hệ sinh thái phụ thuộc vào nguồn thức ăn có trong môi trường.

#### 4.1. KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ CÁC HỢP CHẤT CACBON TRONG MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN

##### 4.1.1. Vòng tuần hoàn cacbon trong tự nhiên

**Carbon cycle chu trình cacbon** : Sự chu chuyển của nguyên tố cacbon giữa cơ thể và môi trường nhờ hoạt động sống của các sinh vật trong hệ sinh thái. Cacbon đioxit ( $\text{CO}_2$ ) trong khí quyển hay trong nước được sinh vật tự dưỡng hấp thụ và biến đổi thành các hợp chất hữu cơ phức tạp như hydrat cacbon, protein, lipit ... thông qua quá trình quang hợp và những phản ứng sinh hoá. Một phần các chất được tạo thành cấu trúc nên cơ thể thực vật. Thực vật được động vật hay các sinh vật dị dưỡng sử dụng, sau đó, các chất bài tiết cũng như xác chết của sinh vật bị vi khuẩn phân huỷ đến giai đoạn cuối cùng ( giai đoạn kháng hoá ) trả lại Cacbon đioxit cho môi trường.

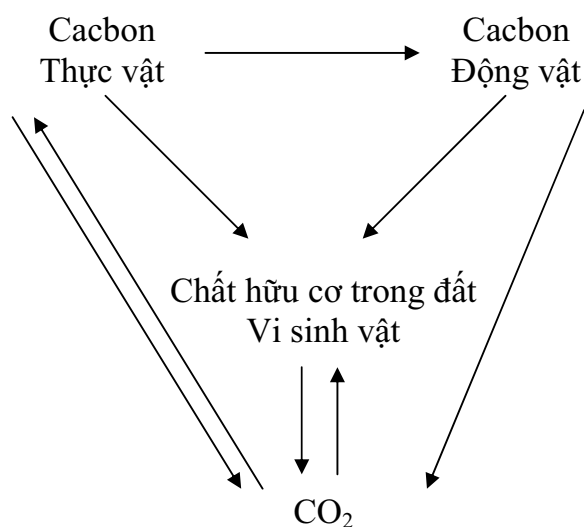


Hình 4.1



#### 4.1.2. Vai trò của vi sinh vật trong vòng tuần hoàn cacbon

Cacbon trong tự nhiên nằm ở rất nhiều dạng hợp chất khác nhau, từ các hợp chất vô cơ đến các hợp chất hữu cơ. Các dạng này không bất biến mà luôn luôn chuyển hoá từ dạng này sang dạng khác, khép kín thành một chu trình chuyển hoá hoặc vòng tuần hoàn cacbon trong tự nhiên. Vi sinh vật đóng một vai trò quan trọng trong một số khâu chuyển hoá của vòng tuần hoàn này.



Hình 4.1.2

Các hợp chất cacbon hữu cơ chứa trong động vật, thực vật, vi sinh vật, khi các vi sinh vật này chết đi sẽ để lại một lượng chất hữu cơ khổng lồ trong đất. Nhờ hoạt động của các nhóm vi sinh vật dị dưỡng cacbon sống trong đất, các chất hữu cơ này dần dần bị phân huỷ tạo thành  $\text{CO}_2$ .  $\text{CO}_2$  được thực vật và vi sinh vật sử dụng trong quá trình quang hợp lại biến thành các hợp chất cacbon hữu cơ của cơ thể thực vật. Động vật và con người sử dụng cacbon hữu cơ của thực vật biến thành cacbon hữu cơ của động vật và người. Người, động vật, thực vật đều thải ra  $\text{CO}_2$  trong quá trình sống, đồng thời khi chết đi để lại trong đất một lượng chất hữu cơ, vi sinh vật lại bị phân huỷ nó. Cứ thế trong tự nhiên các dạng hợp chất cacbon được chuyển hoá liên tục. Dưới đây ta xét đến các quá trình chuyển hoá chính mà vi sinh vật tham gia.

#### 4.1.3 Sự phân giải một số các hợp chất cacbon do vi sinh vật

##### 1. Sự phân giải xenluloza

*a.. Xenluloza trong tự nhiên*

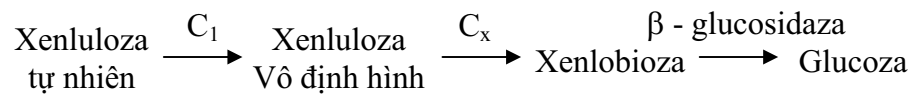
Xenluloza là thành phần chủ yếu của màng tế bào thực vật. Ở cây bông, xenluloza chiếm tới 90% trọng lượng khô, ở các loại cây gỗ nói chung xenluloza chiếm 40 - 50%. Hàng ngày, hàng giờ, một lượng lớn xenluloza được tích lũy lại trong đất do các sản phẩm tổng hợp của thực vật thải ra, cây cối chết đi, cành lá rụng xuống. Một phần không nhỏ do con người thải ra dưới dạng rác rưởi, giấy vụn, phoi bào, mùn cưa v.v.... Nếu không có quá trình phân giải của vi sinh vật thì lượng chất hữu cơ khổng lồ này sẽ tràn ngập trái đất.

Xenluloza có cấu tạo dạng sợi, có cấu trúc phân tử là 1 polimer mạch thẳng, mỗi đơn vị là một disaccarit gọi là xenlobioza. Xenlobioza có cấu trúc từ 2 phân tử D - glucoza. Cấu trúc bậc 2 và bậc 3 rất phức tạp thành cấu trúc dạng lớp gắn với nhau bằng lực liên kết hydro. Lực liên kết hydro trùng hợp nhiều lần nên rất bền vững, bởi vậy xenluloza là hợp chất khó phân giải. Dịch tiêu hoá của người và động vật không thể tiêu hoá được chúng. Động vật nhai lại tiêu hoá được xenluloza là nhờ khu hệ vi sinh vật sống trong dạ dày cỏ.

*b. Cơ chế của quá trình phân giải xenluloza nhờ vi sinh vật*

Xenluloza là một cơ chất không hoà tan, khó phân giải. Bởi vậy vi sinh vật phân huỷ xenluloza phải có một hệ enzym gọi là hệ enzym xenlulaza bao gồm 4 enzym khác nhau. Enzym  $C_1$  có tác dụng cắt đứt liên kết hydro, biến dạng xenluloza tự nhiên có cấu hình không gian thành dạng xenluloza vô định hình, enzym này gọi là xenlobiohydrolaza.

Enzym thứ hai là Endoglucanaza có khả năng cắt đứt các liên kết  $\beta - 1,4$  bên trong phân tử tạo thành những chuỗi dài. Enzym thứ 3 là Exo - gluconaza tiến hành phân giải các chuỗi trên thành disaccarit gọi là xenlobioza. Cả hai loại enzym Endo và Exo - gluconaza được gọi là  $C_x$ . Enzym thứ 4 là  $\beta -$  glucosidaza tiến hành thủy phân xenlobioza thành glucoza.



*c. Vi sinh vật phân huỷ xenluloza*

Trong thiên nhiên có nhiều nhóm vi sinh vật có khả năng phân huỷ xenluloza nhờ có hệ enzym xenluloza ngoại bào. Trong đó vi nấm là nhóm có khả năng phân giải mạnh vì nó tiết ra môi trường một lượng lớn enzym đầy đủ các thành phần. Các nấm mốc có hoạt tính phân giải xenluloza đáng chú ý là *Tricoderma*. Hầu hết các loài thuộc chi *Tricoderma* sống hoạt sinh trong đất và đều có khả năng phân huỷ xenluloza. Chúng tiến hành phân huỷ các tàn dư của thực vật để lại trong đất, góp phần chuyển hoá một lượng chất hữu cơ khổng lồ. *Tricoderma* còn sống trên tre, nứa, gỗ tạo thành lớp mốc màu xanh phá huỷ các vật liệu trên. Trong nhóm vi nấm ngoài *Tricoderma* còn có nhiều giống khác có khả năng phân giải xenluloza như *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* ...

Nhiều loài vi khuẩn cũng có khả năng phân huỷ xenluloza, tuy nhiên cường độ không mạnh bằng vi nấm. Nguyên nhân là do số lượng enzym tiết ra môi trường của vi khuẩn thường nhỏ hơn, thành phần các loại enzym không đầy đủ. Thường ở trong đất có ít loài vi khuẩn có khả năng tiết ra đầy đủ 4 loại enzym, trong hệ enzym xenlulaza. Nhóm này tiết ra một loại enzym trong hệ enzym xenlulaza. Nhóm này tiết ra một loại enzym, nhóm khác tiết ra các loại khác, chúng phối hợp với nhau để phân giải cơ chất trong mối quan hệ hỗ sinh.

Nhóm vi khuẩn hiếu khí bao gồm *Pseudomonas*, *Xenllulomonas*, *Achromobacter*.

Nhóm vi khuẩn kỵ khí bao gồm *Clostridium* và đặc biệt là nhóm vi khuẩn sống trong dạ cỏ của động vật nhai lại. Chính nhờ nhóm vi khuẩn này mà trâu bò có thể sử dụng được xenluloza có trong cỏ, rơm rạ làm thức ăn. Đó là những cầu khuẩn thuộc chi *Ruminococcus* có khả năng phân huỷ xenluloza thành đường và các axit hữu cơ.

Ngoài vi nấm và vi khuẩn, xạ khuẩn và niêm vi khuẩn cũng có khả năng phân huỷ xenluloza. Người ta thường sử dụng xạ khuẩn đặc biệt là chi *Streptomyces* trong việc phân huỷ rác thải sinh hoạt. Những xạ khuẩn này thường thuộc nhóm ưa nóng, sinh trưởng, phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 45 - 50°C rất thích hợp với quá trình ủ rác thải.

## 2. Sự phân giải tinh bột

### a. Tinh bột trong tự nhiên

Tinh bột là chất dự trữ chủ yếu là của thực vật, bởi vậy nó chiếm một tỉ lệ lớn trong thực vật, đặc biệt là trong những cây có củ. Trong tế bào thực vật, nó tồn tại ở dạng các hạt tinh bột. Khi thực vật chết đi, tàn dư thực vật tích lũy ở trong đất một lượng lớn tinh bột. Nhóm vi sinh vật phân huỷ tinh bột sống đất sẽ tiến hành phân huỷ chất hữu cơ này thành những hợp chất đơn giản, chủ yếu là đường và axit hữu cơ.

Tinh bột gồm 2 thành phần amilo và amiopectin. Amilo là những chuỗi không phân nhánh bao gồm hàng trăm đơn vị glucoza liên kết với nhau bằng dây nối 1,4 glucozit. Amiopectin là các chuỗi phân nhánh; các đơn vị glucoza liên kết với nhau bằng dây nối 1,4 và 1,6 glucozit (liên kết 1,6 glucozit tại những chỗ phân nhánh). Amiopectin chính là dạng liên kết của các amilo thường chiếm 10 -30%, amiopectin chiếm 30 - 70%. Đặc biệt có một số dạng tinh bột ở một vài loại cây chỉ chứa một trong hai thành phần amilo hoặc amiopectin.

### b. Cơ chế của quá trình phân giải tinh bột nhờ vi sinh vật

Vi sinh vật phân giải tinh bột có khả năng tiết ra môi trường hệ enzym amilaza bao gồm 4 enzym:

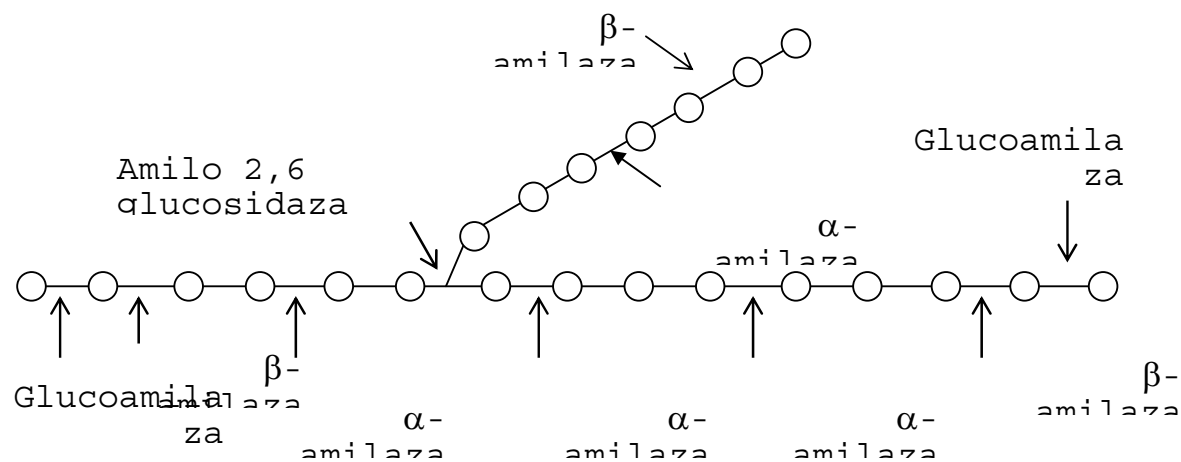
\*  $\alpha$  - amilaza có khả năng tác động vào bất kỳ mối liên kết 1,4 glucozit nào trong phân tử tinh bột. Bởi thế  $\alpha$  - amilaza còn được gọi là endoamilaza. Dưới tác động của  $\alpha$  - amilaza phân tử tinh bột được cắt thành nhiều đoạn ngắn gọi là sự dịch hoá tinh bột. Sản phẩm của sự dịch hoá thường là các đường 3 cacbon gọi là Mantotrioza.

\*  $\beta$  - amilaza chỉ có khả năng cắt đứt mối liên kết 1,4 glucozit ở cuối phân tử tinh bột bởi thế còn gọi là exoamilaza. Sản phẩm của  $\beta$  - amilaza thường là đường disaccarit matoza.

\* Amilo 1,6 glucosidaza có khả năng cắt đứt mối liên kết 1,6 glucosit tại những chỗ phân nhánh của amiopectin.

\* Glucoamilaza phân giải tinh bột thành glucoza và các oligosaccarit. Enzym này có khả năng phân cắt cả hai loại liên kết 1,4 và 1,6 glucozit.

Dưới tác động của 4 loại enzym trên, phân tử tinh bột được phân giải thành đường glucoza.



### c. Vi sinh vật phân giải tinh bột

Trong đất có nhiều loại vi sinh vật có khả năng phân giải tinh bột. Một số vi sinh vật có khả năng tiết ra môi trường đầy đủ các loại enzym trong hệ enzym amilaza. Ví dụ như một số vi nấm bao gồm một số loài trong các chi *Aspergillus*, *Fusarius*, *Rhizopus* ... Trong nhóm vi khuẩn có một số loài thuộc chi *Bacillus*, *Cytophaga*, *Pseudomonas* ... Xạ khuẩn cũng có một số chi có khả năng phân huỷ tinh bột.

Đa số các vi sinh vật không có khả năng tiết đầy đủ hệ enzym amilaza phân huỷ tinh bột. Chúng chỉ có thể tiết ra môi trường một hoặc một vài men trong hệ đó. Ví dụ như các loài *Aspergillus candidus*, *A.niger*, *A.oryzae*, *Bacillus subtilis*, *B. mesenterices*, *Clostridium pasteurianum*, *C. butiricum* ... chỉ có khả năng tiết ra môi trường một loại enzym  $\alpha$  - amilaza. Các loài *Aspergillus oryzae*, *Clostridium acetobutlicum* ... chỉ tiết ra môi trường  $\beta$  - amilaza. Một số loài khác chỉ có khả năng tiết ra môi trường enzym glucoamilaza. Các nhóm này cộng tác với nhau trong quá trình phân huỷ tinh bột thành đường.

Trong sản xuất người ta thường sử dụng các nhóm vi sinh vật có khả năng phân huỷ tinh bột. Ví dụ như các loại nấm mốc thường được dùng ở giai đoạn đầu của quá trình làm rượu, tức là giai đoạn thủy phân tinh bột thành đường. Trong chế biến rác

thải hữu cơ người ta cũng sử dụng những chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ tinh bột để phân huỷ tinh bột có trong thành phần rác hữu cơ.

### 3. Sự phân giải đường đơn

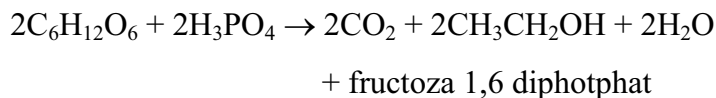
Ở phần trên chúng ta thấy kết quả của quá trình phân giải xenluloza và tinh bột đều tạo thành đường đơn (đường 6 cacbon). Đường đơn tích lũy lại trong đất sẽ được tiếp tục phân giải các nhóm vi sinh vật phân giải đường. Có hai nhóm vi sinh vật phân giải đường: nhóm háo khí và nhóm lên men.

#### A. Sự phân giải đường nhờ các quá trình lên men

Sản phẩm của sự phân giải đường nhờ các quá trình lên men là những chất hữu cơ chưa được oxy hoá triệt để. Dựa vào các sản phẩm sinh ra người ta đặt tên cho các quá trình đó:

##### 1. Quá trình lên men etylic

Quá trình lên men etylic còn được gọi là quá trình lên men rượu. Sản phẩm của quá trình là rượu etylic và CO<sub>2</sub>. Dưới tác dụng của một hệ thống enzym sinh ra bởi vi sinh vật, glucoza được chuyển hoá theo con đường Embden - Mayerhof để tạo thành pyruvat. Pyruvat dưới tác dụng của men piruvat decacboxylaza và tiamin pirophotphat sẽ khử cacboxyl tạo thành axetaldehyt. Axetaldehyt sẽ bị khử thành rượu etylic. Đó chính là cơ chế của quá trình lên men rượu, quá trình này ngoài tác dụng của hệ thống enzym do vi sinh vật tiết ra còn đòi hỏi sự tham gia của photphat vô cơ.



Đó là kiểu lên men rượu bình thường. Khi có mặt của NaHCO<sub>3</sub> hay Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> quá trình lên men sẽ sinh ra một sản phẩm khác là Glyxerin đồng thời hạn chế sự sịn ra rượu etylic.

Nhiều loài vi sinh vật có khả năng lên men rượu, trong đó mạnh nhất là có ý nghĩa kinh tế nhất là nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Người ta thường ứng dụng quá trình lên men rượu để sản xuất rượu, bia nước giải khát lên men. Khi sử dụng nguồn tinh bột để chế tạo rượu thì người ta phải tiến hành 2 bước, bước 1 là quá trình phân huỷ tinh bột thành đường thường dùng các loài nấm mốc phân huỷ tinh bột. Bước 2 mới là quá trình lên men đường thành rượu thường sử dụng nấm men. Để rút ngắn và đơn giản hoá quá trình, một số nhà nghiên cứu đang tiến hành ghép gen phân

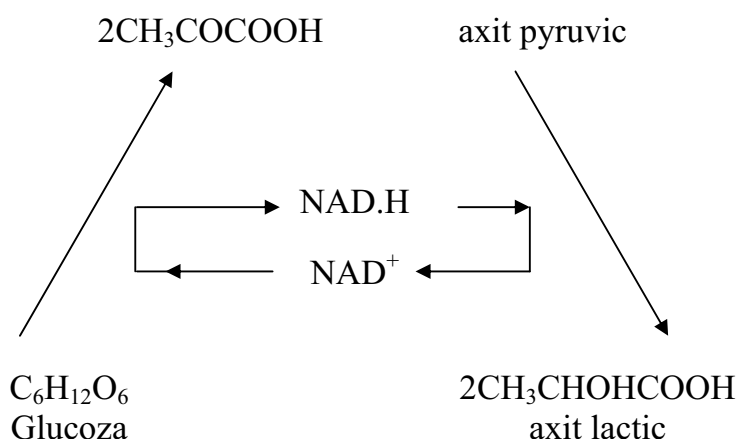
huỷ tinh bột ở một loài nấm mốc có khả năng phân huỷ tinh bột vào *Saccharomyces cerevisiae*.

Quá trình lên men rượu còn được sử dụng trong công nghiệp làm bánh mì, CO<sub>2</sub> sinh ra trong quá trình lên men có tác dụng làm nở bột mì. Các nấm men có khả năng lên men rượu còn được dùng trong việc ủ men thức ăn. Thức ăn gia súc được ủ men có hương vị thơm ngon kích thích tiêu hoá của gia súc.

## 2. Quá trình lên men Lactic

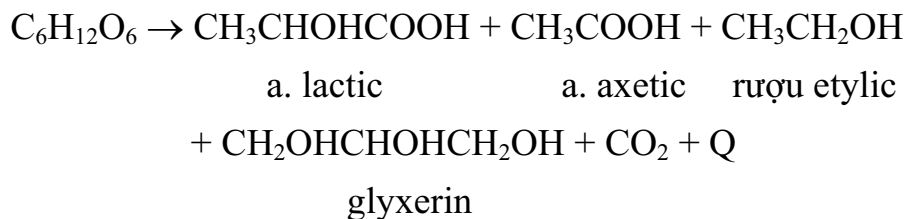
Quá trình phân giải glucoza thành axit lactic được gọi là quá trình lên men lactic. Có 2 loại lên men lactic đồng hình và lên men lactic dị hình.

Ở sự lên men lactic đồng hình glucoza bị phân giải theo con đường Embden - Mayerhof tạo thành axit pyruvic, axit pyruvic khử thành axit lactic.



Quá trình lên men lactic đồng hình được thực hiện bởi nhóm vi khuẩn *Lactobacterium* và *Streptococcus*.

Ở sự lên men lactic dị hình glucoza bị phân giải theo con đường pentozophotphat. Sản phẩm của quá trình lên men ngoài axit lactic còn có rượu etylic, axit axetic và glyxerin.



Vi khuẩn lactic thường đòi hỏi nhiều loại chất sinh trưởng, chúng khó có thể phát triển trên môi trường tổng hợp mà chỉ có thể sống trên môi trường có các chất

hữu cơ như nước chiết nấm men, sữa, máu v.v... Chúng thường phân bố trên thực vật hoặc xác thực vật, trong sữa, các sản phẩm của sữa, trong ruột người và động vật.

Quá trình lên men lactic được ứng dụng để chế tạo axit lactic, muối rau quả, chế biến sữa chua v.v... Rau quả được muối, sữa biến thành sữa chua sau quá trình lên men lactic đều có tác dụng tiêu hoá rất tốt. Việc ủ chua thức ăn gia súc cũng dựa trên sự lên men lactic.

Trong quá trình muối dưa, áp suất thẩm thấu do muối tạo ra sẽ làm cho chất dịch bên trong tế bào rau đi ra ngoài. Vi khuẩn lactic có sẵn trong không khí sử dụng dịch tế bào đó để sống, lúc đầu cũng có cả những vi khuẩn hoại sinh khác, sau đó do axit lactic sinh ra làm hạ pH, ức chế các vi khuẩn khác. Đến một pH nhất định vi khuẩn lactic cũng bị ức chế, lúc đó sẽ xuất hiện váng dưa là một loại nấm men chịu pH thấp. Nấm men này phân huỷ axit lactic thành  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$  làm cho dưa giảm độ chua, các loại vi khuẩn hoại sinh do pH lên cao lại phát triển trở lại làm cho dưa bị khú.

Ngoài các quá trình lên men rượu, lên men lactic nói trên, trong thiên nhiên còn có nhiều nhóm vi sinh vật tiến hành phân giải đường nhờ các quá trình lên men khác. Ví dụ như sự lên men propionic, sản phẩm của quá trình là axit propionic, sự lên men formic, lên men butyric, lên men metan ... sản phẩm của quá trình là axit formic, rượu butyric, khí metan ... các nhóm vi khuẩn trên đều phân bố rộng rãi trong đất và tiến hành phân giải đường đơn thành các sản phẩm khác nhau. Đó là sự phân giải đường nhờ các quá trình lên men.

#### *B. Sự phân giải đường nhờ các quá trình oxy hoá*

Ngoài các quá trình lên men, trong thiên nhiên còn có các nhóm vi sinh vật có khả năng phân giải đường bằng con đường oxy hoá.

Đó là các nhóm vi sinh vật hiếu khí có khả năng phân huỷ triệt để đường glucoza thành  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$  qua chu trình Crebs (đọc giáo trình sinh hoá học). Sản phẩm của các quá trình hiếu khí không phải là các chất hữu cơ như ở các quá trình lên men mà là  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$ .

Như vậy nhờ các nhóm vi sinh vật khác nhau mà đường glucoza được sinh ra trong sự phân giải xenluloza và tinh bột lại được phân giải tiếp tục. Các sản phẩm của quá trình phân giải đường do lên men cũng được tiếp tục phân giải. Ví dụ như rượu etylic là sản phẩm của quá trình lên men rượu sẽ được nhóm vi khuẩn axetic chuyển hoá thành axit axetic, đó chính là cơ chế của quá trình sản xuất dấm ăn v.v...

Các hợp chất cacbon hữu cơ trong đất được các nhóm vi sinh vật khác nhau phân huỷ cuối cùng thành  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$ .  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$  lại được nhóm vi khuẩn dinh dưỡng quang năng và thực vật đồng hoá thành chất hữu cơ, khép kín vòng tuần hoàn cacbon, nếu như không có sự hoạt động của các nhóm vi sinh vật trong đất thì vòng tuần hoàn cacbon không thể khép kín, các chất hữu cơ không được phân huỷ và lúc đó tai họa sinh thái sẽ xảy ra dẫn đến sự khủng hoảng sinh cầu, sự sống trên trái đất sẽ không thể tiếp diễn.

### 3. Sự cố định $\text{CO}_2$

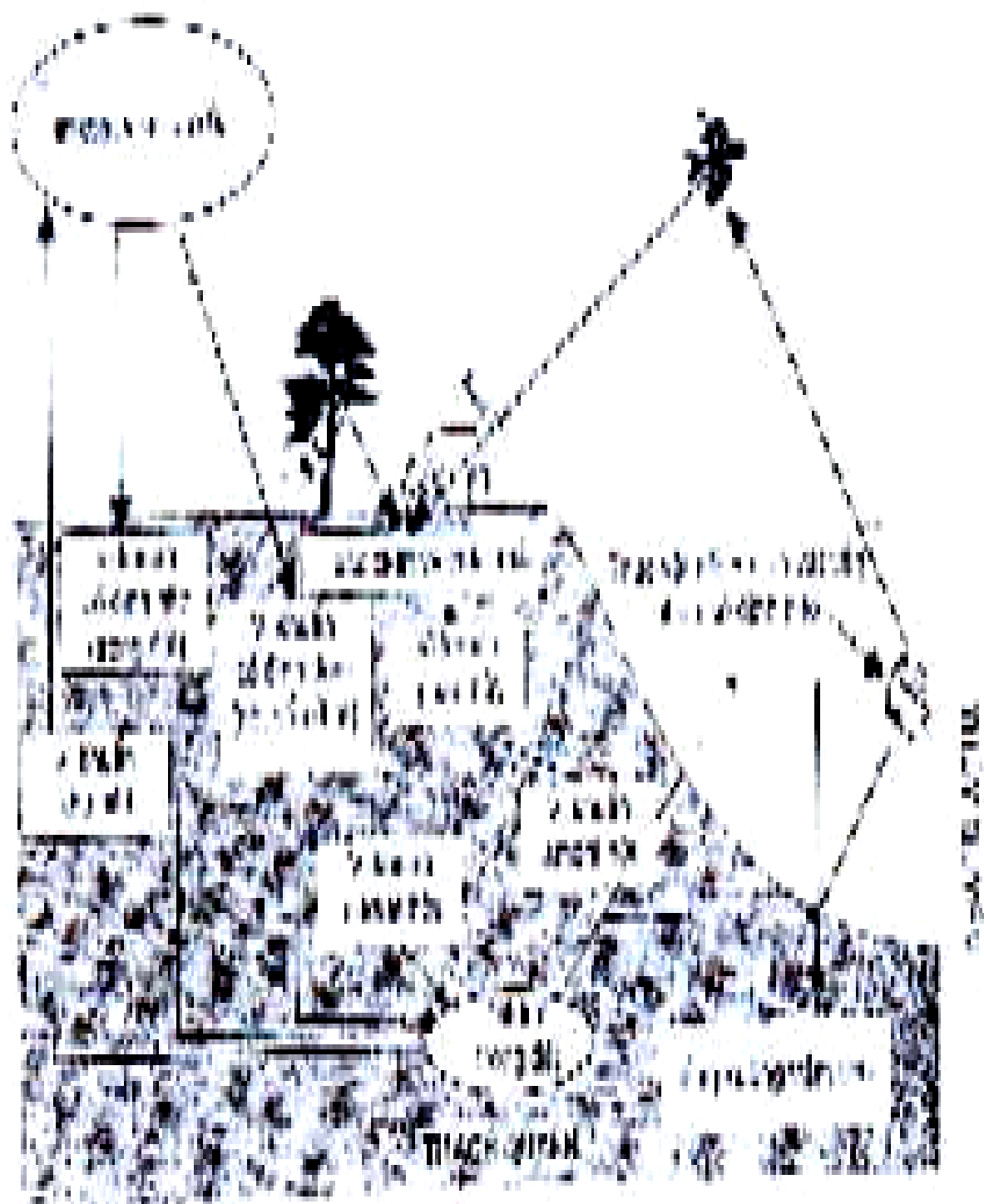


Là quá trình quang hợp của cây xanh và vi sinh vật tự dưỡng quang năng. Quá trình này chuyển hoá CO<sub>2</sub> thành chất hữu cơ - sản phẩm của quá trình quang hợp.

Tóm lại, các nhóm vi sinh vật tham gia trong quá trình chuyển hoá các hợp chất cacbon đã góp phần khép kín vòng tuần hoàn vật chất, giữ mỗi cân bằng vật chất trong thiên nhiên. Từ đó giữ được sự cân bằng sinh thái trong các môi trường tự nhiên. Sự phân bố rộng rãi của các nhóm vi sinh vật chuyển hoá các hợp chất cacbon còn góp phần làm sạch môi trường, khi môi trường bị ô nhiễm các hợp chất hữu cơ chứa cacbon. Người ta sử dụng những nhóm vi sinh vật này trong việc xử lý chất thải có chứa các hợp chất cacbon hữu cơ như xenluloza, tinh bột v.v...

## **4.2. KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ CÁC HỢP CHẤT NITƠ TRONG MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN CỦA VI SINH VẬT**

### **4.2.1. Vòng tuần hoàn nitơ trong tự nhiên**

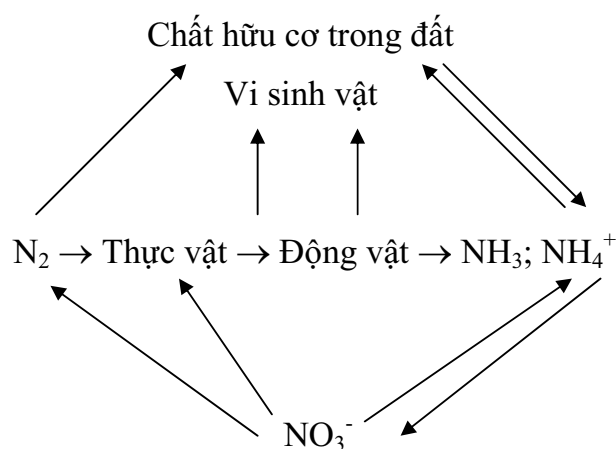


Hình 4.2.1. Nitrogen cycle Chu trình nito

Nitrogen cycle chu trình nitơ sự tuần hoàn của nitơ giữa các sinh vật và môi trường. Nitơ dạng khí trong khí quyển chỉ được sử dụng trực tiếp bởi một số vi sinh vật (clostridium) và một số tảo lam (nostoc). Chúng biến đổi nitơ thành dạng amon, nitrit và nitrat, những chất này sau đó được giải phóng vào đất bởi các quá trình bài tiết và phân giải. Có một cách khác để niu tơ khí quyển được cố định là nhờ các tia lửa điện của sấm sét. Phần lớn thực vật chỉ có thể sử dụng nitơ dưới dạng nitrat, trừ một số thực vật cộng sinh với vi khuẩn nốt sần Rhizobium hoặc các sinh vật khác tạo nốt sần của rễ. Khi thực vật và động vật chết thì nitơ hữu cơ trong chúng biến đổi trở lại thành dạng nitrat trong quá trình gọi là nitrat hoá. Một phần nitrat này được thực vật hấp thụ, còn một phần bị mất do quá trình khử nitrit và quá trình rửa trôi. Sự tăng cường sử dụng phân bón trong nông nghiệp (nitrat amon) hiện nay trở thành một nhân tố quan trọng trong chu trình nitơ .x.nitrogen fixation.

#### 4.2.2. Vai trò của vi sinh vật trong vòng tuần hoàn Nitơ

Trong các môi trường tự nhiên, nitơ tồn tại ở các dạng khác nhau, từ nitơ phân tử ở dạng khí cho đến các hợp chất hữu cơ phức tạp có trong cơ thể động, thực vật và con người. Trong cơ thể sinh vật, nitơ tồn tại chủ yếu dưới dạng các hợp chất đạm hữu cơ như protein, axit amin. Khi cơ thể sinh vật chết đi, lượng nitơ hữu cơ này tồn tại ở trong đất. Dưới tác dụng của các nhóm vi sinh vật hoại sinh, protein được phân giải thành các axit amin. Các axit amin lại được một nhóm vi sinh vật phân giải thành  $\text{NH}_3$  hoặc  $\text{NH}_4^+$  gọi là nhóm vi khuẩn amôn hoá. Quá trình này còn gọi là sự khoáng hoá chất hữu cơ vì qua đó nitơ hữu cơ được chuyển thành dạng nitơ khoáng. Dạng  $\text{NH}_4^+$  sẽ được chuyển hoá thành dạng  $\text{NO}_3^-$  nhờ nhóm vi khuẩn nitrat hoá. Các hợp chất nitrat lại được chuyển hoá thành dạng nitơ phân tử, quá trình này gọi là sự phản nitrat hoá được thực hiện bởi nhóm vi khuẩn phản nitrat. Khí nitơ sẽ được cố định lại trong tế bào vi khuẩn và tế bào thực vật sau đó chuyển hoá thành dạng nitơ hữu cơ nhờ nhóm vi khuẩn cố định nitơ. Như vậy, vòng tuần hoàn nitơ được khép kín. Trong hầu hết các khâu chuyển hoá của vòng tuần hoàn đều có sự tham gia của các nhóm vi sinh vật khác nhau. Nếu sự hoạt động của một nhóm nào đó ngừng lại, toàn bộ sự chuyển hoá của vòng tuần hoàn cũng sẽ bị ảnh hưởng nghiêm trọng.



Hình 4.2.2

#### 4.2.3. Quá trình amôn hoá

Trong thiên nhiên tồn tại nhiều dạng hợp chất nitơ hữu cơ như protein, axit amin, axit nucleic, urê ... Các hợp chất này đi vào đất từ nguồn xác động, thực vật, các loại phân chuồng, phân xanh, rác rưởi. Thực vật không thể đồng hoá được dạng nitơ hữu cơ phức tạp như trên, nó chỉ có thể sử dụng được sau quá trình amôn hoá. Qua quá trình amôn hoá, các dạng nitơ hữu cơ được chuyển hoá thành dạng NH<sub>4</sub><sup>+</sup> hoặc NH<sub>3</sub>.

##### 4.2.3.1. Sự amôn hoá urê

Urê có trong thành phần nước tiểu của người và động vật, chiếm khoảng 2,2% nước tiểu. Urê chứa tới 46,6% nitơ, vì thế nó là một nguồn dinh dưỡng đậm tốt với cây trồng. Tuy nhiên, thực vật không thể đồng hoá trực tiếp Urê mà phải qua quá trình amôn hoá. Quá trình amôn hoá Urê chia ra làm 2 giai đoạn, giai đoạn đầu dưới tác dụng của enzym ureaza tiết ra bởi các vi sinh vật Urê sẽ bị thủy phân tạo thành muối cacbonat amoni, giai đoạn 2 cacbonat amoni chuyển hoá thành NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> và H<sub>2</sub>O:

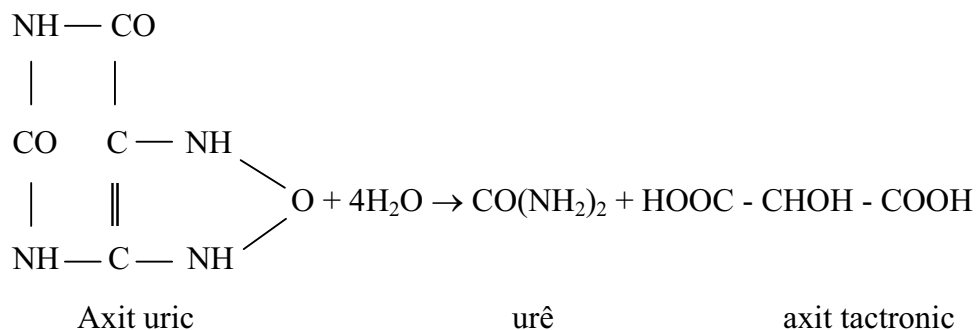


Urê

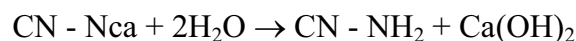


Cacbonat amoni

Trong nước tiểu còn có axit uric, tồn tại trong đất một thời gian axit uric sẽ bị phân giải thành urê và axit tauric. Sau đó urê sẽ tiếp tục bị phân giải thành NH<sub>3</sub>.



Nhóm vi sinh vật phân giải Urê và axit uric còn có khả năng amôn hoá cyanamid canxi là một loại phân bón hoá học. Chất này sau khi đi vào đất cũng bị chuyển hoá thành Urê rồi sau đó qua quá trình amôn hoá được chuyển thành  $\text{NH}_3$ :



Nhiều loài vi khuẩn có khả năng amôn hoá Urê, chúng đều tiết ra enzym ureaza. Trong đó có một số loài có hoạt tính phân giải cao như *Planosarcina ureae*, *Micrococcus ureae*, *Bacillus amylovorum*, *Proteus vulgaris* ...

Một số loài vi khuẩn có khả năng amôn hoá Urê. Đa số vi sinh vật phân giải Urê thuộc nhóm háo khí hoặc kỵ khí không bắt buộc, chúng ưa pH trung tính hoặc hơi kiềm. Bởi vậy khi sử dụng Urê làm phân bón người ta thường kết hợp với bón vôi hoặc tro, đồng thời xới xáo làm thoáng đất.

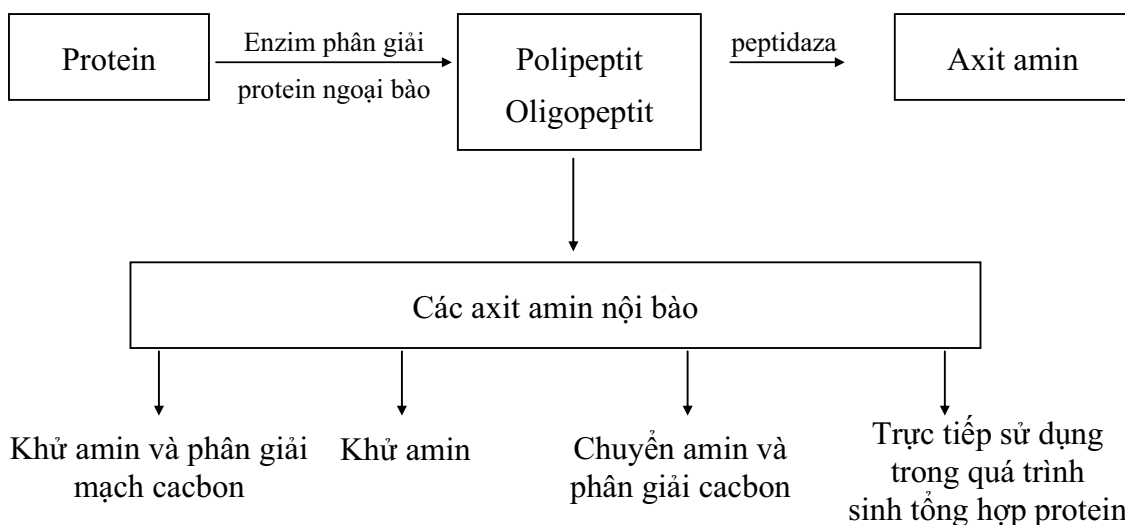
#### 4.2.3.2. Sự amôn hoá protein

Khác với lên men, cơ chất của quá trình thối rữa là protein. Protein là một trong những thành phần quan trọng của xác động vật, thực vật và vi sinh vật. Protein thường chứa khoảng 15,0 - 17,6% nitơ (tính theo chất khô). Nếu như tổng lượng cacbon trong cơ thể các sinh vật sống trên mặt đất là vào khoảng 700 tỉ tấn thì tổng lượng nitơ ít ra cũng tới 10 - 25 tỉ tấn. Trong lớp đất sâu 30 cm bao quanh Trái Đất người ta còn thấy thường xuyên có khoảng 3 - 7,5 tỉ tấn nitơ mà phần lớn là tồn tại trong các hợp chất hữu cơ chứa nitơ. Sự phân giải các hợp chất hữu cơ chứa nitơ có ý nghĩa rất lớn đối với nông nghiệp và đối với vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Người ta còn gọi là quá trình phân giải này là quá trình amôn hoá.

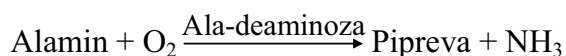
Muốn phân giải protein, cũng giống như đối với các hợp chất cao phân tử khác, đầu tiên vi sinh vật phải tiết ra các enzym phân giải protein ngoại bào và làm chuyển hoá protein thành các hợp chất có phân tử nhỏ hơn (các polipeptit và các oligopeptit).

Các chất này hoặc tiếp xúc được phân huỷ thành axit amin nhờ các peptidaza ngoại bào, hoặc được xâm nhập ngay vào tế bào vi sinh vật sau đó mới chuyển hoá thành axit amin. Một phần các axit amin này được vi sinh vật sử dụng trong quá trình tổng hợp protein của chúng, một phần khác được tiếp tục phân giải theo những con đường khác nhau để sinh  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  và nhiều sản phẩm trung gian khác.

Những vi sinh vật không có khả năng sinh ra các enzym phân giải protein ngoại bào rõ ràng là không có khả năng đồng hoá được các loại protein thiên nhiên. Chúng chỉ có thể sử dụng được các sản phẩm thủy phân của protein (polipeptit, oligopeptit, axit amin)



+ Một số axit amin bị deamin hoá bởi VSV nhờ enzym deaminaza, 1 số phản ứng, một trong những sản phẩm cuối cùng là amôn, ví dụ:



Đối với các axit amin có vòng như Tryptophan, khi phân giải sẽ tạo thành các hợp chất có mùi thối như Indo và Scaton. Khi phân giải các axit amin chứa S như Metionin, Xistin, vi sinh vật giải phóng ra  $\text{H}_2\text{S}$ , chất này độc đối với cây trồng. Một số hợp chất amin sinh ra trong quá trình amôn hoá có tác dụng độc đối với người và động vật. Ví dụ như histamin, acmatin ... đó chính là nguyên nhân bị nhiễm độc khi ăn thịt cá thiu thối hoặc thịt hộp để quá lâu (ô nhiễm thực phẩm).

Tỷ lệ C : N trong đất rất quan trọng đối với nhóm vi sinh vật phân huỷ protein. Nếu như tỷ lệ này quá cao, trong đất quá ít đạm vi sinh vật sẽ tranh chấp thức ăn đạm đối với cây trồng, chúng phân huỷ được bao nhiêu là hấp thụ hết vào tế bào.

Nếu tỷ lệ C : N quá thấp, đạm dư thừa, quá trình phân huỷ sẽ chậm lại, cây trồng không có đạm khoáng mà hấp thụ. Nhiều công trình nghiên cứu đã rút ra tỷ lệ C:N bằng 20 là thích hợp nhất cho quá trình amôn hoá protein, có lợi nhất đối với cây trồng.

Nhiều vi sinh vật có khả năng amôn hoá protein. Trong nhóm vi khuẩn có *Bacillus mycoides*, *Bacillus mesentericus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Clostridium sporogenes* ... Xạ khuẩn có *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces griseus* ... Vi nấm có *Aspergillus oryzae*, *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium camemberti* v.v....

Ngoài protein và ure, nhiều loài vi sinh vật có khả năng amôn hoá kitin là một hợp chất cacbon chứa gốc amin. Kitin là thành phần của vỏ nhiều loại côn trùng, giáp xác. Hàng năm kitin được tích lũy lại trong đất với một lượng không nhỏ. Nhóm vi sinh vật phân huỷ kitin có khả năng tiết enzym kitinaza và kitobiaza phân huỷ phân tử kitin thành các gốc đơn phân tử, sau đó gốc amin được amôn hoá tạo thành  $\text{NH}_3$ .



Hình 4.2.3 Nhóm vi khuẩn amôn hoá prôtit

Bảng 4.1: Vi sinh vật gây thối

Nhóm vi sinh vật	Dạng phân huỷ	Kiểu gây thối	
		Kị khí (Yếm khí)	Hiếu khí
Nhóm các vi sinh vật có enzym đơn	Phân huỷ protein	Bacillus putrificus Bacillus histolytics Bacillus coligenes	Bacillus pyocyaneum Bacillus mensentericus
	Phân huỷ peptit	Bacillus Ventriculosus Bacillus orbiculus	
	Phân huỷ axit amin		Bacillus faccalis Algaligenes Proteus zenkirii
Nhóm vi sinh vật có enzym hỗn hợp	Phân huỷ protein	B. perfrigenes B. sporogenes	Streptococcus Straphylococcus Proteus vulgaris
	Phân huỷ peptit	B. bifidus B. acidophilus B. butyricus	
	Phân huỷ axit amin		B. lactic aerogen B. aminophilus B. coligenes

#### 4.2.4. Quá trình nitrat hoá

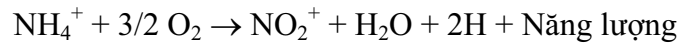
Sau quá trình amôn hoá,  $\text{NH}_3$  được hình thành một phần được cây trồng hấp thụ, một phần phản ứng với các anion trong đất tạo thành các muối amôn. Một phần các muối amôn cũng được cây trồng và vi sinh vật hấp thụ. Phần còn lại được oxy hoá thành dạng nitrat gọi là quá trình nitrat hoá. Trước kia người ta cho rằng quá trình nitrat hoá là một quá trình hoá học thuần túy. Sau này người ta mới tìm ra bản chất vi sinh vật học của nó. Nhóm vi sinh vật tiến hành quá trình này gọi chung là nhóm vi khuẩn nitrat hoá bao gồm hai nhóm tiến hành 2 giai đoạn của quá trình. Giai đoạn oxy



hoá  $\text{NH}_4^+$  thành  $\text{NO}_2^-$  gọi là giai đoạn nitrat hoá, giai đoạn oxy hoá  $\text{NO}_2^-$  thành  $\text{NO}_3^-$  gọi là giai đoạn nitrat hoá.

#### 4.2.4.1. Giai đoạn nitrit hoá

Quá trình oxy hoá  $\text{NH}_4^+$  tạo thành  $\text{NO}_2^+$  được tiến hành bởi nhóm vi khuẩn nitrit hoá. Chúng thuộc nhóm vi sinh vật tự dưỡng hoá năng có khả năng oxy hoá  $\text{NH}_4^+$  bằng oxy không khí và tạo ra năng lượng:



Năng lượng này dùng để đồng hoá  $\text{CO}_2 \rightarrow$  Cacbon hữu cơ

Enzym xúc tác cho quá trình này là các enzym của quá trình hô hấp hiếu khí. Nhóm vi khuẩn nitrit hoá bao gồm 4 chi khác nhau: Nitrozomonas, Nitrozocystis, Nitrozolobus và Nitrosospira chúng đều thuộc loại tự dưỡng bắt buộc, không có khả năng sống trên môi trường thạch. Bởi vậy phân lập chúng rất khó, phải dùng silicagen thay cho thạch.

#### 4.2.4.2. Giai đoạn nitrat hóa

Quá trình oxy hoá  $\text{NO}_2^-$  thành  $\text{NO}_3^-$  được thực hiện bởi nhóm vi khuẩn nitrat. Chúng cũng là những vi sinh vật tự dưỡng hoá năng có khả năng oxy hoá  $\text{NO}_2^-$  tạo thành năng lượng. Năng lượng này được dùng để đồng hoá  $\text{CO}_2$  tạo thành đường.



Nhóm vi khuẩn tiến hành oxy hoá  $\text{NO}_2^-$  thành  $\text{NO}_3^-$  bao gồm 3 chi khác nhau; Nitrobacter, Nitrospira và Nitrococcus.

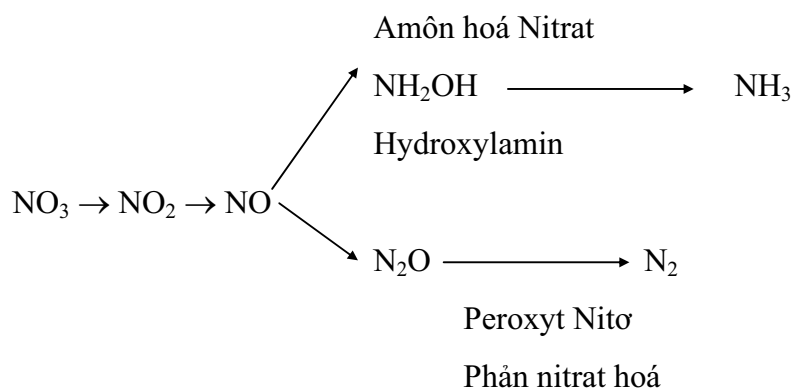
Ngoài nhóm vi khuẩn tự dưỡng hoá năng nói trên, trong đất còn có một số loài vi sinh vật dị dưỡng cũng tiến hành quá trình nitrat hoá. Đó là các loài vi khuẩn và xạ khuẩn thuộc các chi *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Streptomyces* ...

Quá trình nitrat hoá là một khâu quan trọng trong vòng tuần hoàn nitơ, nhưng đối với nông nghiệp nó có nhiều điều bất lợi: Dạng đạm nitrat thường dễ bị rửa trôi xuống các tầng sâu, dễ bị đi vào quá trình phản nitrat hoá tạo thành khí nitơ làm cho đất mất đạm. Anion  $\text{NO}_3^-$  thường kết hợp với ion  $\text{H}^+$  trong đất tạo thành  $\text{HNO}_3$  làm cho pH đất giảm xuống rất bất lợi đối với cây trồng. Hơn nữa, lượng  $\text{NO}_3^-$  dư thừa trong đất được cây trồng hấp thu nhiều làm cho hàm lượng nitrat trong sản phẩm lương thực, thực phẩm cao gây độc cho người. Bởi vậy ngày nay người ta thường hạn chế việc bón phân đạm hoá học có gốc nitrat.

#### 4.2.5. Quá trình phản nitrat hóa

Các hợp chất đạm dạng nitrat ở trong đất rất dễ bị khử biến thành nitơ phân tử. Quá trình này gọi là quá trình phản nitrat hoá. Nó khác với quá trình oxy hoá nitrat tạo thành  $\text{NH}_4^+$  còn gọi là quá trình amôn hoá. Có thể phân biệt hai quá trình trên qua sơ đồ sau:

Quá trình amôn hoá nitrat do một số vi khuẩn dị dưỡng tiến hành trong điều kiện hiếu khí có chức năng cung cấp  $\text{NH}_4^+$  cho tế bào vi khuẩn để tổng hợp axit amin.



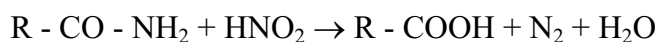
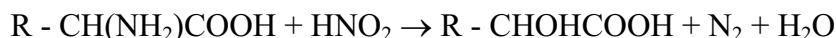
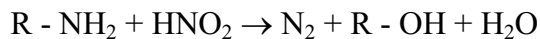
Phản ứng khử  $\text{NO}_3 \rightarrow \text{N}_2$  chỉ xảy ra trong điều kiện kỵ khí.  $\text{NO}_3^-$  là chất nhận điện tử cuối cùng trong chuỗi hô hấp kỵ khí, năng lượng tạo ra được dùng để tổng hợp nên ATP.

Nhóm vi sinh vật thực hiện quá trình phản nitrat hoá phân bố rộng rãi trong đất. Thuộc nhóm tự dưỡng hoá năng có *Thibacillus denitrificans*, *Hydrogenomonas agilis* ... Thuộc nhóm dị dưỡng có *Pseudomonas denitrificans*, *Micrococcus denitrificans* ... sống trong điều kiện kỵ khí (ngập nước).

Đối với nông nghiệp quá trình phản nitrat hoá là một quá trình bất lợi vì nó là cho đất mất đạm. Quá trình này xảy ra mạnh trong điều kiện kỵ khí. Oxy có tác dụng ức chế các enzym xúc tác cho quá trình khử nitrat, đó là các enzym nitrat reductaza và nitrit reductaza. Ở các ruộng lúa nước người ta thường làm cỏ xục bùn để hạn chế quá trình này, đồng thời bón đạm amôn chứ không bón đạm nitrat.

Trong các môi trường tự nhiên ngoài quá trình phản nitrat sinh học nói trên còn có quá trình phản nitrat hoá học thường xảy ra ở  $\text{pH} < 5,5$ . Các quá trình này không có sự tham gia của vi sinh vật:



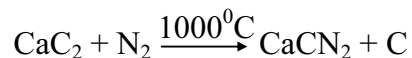


#### 4.2.6. Quá trình cố định Nitơ phân tử

Khí nitơ chiếm khoảng 76% bầu không khí bao quanh chúng ta, trên mỗi hecta đất trọng lượng của nó nặng tới 80.000 tấn. Khí nitơ thường xuyên được hình thành và bổ sung vào không khí do quá trình phân nitrat hoá. Con người, động vật, thực vật đều cần đạm, song sống giữa bầu không khí mênh mông đạm như vậy tuyệt đại đa số sinh vật đều không sử dụng trực tiếp khí nitơ. Chỉ có nhóm sinh vật cố định nitơ là có khả năng này. Hàng năm nhu cầu của cây trồng trên toàn thế giới đối với nitơ là hàng trăm triệu tấn. Tuy nhiên, phân bón hoá học chỉ đáp ứng được khoảng 30%. Lượng còn lại là do quá trình cố định nitơ phân tử cung cấp.

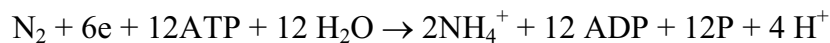
##### 4.2.6.1. Cơ chế của quá trình cố định nitơ phân tử

Nitơ phân tử được cấu tạo từ 2 nguyên tử nitơ nối với nhau bằng 3 dây nối  $N \equiv N$ . Để phá vỡ được 3 dây nối này bằng phương pháp hoá học cần phải tiến hành ở nhiệt độ và áp suất rất cao. Ví dụ như muốn tạo thành xianamit canxi là một loại phân đạm hoá học người ta phải tiến hành phản ứng giữa nitơ phân tử và cacbit canxi ở nhiệt độ 1000 - 1100°C.

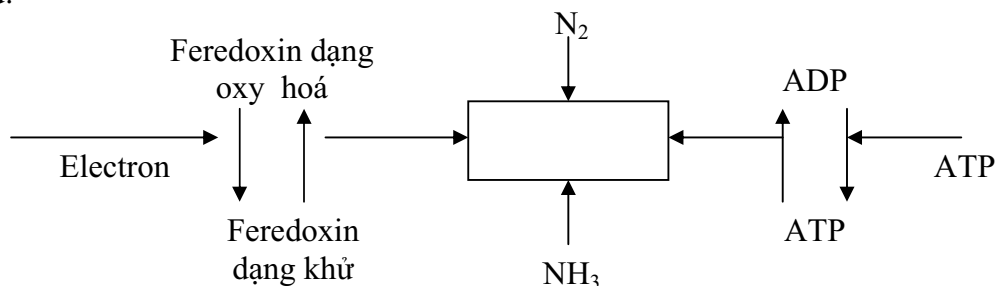


Nếu muốn liên kết nitơ với hydro để tạo thành amoniac thì phản ứng phải được tiến hành ở nhiệt độ 600°C và áp suất 1000at với những chất xúc tác đất liền. Trong khi đó nhóm vi khuẩn cố định nitơ có thể biến khí nitơ thành hợp chất đạm ở các điều kiện bình thường về nhiệt độ và áp suất. Vậy cơ chế cố định của nó là như thế nào? Đó là điều các nhà khoa học nghiên cứu trong lĩnh vực này hết sức quan tâm. Từ trước tới nay có rất nhiều giả thiết về cơ chế của quá trình cố định đạm sinh học.

Đa số nhà nghiên cứu đều thống nhất cho rằng: Quá trình cố định nitơ sinh học là một quá trình khử  $N_2$  thành  $NH_3$  dưới tác dụng của men nitrogenaza sinh ra bởi vi sinh vật.



Nitrogenaza đã được chiết xuất ra từ *Azotobacter vinelandii* - 1 loài vi khuẩn cố định nitơ sống tự do trong đất. Nitrogenaza bao gồm hai thành phần khác nhau, 1 thành phần gồm protein và Fe, 1 thành phần gồm protein, Fe, Mo. Electron của các chất khử sẽ đi vào thành phần thứ 1 của nitrogenaza (phần có chứa protein và sắt) sau đó được chuyển sang thành phần thứ 2, qua đó electron được hoạt hoá có thể phản ứng với  $\text{N}_2$ .  $\text{N}_2$  cũng đi qua 2 thành phần của nitrogenaza và được hoạt hoá. Hydro được hoạt hoá nhờ các enzym của hệ thống hydrogenaza. Năng lượng dùng trong quá trình này là ATP của tế bào. Cuối cùng  $\text{NH}_3$  được hình thành. Có thể tóm tắt trong sơ đồ sau:



Enzym nitrogenaza ngoài tác dụng khử  $\text{N}_2$  thành  $\text{NH}_3$  còn có khả năng xúc tác cho việc khử một số chất khác. Ví dụ như nó có thể khử axetylen thành etylen. Phản ứng khử axetylen ngày nay được dùng để xác định hoạt tính nitrogenaza.

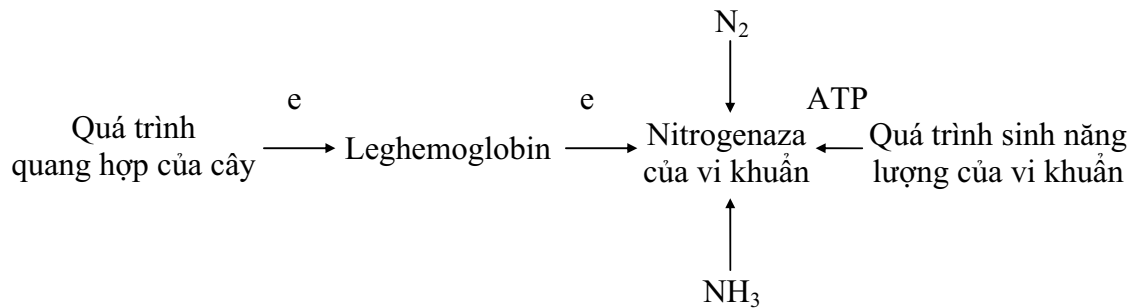
*Azotobacter* là loại vi khuẩn hiếu khí, song quá trình cố định nitơ lại là một quá trình khử ở điều kiện không có oxy. Hai điều kiện trái ngược nhau được thoả mãn đối với một tế bào là do *Azotobacter* có nhiều màng lipoprotein. Bên ngoài màng là những men hô hấp hoạt động, sử dụng oxy để hình thành ATP và làm cho oxy không thấm vào phía trong màng, nơi đó có nitrogenaza tiến hành cố định nitơ ở điều kiện kỵ khí.

$\text{NH}_3$  được hình thành đến một mức độ nào đó sẽ kìm hãm sự hoạt động của nitrogenaza, nó chính là yếu tố điều hoà hoạt tính của enzym.

Ở vi khuẩn cố định nitơ sống cộng sinh với cây bộ đậu, cơ chế cố định nitơ có phần nào phức tạp hơn vì nó có liên quan đến thực vật. Vai trò của thực vật ở đây chính là sự hình thành Leghemoglobin, chất này đóng vai trò chuỗi chuyển điện tử từ quá trình quang hợp của cây vào nitrogenaza của vi khuẩn. Enzym nitrogenaza của vi

khuẩn nốt sần sống cộng sinh với cây đậu cũng có cấu trúc giống như nitrogenaza của vi khuẩn cố định nitơ sống tự do trong đất.

Mối quan hệ giữa thực vật và vi khuẩn trong quá trình cố định nitơ cộng sinh có thể biểu diễn bởi sơ đồ sau:



Tuy nhiên gần đây có một số tác giả cho rằng, quá trình cố định nitơ phân tử xảy ra ở tế bào thực vật chứ không xảy ra ở tế bào vi khuẩn. Những tác giả này dựa vào kết quả thí nghiệm dùng nguyên tố phóng xạ  $N^{15}$  thấy nó xuất hiện chủ yếu ở màng tế bào thực vật trong khi xuất hiện rất ít ở tế bào vi khuẩn.

#### 4.2.6.2. Vi sinh vật cố định nitơ

Nhiều loài vi sinh vật có khả năng cố định nitơ phân tử. Chúng bao gồm 3 nhóm chính: Nhóm vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh, nhóm vi khuẩn cố định nitơ sống tự do và nhóm vi tảo cố định nitơ. Ở đây chúng ta chỉ nghiên cứu kỹ 2 nhóm đầu.

##### 1. Vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh với cây bộ đậu

+ Đặc điểm chung

Vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh với cây bộ đậu còn gọi là vi khuẩn nốt sần. Chúng hình thành những nốt sần ở rễ cây, đôi khi ở cả thân cây phần gần với đất và cư trú trong đó. Tại nốt sần, vi khuẩn tiến hành quá trình cố định nitơ, sản phẩm cố định được một phần sử dụng cho vi khuẩn và một phần sử dụng cho cây. Những sản phẩm quang hợp của cây cũng một phần được cung cấp cho vi khuẩn. Chính vì thế mà quan hệ giữa vi khuẩn và cây là quan hệ cộng sinh hai bên cùng có lợi.

Từ năm 1886 Hellrigel và Wilfarth đã phát hiện ra khả năng cố định nitơ của cây đậu Hoà Lan bằng thí nghiệm trồng trên cát cây kiêu mạch và cây đậu Hoà Lan. Sau khi kết thúc thí nghiệm người ta tiến hành định lượng đạm tổng số ở 2 chậu cát và nhận thấy: chậu cát trồng cây đậu Hoà Lan có hàm lượng nitơ tăng lên so với ban đầu còn chậu cát trồng kiêu mạch thì lượng nitơ giảm đi. Nghiên cứu sâu hơn nữa người ta thấy lượng đạm chỉ tăng lên khi đất trồng cây đậu không khử trùng và nốt sần được hình thành trên rễ cây đậu. Từ đó người ta đã kết luận rằng: cây đậu Hoà Lan khi cộng sinh với một loài vi khuẩn sống trong nốt sần thì sẽ có khả năng cố định nitơ không khí. Đến năm 1888 Beijerinck đã phân lập được vi khuẩn nốt sần, năm 1889 vi khuẩn nốt sần được đặt tên là *Rhizobium*. Lúc đầu người ta dựa vào cây đậu mà vi khuẩn

cộng sinh để đặt tên loài cho chúng. Ví dụ như loài *Rhizobium leguminosarum* cộng sinh với cây đậu Hoà Lan, loài *Rhizobium trifolii* cộng sinh với cây cỏ ba lá. Gần đây người ta chia vi khuẩn nốt sần thành hai nhóm, nhóm sinh trưởng nhanh và nhóm sinh trưởng chậm dựa vào thời gian xuất hiện khuẩn lạc trên môi trường nuôi cấy. Nhóm sinh trưởng nhanh khuẩn lạc xuất hiện sau 3 - 5 ngày, có đường kính 2 - 4mm thuộc chi *Rhizobium*. Nhóm sinh trưởng chậm khuẩn lạc xuất hiện sau 5 - 7 ngày nuôi cấy, có đường kính không quá 1mm thuộc chi *Bradirhizobium*.

Trong quá trình phát triển vi khuẩn nốt sần thường có sự thay đổi hình thái. Lúc còn non, đa số các loài có hình que, có khả năng di động bằng đơn mao, chùm mao hoặc chu mao tùy từng loài. Sau đó trở thành dạng giả khuẩn để có hình que phân nhánh, mất khả năng di động. Ở dạng này, vi khuẩn nốt sần có khả năng cố định nitơ. Khi già dạng hình que phân nhánh phân cắt tạo thành dạng hình cầu nhỏ.

Vi khuẩn nốt sần thuộc loại háo khí, ưa pH trung tính hoặc hơi kiềm, thích hợp với nhiệt độ 28 - 30°C, độ ẩm 60 - 80%. Chúng có khả năng đồng hoá các nguồn cacbon khác nhau như các loại đường đơn, đường kép, axit hữu cơ, glycerin v.v... Đối với nguồn nitơ, khi cộng sinh với cây đậu, vi khuẩn nốt sần có khả năng sử dụng nitơ không khí. Khi sống tiềm sinh trong đất hoặc được nuôi cấy trên môi trường, chúng mất khả năng cố định nitơ. Lúc đó chúng đồng hoá các nguồn nitơ sẵn có, nhất là các nguồn amôn và nitrat. Chúng có thể đồng hoá tốt các loại axit amin, một số có thể đồng hoá peptôn. Ngoài nguồn dinh dưỡng cacbon và nitơ, vi khuẩn nốt sần còn cần các loại chất khoáng, trong đó quan trọng nhất là photpho. Khi nuôi vi khuẩn nốt sần ở môi trường có sẵn nguồn đạm lâu ngày, chúng sẽ mất khả năng xâm nhiễm và hình thành nốt sần. Đó là điều cần chú ý trong việc giữ giống vi khuẩn nốt sần.

+ Sự hình thành nốt sần và quan hệ cộng sinh của vi khuẩn nốt sần với cây bộ đậu.

Quan hệ cộng sinh giữa vi khuẩn nốt sần và cây đậu tạo thành một thể sinh lý hoàn chỉnh. Chỉ trong quan hệ cộng sinh này, chúng mới có khả năng sử dụng nitơ của không khí. Khi tách ra, cả cây đậu và vi khuẩn đều không thể sử dụng nitơ tự do, không phải tất cả các cây thuộc bộ đậu đều có khả năng cộng sinh với vi khuẩn nốt sần mà chỉ khoảng 9% trong chúng.

Khả năng hình thành nốt sần ở cây đậu không những phụ thuộc vào vi khuẩn có trong đất mà còn phụ thuộc vào các điều kiện ngoại cảnh khác nhau. Về độ ẩm, đa số cây đậu có thể hình thành nốt sần trong phạm vi độ ẩm từ 40 - 80%, trong đó độ ẩm tối thích là 60 - 70%. Tuy nhiên, cũng có những trường hợp ngoại lệ, ví dụ như cây điền thanh có thể hình thành nốt sần trong điều kiện đất ngập nước.

Độ thoáng khí của đất cũng ảnh hưởng đến sự hình thành và chất lượng nốt sần. Thường nốt sần chỉ hình thành ở phần rễ nông, phần rễ sâu rất ít nốt sần. Nguyên nhân là do tính háo khí của vi khuẩn nốt sần, thiếu Oxy sẽ làm giảm cường độ trao đổi năng lượng và khả năng xâm nhập vào rễ cây. Đối với cây, thiếu Oxy cũng làm giảm sự hình thành sắc tố Leghemoglobin. Những nốt sần hữu hiệu có màu hồng chính là màu của sắc tố này.

Nhiệt độ thích hợp nhất với hoạt động của vi khuẩn nốt sần là  $24^{\circ}\text{C}$ , dưới  $10^{\circ}\text{C}$  nốt sần vẫn có thể hình thành nhưng hiệu quả cố định nitơ giảm. Ở nhiệt độ  $36^{\circ}\text{C}$  cây đậu phát triển tốt nhưng cường độ cố định nitơ lại kém.

pH môi trường cũng ảnh hưởng đến sự hình thành và chất lượng nốt sần. Có loại chỉ hình thành nốt sần ở pH từ 6,8 đến 7,4 có loại có khả năng hình thành nốt sần ở pH rộng hơn từ 4,6 đến 7,5.

Tính đặc hiệu là một đặc điểm quan trọng trong quan hệ cộng sinh giữa vi khuẩn nốt sần và cây đậu. Một loài vi khuẩn nốt sần chỉ có khả năng cộng sinh với một hoặc vài loài đậu. Cũng có một số loài vi khuẩn có khả năng hình thành nốt sần ở cây đậu không đặc hiệu với nó nhưng số lượng nốt sần ít và khả năng cố định nitơ kém. Tuy nhiên đặc tính này giúp cho vi khuẩn nốt sần có thể tồn tại ở những nơi không có cây đậu đặc hiệu đối với nó. Tính đặc hiệu giữa vi khuẩn và cây đậu được quyết định bởi hệ gen của chúng. Bởi vậy người ta có thể cải biến tính đặc hiệu bằng các tác nhân đột biến hoặc có thể dùng kỹ nghệ di truyền để cải biến hệ gen quy định đặc hiệu cộng sinh.

Quá trình hình thành nốt sần được bắt đầu từ sự xâm nhập của vi khuẩn vào rễ cây. Vi khuẩn thường xâm nhập vào rễ cây qua các lông hút hoặc vết thương ở vỏ rễ. Cây đậu thường tiết ra những chất kích thích sinh trưởng của vi khuẩn nốt sần tương ứng, đó là các hợp chất glucit, các axit amin v.v... Muốn xâm nhiễm tốt, mật độ của vi khuẩn trong vùng rễ phải đạt tới  $10^4$  tế bào trong 1 gram đất. Nếu xử lý với hạt đậu thì mỗi hạt đậu loại nhỏ cần 500 - 1000 tế bào vi khuẩn, hạt đậu loại to cần khoảng 70.000 tế bào.

Khi mật độ vi khuẩn phát triển tới một mức độ nhất định nó sẽ kích thích cây đậu tiết ra enzym poligalactorunaza có tác dụng phân giải thành lông hút để vi khuẩn qua đó xâm nhập vào. Đường vi khuẩn xâm nhập được tạo thành do tốc độ phát triển của vi khuẩn (sinh trưởng đến đâu, xâm nhập đến đấy) hình thành một "dây xâm nhập" được bao quanh bởi một lớp nhày do các chất của vi khuẩn tiết ra trong quá trình phát triển. Ở giai đoạn này phản ứng của cây đối với vi khuẩn tương tự như đối với vật ký sinh, bởi vậy tốc độ tiến sâu vào nhu mô của dây xâm nhập rất chậm do phản ứng của cây - chỉ khoảng 5 - 8  $\mu\text{m}/\text{h}$ . Không phải tất cả các dây xâm nhập đều tiến tới nhu mô rễ mà chỉ một số trong chúng. Chính vì thế để hình thành nốt sần cần mật độ vi khuẩn lớn.

Khi tới lớp nhu mô, vi khuẩn kích thích tế bào nhu mô phát triển thành vùng mô phân sinh. Từ vùng mô phân sinh tế bào phân chia rất mạnh và hình thành 3 loại tế bào chuyên hoá: Vỏ nốt sần là lớp tế bào nằm dưới lớp vỏ rễ bao bọc quanh nốt sần; Mô chứa vi khuẩn gồm những tế bào bị nhiễm vi khuẩn nằm xen kẽ với các tế bào không nhiễm vi khuẩn. Những tế bào chứa vi khuẩn có kích thước lớn hơn tế bào không chứa vi khuẩn tới 8 lần, có những mô chứa vi khuẩn toàn bộ các tế bào đều bị nhiễm vi khuẩn. Loại tế bào chuyên hoá thứ 3 là các mạch dẫn từ hệ rễ vào nốt sần. Đây chính là con đường dẫn truyền các sản phẩm của quá trình cố định nitơ cho cây và các sản phẩm quang hợp của cây cho nốt sần.

Tại các tế bào chứa vi khuẩn, vi khuẩn nốt sần xâm nhập vào tế bào chất tại đây chúng phân cắt rất nhanh. Từ dạng hình que sẽ chuyển sang dạng hình que phân nhánh

gọi là dạng giả khuẩn thể. Chính ở dạng giả khuẩn thể này vi khuẩn bắt đầu tiến hành quá trình cố định nitơ. Thời kỳ cây ra hoa là thời kỳ nốt sần hình thành nhiều nhất và có hiệu quả cố định nitơ mạnh nhất. Hiệu quả cố định nitơ thường thể hiện ở những nốt sần có kích thước lớn và có màu hồng của Leghemoglobin. Ở những cây đậu có đời sống ngắn từ 1 năm trở xuống, đến giai đoạn cuối cùng của thời kỳ phát triển, màu hồng của sắc tố Leghemoglobin chuyển thành màu lục. Lúc đó kết thúc quá trình cố định nitơ, dạng giả khuẩn thể phân cắt thành những tế bào hình cầu. Khi cây đậu chết, vi khuẩn nốt sần sống tiềm sinh trong đất chờ đến vụ đậu năm sau. Tuy nhiên, có một vài cây họ đậu như cây điền thanh hạt tròn không thấy xuất hiện dạng giả khuẩn.

Ở những cây đậu 1 năm và những cây đậu lâu năm (thân gỗ) cũng có sự khác nhau về tính chất nốt sần. Ở caê lạc, cây đậu tương, nốt sần hữu hiệu (có khả năng cố định nitơ) thường có màu hồng, kích thước lớn, thường nằm trên rễ chính trong khi nốt sần vô hiệu có màu lục, kích thước nhỏ, thường nằm trên rễ phụ. Tuy nhiên ở một số cây đậu lâu năm lại không theo quy luật đó. Ví dụ như cây keo tai tượng dùng để trồng rừng, nốt sần hữu hiệu có cả ở rễ phụ và không có màu hồng.

#### - Ứng dụng của vi khuẩn nốt sần

Từ lâu người ta đã biết sử dụng vi khuẩn nốt sần để sản xuất chế phẩm. Nitragin bón cho cây đậu. Nitragin là một loại phân vi sinh vật có hiệu quả khá rõ rệt so với các loại phân vi sinh vật khác. Nitragin được sản xuất bằng cách nhân giống vi khuẩn nốt sần trong môi trường thích hợp. Khi đạt được một số lượng nhất định thì cho hấp thụ vào chất mang. Chất mang có thể là đất hoặc than bùn, trong 1 gram chất mang cần chứa khoảng  $\geq 10^9$  tế bào vi khuẩn. Việc bảo quản chế phẩm tương đối khó vì vi khuẩn nốt sần không có khả năng hình thành bào tử, nó sẽ bị chết dần. Để nâng cao chất lượng của chế phẩm người ta thường bổ sung vào chất mang một số chất dinh dưỡng như đường Saccaroza v.v...

Khi sử dụng Nitragin bón cho cây đậu cần chú ý đến điều kiện môi trường để đảm bảo cho vi khuẩn nốt sần sau khi vào đất sẽ phát huy được tác dụng. Hàm lượng nitơ trong đất rất quan trọng, nhất là nitơ dễ tiêu. Khi lượng nitơ dễ tiêu đạt đến một mức độ nhất định sẽ kìm hãm quá trình cố định nitơ của vi khuẩn nốt sần. Bởi thế người ta chỉ bón một ít phân đạm trong giai đoạn đầu để kích thích cây đậu phát triển. Hàm lượng P và K dễ tiêu trong đất cũng rất quan trọng đối với hoạt động của vi khuẩn nốt sần, thiếu P và K vi khuẩn nốt sần phát triển yếu. Các nguyên tố vi lượng như Mo, B, Cu, Co cũng rất cần thiết cho quá trình cố định nitơ. Ngoài ra còn cần chú ý đến độ ẩm, độ thoáng khí, nhiệt độ và pH của đất khi sử dụng Nitragin.

Mối quan hệ lẫn nhau giữa các nhóm vi sinh vật trong đất cũng rất quan trọng đối với vi khuẩn nốt sần. Trong đất có những nhóm vi sinh vật sống hỗ sinh với vi khuẩn nốt sần. Nhưng cũng có nhóm đối kháng, ví dụ như xạ khuẩn và virus. Một số xạ khuẩn sinh kháng thể có thể ức chế hoặc tiêu diệt vi khuẩn nốt sần. Một số virus có khả năng xâm nhiễm và phá vỡ tế bào vi khuẩn. Bởi vì khi sử dụng Nitragin cần phải chú ý đến các điều kiện ngoại cảnh. Đặc biệt không nên phun thuốc trừ sâu cùng một lúc với bón Nitragin cũng như các loại phân vi sinh khác.



## 2. Vi khuẩn cố định nitơ sống tự do trong đất

Ngoài vi khuẩn nốt sần là loại cố định nitơ cộng sinh, trong đất còn có nhóm vi sinh vật nitơ sống tự do, không cộng sinh với thực vật. Trong số này chúng ta nghiên cứu mấy nhóm chính sau đây:

+ *Azotobacter*

*Azotobacter* được phát hiện từ năm 1901 do Beijerinck - là một loại vi khuẩn hiếu khí, không sinh bào tử, có khả năng cố định nitơ phân tử, sống tự do trong đất.

Khi nuôi cấy *Azotobacter* trong môi trường nhân tạo chúng biểu hiện đặc tính đa hình: khi còn non chúng có dạng trực khuẩn hình que, có tiên mao, có khả năng di động. Khi già *Azotobacter* mất khả năng di động, tế bào chuyển thành dạng hình cầu, xung quanh được bao bọc bởi một lớp vỏ nhày. Một số loài *Azotobacter* có khả năng hình thành nang xác và sống tiềm sinh trong đó, khi gặp điều kiện thuận lợi nang xác vỡ, tế bào lại sinh trưởng phát triển. Nang xác là một hình thức tồn tại của *Azotobacter* nó không phải là bào tử. Một nang xác có thể bao bọc một số tế bào bên trong. Khuẩn lạc của *Azotobacter* lúc non có màu trắng đục. Khi già chuyển thành màu vàng lục hoặc màu nâu.

Trong đất, nhất là đất lúa, thường có phổ biến những loài *Azotobacter* sau:

- *Azotobacter chroococcum*: có khả năng di động lúc còn non, khi già có khả năng hình thành nang xác. Khuẩn lạc lúc già có sắc tố màu nâu hoặc màu đen không khuếch tán vào môi trường.

- *Azotobacter beijerinckii*: không có khả năng di động, có khả năng hình thành nang xác. Khuẩn lạc lúc già có màu vàng hoặc nâu sáng, sắc tố không khuếch tán vào môi trường.

- *Azotobacter vinelandii*: có khả năng di động và hình thành nang xác. Khuẩn lạc màu lục huỳnh quang, sắc tố khuếch tán vào môi trường.

- *Azotobacter agilis*: có khả năng di động, không tạo thành nang xác, khuẩn lạc màu vàng lục huỳnh quang, sắc tố khuếch tán vào môi trường.

*Azotobacter* có khả năng đồng hoá nhiều loại đường khác nhau, nhất là các sản phẩm phân giải của xenluloz. Bởi vậy, đất có bón phân xanh, rơm rạ, rác rưởi rất tốt cho sự phát triển của *Azotobacter*. Sự phát triển và khả năng cố định nitơ của *Azotobacter* phụ thuộc rất nhiều vào hàm lượng photpho dễ tiêu trong môi trường. Ngoài ra, canxi và các nguyên tố vi lượng như B, Mo, Fe, Mn cũng rất cần thiết đối với *Azotobacter*. Một vài nguyên tố phóng xạ có tác dụng kích thích sinh trưởng đối với *Azotobacter*.

*Azotobacter* thích hợp nhất với pH = 7,2 - 8,2 song chúng có thể phát triển được ở pH từ 4,5 - 9,0. Chúng thích hợp với nhiệt độ từ 25 đến 30°C.

*Azotobacter* đã được nghiên cứu để chế tạo phân vi sinh vật bón cho lúa, ở một số nơi chúng có thể hiện hiệu quả tốt nhưng không phổ biến bằng phân vi khuẩn nốt sần Nitragin. Chế phẩm chế tạo từ *Azotobacter* được gọi là Azotobacterin.

## + Clostridium

Clostridium được phát hiện từ năm 1893, là một loại vi khuẩn kỵ khí sống tự do trong đất. Khác với *Azotobacter* nó có khả năng hình thành bào tử. Loài phổ biến nhất trong đất là *Clostridium pasteurianum* có hình que ngắn, khi còn non có khả năng di động bởi tiên mao. Khi già mất khả năng di động.

Khi hình thành bào tử thường có hình con thoi do bào tử hình thành lớn hơn kích thước tế bào.

Clostridium có khả năng đồng hoá nhiều nguồn cacbon khác nhau như các loại đườn, rượu, tinh bột ... Nó thuộc loại kỵ khí nên các sản phẩm trao đổi chất của nó thường là các loại axit hữu cơ, butanol, etanol, axeton v.v.... Đó là các sản phẩm chưa được oxy hoá hoàn toàn.

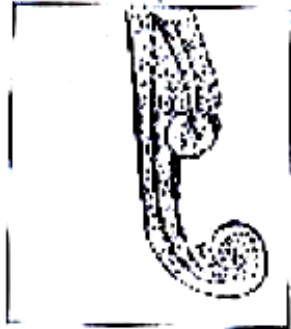
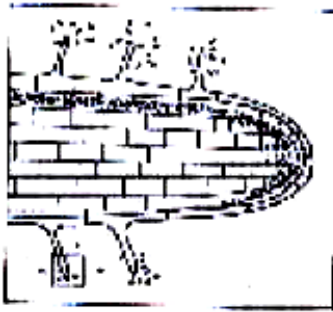
P và K và 2 nguyên tố rất cần thiết cho sự phát triển và cố định nitơ của Clostridium. Ngoài ra các nguyên tố vi lượng như Mo, Co, Cu, Mn cũng rất cần thiết đối với Clostridium.

Clostridium có khả năng phát triển ở pH = 4,7 - 8,5. Bào tử của chúng có thể chịu được nhiệt độ cao, có thể sống được 1 giờ ở nhiệt độ 80<sup>0</sup>C. Một số loài còn có thể chịu được nhiệt độ 100<sup>0</sup>C trong 30 phút.

Ngoài 2 nhóm vi khuẩn cố định nitơ sống cộng sinh với thực vật và sống tự do trong đất như đã nói ở trên, còn có một số vi khuẩn có khả năng cố định nitơ sống trên bề mặt rễ và ăn sâu vào lớp tổ chức bề mặt rễ của một số loại cây hoà thảo như lúa, ngô, mía ... Đó là một loại vi khuẩn có dạng xoắn được phát hiện từ năm 1974 thuộc chi *Azospirillum*. Từ 1974 đến nay *Azospirillum* đã được nghiên cứu nhiều trên thế giới. Ở Việt Nam cũng có những nghiên cứu bước đầu và ứng dụng chế phẩm *Azospirillum* nhằm mục đích nâng cao sản lượng của các cây hoà thảo nói trên.

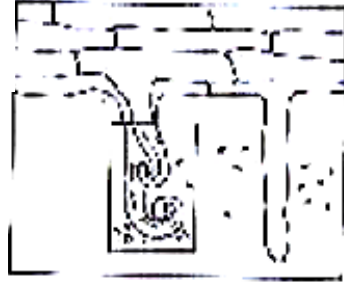
Ngoài các nhóm vi khuẩn cố định nitơ nói trên ra, còn có một số loài tảo đơn bào cũng có khả năng cố định nitơ. Ví dụ như tảo lam sống tự do và tảo lam sống cộng sinh trong bèo hoa dâu. Các loài này cũng đóng góp không nhỏ vào quá trình cố định nitơ không khí.

Vi khuẩn nốt sần tụ ở đầu lông hút của rễ

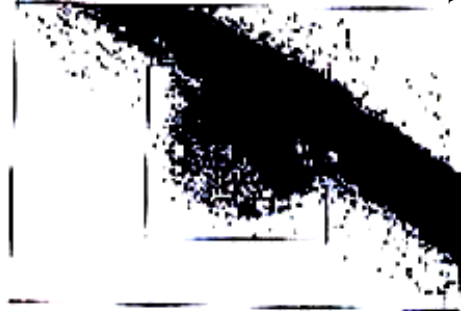


Lông hút ở rễ cây cong lại

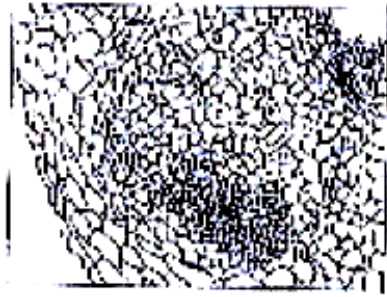
Dây xâm nhập



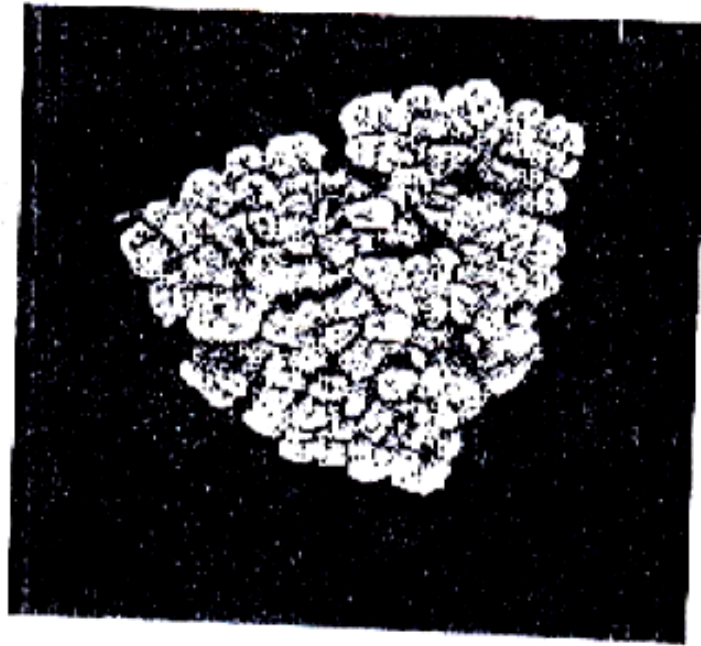
Sự xâm nhập của vi khuẩn nốt sần qua vào rễ cây bộ Đậu



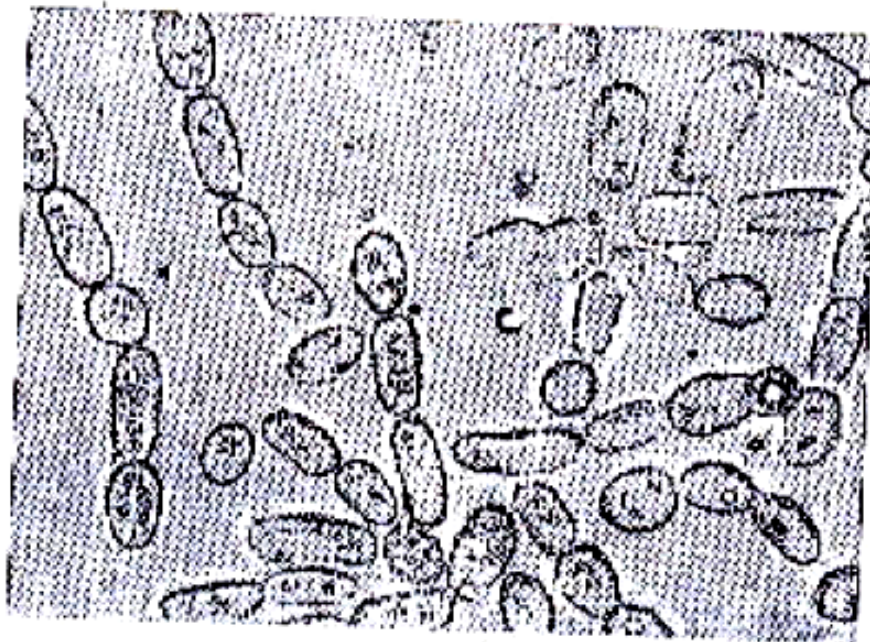
Sự tạo thành nốt sần ở rễ cây bộ Đậu



Vi khuẩn kích thích tế bào vùng này phân cắt và tạo ra nốt sần



*Bèo hoa dâu (Azolla)*



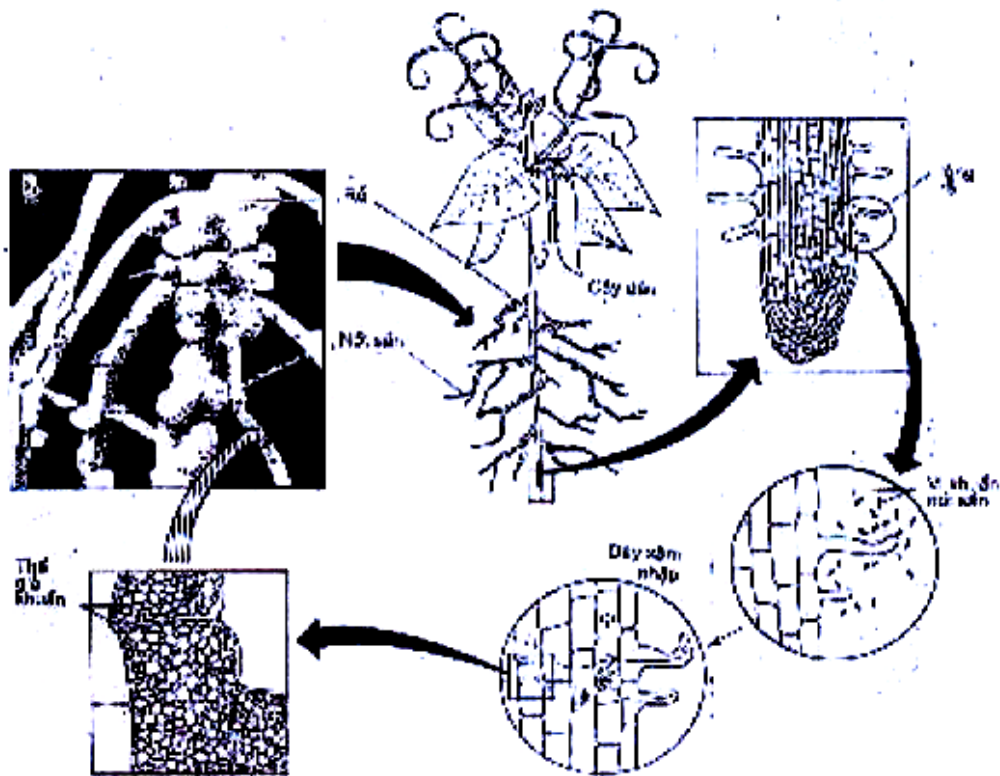
*Vi khuẩn lam Anabaena*



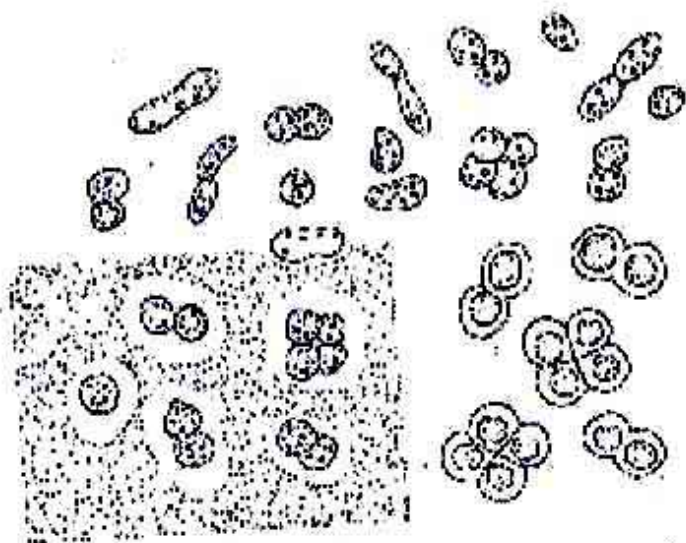
Nốt sần ở rễ cây bộ Đậu



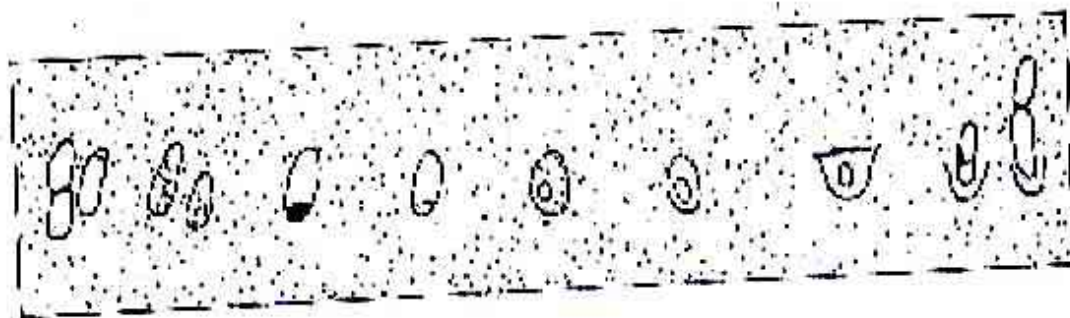
Nốt sần ở thân cây Đền thanh  
(*Sesbania nostrata*)



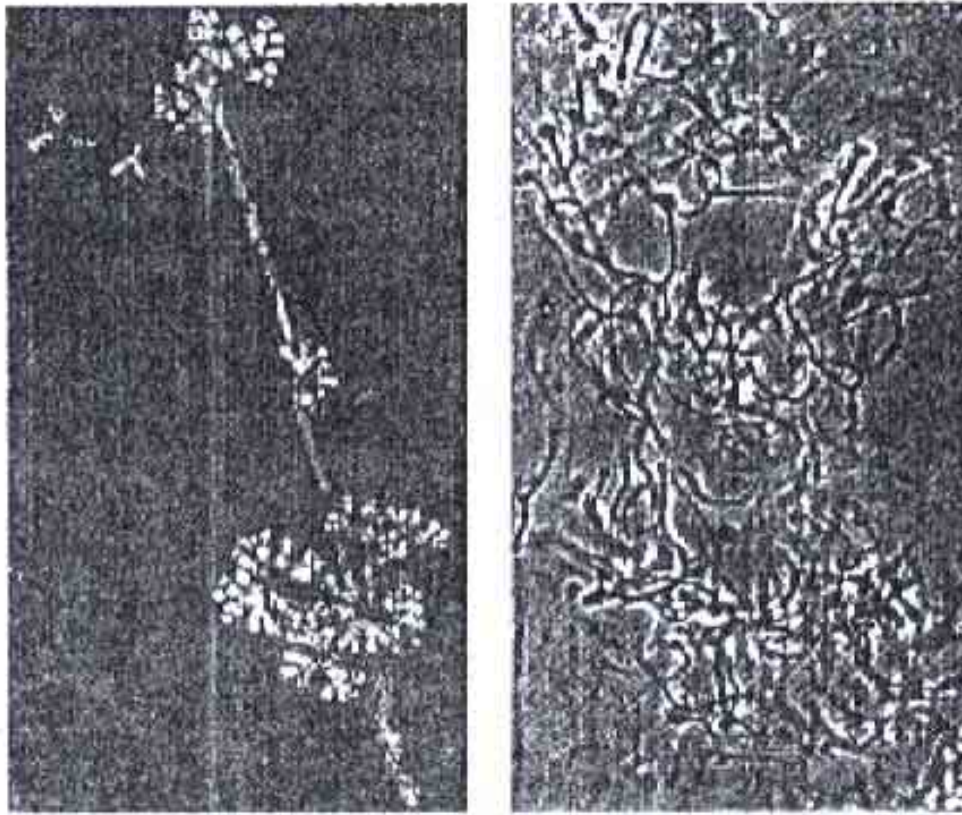
Sự hình thành nốt sần ở cây bộ Đậu



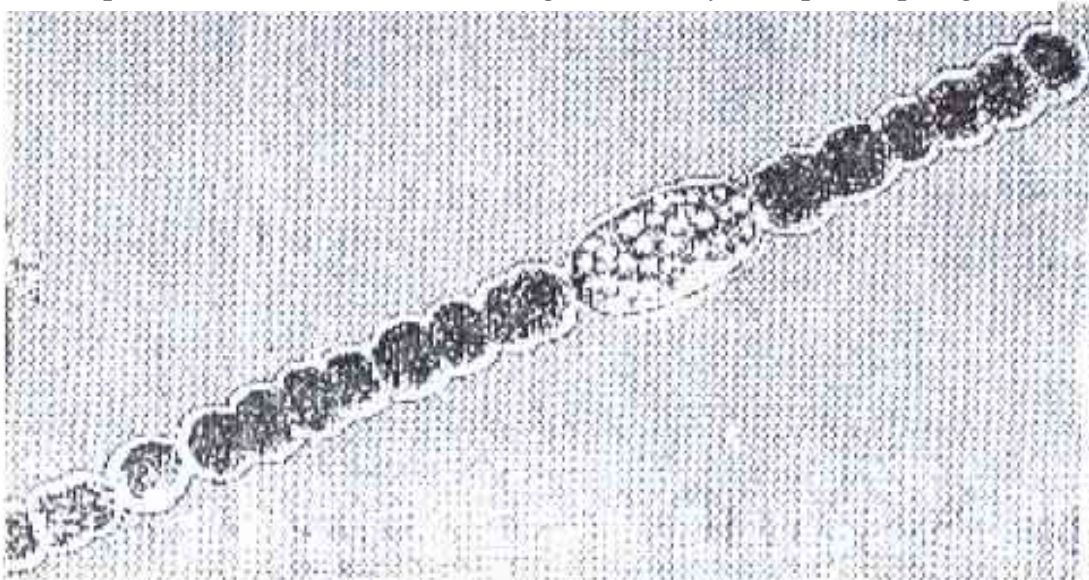
*Vi khuẩn Azotobacter*



*Chu trình phát triển của Clostridium Pasteurramum*



a. Nốt sần ở cây *Alnus glutinosa* tạo thành do sự cộng sinh với *Frankia*  
b. Bên phải : các tế bào *Frankia* ở trong nốt sần cây *Comptonia peregrina*

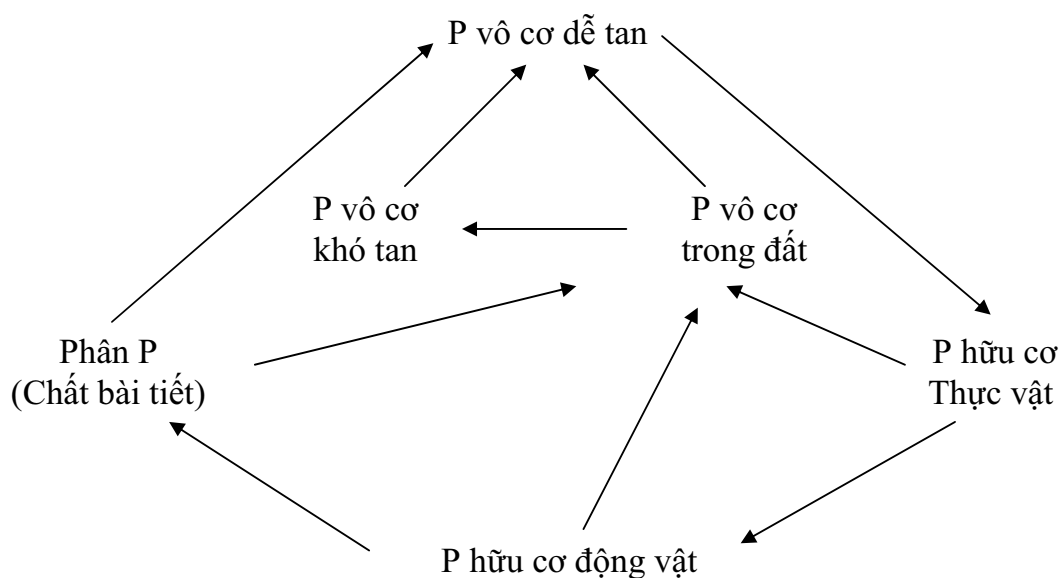


a. Vi khuẩn lam *Anabaena*. Tế bào dị hình (lớn hơn)  
là nơi thực hiện quá trình cố định nito  
*Các vi khuẩn sống cộng sinh*

### 4.3. KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ CÁC HỢP CHẤT PHOTPHO TRONG MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN CỦA VI SINH VẬT

#### 4.3.1. Vòng tuần hoàn photpho trong tự nhiên

Trong tự nhiên, P nằm trong nhiều dạng hợp chất khác nhau. P hữu cơ có trong cơ thể động vật và thực vật, được tích lũy trong đất khi động vật và thực vật chết đi. Những hợp chất photpho hữu cơ này được vi sinh vật phân giải tạo thành các hợp chất photpho vô cơ khó tan, một số ít được tạo thành dạng dễ tan. Các hợp chất photpho vô cơ khí tan còn có nguồn gốc từ những quặng thiên nhiên như apatit, photphorit, photpho sắt, photphat nhôm ... Những hợp chất này rất khó hoà tan và cây trồng không thể hấp thụ trực tiếp được. Cây trồng chỉ có thể hấp thu được khi chúng được chuyển hoá thành dạng dễ tan. Quá trình này được thực hiện một phần quan trọng là nhờ nhóm vi sinh vật phân hủy lân vô cơ. Các muối của axit photphoric dạng dễ tan được cây trồng hấp phụ và chuyển thành các hợp chất photpho hữu cơ trong cơ thể thực vật. Động vật và người sử dụng các sản phẩm thực vật làm thức ăn lại biến photpho hữu cơ của thực vật thành P hữu cơ của động vật và người. Người, động vật và thực vật chết đi để lại P hữu cơ trong đất. Vòng tuần hoàn của các dạng hợp chất photpho trong tự nhiên cứ thế diễn ra. Vi sinh vật đóng một vai trò quan trọng trong vòng tuần hoàn đó. Nếu như thiếu sự hoạt động của một nhóm vi sinh vật nào đó thì sự chuyển hoá của vòng tuần hoàn sẽ bị ảnh hưởng nghiêm trọng. Vòng tuần hoàn của các dạng photpho trong tự nhiên được biểu diễn trong sơ đồ sau:

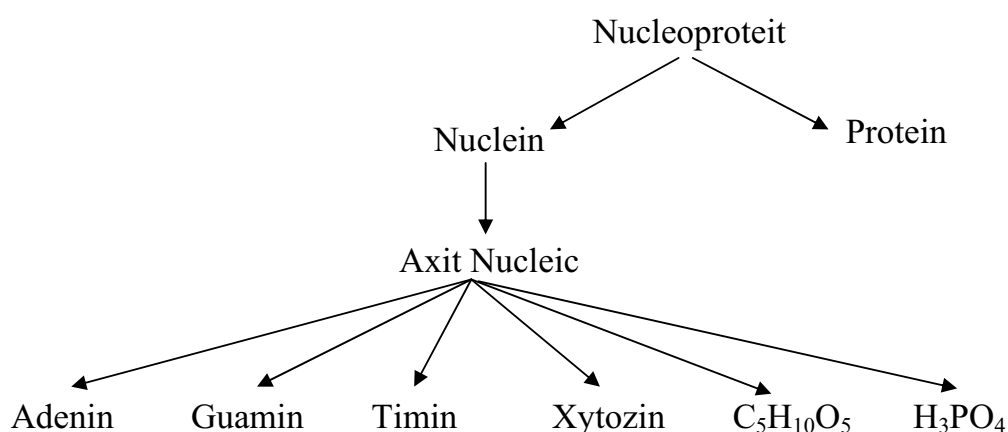




### 4.3.2. Sự phân giải lân hữu cơ do vi sinh vật

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

Nucleoproteit có trong thành phần nhân tế bào. Nhờ 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 2 phần: Protein và nuclein. Protein sẽ đi vào vòng chuyển hoá các hợp chất nitơ, Nuclein sẽ đi vào vòng chuyển hoá các hợp chất photpho.



Sự chuyển hoá các hợp chất photpho hữu cơ thành muối của  $H_3PO_4$  được thực hiện bởi nhóm vi sinh vật phân huỷ photpho hữu cơ. Những vi sinh vật này có khả năng tiết ra enzym photphataza để xúc tác cho quá trình phân giải. Nhóm vi sinh vật phân giải photpho hữu cơ được phát hiện từ năm 1911 do J. Stoklasa, ông đã phân lập được 3 loài vi khuẩn có khả năng phân huỷ photpho hữu cơ đều thuộc giống *Bacillus*. Sau đó ông nuôi cấy những vi khuẩn này trong môi trường chỉ có axit nucleic làm nguồn P và N duy nhất và nhận thấy lượng lân được phân giải từ 15 đến 23%. Nếu bổ sung vào môi trường một ít  $(NH_4)_2SO_4$  thì lượng lân được phân giải tăng lên. Năm 1952 Menkina đã phân lập được vi khuẩn *Bacillus megatherium* var. *photphaticum* có khả năng phân huỷ lân hữu cơ cao. Sau đó, người ta đã tìm ra nhiều loài vi sinh vật khác có khả năng phân huỷ lân hữu cơ theo sơ đồ tổng quát sau:



$H_3PO_4$  thường phản ứng với các kim loại trong đất tạo thành các muối photphat khó tan như  $Ca_3(PO_4)_2$ ,  $FePO_4$ ,  $AlPO_4$  ...

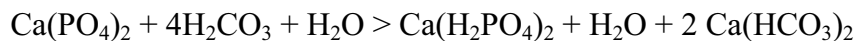
Vi sinh vật phân giải lân hữu cơ chủ yếu thuộc 2 chi: Bacillus và Pseudomonas. Các loài có khả năng phân giải mạnh là B. megatherium, B. mycoides và Pseudomonas sp.

Ngày nay, người ta đã phát hiện thấy một số xạ khuẩn và vi nấm cũng có khả năng phân giải photpho hữu cơ.

#### 4.3.2. Sự phân giải lân vô cơ do vi sinh vật

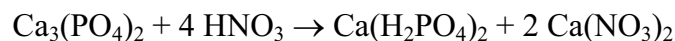
Các hợp chất lân vô cơ được hình thành do quá trình phân giải lân hữu cơ (còn gọi là quá trình khoáng hoá lân hữu cơ) phần lớn là các muối photphat khó tan. Cây trồng không thể hấp thu được những dạng khó tan này. Các hợp chất lân khó tan còn nằm trong các chất khoáng thiên nhiên như các mỏ Apatit, photphoric ... Nếu không có quá trình phân giải các hợp chất photpho khó tan biến thành dạng dễ tan thì hàm lượng photpho tổng số trong đất dẫu có nhiều cũng trở thành vô dụng.

Về cơ chế của quá trình phân giải photpho vô cơ do vi sinh vật cho đến nay vẫn còn nhiều tranh cãi. Nhưng đại đa số các nhà nghiên cứu đều cho rằng: sự sản sinh axit trong quá trình sống của một số nhóm vi sinh vật đã làm cho nó có khả năng chuyển các hợp chất photpho từ dạng khó tan sang dạng có thể hoà tan. Đa số các vi sinh vật có khả năng phân giải lân vô cơ đều sinh  $CO_2$  trong quá trình sống,  $CO_2$  sẽ phản ứng với  $H_2O$  có trong môi trường tạo thành  $H_2CO_3$ .  $H_2CO_3$  sẽ phản ứng với photphat khó tan tạo thành photphat dễ tan theo phương trình sau:

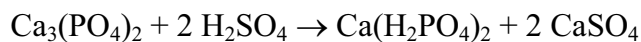


Dạng khó tan  $\longrightarrow$  Dạng dễ tan                      Dạng dễ tan

Các vi khuẩn nitrat hoá sống trong đất cũng có khả năng phân giải lân vô cơ do nó có khả năng chuyển  $NH_3$  thành  $NO_2^-$  rồi  $NO_3^-$ .  $NO_3^-$  sẽ phản ứng với photphat khó tan tạo thành dạng dễ tan:



Các vi khuẩn sulfat hoá cũng có khả năng phân giải photphat khó tan do sự tạo thành  $H_2SO_4$  trong quá trình sống.



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

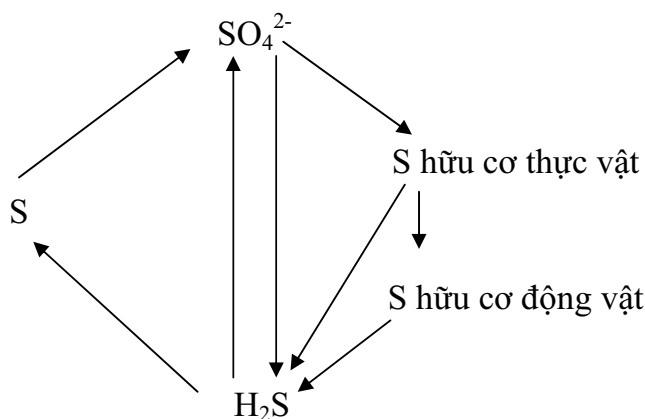
Tuyệt đại đa số các vi sinh vật phân huỷ lân vô cơ trong quá trình sống đều làm giảm pH của môi trường. Tuy nhiên, gần đây có một vài tác giả đã công bố tìm ra một vài chủng vi khuẩn phân giải lân mà trong quá trình nuôi cấy không làm giảm pH môi trường.

Rất nhiều vi sinh vật có khả năng phân giải lân vô cơ, trong đó nhóm 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 vi nấm thì *Aspergillus niger* có khả năng phân giải mạnh nhất. Ngoài ra một số xạ khuẩn cũng có khả năng phân giải lân vô cơ.

#### 4.4. KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ CÁC HỢP CHẤT LƯU HUỖNH TRONG MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN CỦA VI SINH VẬT

##### 4.4.1. Vòng tuần hoàn lưu huỳnh trong tự nhiên

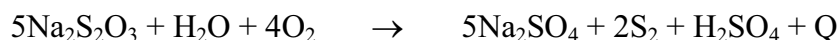
Cũng như photpho, lưu huỳnh là một trong những chất dinh dưỡng quan trọng của cây trồng. Trong đất nó thường ở dạng các hợp chất muối vô cơ như  $CaSO_4$ ,  $Na_2SO_4$ ,  $FeS_2$ ,  $Na_2S$  ... một số ở dạng hữu cơ. Trong cơ thể sinh vật, S nằm trong thành phần của các axit amin chứa lưu huỳnh như metionin, xystein và trong nhiều loại enzym quan trọng. Thực vật hút các hợp chất S vô cơ trong đất chủ yếu dưới dạng  $SO_4^{2-}$  và chuyển sang dạng S hữu cơ của tế bào. Động vật và người sử dụng thực vật làm thức ăn và cũng biến S của thực vật thành S của động vật và người. Khi động thực vật chết đi để lại một lượng lưu huỳnh hữu cơ trong đất. Nhờ sự phân giải của vi sinh vật, S hữu cơ sẽ được chuyển hoá thành  $H_2S$ .  $H_2S$  và các hợp chất vô cơ khác có trong đất sẽ được oxy hoá bởi các nhóm vi khuẩn tự dưỡng thành S và  $SO_4^{2-}$ , một phần được tạo thành S hữu cơ của tế bào sinh vật.  $SO_4^{2-}$  lại được thực vật hấp thụ, cứ thế vòng chuyển hoá các hợp chất lưu huỳnh diễn ra liên tục. Trong đó các nhóm vi sinh vật đóng một vai trò quan trọng không thể thiếu được.



#### 4.4.2. Sự oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh

##### 4.4.2.1. Sự oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh do vi khuẩn tự dưỡng hoá năng

Trong nhóm vi khuẩn tự dưỡng hoá năng có một số loài có khả năng oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh vô cơ như Thiosulfat, khí sulfua hydro và lưu huỳnh nguyên chất thành dạng  $\text{SO}_4^{2-}$  theo các phương trình sau:



$\text{H}_2\text{SO}_4$  sinh ra làm pH đất hạ xuống (diệt trừ được bệnh thối do *Streptomyces* gây ra và bệnh ghẻ khoai tây do pH thấp vì khuẩn không sống được).

Năng lượng sinh ra trong quá trình oxy hoá trên được vi sinh vật sử dụng để đồng hoá  $\text{CO}_2$  tạo thành đường. Đồng thời một số ít hợp chất dạng S cũng được đồng hoá tạo thành S hữu cơ của tế bào vi khuẩn. Các loài vi khuẩn có khả năng oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh theo phương thức trên là *Thiobacillus thioparus* và *Thiobacillus thiooxidans*. Cả 2 loài này đều sống được ở pH thấp, thường là pH = 3, đôi khi ở pH = 1 - 1,5 hai loài này vẫn có thể phát triển. Nhờ đặc điểm này mà người ta dùng 2 loài vi khuẩn trên để làm tăng độ hoà tan của apatit.

Ngoài 2 loài vi khuẩn trên còn có 2 loài vi khuẩn khác có khả năng oxy hoá các hợp chất S vô cơ, đó là *Thiobacillus denitrificans* và *Beggiatira minima*. *Thiobacillus denitrificans* có khả năng vừa khử nitrat vừa oxy hoá S theo các phương trình sau:



Vi khuẩn *Beggiatra minima* có thể oxy hoá  $H_2S$  hoặc S. Trong điều kiện có nhiều  $H_2S$  nó sẽ oxy hoá  $H_2S$  tạo thành S tích lũy trong tế bào. Trong điều kiện thiếu  $H_2S$  các hạt S sẽ được oxy hoá đến khi S dự trữ hết thì vi khuẩn chết hoặc ở trạng thái tiềm sinh.

#### 4.4.2.2. Sự oxy hoá các hợp chất S do vi khuẩn tự dưỡng quang năng

Một số nhóm vi khuẩn tự dưỡng quang năng có khả năng oxy hoá  $H_2S$  tạo thành  $SO_4^{2-}$ .  $H_2S$  đóng vai trò chất cho điện tử trong quá trình quang hợp của vi khuẩn. Các vi khuẩn thuộc họ *Thiodaceae chlorobacteriae* thường oxy hoá  $H_2S$  tạo  $C_6H_{12}O_6$ ,  $H_2SO_4$  và S.

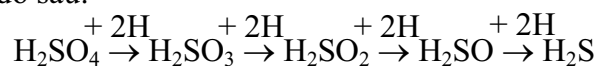
Ở nhóm vi khuẩn trên, S được hình thành không tích lũy trong cơ thể mà ở ngoài môi trường.

#### 4.4.3. Sự khử các hợp chất S vô cơ do vi sinh vật

Ngoài quá trình oxy hoá, trong đất còn có quá trình khử các hợp chất S vô cơ thành  $H_2S$ . Quá trình này còn gọi là quá trình phản sulfat hoá. Quá trình này được tiến hành ở điều kiện kỵ khí, ở những tầng nước sâu. Nhóm vi sinh vật tiến hành quá trình này gọi là nhóm vi khuẩn phản sulfat hoá:



Ở đây chất hữu cơ đóng vai trò cung cấp hydro trong quá trình khử  $SO_4$  có thể là đường hoặc các axit hữu cơ hoặc các hợp chất hữu cơ khác.  $H_2SO_4$  sẽ bị khử dần tới  $H_2S$  theo sơ đồ sau:



Quá trình phản sulfat hoá 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 sulfat hoá mạnh sẽ bị đen rễ và ảnh hưởng xấu đến sinh trưởng và phát triển.

## CHƯƠNG V

# Ô NHIỄM VI SINH VẬT

### 5.1. NGUYÊN NHÂN CỦA VẤN ĐỀ Ô NHIỄM VI SINH

Vi sinh vật ngoài những nhóm tham gia vào các chu trình chuyển hoá vật chất có lợi cho môi trường sinh thái còn có những nhóm gây bệnh cho con người, động vật, thực vật. Những nhóm vi sinh vật gây bệnh đặc biệt là nhóm gây bệnh cho con người khi tồn tại quá nhiều trong môi trường sống sẽ là nguồn lây bệnh nguy hiểm. Môi trường có tồn tại nhiều vi sinh vật gây bệnh gọi là môi trường bị ô nhiễm vi sinh. Con người sống trong môi trường ô nhiễm vi sinh sẽ có khả năng bị các bệnh truyền nhiễm như các bệnh đường hô hấp (lao, viêm phế quản ...), các bệnh đường ruột (tả, lỵ, thương hàn ...) Nguyên nhân của sự ô nhiễm vi sinh phải kể đến 2 nguồn gây ô nhiễm quan trọng. Đó là chất thải của các bệnh viện và chất thải sinh hoạt.

#### 5.1.1. Vấn đề chất thải của các bệnh viện

Bệnh viện là nơi tập trung các loại vi sinh vật gây bệnh do các bệnh nhân mang vào. Trong quá trình điều trị, những vi sinh vật gây bệnh này không chỉ nằm trong cơ thể bệnh nhân mà còn được nhân lên trong các phòng xét nghiệm vi trùng. Sau mỗi lần xét nghiệm vi trùng tuy có tiến hành khử trùng toàn bộ dụng cụ thí nghiệm song việc tồn tại các vi sinh vật gây bệnh trong chất thải bệnh viện là không thể tránh khỏi. Những chất thải này được đưa ra môi trường và đó là một trong những nguồn ô nhiễm vi sinh cho môi trường xung quanh. Kết quả thí nghiệm về việc xác định thành phần vi sinh vật trong môi trường xung quanh các bệnh viện có xử lý chất thải và không xử lý chất thải có sự khác nhau rõ rệt. Ở những bệnh viện chất thải được đưa thẳng ra môi trường không qua xử lý vi sinh vật gây bệnh chiếm một tỷ lệ cao. Tuy một số vi sinh vật gây bệnh cho cơ thể con người không thể tồn tại lâu trong môi trường ngoài cơ thể nhưng sự thải liên tục vào môi trường khiến cho môi trường xung quanh bệnh viện lúc nào cũng phát hiện thấy những nhóm vi sinh vật đó. Bên cạnh đó có những nhóm vi khuẩn có bào tử như vi khuẩn lao có thể tồn tại rất lâu trong môi trường nước khi nhiễm vào cơ thể con người.

#### 5.1.2. Vấn đề chất thải sinh hoạt và vệ sinh đô thị

Chất thải sinh hoạt bao gồm rác rưởi hàng ngày con người thải ra trong những hoạt động sống như thức ăn thừa, giấy vụn, bao bì đựng thức ăn ... Bên cạnh đó còn một nguồn chất thải sinh hoạt quan trọng nữa là phân và nước tiểu.

Khu hệ sinh vật đường ruột của con người vô cùng phong phú, trong đó có rất nhiều vi sinh vật gây bệnh. Toàn bộ những vi sinh vật đó được thải ra ngoài theo phân. Phân và nước tiểu trước khi đưa vào nguồn nước thải chung của thành phố chỉ được xử lý bằng phương pháp cơ học tức là lọc qua các bể lọc chứa sỏi và cát. Bởi vậy trong nguồn nước thải sinh hoạt chứa rất nhiều vi sinh vật gây bệnh. Đó chính là nguồn gây ô nhiễm vi sinh cho môi trường sống.

Bên cạnh đó rác sinh hoạt hàng ngày do con người thải ra như thức ăn thừa, giấy vụn, bao bì chứa thức ăn, phân chó, mèo, chuột chết ... Bản thân nó vừa là nguồn vi sinh vật gây bệnh vừa là nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật từ không khí và các môi trường khác rơi vào sinh sống, phát triển, trong đó có những vi sinh vật gây bệnh. Đặc biệt những đồng rác tồn tại thường xuyên tại các điểm dân cư hoặc các chợ không được thu dọn hết là những ổ ô nhiễm vi sinh nghiêm trọng. Các thí nghiệm nghiên cứu thành phần vi sinh vật trong những đồng rác đã phát hiện thấy có mặt rất nhiều các nhóm gây bệnh cho người và động vật.

## **5.2. NHIỄM TRÙNG VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG ĐỔ CỦA CƠ THỂ**

Vi sinh vật gây bệnh có trong các môi trường bị ô nhiễm vi sinh là nguồn nhiễm bệnh cho con người sống trong môi trường đó. Rất nhiều bệnh có khả năng lây lan từ người này sang người khác gọi là bệnh truyền nhiễm. Những người không phải sống trong môi trường bị ô nhiễm vi sinh nhưng tiếp xúc với người bệnh cũng sẽ bị nhiễm bệnh. Vi sinh vật từ những người bị bệnh phát tán ra môi trường xung quanh lại tiếp tục gây ô nhiễm môi trường. Bởi vậy vấn đề vệ sinh môi trường là vô cùng quan trọng, nó có tác dụng giảm bớt tác dụng của những ổ bệnh tồn tại trong môi trường.

### **5.2.1. Sự nhiễm trùng và khả năng gây bệnh của vi sinh vật**

Nhiễm trùng là hiện tượng vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào cơ thể con người, động vật, thực vật hoặc vi sinh vật (virus xâm nhập vào vi khuẩn và các vi sinh vật khác). Ở đây chỉ nói về hiện tượng nhiễm trùng ở người. Nhiễm trùng có thể làm cho con người bị nhiễm nhẹ, bị bệnh nặng hoặc không thể hiện bệnh tùy thuộc vào phản ứng của cơ thể hay còn gọi là khả năng miễn dịch của cơ thể.

Vi sinh vật gây bệnh cho con người thuộc nhóm sống ký sinh. Chúng sống ký sinh trong các cơ quan nội tạng hoặc trên bề mặt cơ thể con người. Khi sống trong các cơ quan nội tạng chúng có khả năng gây bệnh cho các cơ quan đó. Ví dụ như bệnh gan, bệnh dạ dày, bệnh phổi ... Khi sống trên bề mặt cơ thể chúng gây nên những bệnh ngoài da. Có những nhóm sống ký sinh bắt buộc có nghĩa là chỉ có thể sống ở cơ quan mà nó ký sinh, không có khả năng sống ngoài môi trường. Có nhóm ký sinh không bắt buộc còn gọi là ký sinh tùy nghi, chúng có khả năng sống một thời gian nhất định ở ngoài cơ thể, trong môi trường đất hoặc nước khi có điều kiện lại vào cơ thể. Khi vi sinh vật gây bệnh nhiễm vào cơ thể con người, nó có thể dẫn đến gây bệnh, cũng có thể tồn tại trong cơ thể mà không gây bệnh. Khả năng gây bệnh phụ thuộc vào 3 yếu tố chính: độc lực của vi sinh vật, số lượng xâm nhập và đường xâm nhập của chúng.

### 1. Độc lực

Độc lực của vi sinh vật gây bệnh phụ thuộc vào nhiều yếu tố trong đó 2 yếu tố quan trọng nhất là tính chất của độc tố tiết ra trong quá trình sống của vi sinh vật và khả năng sinh trưởng, phát triển của vi sinh vật trong cơ thể chủ.

+ Độc tố: là những chất độc sinh ra trong quá trình sống của vi sinh vật gây bệnh. Chúng có thể tiết ra môi trường xung quanh gọi là ngoại độc tố. Những chất độc không tiết ra môi trường xung quanh mà chỉ được giải phóng khi tế bào vi sinh vật bị tan rã gọi là nội độc tố.

- Ngoại độc tố nói chung rất độc, chỉ cần một liều lượng rất nhỏ cũng có thể gây chết. Ngoại độc tố của vi khuẩn gây độc thịt có tính độc cao nhất. Những vi khuẩn khác có ngoại độc tố là vi khuẩn bạch hầu, uốn ván, ly, liên cầu khuẩn ... Vi khuẩn sau khi xâm nhập vào cơ thể thường khu trú ở một cơ quan nhất định, sau đó trong quá trình sống chúng tiết ra ngoại độc tố lan ra khắp cơ thể và làm tổn thương các cơ quan nội tạng. Ví dụ độc tố của vi khuẩn uốn ván và vi khuẩn độc thịt gây rối loạn thần kinh, độc tố của vi khuẩn bạch hầu làm cản trở cơ quan hô hấp ...

Đối với những vi khuẩn sinh ra ngoại độc tố, để nghiên cứu độc tố người ta nuôi vi khuẩn trong môi trường thích hợp cho chúng phát triển mạnh rồi dùng phương pháp lọc để tách riêng tế bào và ngoại độc tố. Người ta thường làm mất tính độc của ngoại độc tố để sản xuất vacxin phòng bệnh. Có thể làm mất tính độc của ngoại độc tố bằng formol 3 -5% ở nhiệt độ 38 - 40°C trong thời gian 1 tháng, chất này gọi là giải độc tố. Giải độc tố không độc nhưng vẫn có tính kháng nguyên nên có thể dùng làm



vacxin phòng bệnh. Ngoại độc tố thường có bản chất là protein và hầu hết các nhóm vi khuẩn sinh ngoại độc tố đều thuộc nhóm gram dương.

- Nội độc tố gây độc yếu hơn ngoại độc tố. Tính gây độc của nội độc tố không có đặc trưng riêng biệt như ngoại độc tố.

Hầu hết chúng đều gây ra những biểu hiện chung giống nhau như sốt cao, rối loạn tim mạch, giảm số lượng bạch cầu, rối loạn tiêu hoá ... Các vi sinh vật sinh ra nội độc tố thường thuộc nhóm vi khuẩn gram âm, ví dụ như nhóm trực khuẩn đường ruột. Khác với ngoại độc tố, nội độc tố có thành phần phức tạp hơn, thường là một phức hợp của Gluxit - Lipit - Protein, chịu được nhiệt độ cao (100<sup>0</sup>C trong 30 - 60 phút) trong khi ngoại độc tố thường mất hoạt tính ở nhiệt độ cao. Nội độc tố không thể chế được thành giải độc tố. Nội độc tố chỉ được giải phóng ra khỏi tế bào vi khuẩn khi tế bào chết, bị phân hủy. Bởi vậy những bệnh nhân bị bệnh do vi khuẩn sinh nội độc tố dễ bị choáng gây chết đột ngột khi nội độc tố được giải phóng ồ ạt vào lúc vi khuẩn chết hàng loạt. Để tránh trường hợp này, trong điều trị đối với những bệnh do vi khuẩn gram âm gây ra, các bác sĩ thường rất cẩn thận khi dùng kháng sinh liều cao.

Để đánh giá độc lực của các chủng vi sinh gây bệnh, người ta quy định một số đơn vị đo độc lực, có 2 đơn vị thường được dùng là liều gây chết tối thiểu và liều gây chết 50%.

Liều gây chết tối thiểu (MLD) là liều lượng nhỏ nhất của độc tố hoặc vi sinh vật gây ra độc tố đó làm chết động vật thí nghiệm trong một thời gian nhất định. Trong thực nghiệm y học, còn có những quy định cụ thể hơn đối với liều gây chết tối thiểu. Ví dụ như trọng lượng của con vật thí nghiệm, đường nhiễm vi khuẩn gây bệnh ...

Liều gây chết 50% (LD<sub>50</sub>) là liều lượng nhỏ nhất của độc tố hoặc vi sinh vật sinh ra độc tố đó làm chết 50% động vật thí nghiệm trong một thời gian nhất định.

Người ta có thể làm tăng hoặc làm giảm độc lực của vi sinh vật gây bệnh trong những trường hợp cần thiết. Ví dụ như khi chế vacxin phòng bệnh cần thiết phải làm giảm độc lực hoặc mất độc lực để tạo ra một chủng vi sinh vật không còn khả năng gây bệnh nhưng vẫn còn tính kháng nguyên. Người ta thường làm giảm độc lực bằng cách cấy truyền vi sinh vật nhiều lần vào những môi trường nghèo chất dinh dưỡng, pH, nhiệt độ ... không thích hợp với nó. Ngược lại muốn làm tăng độc lực cần cấy truyền liên tục vào động vật mà vi sinh vật sống ký sinh. Muốn cố định độc lực, nghĩa là giữ nguyên tính độc cần nuôi vi sinh vật trong những môi trường đặc biệt và giữ ở

nhiệt độ thấp, tốt nhất là giữ trong nitơ lỏng. Ở nhiệt độ thấp, vi sinh vật sẽ giữ nguyên tính trạng, không sinh trưởng, phát triển, bộ máy di truyền hầu như không biến đổi. Bởi vậy mà tính độc được giữ nguyên.

## 2. Số lượng vi sinh vật

Khả năng gây bệnh của vi sinh vật không những chỉ phụ thuộc vào độc lực của nó mà còn phụ thuộc vào số lượng vi sinh vật thâm nhập vào cơ thể. Chỉ khi có một số lượng lớn vi sinh vật mới có thể vượt qua được sự chống đỡ của hệ miễn dịch cơ thể chủ. Nếu số lượng ít, vi sinh vật sẽ nhanh chóng bị bạch cầu của cơ thể chủ tiêu diệt. Số lượng tối thiểu đủ để vi sinh vật gây bệnh cho cơ thể chủ phụ thuộc vào độc lực. Nếu độc lực cao chỉ cần một số ít vi sinh vật cũng gây được bệnh, nếu độc lực thấp cần số lượng nhiều.

## 3. Đường thâm nhập vào cơ thể

Khả năng gây bệnh của vi sinh vật không những chỉ phụ thuộc vào độc lực, số lượng vi sinh vật, mà còn phụ thuộc vào đường xâm nhập của chúng vào cơ thể chủ. Mỗi một loại vi sinh vật gây bệnh có một đường xâm nhập thích hợp và thường chỉ khi xâm nhập theo đường đó chúng mới có khả năng gây bệnh. Ví dụ như vi khuẩn lao chỉ gây bệnh khi xâm nhập qua đường hô hấp. Vi khuẩn tả, lỵ, chỉ gây bệnh khi qua đường tiêu hoá. Virus HIV chỉ gây bệnh khi xâm nhập qua đường máu ... Tuy nhiên cũng có một số vi sinh vật gây bệnh ngoài con đường xâm nhập chính chúng cũng có thể gây bệnh khi xâm nhập qua con đường khác. Ví dụ như vi khuẩn dịch hạch gây bệnh chủ yếu khi xâm nhập qua đường máu do bọ chét truyền. Nhưng trong một số trường hợp chúng cũng có thể gây bệnh được khi xâm nhập qua đường hô hấp. Những nhóm vi sinh vật gây bệnh có khả năng gây bệnh qua nhiều đường xâm nhập là những nhóm vô cùng nguy hiểm.

### 5.2.2. Khả năng chống đỡ của cơ thể

Như trên là các yếu tố quan trọng tạo nên khả năng nhiễm bệnh của vi sinh vật gây bệnh. Những vi sinh vật gây bệnh hội đủ những yếu tố trên khi xâm nhập vào cơ thể con người sẽ có khả năng gây bệnh. Song con người có bị bệnh hay không lại còn phụ thuộc vào khả năng chống đỡ của cơ thể. Cùng bị nhiễm vi sinh vật gây bệnh nhưng có người bị bệnh nặng, có người bị bệnh nhẹ, có người không bị bệnh. Trường hợp những người bị nhiễm vi sinh vật gây bệnh nhưng không bị bệnh, vi sinh vật sẽ

tồn tại trong cơ thể. Khi sức chống đỡ của cơ thể yếu đi chúng lại tiếp tục tấn công và gây bệnh.

Sức chống đỡ của cơ thể phụ thuộc vào nhiều yếu tố như khả năng miễn dịch, trạng thái sức khoẻ, trạng thái tinh thần, tuổi, hoàn cảnh tự nhiên, hoàn cảnh xã hội ...

#### 5.2.2.1. Khả năng miễn dịch của cơ thể

Khả năng miễn dịch là khả năng bảo vệ sự toàn vẹn của cơ thể chống lại sự xâm nhập của các vật thể lạ.

\* *Kháng nguyên*: Những vật thể lạ khi xâm nhập vào cơ thể nếu có khả năng kích thích cơ thể để cơ thể đáp ứng miễn dịch đồng thời có khả năng kết hợp đặc hiệu với kháng thể tương ứng được gọi là kháng nguyên. Kháng nguyên có thể là các vi sinh vật như vi khuẩn, virus, có thể là các polypeptit tổng hợp, cũng có thể là các tổ chức tế bào (trong trường hợp ghép mô).

\* *Kháng thể*: Được sinh ra trong quá trình đáp ứng miễn dịch, khi có kháng nguyên xâm nhập vào cơ thể. Kháng thể có khả năng kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên làm vô hiệu hoá kháng nguyên. Có 2 loại kháng thể: kháng thể dịch thể là những kháng thể hoà tan có thể lưu hành trong các dịch nội môi của cơ thể; kháng thể tế bào là những kháng thể không hoà tan mà chỉ nằm trên màng tế bào.

Hệ thống đáp ứng miễn dịch của cơ thể gồm có miễn dịch tự nhiên và miễn dịch đặc hiệu.

- Miễn dịch tự nhiên còn gọi là miễn dịch không đặc hiệu là một hệ thống bảo vệ cơ thể có từ khi sinh ra. Nó bao gồm hàng rào vật lý như da và niêm mạc có nhiệm vụ bao bọc bên ngoài, bảo vệ cơ thể; Hàng rào hoá học như mồ hôi, nước mắt và các chất tiết khác có tác dụng diệt trùng; hàng rào tế bào là hệ thống quan trọng và phức tạp nhất trong hệ thống miễn dịch tự nhiên. Nó bao gồm các đại thực bào, tiểu thực bào có khả năng bắt giữ và làm tiêu tan các tế bào và vật lạ. Ngoài ra đặc tính di truyền của từng cá thể cũng làm cho nó có thể miễn cảm với loài vi sinh vật gây bệnh này mà không miễn cảm với loài khác.

- Miễn dịch đặc hiệu là hệ thống đáp ứng đặc hiệu của cơ thể khi có vật lạ mang tính kháng nguyên xâm nhập. Kết quả của quá trình đáp ứng đặc hiệu này là hình thành nên những chất chống lại kháng nguyên gọi là kháng thể. Nếu kháng thể sinh ra là kháng thể dịch thể thì quá trình miễn dịch được gọi là miễn dịch dịch thể. Nếu

kháng thể sinh ra là kháng thể tế bào thì quá trình miễn dịch gọi là miễn dịch tế bào. Sự kết hợp kháng nguyên - kháng thể là đặc trưng của miễn dịch đặc hiệu, mục đích cuối cùng là loại kháng nguyên ra khỏi cơ thể qua con đường đại thực bào. Phức hợp kháng nguyên - kháng thể sẽ làm cho đại thực bào dễ tiếp cận và tiến hành quá trình thực bào (nuốt). Đây cũng là mối liên quan mật thiết giữa hai quá trình miễn dịch đặc hiệu và miễn dịch tự nhiên. Khi kháng nguyên xâm nhập cơ thể, các đại thực bào không những chỉ bắt giữ, làm tiêu tan, mà còn trình diện nó với các tế bào nhận diện kháng nguyên thuộc hệ thống miễn dịch đặc hiệu. Sau khi hệ thống miễn dịch đặc hiệu sinh ra kháng thể để kết hợp với kháng nguyên, đại thực bào thuộc hệ thống miễn dịch tự nhiên tiếp tục nuốt các phức hợp kháng nguyên - kháng thể.

#### ***5.2.2.2. Trạng thái của cơ thể***

Sức chống đỡ của cơ thể đối với sự nhiễm trùng không những chỉ phụ thuộc vào khả năng miễn dịch của cơ thể mà còn phụ thuộc vào trạng thái cơ thể. Cơ thể hoàn toàn khoẻ mạnh sẽ có hệ thống miễn dịch tốt, vi sinh vật nhiễm vào không thể gây bệnh. Khi cơ thể suy yếu, đặc biệt là do thiếu dinh dưỡng hoặc dinh dưỡng không cân bằng (chỉ ăn thịt, không ăn rau ...) hệ thống miễn dịch suy yếu rất dễ bị bệnh. Đặc biệt là những vi sinh vật đã nhiễm vào cơ thể trong thời gian khoẻ mạnh gây tác hại được gặp dịp cơ thể yếu sẽ sinh sôi nảy nở và gây thành bệnh. Trạng thái tinh thần cũng vô cùng quan trọng. Tinh thần khoẻ mạnh, lạc quan, yêu đời khó bị nhiễm bệnh hơn so với tinh thần chán nản, buồn rầu. Tuổi cũng liên quan đến sự nhiễm bệnh và phát bệnh do vi sinh vật, mỗi tuổi mắc cảm với một số bệnh nhất định. Ví dụ như trẻ con dễ bị bệnh đường tiêu hoá, người già dễ bị viêm phổi v.v...

#### ***5.2.2.3. Môi trường sống***

Môi trường sống cũng rất ảnh hưởng đến sức chống đỡ của cơ thể đối với vi sinh vật gây bệnh. Môi trường tự nhiên bao gồm những yếu tố thuộc về khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm; yếu tố địa lý như nơi ở là đồng bằng hay miền núi, thành phố hay nông thôn ...; yếu tố vệ sinh môi trường như môi trường trong sạch hay ô nhiễm v.v... Ví dụ vào mùa đông, sức chống đỡ của cơ thể đối với bệnh cúm yếu hơn mùa hè. Ngược lại vào mùa hè sẽ dễ bị nhiễm những bệnh đường ruột như tả, lỵ, thương hàn v.v...

Môi trường xã hội cũng vô cùng quan trọng, trong một xã hội tốt đẹp, cuộc sống tinh thần và vật chất được chăm lo, con người được sống trong tình thương yêu

của gia đình và xã hội sẽ có sức chống đỡ với bệnh tật tốt. Ngược lại nếu sống trong môi trường xã hội xấu, sức chống đỡ của con người đối với bệnh tật cũng kém hơn.

### 5.3. MỘT SỐ VI SINH VẬT GÂY BỆNH CHÍNH

Vi sinh vật gây bệnh cho người phân bố rộng rãi trong thiên nhiên. Trong đất, trong nước, trong không khí đều phát hiện thấy những nhóm vi sinh vật gây bệnh, đặc biệt là những môi trường bị ô nhiễm vi sinh, những nơi rác rưởi tồn đọng, những khu vực xung quanh bệnh viện ... Hầu hết những vi sinh vật gây bệnh không tồn tại được lâu ở môi trường ngoài cơ thể vì chúng thuộc nhóm ký sinh. Tuy nhiên các nguồn vi sinh vật gây bệnh thường xuyên phát tán ra môi trường xung quanh, nhất là những nơi vệ sinh môi trường không tốt và nguồn gây bệnh không được xử lý trước khi thải ra môi trường. Đặc biệt là những nhóm vi sinh vật có khả năng hình thành bào tử, chúng có thể sống tiềm sinh trong bào tử một thời gian rất lâu trước khi xâm nhập vào cơ thể. Dưới đây giới thiệu một số nhóm vi sinh vật gây bệnh chính thường thấy xuất hiện trong những môi trường bị ô nhiễm vi sinh.

#### 5.3.1. Nhóm vi khuẩn gây bệnh đường ruột

Nhóm vi khuẩn gây bệnh đường ruột hầu hết có dạng hình que nên còn gọi là trực khuẩn đường ruột, thuộc họ *Enterobacteriaceae*, có một số đặc điểm chung như sau:

- Không có khả năng hình thành bào tử.
- Nhuộm gram âm.
- Có khả năng khử natri thành nitrit.
- Sử dụng glucoza và một số đường khác theo cơ chế lên men.
- Thường sống ở ruột người và một số động vật, khi sống trong ruột chúng có thể ở trạng thái gây bệnh hoặc không gây bệnh.

Có nhiều giống khác nhau song quan trọng nhất là 3 giống: *Escherichia*, *Salmonella* và *Shigella*.

##### 5.3.1.1. Trực khuẩn đại tràng *Escherichia coli*

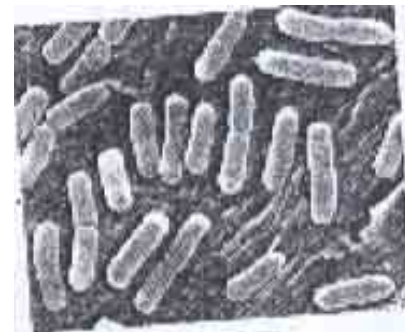
*Escherichia coli* là một loại trực khuẩn sống thường xuyên trong ruột người và một số động vật được Eschrich phát hiện ra từ năm 1885. Chúng chiếm tới 80% vi khuẩn hiếu khí sống ở ruột. Bình thường chúng không gây bệnh, khi cơ thể suy yếu

một số chủng có khả năng gây bệnh. Ở trong ruột chúng sống đối kháng với một số vi khuẩn khác như *Salmonella* và *Shigella* (thương hàn và lỵ) nhờ có khả năng tạo ra một loại chất ức chế có tên là Colixin. Chúng còn có khả năng tổng hợp một số vitamin thuộc nhóm B, E và K. Vì thế khi không gây bệnh chúng có lợi cho đường ruột nhờ hạn chế được một số vi khuẩn gây bệnh khác, giữ thể cân bằng sinh thái trong ruột và sinh tổng hợp một số vitamin. *E. coli* được thải ra môi trường theo phân, do chiếm tới 80% vi khuẩn hiếu khí trong ruột và luôn giữ thể cân bằng sinh thái nên *E. coli* được chọn làm vi sinh vật chỉ thị ô nhiễm. Có nghĩa là ở đâu có *E. coli* chứng tỏ có ô nhiễm phân và có ô nhiễm các loại vi sinh vật gây bệnh khác. Nếu phân không được xử lý tốt, môi trường xung quanh như đất, nước, thực phẩm sẽ bị ô nhiễm. Để đánh giá mức độ ô nhiễm vi sinh người ta tiến hành kiểm nghiệm các mẫu đất, nước, thực phẩm ... Căn cứ vào kết quả của chỉ số coli, tức là số lượng *E. coli* trong 1 lít nước hay 1 gram chất rắn để đánh giá mức độ ô nhiễm. Theo tiêu chuẩn quốc tế thì nước được gọi là nước sạch, không ô nhiễm khi chỉ số coli là 0 - 5.

### **1. Đặc điểm sinh học của E.coli**

- Đặc điểm hình thái và cấu tạo:

*E. coli* có hình que, hai đầu tròn, kích thước dài ngắn khác nhau, thường từ 2 - 3 micromet x 0,5 micromet. Thường đứng riêng rẽ từng tế bào, cũng có khi ghép từng đôi một, có khi kết với nhau thành từng đám hoặc 1 chuỗi ngắn. Thường có tiêm mao mọc khắp bề mặt, có khả năng di động. Không có khả năng hình thành bào tử, có khả năng hình thành giáp mạc (vỏ nhày) khi gặp môi trường dinh dưỡng tốt. Nhuộm gram âm.



*Hình 5.1. E. Coli (ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử)*

- Tính chất nuôi cấy:

Dễ nuôi cấy, có thể mọc được trên môi trường hiếu khí cũng như kỵ khí. Mọc được ở nhiệt độ từ 5 - 40<sup>0</sup>C, thích hợp nhất ở 37<sup>0</sup>C. Có thể sống được ở pH 5,5 - 8,0, thích hợp nhất ở pH 7 - 7,2. Trên môi trường thạch thường có khuẩn lạc dạng S (nhẵn bóng, bờ đều). Đôi khi hình thành khuẩn lạc dạng R (nhăn nheo) hoặc dạng M (nhày).

Khuẩn lạc có màu xám, đục. Trong môi trường lỏng, sau 1 - 2 ngày nuôi cấy thường làm đục môi trường, có vầng trên bề mặt hoặc dính quanh thành ống, tạo thành cặn lắng xuống đáy. Có khả năng lên men đường lactoza khác với một số nhóm gây bệnh đường ruột khác thường không có khả năng lên men đường Lactoza. Ngoài ra còn có khả năng lên men một số đường khác như Glucoza, Galactoza v.v... Khi lên men có sinh khí làm sủi bọt môi trường.

Người ta thường dùng phản ứng đỏ metyl để phát hiện E. Coli: Nuôi cấy trong môi trường có đường Glucoza ở nhiệt độ 37<sup>0</sup>C. Sau 48 giờ nuôi cấy nhỏ vài giọt dung dịch đỏ Metyl 1% pha trong cồn 60<sup>0</sup>. Nếu môi trường trở thành màu đỏ là phản ứng dương tính, nếu môi trường trở thành màu vàng là âm tính. E. Coli có phản ứng đỏ metyl dương tính. E. Coli còn có khả năng sinh Indol (Phản ứng Indol dương tính), không có khả năng sử dụng Xitral (Phản ứng Xitral âm tính).

- Sức đề kháng:

E. Coli dễ bị tiêu diệt bởi các thuốc sát trùng thông thường, sức đề kháng yếu E.coli thường bị tiêu diệt ở nhiệt độ 60<sup>0</sup>C trong 30 phút. Dễ bị tiêu diệt bởi các thuốc sát trùng thông thường.

## **2. Khả năng gây bệnh**

Bình thường E. Coli sống trong ruột người không gây bệnh. Khi cơ thể suy yếu một số chủng trở nên gây bệnh. E.Coli không những chỉ gây bệnh đường ruột như ỉa chảy, kiết lỵ mà còn có thể gây một số bệnh khác như viêm đường tiết niệu, viêm gan, viêm phế quản, viêm màng phổi v.v...

Độc tố của E. Coli thuộc loại nội độc tố, có khả năng chịu nhiệt. Đặc biệt có một số chủng đột biến có khả năng sinh ngoại độc tố, có khả năng tác động lên tế bào thần kinh.

Muốn phòng bệnh do E.Coli gây ra cần giữ vệ sinh ăn uống, đặc biệt cần các biện pháp xử lý phân để tránh ô nhiễm ra môi trường.

### ***5.3.1.2. Trực khuẩn lỵ (Shigella)***

*Shigella* là một nhóm vi khuẩn gây bệnh đường ruột được phát hiện do Grigoriep năm 1891 bao gồm rất nhiều loài khác nhau. *Shigella* sống trong đường ruột của người và một số động vật. Số lượng của chúng ít hơn E. Coli rất nhiều và thường xuyên bị ức chế bởi E.Coli. Nếu cân bằng sinh thái trong ruột được giữ vững với thành

phần *Shigella* chiếm tỷ lệ thấp thì cơ thể vô hại. Nhưng ở một điều kiện nào đó thì cân bằng sinh thái bị phá vỡ, số lượng *Shigella* trở nên nhiều thì cơ thể sẽ bị bệnh do *Shigella* gây ra.

### **1. Đặc điểm sinh học của *Shigella***

- Đặc điểm hình thái và cấu tạo:

*Shigella* có hình que ngắn, 2 đầu tròn, kích thước thường từ 1 - 3 $\mu$ m x 0,5 $\mu$ m. *Shigella* không có khả năng hình thành bào tử cũng như giáp mạc, không có tiêm mao và tiêm mao bởi thế không có khả năng di động. Nhuộm gram âm.

- Tính chất nuôi cấy:

Ễ nuôi cấy, mọc được trên các môi trường thông thường, vừa hiếu khí, vừa kỵ khí. Trên môi trường thạch, khuẩn lạc có dạng S (nhẵn bóng, bờ đều) hơi lồi. Khuẩn lạc trong và nhỏ hơn khuẩn lạc của *Salmonella*. Có thể mọc được ở nhiệt độ 8<sup>0</sup>C - 40<sup>0</sup>C nhưng thích hợp nhất ở nhiệt độ 37<sup>0</sup>C. Mọc được ở pH 6,5 - 8,8, thích hợp nhất ở pH 7 - 8.



Hình 5.2 *S. sonnei* (ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử)

Có khả năng lên men đường glucoza nhưng không tạo thành bọt khí. Đa số không có khả năng lên men đường Lactoza, mantoza, Saccharoza. *Shigella* không có men phân giải Urê, không làm lỏng Gelatin, không sinh H<sub>2</sub>S, tùy từng loài có phản ứng Indol dương tính hoặc âm tính.

- Sức đề kháng:

*Shigella* có sức đề kháng yếu, bị tiêu diệt dưới ánh sáng mặt trời trong vòng 30 phút, nhiệt độ 60% trong 10 - 30 phút. Bị chết ngay ở nồng độ Phenol 5%.

*Shigella* dễ bị tiêu diệt do cạnh tranh với các vi sinh vật khác trong môi trường tự nhiên, tuy nhiên có thể sống được trong nước không có nhiều tạp khuẩn khoảng 6 tháng, chịu được nhiệt độ thấp. Ở quần áo người bệnh, vi khuẩn lỵ sống được khoảng 1 tuần, trong sữa sống được khá lâu, Bởi vậy khi uống sữa tươi không khử trùng rất dễ bị nhiễm *Shigella*.

- Khả năng biến dị di truyền:



Khi gặp những tác nhân gây đột biến hoặc điều kiện môi trường không thuận lợi, vi khuẩn *Shigella* dễ bị biến đổi dạng khuẩn lạc từ dạng S sang dạng R tức là mất khả năng hình thành giáp mạc (lớp vỏ nhày bao quanh vi khuẩn). Do đó cũng không còn khả năng gây bệnh nữa vì khi vi khuẩn mất lớp vỏ nhày bao bọc xung quanh, sẽ dễ bị bạch cầu nuốt chửng khi xâm nhập vào cơ thể chủ. Ngược lại, từ dạng R không gây bệnh nếu gặp điều kiện môi trường thích hợp có thể biến thành dạng S.

## **2. Khả năng gây bệnh**

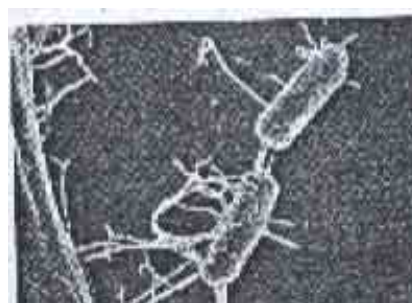
*Shigella* là nguyên nhân gây bệnh lỵ trực khuẩn ở người (khác với bệnh lỵ Amip do Amip gây ra) thường gây thành dịch vào mùa hè do ăn uống mất vệ sinh. Vi khuẩn từ phân người bệnh xâm nhập vào môi trường, gặp điều kiện nhiệt độ và độ ẩm thích hợp của mùa hè sẽ có khả năng tồn tại lâu và xâm nhập vào người khỏe qua đường tiêu hoá. Vi khuẩn thường khu trú ở niêm mạc đại tràng kích thích đại tràng, gây ra bệnh lỵ. Ngoài ra một số loài còn có khả năng gây bệnh viêm dạ dày và ruột ở trẻ em. Bệnh lỵ do *Shigella* gây ra rất dễ bị tái phát và có thể trở thành bệnh mãn tính.

Độc tố của *Shigella* hầu hết là nội độc tố, chỉ có một số loài có khả năng sinh ngoại độc tố. Nội độc tố của *Shigella* thuộc loại mạnh, chịu được nhiệt độ bền vững ở nhiệt độ 100°C. Ngoại độc tố cũng thuộc loại mạnh, có khả năng tác dụng đến hệ thần kinh nhưng không chịu được nhiệt độ.

Muốn phòng bệnh do vi khuẩn lỵ *Shigella* gây ra cần giữ vệ sinh môi trường và vệ sinh thực phẩm. Không để phân của người bị bệnh xâm nhập vào môi trường xung quanh, từ đó sẽ nhiễm vào thực phẩm và đi vào người lành qua đường tiêu hoá. Cần cách ly người bệnh kịp thời.

### ***5.3.1.3. Trực khuẩn thương hàn Salmonella***

*Salmonella* thuộc nhóm vi khuẩn gây bệnh đường ruột được phát hiện từ năm 1885 do Salmon tại Mỹ. *Salmonella* thường xuyên sinh sống trong đường ruột của người và một số động vật. Chúng bị cạnh tranh bởi *E.coli* và thường bị *E.coli* tiêu diệt. Bởi vậy khi trong ruột có nhiều *E.coli* sẽ hạn chế tác dụng gây bệnh của *Salmonella*. Ở một điều kiện nào đó, thế cân bằng sinh thái trong ruột bị phá vỡ, số lượng *E.coli* suy giảm, lúc đó *Salmonella* sẽ phát triển và gây bệnh.



Hình 5.3. *Salmonella* (ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử)

### **1. Đặc tính sinh học**

- Đặc điểm hình thái và cấu tạo:

*Salmonella* là vi khuẩn có hình que ngắn, kích thước trung bình khoảng 1 - 3 x 0,5 micromet, không có khả năng hình thành bào tử và giáp mạc. Có nhiều tiêm mao bao quanh tế bào, có khả năng di động. Nhuộm gram âm, thường bắt màu thuốc nhuộm ở 2 đầu.

- Tính chất nuôi cấy:

Thuộc loại dễ nuôi cấy, mọc tốt ở các môi trường thông thường, mọc được ở điều kiện hiếu khí hoặc kỵ khí. Phát triển tốt ở nhiệt độ 37<sup>0</sup>C và pH trung tính. Trên môi trường thạch thường tạo thành khuẩn lạc dạng S đôi khi có dạng R, kích thước khuẩn lạc thường lớn (2 - 4mm) trừ một vài chủng cho khuẩn lạc nhỏ. Khuẩn lạc thường có màu trắng đục. Khi nuôi cấy trong môi trường lỏng, ở trường hợp khuẩn lạc dạng S nó làm cho môi trường đục đều, ở trường hợp khuẩn lạc dạng R nó tạo thành dạng hạt động ở đáy ống ở bên trong.

Có khả năng lên men Glucoza có sinh bọt khí (trừ một vài chủng đặc biệt không có khả năng này). Không có khả năng lên men Lactoza, Sachoraza.

Có khả năng sinh H<sub>2</sub>S, không sinh Indol, không làm lỏng Gelatin. Có khả năng khử Nitrat thành Nitrit, mọc được ở môi trường có nguồn cacbon duy nhất là xitrat natri.

- Sức đề kháng:

*Salmonella* có sức đề kháng tốt, có thể sống ở môi trường ngoài cơ thể trong thời gian lâu. Trong đất hoặc nước có thể sống được 2 - 3 tuần, trong nước đá tồn tại được 2 - 3 tháng. Có thể tồn tại được ở nhiệt độ 100<sup>0</sup>C trong 5 phút mới bị tiêu diệt, ở 60<sup>0</sup>C sống được 10 - 20 phút. Bị diệt bởi Phenol 5%, Cloramin 1% và Clorua thủy

ngân 0,2% trong 5 phút. Ở trong ruột, Salmonella cũng bị ức chế bởi E.Coli nên số lượng luôn luôn chiếm tỷ lệ thấp. Tuy nhiên chúng lại có khả năng đề kháng với một số chất ở nồng độ mà E.Coli đã bị tiêu diệt. Ví dụ như xanh Briang, xanh Malachit ... Người ta thường dùng những chất này để tìm hãm vi khuẩn E.Coli khi cần phân lập Salmonella.

- Khả năng biến dị di truyền:

Giống như Shigella, vi khuẩn Salmonella cũng có khả năng biến dị khuẩn lạc từ dạng S sang dạng R và ngược lại. Bởi vậy, chúng có thể biến đổi từ dạng gây bệnh sang dạng không gây bệnh nhất là khi nuôi cấy lâu ngày trong ống giống.

Hình 5.4 Vibrio (ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử

## **2. Khả năng gây bệnh**

Salmonella là nguyên nhân gây bệnh thương hàn, phó thương hàn và bệnh nhiễm độc do ăn uống. Có những chủng chỉ gây bệnh ở người, có những chủng gây bệnh ở động vật, có một số chủng có khả năng gây bệnh cả ở người và động vật.

Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể qua đường tiêu hoá, khi vào đến ruột non nó chui qua niêm mạc ruột tới các hạch bạch huyết thì tụ lại và phát triển ở đó. Khi phát triển tới một số lượng nhất định, tế bào vi khuẩn bị dung giải và giải phóng hàng loạt nội độc tố. Nội độc tố theo máu tới não gây ra trạng thái sốt li bì, sau đó gây ra hiện tượng trụy tim mạch. Nội độc tố còn tác dụng vào dây thần kinh giao cảm bụng gây ra đầy hơi, chướng bụng, đi ngoài nhiều lần. Đó là những tác hại của bệnh thương hàn và phó thương hàn. Salmonella còn có khả năng gây bệnh ỉa chảy do nhiễm độc ăn uống, ở bệnh này vi khuẩn thường không vào máu. Ngoài ra Salmonella còn có khả năng gây bệnh viêm dạ dày và ruột, viêm màng não, viêm xương.

Muốn phòng bệnh do Salmonella gây ra cần giữ vệ sinh ăn uống, giữ vệ sinh môi trường, xử lý phân, không để ô nhiễm phân, nhất là phân của người bệnh. Giữ gìn vệ sinh thực phẩm, không giết mổ súc vật bị bệnh để làm thực phẩm.

Trên đây chỉ mô tả 3 nhóm vi khuẩn gây bệnh đường ruột thường gặp. Ngoài 3 nhóm trên, còn rất nhiều nhóm khác nữa thuộc vi khuẩn đường ruột có thể gây những bệnh hiểm nghèo. Ví dụ như bệnh tả do vi khuẩn Vibrio cholerae gây ra có thể làm chết người hàng loạt khi xảy ra dịch tả. Để phòng chống các loại bệnh đường ruột cần phải

giữ gìn vệ sinh môi trường, vệ sinh thực phẩm, không để môi trường và thực phẩm bị ô nhiễm. Những nguồn gây ô nhiễm cần phải được xử lý tốt trước khi thải ra môi trường. Về phía con người, muốn tránh bệnh đường ruột phải giữ gìn vệ sinh ăn uống, giữ gìn sức khỏe, sao cho hệ sinh thái vi sinh vật trong đường ruột được cân bằng. Trong đường ruột của người khỏe mạnh, nhóm vi sinh vật có ích chiếm ưu thế. Đó là những nhóm có khả năng sinh các loại vitamin, các loại enzym giúp cho quá trình tiêu hoá, đồng thời sinh ra các chất ức chế các nhóm vi sinh vật gây bệnh. Khi sự cân bằng sinh thái trong ruột bị phá vỡ, nhóm có ích suy giảm, nhóm gây bệnh tăng lên, cơ thể sẽ bị nhiễm bệnh. Nên nhớ rằng hệ sinh thái đường ruột không những chỉ bao gồm các nhóm vi sinh vật mà còn có cả các nhóm động vật không xương và nguyên sinh động vật như các loại giun, sán, amip ... Các nhóm ký sinh này làm cho cơ thể suy yếu càng dễ bị nhiễm bệnh do vi sinh vật gây ra.

### 5.3.2. Nhóm vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp

Nhóm vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp là nguyên nhân của các bệnh thuộc đường hô hấp như lao phổi, viêm phế quản, viêm họng, áp xe phổi ... Nhóm vi khuẩn này có hình dáng khác nhau như hình que, hình cầu ... Khác với nhóm vi khuẩn đường ruột, đa số vi khuẩn đường hô hấp có tính chất bắt màu gram dương. Nhóm này sống ký sinh trong đường hô hấp của người và động vật, truyền bệnh qua đường hô hấp. Có khả năng tồn tại trong không khí và các môi trường khác một thời gian nhất định trước khi xâm nhập vào đường hô hấp của cơ thể chủ. Những môi trường bị ô nhiễm vi khuẩn đường hô hấp thường nằm xung quanh các bệnh viện chuyên khoa như bệnh viện lao. Vi khuẩn đường hô hấp còn theo người bệnh phát tán đi khắp nơi và có thể tồn tại khá lâu trong môi trường.

Nhóm vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp bao gồm nhiều giống, loài. Ở đây chỉ nói đến 3 loài thường gặp là *Mycobacterium tuberculosis* (trực khuẩn lao), *Diplococcus pneumoniae* (cầu khuẩn phổi) và *Corynebacterium diphtheriae* (trực khuẩn bạch hầu).

#### 5.3.2.1. Trực khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*)

Trực khuẩn lao do Robert Koch tìm ra năm 1882, là nguyên nhân gây ra bệnh lao phổi ở người và các bệnh lao khác như lao hạch, lao xương, lao thận v.v... trong đó quan trọng và phổ biến nhất là lao phổi. Bệnh lao phổi trước đây rất khó chữa. Sau khi tìm ra những loại thuốc chữa trị đặc hiệu bệnh lao đã bị đẩy lùi. Song, thời gian gần đây, bệnh lao có nguy cơ quay trở lại tàn phá sức khỏe con người. Nhất là khi bệnh lao

nhiểm vào cơ thể của người đã mắc bệnh AIDS thì phát huy tác dụng, rất nhanh chóng dẫn đến tử vong.

### **1. Đặc điểm sinh học**

- Hình thái và cấu tạo:

Vi khuẩn lao có hình que mảnh, vì thế gọi là trực khuẩn lao. Kích thước trung bình 1 - 4 x 0,3 - 0,6 micromet. Đôi khi có dạng hình cầu và kích thước rất nhỏ bé có thể chui qua màng lọc vi khuẩn. Các tế bào vi khuẩn thường dính vào nhau thành hình chữ V, Y, N, cũng có khi đứng riêng lẻ từng tế bào. Vi khuẩn lao thường không có lông (tiêm mao và tiên mao) nên không có khả năng di động, không có khả năng hình thành bào tử và giáp mạc.

Bắt đầu Gram dương, nhưng rất khó thấy rõ.

- Tính chất nuôi cấy:

Vi khuẩn lao thuộc loại hiếu khí bắt buộc, không thể sống được ở môi trường kỵ khí. Sống được ở nhiệt độ 24<sup>0</sup>C - 42<sup>0</sup>C, thích hợp nhất ở 37<sup>0</sup>C và pH 6,7 - 7,0. Vi khuẩn lao mọc chậm, khó nuôi cấy, không mọc được ở những môi trường nuôi cấy thông thường. Muốn mọc tốt cần phải bổ sung vào môi trường lòng đỏ trứng, sữa, Asparagin ... Khi nuôi cấy trên môi trường thạch khuẩn lạc có dạng R (xù xì, có nếp nhăn), nếu chuyển sang dạng S thì không còn tính độc. Khi nuôi cấy trên môi trường lỏng, vi khuẩn lao mọc thành váng rắn reo trên bề mặt môi trường.

- Sức đề kháng:

Trực khuẩn lao có sức đề kháng cao đối với hoá chất như các chất sát trùng, cồn, axit kiềm ... cần phải có thời gian lâu và nồng độ cao mới tiêu diệt được. Ngược lại đối với nhiệt độ và tia tử ngoại vi khuẩn lao dễ bị tiêu diệt. Dưới ánh sáng mặt trời chiếu thẳng vi khuẩn lao sống được 50 phút. Ở môi trường ngoài cơ thể chúng sống được rất lâu nếu đủ độ ẩm. Ví dụ như trong rác ẩm có thể sống tới 4 tháng, trong đờm của người bệnh có thể sống được 2 tháng, trong quần áo hoặc sách vở của người bệnh có thể sống được tới 3 tháng.

Vi khuẩn lao có thể tồn tại hàng tháng, hàng năm trong nước nếu không có ánh sáng mặt trời chiếu vào.

- Khả năng biến dị di truyền:

Vi khuẩn lao có khả năng biến dị khuẩn lạc từ dạng R sang dạng S và ngược lại. Ở dạng R nó có tính độc, còn ở dạng S mất tính độc cũng như nhiều vi khuẩn gây bệnh khác, vi khuẩn lao cũng có những đột biến kháng thuốc làm cho nó quen với những thuốc chữa trị còn gọi là nhờn thuốc. Khi gặp phải những chủng nhờn thuốc này sẽ rất khó chữa trị.

## **2. Khả năng gây bệnh:**

Vi khuẩn khi xâm nhập vào cơ thể có thể khu trú và gây bệnh ở rất nhiều cơ quan nội tạng như phổi, ruột, bàng quang, màng não, xương khớp v.v... Song, phổ biến nhất là gây bệnh ở phổi. Những túi phổi có vi khuẩn lao cư trú và phát triển sẽ bị hoại tử. Khi chiếu X Quang những vết hoại tử này hiện lên rất rõ. Xung quanh nơi khu trú của vi khuẩn thường có hàng rào bạch cầu của cơ thể có nhiệm vụ ngăn cản không cho vi khuẩn lan tràn ra ngoài. Tuy nhiên, nhiều trường hợp vi khuẩn vẫn chui qua hàng rào bạch cầu xâm nhập vào máu và các cơ quan nội tạng khác.

Độc tố của vi khuẩn lao thuộc loại nội độc tố, trong thành phần cấu tạo có axit mycoilic là chất có tác dụng chống lại bạch cầu của cơ thể chủ. Ngoài ra còn có tác dụng gây độc cho cơ thể. Vi khuẩn lao còn có khả năng sinh ra chất Tubeculin. Chất này khi tiêm dưới da ở những người đã nhiễm khuẩn lao sẽ có phản ứng sưng đỏ gọi là phản ứng Măng-tu thường dùng để phát hiện người có bị nhiễm vi khuẩn lao hay không.

Bệnh lao lây lan chủ yếu qua đường hô hấp. Khi người bị bệnh lao ho, khạc đờm. Vi khuẩn phát tán vào không khí, người lành hít phải sẽ bị nhiễm khuẩn. Bệnh lao cũng có thể truyền qua đường tiêu hoá, khi ăn uống chung bát, đĩa với người bị bệnh cũng dễ bị nhiễm lao. Người khoẻ mạnh nhiễm vi khuẩn lao có thể không bị bệnh hoặc bị bệnh nhẹ gọi là sơ nhiễm. Khi cơ thể suy yếu bệnh lao dễ phát triển, nhất là ở những người bị suy giảm miễn dịch do mắc bệnh AIDS. Bệnh lao sau một thời gian bị đẩy lùi nay có nguy cơ quay trở lại. Số người bị bệnh lao ngày càng nhiều trong thời gian gần đây. Nguyên nhân là những chủng vi khuẩn có đột biến kháng thuốc ngày càng phổ biến. Những chủng này đã quen với những thuốc chữa trị thông thường khiến cho những thuốc này không còn tác dụng nữa.

Muốn phòng chống bệnh lao cần phải giữ gìn vệ sinh môi trường. Những người bệnh phải có ý thức vệ sinh, không truyền bệnh cho những người xung quanh. Để

chống hiện tượng quen thuốc phải uống thuốc đủ liều lượng. Cần giữ cho cơ thể khỏe mạnh, hệ miễn dịch tốt sẽ phòng chống được bệnh lao.

### 5.3.2.2. Cầu khuẩn phổi (*Diplococcus pneumoniae*)

Cầu khuẩn phổi là nhóm vi khuẩn gây ra các bệnh viêm phổi, viêm phế quản, viêm họng. Ngoài ra còn có thể gây bệnh ở nhiều cơ quan khác như viêm tai giữa, viêm amidan, viêm khớp, viêm não, viêm xoang mũi v.v....

#### **1. Đặc điểm sinh học**

- Đặc điểm hình thái và cấu tạo

Cầu khuẩn phổi có hình cầu không đều, một đầu tròn, một đầu thường kéo dài như hình ngọn nến. Thường ghép từng đôi một, hai đầu tròn dính nhau, gọi là song cầu khuẩn. Cũng có khi đứng riêng rẽ hoặc xếp thành chuỗi ngắn. Cầu khuẩn phổi không có khả năng hình thành bào tử có khả năng hình thành giáp mạc, không có khả năng di động, bắt đầu Gram dương.

- Tính chất nuôi cấy:

Khó nuôi cấy trên môi trường thông thường, mọc tốt trên môi trường có bổ sung huyết thanh máu, dịch mô. Phát triển tốt ở nhiệt độ 37<sup>0</sup>C và pH 7,5 - 7,8. Có khả năng mọc trên môi trường hiếu khí và kỵ khí.

Có khả năng lên men đường Glucoza, Lactoza, Sacharoza, Mantoza ... Khi nuôi cấy trên môi trường có các loại đường trên, cầu khuẩn phổi mọc rất nhanh, giải phóng nhiều axit hữu cơ do quá trình lên men đường, các axit hữu cơ do quá trình lên men đường, các axit hữu cơ làm pH môi trường giảm khiến vi khuẩn bị chết. Bởi vậy khi nuôi cấy cần hạn chế tỷ lệ đường trong môi trường.

Trên môi trường thạch, cầu khuẩn phổi mọc thành khuẩn lạc dạng S, tròn, nhỏ, trong như giọt sương.

- Sức đề kháng:

Cầu khuẩn phổi có sức đề kháng yếu, không chịu được, nhiệt độ cao, bị tiêu diệt ở nhiệt độ 60<sup>0</sup>C trong vòng 30 phút và các chất sát trùng thông thường. Tuy nhiên cầu khuẩn phổi chịu được nhiệt độ thấp, có thể tồn tại vài tháng ngoài môi trường, nhất là trong đờm, mủ của người bệnh.

- Khả năng biến dị di truyền:

Có khả năng biến dị khuẩn lạc từ dạng S sang dạng R và ngược lại, ở dạng R mất khả năng gây bệnh. Có khả năng sinh ra những đột biến kháng thuốc.

## **2. Khả năng gây bệnh**

Cầu khuẩn phổi khi nhiễm vào đường hô hấp thường gây ra những bệnh ngay tại đó gọi là nhiễm bệnh cục bộ. Ví dụ như bệnh viêm phổi, phế quản, họng v.v... Ngoài ra từ đường hô hấp vi khuẩn có thể xâm nhập vào đường máu, lan truyền khắp các cơ quan nội tạng như não, tim, thận, khớp, xoang mũi, tai giữa, mắt ... và gây bệnh tại các cơ quan đó. Độc tố của cầu khuẩn phổi thuộc loại nội độc tố yếu.

Cầu khuẩn phổi còn có khả năng gây ra nhiễm trùng thứ phát, tức là gây nhiễm trùng sau một số bệnh như cúm, sởi, ho gà ở trẻ em.

Muốn phòng chống bệnh do cầu khuẩn phổi gây ra cần giữ vệ sinh môi trường, giữ cho cơ thể khoẻ mạnh, chống bị nhiễm lạnh vào mùa đông. Ngoài ra cũng như một số bệnh nhiễm trùng khác, cần uống vacxin phòng bệnh.

### ***5.3.2.3. Trục khuẩn bạch hầu (Corinebacterium diphtheriae)***

Vi khuẩn bạch hầu do Klebs phát hiện năm 1883, là nguyên nhân gây bệnh bạch hầu chủ yếu ở trẻ em. Nó tạo thành màng trắng bao bọc yết hầu và khí quản gây khó thở đôi khi tắc thở dẫn đến tử vong.

## **1. Đặc điểm sinh học**

- Hình thái và cấu tạo

Vi khuẩn bạch hầu có hình que thẳng hoặc hơi cong, hai đầu phình to giống hình quả tạ. Kích thước dài ngắn khác nhau, trung bình 1 - 6 x 0,3 - 0,8 micromet. Vi khuẩn bạch hầu không có khả năng di động, không sinh bào tử và giáp mạc, bắt màu gram dương. Thường sắp xếp dính nhau thành hình chữ V, L, Y hoặc gắn song song tại 2 đầu như hàng rào. Ngoài dạng hai đầu tròn còn có những biến hình như quả lê, hình chùy, vọt ...

- Tính chất nuôi cấy:

Vi khuẩn bạch hầu thuộc loại hiếu khí, dễ nuôi, mọc tốt ở môi trường có huyết thanh hoặc máu. Phát triển tốt ở nhiệt độ 34 - 37<sup>0</sup>C và pH 7,8 - 8,4.

Khi nuôi cấy trên môi trường mọc rất nhanh so với những vi khuẩn gây bệnh khác. Trên môi trường thạch mọc thành khuẩn lạc màu xám nhạt, khuẩn lạc nhỏ, tròn, lồi, bờ nhẵn đều.



Có khả năng lên men không sinh khí đường Glucoza, Mantoza, Galactoza, Mantoza, Dextrin. Không lên men Lactoza, Sacaroza và Manit. Có khả năng khử nitrat, không sinh H<sub>2</sub>S, không làm lỏng Gelatin.

- Sức đề kháng

Vi khuẩn bạch hầu có sức đề kháng mạnh so với những vi khuẩn không sinh bào tử khác. Chịu được nhiệt độ thấp, độ ẩm thấp, bị tiêu diệt bởi ánh sáng mặt trời chậm hơn nhiều loại khác. Chịu được nhiệt độ 95 - 100<sup>0</sup>C trong 15 phút. Khó bị tiêu diệt bởi các thuốc sát trùng thông thường. Có khả năng tồn tại ngoài môi trường, trong quần áo bệnh nhân tới 5 - 6 tháng.

## **2. Khả năng gây bệnh**

Vi khuẩn bạch hầu xâm nhập vào cơ thể qua đường hô hấp, vào tới yết hầu thì khu trú lại và gây bệnh ở đó. Thường là trẻ em dễ mắc bệnh. Tại nơi cư trú vi khuẩn làm loét thành hầu và thanh quản, tạo thành màng bao phủ khắp niêm mạc, che kín khí quản gây khó thở. Đồng thời tiết độc tố lan tràn theo máu tới hệ thần kinh làm liệt các dây thần kinh sọ não và làm xung huyết tuyến thượng thận.

Độc tố của vi khuẩn bạch hầu thuộc loại ngoại độc tố mạnh, 1mg chứa tới 1000 DML (liều gây chết tối thiểu) đối với chuột lang.

Muốn phòng chống bệnh bạch hầu cho trẻ em phải tiêm vacxin phòng bệnh.

## **5.4. MỘT SỐ VI KHUẨN GÂY BỆNH KHÁC:**

### **5.4.1. Cầu khuẩn màng não (*Neisseria meningitidis*)**

#### **1. Đặc điểm sinh học**

- Hình thái và cấu tạo:

Cầu khuẩn màng não có hình cầu dẹt 1 phía, thường xếp từng đôi một, đầu dẹt dính vào nhau. Không có khả năng di động, không có khả năng hình thành bào tử và giáp mạc, bắt đầu gram âm. Khi nuôi cấy lâu ngày thường khó bắt màu, hình dạng biến đổi.

- Tính chất nuôi cấy:

Cầu khuẩn màng não thuộc loại khó nuôi cấy, không mọc được ở môi trường thông thường. Muốn mọc tốt cần bổ sung vào môi trường một số axit amin, huyết thanh hoặc máu. Cầu khuẩn màng não thuộc loại hiếu khí bắt buộc, không thể sống ở môi trường không có oxy. Nhiệt độ thích hợp là 36 - 37<sup>0</sup>C, pH thích hợp là 7,2.

Trên môi trường thạch cầu khuẩn màng não mọc thành khuẩn lạc hình tròn, nhỏ, bờ đều, màu xanh xám. Trên môi trường dịch thể làm đục môi trường.

Có khả năng lên men đường Glucoza, Mantoza, không lên men các đường Arabinoza, Ramnoza, Manit ....

- Sức đề kháng:

Vi khuẩn màng não có sức đề kháng yếu. Dễ bị tiêu diệt bởi ánh sáng mặt trời, nhiệt độ 55<sup>0</sup>C trong 30 phút là bị chết. Dễ bị tiêu diệt bởi các chất sát trùng thông thường. Sau khi ra khỏi cơ thể chỉ tồn tại được 3 - 4 giờ trong bệnh phẩm/

## **2. Khả năng gây bệnh**

Cầu khuẩn màng não là nguyên nhân gây bệnh viêm màng não thường gặp ở trẻ em, thường gây thành dịch, lây lan qua đường hô hấp. Ngoài bệnh viêm màng não, cầu khuẩn màng não còn có khả năng gây bệnh viêm màng phổi có mủ, viêm màng tim, viêm khớp có mủ, viêm mũi họng cấp ...

Độc tố của cầu khuẩn màng não thuộc loại độc tố, chỉ giải phóng khi tế bào bị dung giải. Muốn phòng tránh bệnh do cầu khuẩn màng não gây ra cần giữ gìn vệ sinh môi trường, cách ly người bệnh, tiêm phòng vacxin.

### **5.4.2. Trực khuẩn dịch hạch (*Pasteurella pestis* hoặc *Yersinia pestis*)**

Trực khuẩn dịch hạch được phân lập từ người bị bệnh dịch hạch vào năm 1894 do Yersin và Kitasato. Nó là nguyên nhân gây bệnh dịch hạch truyền nhiễm cho loài gặm nhấm như chuột. Bệnh có thể truyền từ chuột sang người qua bọ chét của chuột, là một loài côn trùng hút máu. Bệnh dịch hạch là một loại bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, có thể gây chết người hàng loạt.

#### **1. Đặc điểm sinh học**

- Đặc điểm hình thái và cấu tạo:

Vi khuẩn dịch hạch có hình dạng trực khuẩn 2 đầu tròn. Cũng có khi có hình bầu dục hoặc hình cầu. Không có khả năng di động, không hình thành bào tử. Có khả năng hình thành giáp mạc khi môi trường giàu dinh dưỡng, bắt màu gram âm, rõ nhất ở 2 đầu tế bào. Thường đứng riêng rẽ hoặc xếp thành chuỗi ngắn.

- Tính chất nuôi cấy:

Trực khuẩn dịch hạch thuộc loại vừa hiếu khí vừa kỵ khí. Có thể mọc được ở biên độ nhiệt độ rộng, từ 5 - 37<sup>0</sup>C, thích hợp nhất là 28<sup>0</sup>C, pH thích hợp từ 6,9 - 7,2.

Khi nuôi cấy trực khuẩn dịch hạch cần bổ sung chất kích thích như Natri sunfit, dịch máu v.v...

Trực khuẩn dịch hạch có khả năng lên men không sinh khí các loại đường Glucoza, Galactoa, Anabinoa ... Một số chủng có khả năng khử Nitrat thành Nitrit.

Trên môi trường thạch, trực khuẩn dịch hạch mọc thành khuẩn lạc dạng R, bờ khuẩn lạc nhăn nheo, ở giữa có màu đen sẫm, xung quanh sáng hơn. Trong môi trường dịch thể vi khuẩn mọc thành vầng, có sợi rù xuống phía dưới vầng, đáy môi trường tạo thành một lớp cặn xốp như bông.

- Sức đề kháng:

Trực khuẩn dịch hạch có sức đề kháng yếu, bị tiêu diệt ở nhiệt độ 70<sup>0</sup>C sau 10 phút, không chịu được ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp. Bị tiêu diệt bởi các chất sát trùng thông thường như Cloramin 5%, Creson 5%, Axit phenic 5% ... có thể tồn tại 8 - 10 ngày ở môi trường ngoài cơ thể, ở 0<sup>0</sup>C có thể sống được 6 tháng.

## **2. Khả năng gây bệnh**

Vi khuẩn dịch hạch thuộc loại truyền nhiễm nguy hiểm. Thường gây thành dịch ở loài gặm nhấm. Từ loài gặm nhấm như chuột dễ dàng truyền sang người qua đường máu do bọ chét đốt. Khi chuột chết, bọ chét của chuột liền nhảy sang người và đốt làm người bị lây bệnh. Độc tố của vi khuẩn dịch hạch gồm cả 2 loại ngoại độc tố và nội độc tố, cả 2 loại đều có độc lực rất cao, có khả năng xuyên qua da lành của người khỏe mạnh.

Độc tố của vi khuẩn dịch hạch có thể gây ra 3 thể bệnh khác nhau: thể hạch, thể phổi và thể máu.

- Thể hạch: là thể thường gặp nhất, bệnh nhân bị nổi hạch ở bẹn, nách, hàm.

Sau một thời gian hạch bị loét, hoại tử, tỷ lệ chết từ 70 - 90%.

- Thể phổi: Vi khuẩn khu trú ở phổi gây ra bệnh ho ra đờm và máu, sốt cao, nếu không điều trị kịp thời tỷ lệ tử vong tới 100%. Khi ở thể này, vi khuẩn sẽ lan truyền qua đường hô hấp sang người lành.

- Thể máu: Là hậu quả của thể hạch và thể phổi, vi khuẩn sau khi khu trú ở hạch ở phổi sẽ đi vào máu gây nên nhiễm trùng máu, bệnh nhân có thể chết sau vài ngày bị nhiễm trùng máu.

Muốn phòng chống bệnh do trực khuẩn dịch hạch gây ra cần phải diệt chuột, diệt bọ chét. Khi phát hiện chuột chết nhiều phải báo ngay cho cơ quan phòng dịch. Cần tiêm vaccin phòng bệnh.

Muốn tiêu diệt chuột cần phải giữ cân bằng sinh thái, bảo vệ các loài thù địch của chuột như mèo, rắn, cú mèo ... Ở nơi nào cân bằng sinh thái bị phá vỡ do mèo, rắn bị ăn thịt thì chuột sẽ phát triển, không những gây dịch bệnh mà còn phá hoại mùa màng, kho tàng v.v...

Khi cần phải chủ động diệt chuột thì không nên dùng chất độc hoá học làm bả chuột vì những chất đó sẽ gây ô nhiễm môi trường. Chuột bị chết do bả nếu chó, mèo ăn phải cũng bị chết. Chỉ nên dùng thuốc sinh học làm bả chuột và dùng những phương pháp thủ công như hun khói, đặt bẫy v.v...

#### 5.4.3. Trực khuẩn độc thịt (*Clostridium botulinum*)

Trực khuẩn độc thịt là một loại vi khuẩn hoại sinh thường sống trong thực phẩm thịt tươi sống hoặc đồ hộp để lâu ngày, gây ngộ độc cho người. Vi khuẩn độc thịt được phân lập từ năm 1896 do Van Ermenghem.

##### 1. Đặc điểm sinh học

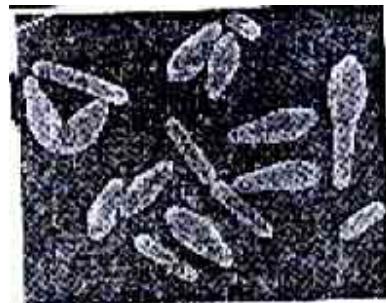
- Đặc điểm hình thái và cấu tạo

Vi khuẩn độc thịt có hình dạng trực khuẩn 2 đầu tròn, kích thước trung bình 0,9 - 1,2 x 4 - 8 micromet. Có lông bao quanh tế bào nhưng ít di động.

Không có khả năng hình thành giáp mạc, có khả năng hình thành bào tử, bào tử thường có hình bầu dục. Nhuộm màu gram dương. Thường đứng riêng lẻ hoặc sắp xếp từng đôi một, đôi khi dính thành chuỗi ngắn.

- Tính chất nuôi cấy:

Vi khuẩn độc thịt thuộc loại kỵ khí bắt buộc không sống được khi có oxy. Nhiệt độ thích hợp là 34 - 35<sup>0</sup>C, pH thích hợp: 7,4 - 7,6. Có khả năng lên men sinh khí các loại đường Glucoza, Fructoza, Ramnoza Manit, có khả năng sinh H<sub>2</sub>S.



Hình 1.3 *C.botulinum*  
(ảnh chụp qua kính hiển  
vi điện tử)

Trên môi trường đặc mọc thành khuẩn lạc to, màu xám nhạt, ở cả 2 dạng S và R. Trong môi trường dịch thể làm đục đều môi trường, tạo thành cặn dưới đáy môi trường.

- Sức đề kháng

Khi ở thể dinh dưỡng (không hình thành bào tử) có sức đề kháng yếu, bị tiêu diệt bởi các chất sát trùng thông thường, chết ở nhiệt độ 60<sup>0</sup>C trong 30 phút.

Ở thể bào tử thì có sức đề kháng rất cao, sống được nhiều năm trong môi trường. Ở nhiệt độ 100<sup>0</sup>C vẫn sống được 1 - 2 giờ, ở 120<sup>0</sup>C sống được 20 - 30 phút. Dung dịch Formalin 20% chịu đựng được 24 giờ, HCl 10% bị tiêu diệt sau 1 giờ.

## **2. Khả năng gây bệnh**

Vi khuẩn độc thịt khi sống trong thức ăn sẽ sản sinh ra ngoại độc tố có độc lực mạnh nhất trong các loại độc tố của vi khuẩn. Nó cũng là chất độc sinh học mạnh nhất, không bị phá huỷ bởi dịch tiêu hoá, trong đồ hộp có thể tồn tại từ 6 - 8 tháng.

Khi người ăn phải thực phẩm có ngoại độc tố của vi khuẩn độc thịt sẽ bị nhiễm bệnh, ngoại độc tố có tác động lên hệ thần kinh trung ương gây ra liệt hô hấp, liệt tim rồi chết trong vòng 36 - 48 giờ.

Muốn phòng chống vi khuẩn độc thịt cần giữ vệ sinh thực phẩm. Trong quá trình sản xuất đồ hộp phải khử trùng kỹ, không sử dụng đồ hộp đã quá hạn quy định, khi ăn phải đun kỹ ...

Trên đây giới thiệu một số vi khuẩn gây bệnh thường gặp, có mặt ở hầu hết những môi trường bị ô nhiễm vi sinh. Chúng là nguyên nhân gây ra các bệnh truyền nhiễm ở người và một số động vật, đôi khi gây thành dịch phát triển ở diện rộng. Đặc biệt là ở những nơi vệ sinh môi trường không được chú ý. Đặc biệt nguy hiểm là những chủng vi khuẩn đã quen với thuốc kháng sinh do có những đột biến kháng thuốc xảy ra trong bộ máy di truyền. Những chủng này có khả năng kháng một hoặc nhiều loại kháng sinh cùng một lúc khiến cho sự điều trị vô cùng khó khăn phức tạp. Những vi khuẩn gây bệnh phần lớn đều có khả năng tồn tại một thời gian ở môi trường ngoài cơ thể. Bởi vậy phương pháp phòng bệnh tốt nhất là giữ vệ sinh môi trường, xử lý tốt các nguồn chất thải có ô nhiễm vi sinh, đặc biệt là chất thải bệnh viện.

### ***5.4.3.1. Nhóm virus gây bệnh ở người***

Virus là một tác nhân gây bệnh vô cùng nguy hiểm. Khác với vi khuẩn chúng chưa có cấu tạo tế bào và chỉ có khả năng sống ký sinh trong tế bào sống. Tuy nhiên chúng vẫn có thể tồn tại ở môi trường ngoài cơ thể dưới dạng hạt virion. Khi gặp điều kiện thuận lợi, chúng lại xâm nhập vào tế bào chủ và sinh sôi phát triển, gây ra những căn bệnh hiểm nghèo.

Dựa trên cấu tạo của bộ máy di truyền, người ta chia ra 2 nhóm: Adeno virus là nhóm virus có bộ máy di truyền là 1 phân tử AND. Ví dụ như virus đậu mùa, thủy đậu, virus zona và một số virus gây bệnh đường hô hấp khác. Nhóm thứ 2 Myxo virus là nhóm virus gây bệnh có bộ máy di truyền là 1 phân tử ARN. Ví dụ như virus HIV, virus bại liệt, virus dại ... Dưới đây giới thiệu một số virus gây bệnh nguy hiểm đại diện cho 2 nhóm trên.

#### 5.4.3.2 Virus HIV (*Human immune deficiency virus*)

Virus HIV là nguyên nhân gây bệnh AIDS được phát hiện từ năm 1983. Tuy nhiên theo tổ chức Y tế thế giới thì bệnh này đã phát thành dịch lần đầu tiên vào năm 1970, và khả năng xuất hiện bệnh còn có thể sớm hơn nữa tại một số địa điểm thuộc Châu Phi. Bệnh AIDS là một loại bệnh làm suy giảm khả năng miễn dịch tế bào từ đó có thể dễ mắc bệnh bởi các loại bệnh nhiễm trùng khác gọi là nhiễm trùng cơ hội. Khi cơ thể đã bị bệnh AIDS thì không còn khả năng chống lại các bệnh nhiễm trùng thông thường và có khả năng tử vong vì những bệnh nhiễm trùng cơ hội đó.

#### **1. Đặc điểm sinh học**

Virus HIV có hình cầu hoặc đa diện, bộ máy di truyền là một phân tử ARN. Bởi vậy quá trình di truyền của nó có giai đoạn phiên mã ngược từ ARN → AND sau khi thâm nhập vào tế bào chủ gọi là AND tiền virus. Quá trình này được thực hiện nhờ enzym đặc hiệu - Reverse - transcriptase. Sau đó AND tiền virus tiếp tục các quá trình phá hoại tế bào chủ giống như những virus có bộ máy di truyền là AND. Cũng có trường hợp AND tiền virus hội nhập với bộ máy di truyền của tế bào chủ ở trạng thái tiềm sinh không phá vỡ tế bào (trạng thái lyzogen). Hiện nay người ta mới phát hiện được 3 nhóm chính của bộ máy di truyền như virus HIV: GAG, ENL, POL và một số gen khác như S, G, F ...

GAG : nhóm gen quyết định tính kháng nguyên của virus HIV

ENL : nhóm gen quyết định sự hình thành vỏ protein của virus.

S : nhóm gen quyết định khả năng sao chép, nhân lên của virus

Q : nhóm gen quyết định sự ức chế quá trình sao chép

F : chưa rõ chức năng

#### **5.4.3.3. Virus dại**

Virus dại là nguyên nhân gây ra bệnh dại ở người và một số động vật, chủ yếu là chó. Dịch chó dại thường xảy ra vào mùa hè. Đó là một loại bệnh viêm não nguy hiểm mà khi đã phát bệnh thì tỷ lệ tử vong rất cao. Ở nước ta, bệnh dại khá phổ biến thường lây từ chó sang người qua vết cắn.

#### **1. Đặc điểm sinh học**

Virus dại có hình bầu dục, kích thước trung bình khoảng 60 x 150 nanomet. Bộ máy di truyền là một phân tử ARN, bởi vậy trong quá trình di truyền cũng có giai đoạn sao chép ngược từ ARN → ADN giống như virus HIV.

Virus dại có tính đề kháng cao, ở dạng Virion (dạng tồn tại ngoài tế bào, không có khả năng phát triển) nếu là nhiệt độ phòng chúng có thể tồn tại 1 - 2 tuần. Bởi vậy những đồ dùng hoặc môi trường có dính nước bọt của chó dại hoặc người bệnh dại chính là nguồn lây bệnh nguy hiểm. Ở nhiệt độ 4<sup>0</sup>C (nhiệt độ thông thường trong tủ lạnh) nó có thể sống được vài tháng. Ở 60<sup>0</sup>C sống được 5 phút, 100<sup>0</sup>C chết sau 1 - 2 phút. Bị tiêu diệt nhanh bởi tia cực tím và các chất sát trùng thông thường như Cloramin 3 - 5%, Formalin 1% v.v...

#### **2. Khả năng gây bệnh**

Virus dại xâm nhập vào người qua vết cắn của chó bị bệnh dại. Từ da virus đi theo đường dây thần kinh lên đến não. Chúng phát triển ở một số khu thần kinh như hành tuỷ và gây ra viêm não, tại đó các tế bào thần kinh bị huỷ hoại gây ra sự co thắt cơ ở hầu khi nuốt. Bởi vậy bệnh nhân dại rất sợ nước, khi uống nước các cơ co thắt gây ra đau đớn. Sau đó virus lan truyền trong hệ thống thần kinh làm liệt trung tâm hô hấp, tim mạch, cuối cùng là liệt toàn thân. Bệnh nhân thường chết ở giai đoạn liệt cơ quan hô hấp.

#### **3. Khả năng gây bệnh**

Virus HIV khi nhiễm vào cơ thể sẽ xâm nhập vào hệ thống miễn dịch tế bào của cơ thể chủ, đó là các tế bào Lymphô T. Ở cơ thể khoẻ mạnh, các tế bào Lymphô T thuộc hệ thống miễn dịch có khả năng sinh ra kháng thể để chống lại các vật lạ xâm

nhập vào cơ thể (kháng nguyên). Khi cơ thể bị nhiễm virus HIV, virus sẽ tấn công vào tế bào lymphô T khiến nó không thể sản sinh ra kháng thể được nữa. Cụ thể là chúng bám vào các điểm thụ cảm đặc hiệu (Receptor đặc hiệu) trên bề mặt tế bào lymphô T, đó chính là các phân tử CD<sub>4</sub>, rồi tiến hành quá trình phá huỷ tế bào làm cho hệ thống miễn dịch bị suy giảm. Khi khả năng miễn dịch của cơ thể bị suy giảm, cơ thể không còn khả năng chống lại các bệnh nhiễm trùng khác (gọi là nhiễm trùng cơ hội). Trong các bệnh nhiễm trùng cơ hội đặc biệt nguy hiểm là bệnh lao. Bệnh lao khi kết hợp với HIV sẽ tiến triển cực kỳ nhanh chóng, nhất là những chủng vi khuẩn lao kháng thuốc.

Thời gian ủ bệnh của bệnh nhân bị nhiễm HIV khá lâu, trung bình 5 năm, nhiều trường hợp quá 5 năm vẫn chưa thể hiện bệnh. Nguyên nhân có thể là do virus HIV sau khi xâm nhập vào cơ thể ở trạng thái tiềm sinh trong tế bào (Lyzogen). Khi trạng thái Lyzogen bị phá vỡ, virus mới bắt đầu phát triển và gây bệnh.

Virus HIV lan truyền chủ yếu qua đường máu, đường tình dục, đường lây từ mẹ sang bào thai. Một số nhà nghiên cứu cho rằng, virus HIV còn có thể lây qua các đường khác nữa.

Muốn phòng chống bệnh AIDS cần sống lành mạnh, không tiêm chích ma tuý, không dùng chung kim tiêm với người bệnh. Trong hoạt động y tế có liên quan đến vấn đề truyền bệnh qua máu như chữa răng, tiêm chích v.v... cần khử trùng dụng cụ triệt để. Tốt nhất là sử dụng loại dụng cụ chỉ dùng 1 lần. Nếu người mẹ đã nhiễm HIV không nên sinh con.

Thời gian từ khi virus xâm nhập cơ thể đến khi phát lệnh thay đổi từ 15 ngày đến 3 tháng, có trường hợp lâu hơn phụ thuộc vào số lượng virus là vị trí vết cắn có gần trung ương thần kinh hay không. Virus từ trung ương thần kinh phát triển theo dây thần kinh đến tuyến nước bọt. Bởi vậy trong nước bọt của chó dại và người bị bệnh dại có rất nhiều virus, đó chính là nguồn ô nhiễm nguy hiểm.

Muốn phòng chống bệnh dại cần tiêm phòng vacxin dại cho chó, nhất là vào mùa hè. Khi bị chó cắn phải đến ngay cơ sở y tế để tiêm phòng. Nếu có chó dại chết, phải làm sạch vệ sinh môi trường, khử trùng các ổ lây nhiễm, không để cho virus dại lan truyền.

#### **5.4.3.4. Virus cúm**

Virus cúm là nguyên nhân gây ra bệnh cúm thực sự, khác với những bệnh có triệu chứng tương tự như cúm do các virus khác gây ra. Bệnh cúm là một bệnh tuy ít



khi dẫn đến tử vong nhưng nó là hại đến sức khoẻ và khả năng lao động. Nhất là những khi nó phát thành dịch làm cho một tỷ lệ lớn người lao động phải nghỉ ốm, ảnh hưởng lớn đến sản xuất và các công việc khác. Triệu chứng của bệnh điển hình là sốt cao, sổ mũi, nhức đầu, đau xương, mệt mỏi toàn thân.

Trên thế giới đã xảy ra một số dịch cúm phát triển trên diện rộng có tính chất xuyên quốc gia. Ví dụ như dịch cúm Tây Ban Nha, xuất phát từ Tây Ban Nha lan ra khắp Châu Âu và Châu Á làm cho 500 triệu người mắc bệnh vào những năm 1918 - 1919. Dịch cúm Hồng Kông xảy ra năm 1968 - 1970 lan ra toàn thế giới, đến nước ta vào đầu năm 1970 làm cho 1,6 triệu người mắc bệnh, tính riêng trên các tỉnh miền Bắc - Việt Nam.

### **1. Đặc tính sinh học**

Virus cúm có hình cầu, đường kính trung bình vào khoảng 80 - 100 nanomet, thường đứng riêng rẽ, đôi khi dính vào nhau thành hình sợi chỉ. Bộ máy di truyền là một phân tử ARN giống như virus HIV và virus dại. Bởi vậy trong quá trình sao chép nhân lên cũng có giai đoạn sao chép ngược ARN → ADN.

Virus cúm có nhiều chủng khác nhau, còn gọi là các tuyp khác nhau như Tuyp A, B, C ... Sự hình thành các tuyp khác nhau do khả năng biến dị của virus từ 1 tuyp ban đầu. Virus cúm tuyp A thường gây nên dịch cúm diện rộng, trong tuyp A lại có các phân tuyp ( $A_1, A_2, A_3 \dots$ ) do quá trình biến dị tạo thành. Thường các tuyp và phân tuyp khác nhau ở cấu tạo vỏ protein, ít khi khác nhau ở phần lõi ARN.

Virus cúm có sức đề kháng kém ở môi trường ngoài cơ thể với nhiệt độ trong phòng  $20^{\circ}\text{C}$  virus chỉ sống được vài giờ. Virus cúm dễ bị tiêu diệt bởi ánh sáng mặt trời và các thuốc sát trùng thông thường. Ở  $4^{\circ}\text{C}$  sống được 2 - 3 tuần, ở  $0^{\circ}\text{C}$  sống được vài tháng.

### **2. Khả năng gây bệnh**

Virus cúm xâm nhập vào cơ thể qua đường hô hấp. Người bị bệnh cúm ho và hắt hơi khiến virus phát tán vào không khí, người lành hít phải không khí ô nhiễm bởi virus cúm sẽ bị nhiễm virus. Virus vào đường hô hấp, khu trú ở niêm mạc, phát triển mạnh làm các tế bào niêm mạc đường hô hấp bị huỷ hoại và bong ra gây ho, hắt hơi. Sự phát triển của virus, các chất độc do chúng đào thải và các sản phẩm của tế bào niêm mạc bị huỷ hoại làm cho toàn thân bị rối loạn sinh ra mệt mỏi, sốt cao, nhức đầu ... Một số trường hợp virus không chỉ khu trú ở niêm mạc đường hô hấp mà lan vào

phổi gây viêm phổi. Virus làm cho cơ thể suy yếu, hệ thống miễn dịch yếu dễ bị nhiễm trùng các bệnh khác như viêm xoang, viêm phế quản ...

Thời gian từ khi cơ thể bị nhiễm virus cúm đến khi phát bệnh rất nhanh, chỉ trong vòng 48 giờ. Bệnh kéo dài thường từ 5 - 7 ngày, đôi khi hàng tuần làm cho cơ thể mệt mỏi, kém sức lao động.

Muốn phòng chống bệnh cúm do virus cúm gây ra cần uống vacxin phòng bệnh. Khi có dịch cúm cần cách ly người bệnh, làm sạch vệ sinh môi trường nhất là môi trường khí, không để cho virus cúm tồn tại lâu trong không khí để bị nhiễm vào người lành.

Virus cúm có khả năng biến dị mạnh, tạo thành nhiều typ khác nhau, bởi vậy vacxin phòng cúm thường bị vô hiệu hoá khi xuất hiện 1 typ mới. Người ta khắc phục nhược điểm này bằng cách chế tạo Interferon là một loại protein được sinh ra khi tế bào bị nhiễm virus. Interferon có tác dụng ức chế nhiều loại virus khác nhau khác với kháng thể đặc hiệu chỉ ức chế được một loài tương ứng. Interferon có tác động gián tiếp lên virus gây bệnh - Nó kích thích tế bào sinh ra một protein khác gọi là Protein kháng virus. Protein này có khả năng ức chế quá trình tạo thành ARN và protein của virus (do ức chế quá trình phiên dịch mã). Bởi vậy sử dụng Interferon có thể chống lại nhiều typ virus cúm biến chủng khác nhau mà vacxin không có khả năng đó. Tuy nhiên Interferon chỉ có tác dụng đối với tế bào thuộc loài đã sản sinh ra nó (Interferon sản sinh ra bởi tế bào của người chỉ có tác dụng ở người, không tác dụng ở thỏ, gà ... và ngược lại). Khả năng sản sinh Interferon thường được tăng lên khi có mặt Vitamin C. Bởi vậy khi bị cúm hoặc bị các bệnh nhiễm virus nói chung ngoài việc điều trị bằng các loại thuốc đặc hiệu nên uống kèm vitamin C.

#### ***5.4.3.5. Virus đậu mùa***

Virus đậu mùa là nguyên nhân gây ra bệnh đậu mùa rất nguy hiểm vì tỷ lệ tử vong của bệnh này rất cao. Hơn nữa bệnh đậu mùa thường để lại di chứng trên da - những vết sẹo làm giảm thẩm mỹ, gây chấn thương tinh thần cho những người bị bệnh. Bệnh đậu mùa ở nước ta hiện nay coi như đã được thanh toán, rất ít xuất hiện. Tuy nhiên bất kỳ lúc nào nó cũng có thể xuất hiện trở lại hoặc lây lan từ các nước khác sang.

### **1. Đặc điểm sinh học**

Virus đậu mùa có hình viên gạch, mép tù, không có góc, cạnh. Kích thước vào loại lớn hơn nhiều so với các virus khác - trung bình khoảng 100 x 230 nanomet. Có thể quan sát dưới kính hiển vi thường khi nhuộm bằng thuốc nhuộm đặc hiệu.

Khác với các loại virus được mô tả ở phần trên, virus đậu mùa có cấu tạo bộ máy di truyền là một phân tử ADN. Bởi vậy trong quá trình di truyền không có giai đoạn phiên mã ngược.

Virus đậu mùa có sức đề kháng cao, ở nhiệt độ trong phòng (20 - 25<sup>0</sup>C) nó có thể tồn tại được 3 - 4 tháng, nhất là ở trong các vẩy mụn đặc khô. Đó chính là nguồn lây nhiễm rất nguy hiểm. Ở 60<sup>0</sup>C virus sống được 15 phút, 50<sup>0</sup>C sống được 2 giờ. Ở 0<sup>0</sup>C sống được nhiều năm. Có thể chịu được Ete. Bị tiêu diệt bởi tia cực tím và một số thuốc sát trùng như Cloramim, axit phenic ...

## **2. Khả năng gây bệnh**

Virus thủy đậu xâm nhập vào cơ thể qua đường hô hấp bắt đầu nhân lên ở đó. Sau đó vào máu và phát triển mạnh ở hệ thống tuần hoàn, nhất là các hạch lymphô gây sốt cao. Sau đó virus lan truyền đến da, niêm mạc, não, tạo thành những nốt đậu ở da và niêm mạc. Nốt đậu sau một thời gian phát triển khô đi và bong vẩy để lại nhiều vết sẹo trên da. Người bệnh thường chết trong giai đoạn cuối của mụn đậu.

Virus từ người bệnh lan truyền ra môi trường xung quanh qua đường hô hấp và các chất thải như nước tiểu, phân, đờm, vẩy mụn đậu ... Virus có thể tồn tại trong môi trường một thời gian và lây lan vào người lành. Bệnh đậu mùa có tính miễn dịch suốt đời, nghĩa là sau khi bị bệnh một lần thường không bị lại.

Muốn phòng tránh bệnh thủy đậu cần tiêm vacxin phòng bệnh, giữ gìn vệ sinh môi trường. Đặc biệt là khi có người bị bệnh cần cách ly, xử lý tốt các chất thải của người bệnh để tiêu diệt nguồn ô nhiễm.

### ***5.4.3.6. Virus thủy đậu và bệnh Zona***

Virus thủy đậu là nguyên nhân gây ra bệnh thủy đậu ở trẻ em và bệnh zona ở người lớn. Đây là loại bệnh lành, không để lại di chứng, ít dẫn đến tử vong như bệnh đậu mùa. Tuy nhiên, bệnh zona ở người lớn thường gây nên viêm sùng sau tuỷ sống, và các nhánh thần kinh cảm giác gây ra đau đớn khó chịu.

## **1. Đặc điểm sinh học**

Virus thủy đậu có hình cầu, kích thước lớn tương đương với virus đậu mùa. Bộ máy di truyền cũng là một phân tử ADN như virus đậu mùa.

Virus đậu mùa có sức đề kháng yếu, bị tiêu diệt nhanh chóng bởi ánh sáng mặt trời và tia cực tím. Dễ dàng bị tiêu diệt bởi nhiệt độ, ở nhiệt độ thấp cũng rất khó bảo quản. Ông giống vi khuẩn để trong tủ lạnh ở nhiệt độ đóng băng nếu đưa ra cấy truyền ở nhiệt độ phòng rồi đưa trở lại nhiệt độ lạnh rất dễ bị chết.

## **2. Khả năng gây bệnh**

Virus thủy đậu xâm nhập vào cơ thể qua đường hô hấp, từ đường hô hấp đi vào máu tới da và niêm mạc khu trú tại đó gây nên những nốt đậu có dạng mụn nước trong nên gọi là thủy đậu. Sau 1 tuần thể mụn khô dần và bong vảy không để lại sẹo. Bệnh thủy đậu cũng có tính miễn dịch lâu dài như bệnh đậu mùa.

Ở người lớn, virus thủy đậu gây ra bệnh zona, thường xuất hiện thành mụn pử da vùng dây thần kinh liên sườn gây cảm giác đau, khó chịu. Bệnh lây qua đường hô hấp và đường tiếp xúc qua da.

Muốn phòng chống bệnh thủy đậu cần tiêm phòng vaccin, không cho trẻ em tiếp xúc với người bị bệnh zona.

Trên đây là một số virus gây bệnh thường gặp, đại diện cho 2 nhóm chính: nhóm bộ máy di truyền là ADN và nhóm có bộ máy di truyền là ARN. Trong thiên nhiên còn rất nhiều các virus gây bệnh khác nữa, gây ra rất nhiều bệnh cho người, động vật và thực vật. Tất cả chúng đều sống ký sinh trong các tế bào từ vi khuẩn đến động vật, thực vật và người. Ở môi trường ngoài tế bào, chúng tồn tại dưới dạng virion - là những hạt tiềm sinh không phát triển. Những hạt này khi nhiễm vào cơ thể lại xâm nhập vào tế bào và gây bệnh. Bởi vậy muốn phòng chống những bệnh do virus gây cũng như vi khuẩn gây ra cần giữ gìn vệ sinh môi trường. Xử lý tốt chất thải của người bệnh không để nguồn bệnh xâm nhập vào môi trường gây ô nhiễm môi trường xung quanh. Đặc biệt là chất thải bệnh viện phải được xử lý thật tốt. Tuyệt nhiên không dùng biện pháp chôn lấp đối với loại chất thải đặc biệt nguy hiểm này. Bởi vì khi chôn lấp, các vi sinh vật sẽ đi vào môi trường đất, từ đất sẽ đi vào nước ngầm làm ô nhiễm nguồn nước ngầm mà từ trước vẫn được coi là nguồn nước sạch người dân thường dùng không qua xử lý (đào giếng lấy nước ăn, uống, tắm rửa ...)

## **5.5. VI SINH VẬT CHỈ THỊ Ô NHIỄM**

Như trên đã nói, những nhóm vi sinh vật có khả năng gây bệnh từ ít nguy hiểm như thủy đậu đến đặc biệt nguy hiểm như AIDS thuộc các chủng, loài, nhóm ... rất khác nhau. Từ các virus chưa có cấu tạo tế bào đến vi khuẩn đã có cấu tạo tế bào nhưng chưa điển hình, đến các vi nấm đã có cấu tạo tế bào điển hình đều có thể là nguyên nhân của các bệnh tật. Tất cả những vi sinh vật gây bệnh này đều là nguồn ô nhiễm vi sinh cho các môi trường như đất, nước, không khí và thực phẩm. Tuy nhiên, khi muốn xác định một môi trường nào đó có bị ô nhiễm vi sinh hay không, người ta không thể khảo sát sự tồn tại của tất cả các nhóm vi sinh vật gây bệnh mà chỉ khảo sát một vài đại diện nào đó. Những đại diện đó gọi là vi sinh vật chỉ thị ô nhiễm.

Trong những điều kiện thông thường, để xác định chỉ tiêu ô nhiễm vi sinh người ta khảo sát sự có mặt của các nhóm sau:

#### **5.5.1. Escherichia coli**

E. Coli còn gọi là trực khuẩn đại tràng, sống trong ruột người và một số động vật. Bình thường không gây bệnh nhưng ở một số điều kiện nhất định có khả năng gây nhiều loại bệnh khác nhau. E. Coli chiếm tới 80% tổng số vi sinh vật sống trong ruột người và luôn giữ thế cân bằng sinh thái trong ruột. Bởi vậy ở đâu có mặt E.Coli với một số lượng quá mức cho phép chứng tỏ môi trường đó đã bị ô nhiễm, vì sự tồn tại của E. Coli cũng nói lên khả năng tồn tại của các nhóm vi sinh vật gây bệnh khác có trong đường ruột. Số lượng vi khuẩn E.Coli có trong 1 lít nước được gọi là chỉ số coli. Nước được gọi là nước sạch khi có chỉ số coli từ 0 - 5 (tiêu chuẩn quốc tế). Ngoài ra người ta còn xác định một số chỉ tiêu khác có liên quan đến chỉ số coli để xác định mức độ ô nhiễm vi sinh:

- Total coliform (tổng số vi khuẩn dạng coli)

Chỉ tiêu Total coliform nói lên số lượng vi khuẩn dạng coli có chung một số tính chất về nuôi cấy như hiếu khí, khả năng lên men đường lactoza ...

- Fecal coliform: chỉ số này nói lên số lượng vi khuẩn dạng coli có trong phân người và một số động vật. Khi một môi trường có số lượng Fecal coliform vượt quá mức cho phép chứng tỏ môi trường đó đã bị ô nhiễm phân.

#### **5.5.2. Streptococcus**

Để xác định mức độ ô nhiễm vi sinh ngoài việc xác định các chỉ tiêu có liên quan đến E. Coli người ta còn tiến hành xác định số lượng Streptococcus. Đó là các loại liên cầu khuẩn bao gồm nhiều loài khác nhau có khả năng gây nhiều loại bệnh ở người như các bệnh viêm đường hô hấp, viêm tai giữa, viêm khớp gây mũ các vết thương v.v...

Streptococcus thường có nhiều trong phân. Bởi vậy sự có mặt của nhóm này ở một số lượng quá mức quy định ngoài việc nói lên sự ô nhiễm vi sinh nói chung, còn nói lên khả năng bị ô nhiễm phân của môi trường. Đặc biệt khi muốn xác định mức độ ô nhiễm phân, người ta xác định số lượng nhóm fecal Streptococcus (Liên cầu khuẩn có trong phân).

### 5.5.3. Clostridium

*Clostridium* là một nhóm vi khuẩn kỵ khí có trong phân người và một số động vật. Bởi vậy nó cũng được dùng làm một chỉ tiêu đánh giá mức độ ô nhiễm phân. Tuy nhiên nhóm này ít gây bệnh.

Trong 3 nhóm vi sinh vật chỉ thị ô nhiễm trên, quan trọng nhất là *Escherichia coli* thường được dùng để đánh mức độ ô nhiễm môi trường. Tuy nhiên, chỉ tiêu này chỉ nói lên mức độ ô nhiễm vi sinh vật gây bệnh nói chung, cần thiết phải xác định một số nhóm vi sinh vật gây bệnh khác. Đặc biệt là môi trường xung quanh bệnh viện và chất thải bệnh viện.

Như trên là nói về các vi sinh vật chỉ thị ô nhiễm. Để đánh giá mức độ ô nhiễm môi trường nói chung, ngoài chỉ tiêu vi sinh vật còn có các chỉ tiêu về tảo, động vật không xương sống, côn trùng, cá v.v....

Riêng về mặt vi sinh vật học, các chỉ tiêu nói trên là để đánh giá mức độ ô nhiễm môi trường do vi sinh vật gây bệnh.

## PHẦN II

# VSV VÀ CÁC QUÁ TRÌNH SINH HỌC TRONG CÔNG NGHỆ MÔI TRƯỜNG

### CHƯƠNG VI

## CƠ SỞ SINH HỌC CỦA QUÁ TRÌNH XỬ LÝ Ô NHIỄM MÔI TRƯỜNG

### 6.1 TÌNH HÌNH Ô NHIỄM MÔI TRƯỜNG HIỆN NAY

#### 6.1.1 Ô nhiễm do nước thải sinh hoạt

Nước ta có nền kinh tế chưa phát triển, hạ tầng cơ sở còn chưa được phát triển theo một quy hoạch khoa học, hệ thống tự làm sạch của kênh rạch, sông ngòi bị huỷ hoại nên nước thải sinh hoạt gây ô nhiễm nghiêm trọng. Chỉ riêng thành phố Hồ Chí Minh với khoảng 3,95 triệu dân nội thành hàng ngày thải ra môi trường khoảng 350.000 m<sup>3</sup> nước thải sinh hoạt. Nước thải sinh hoạt này có thành phần gây ô nhiễm cao hơn tiêu chuẩn rất nhiều. Theo kết quả phân tích, ta có một số liệu trung bình như sau :

PH : 6,5 - 7,2

BOD : 98 - 260 mg/l

COD : 146 - 447 mg/l

Cặn lơ lửng > 100 mg/l

Nước thải phần lớn chưa được xử lý trước khi đổ vào kênh. Phân tích mẫu nước tại kênh Tân Hoá cho thấy :

PH : 4,7 - 6,8

BOD : 140 - 204 mg/l

COD : 129 - 4241 mg/l

SS : 91 - 662 mg/l

E.coli : 6 - 14.000 tb/l

#### 6.1.2 Ô nhiễm do nước thải công nghiệp

Nước thải công nghiệp có chứa nhiều kim loại nặng, các chất màu dầu mỡ, các chất hữu cơ. Sự gây ra nhiễm bẩn môi trường do nước thải công nghiệp phức tạp hơn nước thải sinh hoạt rất nhiều. Vì thế việc xử lý chúng gặp không ít khó khăn. Phần lớn các nhà máy xí nghiệp không qua xử lý sơ bộ mà thải nước thải trực tiếp xuống các

kênh rạch gây nên tình trạng hôi thối, làm biến màu nước, làm chết các thủy sản, làm khả năng tự làm sạch của kênh rạch giảm rõ rệt, có nơi không thể tự làm sạch được ...

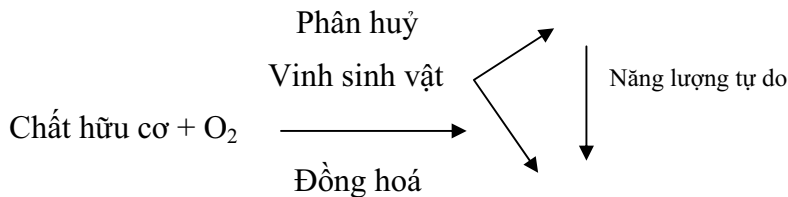
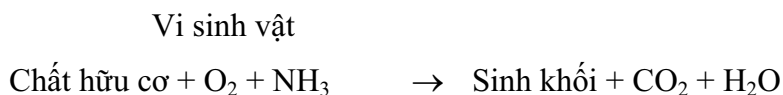
**6.1.3 Ô nhiễm do rác thải :**

Môi trường không chỉ bị ô nhiễm bởi nước thải sinh hoạt và nước thải công nghiệp, môi trường còn bị ô nhiễm bởi nhiều nguồn khác. Trong đó đáng quan tâm nhất là rác sinh hoạt. Phần lớn các thành phố ở Việt Nam chưa có một công nghệ hoàn chỉnh để xử lý rác thải sinh hoạt. Do đó việc ô nhiễm do rác thải càng ngày càng trở nên trầm trọng. Chỉ riêng thành phố Hồ Chí Minh mỗi ngày thải ra môi trường 3.500 tấn rác, số rác này luôn là nguồn gây ra bao nhiêu phiền toái cho cuộc sống. Rác sinh hoạt của chúng ta chiếm > 60% là rác hữu cơ. Vì thế sinh vật gây bệnh phát triển rất mạnh.

**6.2 NGUYÊN LÝ CƠ BẢN CỦA CÁC QUÁ TRÌNH**

**6.2.1 Xử lý sinh học nước thải**

Nếu không bị ảnh hưởng nghiêm trọng bởi các chất độc hại trong nước thải, các kênh rạch ao, hồ có khả năng tự làm sạch nhờ hoạt động sống của vi sinh vật. Các quá trình cơ bản xảy ra theo phản ứng sau :

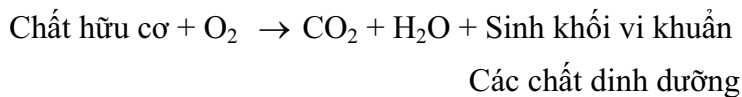


Hiện nay có hai phương pháp xử lý nước thải bằng công nghệ sinh học : hiếu khí và yếm khí

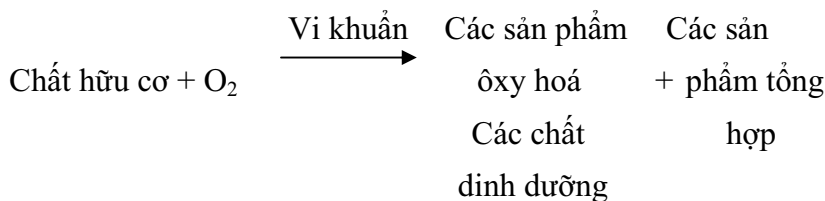
**6.2.2 Xử lý nước thải trong điều kiện hiếu khí**

Quá trình phân giải các chất hữu cơ trong điều kiện hiếu khí có thể tóm tắt như sau:

Vi khuẩn



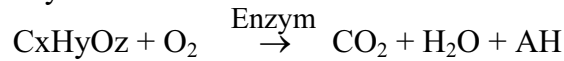
Hoặc là :



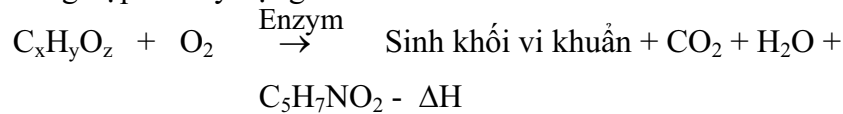


Theo Eckenfekler W.W và Connon D.J thì quá trình phân huỷ các chất hữu cơ trong điều kiện hiếu khí được thực hiện bởi phản ứng sau :

1. Ôxy hoá các chất hữu cơ

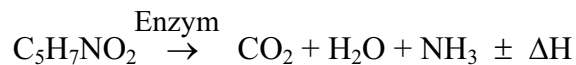


2. Tổng hợp để xây dựng tế bào



3. Ôxy hoá chất liệu tế bào (tự ôxy hoá)

Tế bào vi khuẩn



$\Delta H$  năng lượng được thải ra hoặc hấp thụ vào

Điều kiện để thực hiện quá trình xử lý sinh học:

- Đảm bảo liên tục cung cấp ôxy
- Lượng các nguyên tố dinh dưỡng cần thiết cho quá trình sinh hoá xảy ra trong quá trình lên men.
- Nồng độ các chất hữu cơ cho phép quá trình lên men.
- Nồng độ cho phép của các chất độc hại
- pH thích hợp
- Nhiệt độ nước thải trong khoảng hoạt động của vi sinh vật.

Tham gia trong quá trình phân giải các chất hữu cơ trong nước thải gồm 3 nhóm vi sinh vật.

- Nhóm vi sinh vật phân huỷ các hợp chất mạch hở, rượu, aldehyt axeton, các axit.

- Nhóm vi sinh vật tham gia phân huỷ các hợp chất thơm: benzen, Phenol, Toluen, Xilen.

- Nhóm các vi sinh vật ôxy hoá dãy polimetyl (hydrocacbon dầu lửa) paralin.

Ngoài lượng vi sinh vật có sẵn trong các nguồn nước thải, người ta còn cung cấp thêm các loài vi sinh vật đã được chọn lọc kỹ theo các dạng giống sau:

\* Bùn hoạt tính. Loại bùn đã tham gia xử lý tự nhiên ở các kênh rạch, ao, hồ. Loại bùn này đã được hoạt hoá vi sinh vật trước khi đưa vào sử dụng.

\* Nhân giống vi sinh vật riêng ở dạng lỏng và cho thêm vào thiết bị xử lý hoặc hồ xử lý theo một tỷ lệ nhất định.

\* Nhân giống vi sinh vật riêng dạng bột khô và cho thêm vào thiết bị xử lý hoặc hồ xử lý theo một tỷ lệ nhất định.

\* Gắn vi sinh vật trên một chất mang nào đó (Phương pháp cố định tế bào) và xử lý liên tục.

### 6.2.3 Xử lý trong điều kiện yếm khí

Trong điều kiện yếm khí vi sinh vật phân giải các hợp chất hữu cơ qua 2 giai đoạn:

\* Giai đoạn thủy phân các chất hữu cơ sẽ bị thủy phân dưới tác dụng của các enzym vi sinh vật. Sản phẩm cuối cùng của quá trình sẽ là các chất khí chủ yếu là  $\text{CO}_2$  và  $\text{CH}_4$ . Giai đoạn này người ta gọi là giai đoạn tạo khí.

Theo Eckenfelder quá trình lên men yếm khí chất thải được chia làm 3 giai đoạn.

\* Giai đoạn lên men axit. Những hydrat cacbon (đường, tinh bột, chất xơ) dễ bị phân huỷ và tạo thành các axit hữu cơ (axit axetic, axit butyric propionic) pH giảm xuống  $< 5$  có kèm mùi thối.

\* Giai đoạn chấm dứt lên men axit các chất hữu cơ tiếp tục được phân giải tạo thành các chất khí khác nhau như  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$  ... pH của môi trường dần dần tăng lên. Mùi thải ra rất khó chịu do thành phần của  $\text{H}_2\text{S}$ , indol, scatol, và mecaptan. Bùn có màu đen, nhớt, và tạo bọt nổi lên trên bề mặt.

\* Giai đoạn lên men kiềm Hay giai đoạn lên men metan. Các sản phẩm trung gian, chủ yếu là xelluloza, axit béo, các hợp chất chứa nitơ tiếp tục bị phân huỷ và tạo rất nhiều khí  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ , pH môi trường tiếp tục tăng lên và chuyển sang dạng kiềm.

### 6.2.4 Xử lý rác sinh hoạt:

Rác sinh hoạt chứa trên 60% là rác hữu cơ. Độ ẩm rác về mùa nắng là 45 - 60%, mùa mưa có thể trên 80%. Độ ẩm cao làm phát sinh nhiều vi sinh vật. Rác sau khi được loại bỏ các thành phần không hữu cơ sẽ được lên men. Hiện nay có ba phương pháp xử lý rác bằng vi sinh vật.

- *Phương pháp chôn rác:* Rác được thu gom lại rồi đem chôn xuống đất. Để tránh ruồi, muỗi, côn trùng người ta phủ lên rác một lớp dày 30 - 50 cm đất, hoặc than bùn hoặc cát. Thường dùng than bùn có hiệu quả tốt hơn vì than bùn có khả năng hấp thụ mùi. Quá trình ủ này (composting) kéo dài hàng năm trời. Dưới tác dụng của vi sinh vật các chất xenluloza, lignin, hemixelluloza bị phân huỷ tạo thành mùn. Nhiệt độ khối ủ tăng dần có khi đạt tới 75%. Sau thời gian đó người ta lấy ra sàng làm phân bón.

- *Phương pháp ủ có đảo trộn:* Phương pháp này dựa trên sự hoạt động mạnh của các loài vi sinh vật hiếu khí. Thường người ta cho rác vào các thùng quay. Thùng quay này gọi là các thùng sinh hoá. Có sự xáo trộn thường xuyên của hệ thống quay và thổi không khí liên tục vào. Thời gian phân huỷ rác rất nhanh. Nhiệt độ trong thùng quay thường cao hơn  $65^\circ\text{C}$ . Sau một thời gian khoảng 24 giờ = 48 giờ quay liên tục, rác được phân huỷ chưa hoàn toàn. Sau đó rác được đem ra phân loại và ủ thành từng đống ngoài trời, lên men tự nhiên cho đến mục hết và đem làm phân bón. Ưu điểm của phương pháp này là nhanh, dễ tự động và cơ giới hoá.

- *Phương pháp ủ thủ công có đảo trộn:* Phương pháp này được cải tiến trên cơ sở phương pháp cổ truyền của dân. Trong phương pháp này có cung cấp giống vi sinh vật giống làm rác chóng phân huỷ hơn. Các giống vi sinh vật thường sử dụng là các loài

nấm mốc, Bacillus và xạ khuẩn. Ưu điểm của phương pháp này là dễ thực hiện và có thể phổ biến cho nông dân thực hiện đại trà được.

### 6.3 MỘT SỐ LOẠI VI SINH VẬT SỬ DỤNG TRONG XỬ LÝ Ô NHIỄM MÔI TRƯỜNG

Hiện nay, ở Việt Nam trong công tác xử lý chất thải đã tồn tại và được sử dụng phổ biến một số chủng loại vi sinh vật hữu hiệu như : vi sinh vật phân giải xenluloza, protein, lignin, tinh bột ... Cụ thể có các loại chính là :

1. Vi sinh vật hữu hiệu EM : có nguồn gốc từ Nhật Bản do Trung tâm chuyên giao Công nghệ Việt - Nhật, Bộ Khoa học, Công nghệ đưa vào thử nghiệm ở Việt Nam.

2. Vi sinh vật Emuni và vi sinh vật xenluloza: là chế phẩm của Trung tâm Ứng dụng Vi sinh vật thuộc Đại học Quốc gia Hà Nội.

3. Vi sinh vật Micromic 3: là chủng loại vi sinh vật của Viện Công nghệ Sinh học, Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia.

4. Chủng loại vi sinh vật của Trung tâm Ứng dụng Vi sinh vật thuộc Trường Đại học Quốc gia Hà Nội.

#### 6.3.1 Chế phẩm vi sinh vật hữu hiệu EM :

##### 6.3.1.1 Đặc tính kỹ thuật của EM:

Em sơ cấp (EM gốc) là dung dịch có màu nâu với mùi dễ chịu, có vị ngọt chua, pH của EM đạt ở mức dưới 3,5. Nếu có mùi nặng hoặc thối thì độ pH > 4, khi đó EM gốc đã bị hỏng không sử dụng được. EM gốc là vi sinh vật không hoạt động. Vì vậy, EM gốc cần hoạt động bằng cách cung cấp nước và thức ăn, bằng cách thêm nước và rỉ đường. Sử dụng dung dịch EM pha loãng gọi là EM<sub>tc</sub>, để xử lý môi trường, phun cho cây trồng, vật nuôi.

Bokashi là một dạng của EM ở trạng thái bột, đây là chất hữu cơ lên men và tương tự như phân trộn compost. Nhưng nó được chuẩn bị bằng cách lên men chất hữu cơ EM. Nó có thể sử dụng được từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 14. Sau khi lên men Bokashi có thể dùng cho sản xuất, cây trồng, thậm chí cho cả chất hữu cơ chưa bị phân huỷ trong thành phần phân trộn. Khi Bokashi bón vào đất, chất hữu cơ có thể sử dụng như là thức ăn cho vi sinh vật và có tác dụng làm tăng lượng vi sinh vật hữu hiệu trong đất cũng như nuôi dưỡng cây trồng. Bokashi được phân nhóm thành Bokashi ưa khí và kỵ khí theo các quy trình sản xuất.

##### 6.3.1.2 Các vi sinh vật chính trong EM

- a. Vi khuẩn quang hợp
- b. Vi khuẩn axit lactic
- c. Các men.
- d. Xạ khuẩn
- e. Nấm men

Mỗi loài vi sinh vật trên có chức năng quan trọng riêng. Tuy nhiên, vi khuẩn quang hợp là xương sống hoạt động của EM và nó hỗ trợ hoạt động của các vi sinh vật khác.

### 6.3.1.3 Cách sử dụng :

Ta có thể sử dụng EM bằng bốn cách (EM<sub>1</sub>, EM Bokashi, dung dịch EM<sub>5</sub> và dịch chiết cây lên men).

a. Dung dịch EM<sub>1</sub> có thể sử dụng bằng cách:

- Tưới vào trong đất, phun lên lá.

b. EM Bokashi: là chất hữu cơ lên men, nó được điều chế bằng cách lên men các chất hữu cơ (cám gạo, bánh dầu, bột cá...) với EM Bokashi được điều chế ở dạng bột và là chất bổ sung quan trọng để tăng vi sinh vật hữu hiệu trong đất.

c. EM<sub>5</sub> là hỗn hợp lên men của giấm, rượu (cồn), rỉ đường và EM<sub>1</sub>. Nó được sử dụng để phun lên cây nhằm ngăn chặn gây bệnh và chống sâu hại xâm nhập.

d. Dịch cây lên men EM: Chiết xuất cây lên men là hỗn hợp của cỏ tươi được lên men với rỉ đường và EM<sub>1</sub>. Nó cung cấp dinh dưỡng về định lượng cho cây trồng và ngăn chặn sâu bệnh phá hoại.

#### \* EM<sub>1</sub>

Cách sử dụng EM<sub>1</sub> : EM<sub>1</sub> (gốc) là vi sinh vật không hoạt động. Vì vậy, EM<sub>1</sub> cần được hoạt động bằng cách cung cấp nước và rỉ đường (là thức ăn của EM). Dung dịch EM pha loãng 0,1% dùng để phun cho cây trồng:

- 1000 ml nước.

- 1 ml của EM<sub>1</sub>

- 1 ml rỉ đường hoặc 1g đường bất kỳ

Dung dịch này để trong vòng 24 giờ rồi phun cho cây, đất hoặc chất hữu cơ.

#### \* Bokashi :

- Bokashi có nhiều dạng, nó phụ thuộc vào chất hữu cơ sử dụng. Bao gồm: Cám gạo : 100 lít, Bánh dầu : 25 lít (hoặc vỏ trấu), Bột cá (phân gà) : 25 lít, EM<sub>1</sub> : 150 ml, Rỉ đường : 150 ml, Nước : 15 lít

- Độ ẩm Bokashi cần đạt 30 - 40%. Quá trình lên men từ 3 - 4 ngày (mùa hè) và từ 7 - 8 ngày (mùa đông) với nhiệt độ trung bình 35 - 45°C.

Cách sử dụng Bokashi: 200 gam Bokashi cho 1m<sup>2</sup> trên bề mặt của đất (rác) khi có đủ chất hữu cơ. Có thể sử dụng tối đa 1kg/1 m<sup>2</sup> khi đất nghèo và có ít chất hữu cơ.

\* EM<sub>5</sub> : Là chất xua đuổi côn trùng, không độc hại và nó có tác dụng để chống bệnh sâu hại cây trồng. Thông thường nó được phun lên cây với nồng độ 1/500 - 1/1000 trong nước.

### 6.3.1.4 Ứng dụng EM

1. Ứng dụng trong xử lý phế thải

- Tưới dung dịch Em<sub>tc</sub> pha loãng 1/1000 phun vào rác chưa phân loại.
- Rác sau khi phân loại đủ lượng vào bể 150 m<sup>3</sup> tiếp tục phun EM đảo trộn để đảm bảo độ ẩm 40 - 50%.
- Đưa vào bể ủ háo khí thổi gió ở chế độ 2h/ngày (8%)

## 2. Ứng dụng trong nông nghiệp

Khả năng sử dụng EM trong nông nghiệp chủ yếu là cây trồng.

Sử dụng EM1 + EM5 cho cây trồng như bảng 6.3.1

**Bảng 6.3.1**

Loại cây	Cách sử dụng cụ thể
Vải thiều đang kết trái	Phun 1/2 cây còn lại đang đối chứng
Cam, quýt, bưởi	Quả đang non phun lên một số cây
Nho	Phun 1/2 cây dàn trên các chùm quả xanh
Đu đủ	Phun lên 2 cây trong số 3 cây
Roi	Phun lên một số chùm quả
Hồng Thạch Thất	Phun lên 1/2 cây
Rau ngót, rau tươi	Phun lên 1/2 diện tích
Rau muống	Phun 50m <sup>2</sup>
Ray đay	Phun 10 m <sup>2</sup>

Thời gian theo dõi chưa dài song theo báo cáo của những người trực tiếp tiến hành thử nghiệm đã có một vài nhận xét sau :

- Vải thiều lá cây màu xanh đậm, quả chín sớm hơn, vỏ bóng đẹp hơn so với đối chứng.
- Cam, quýt, bưởi: lá phát triển tốt hơn, quả lớn nhanh hơn.
- Đu đủ: lá xanh đậm, quả phát triển nhanh hơn đối chứng.
- Nho, roi : quả chín đều và sớm hơn, năng suất tăng 10%
- Các loại rau : lá có màu xanh đậm hơn, dày, to lớn và cho thu hoạch sớm hơn từ 3 - 4 ngày, năng suất tăng khoản từ 15 - 20%.

Rác Bokashi để xử lý chuồng lợn, chuồng gà, giếng nước bị thối. Kết quả các chuồng trại hết mùi sau 3 lần rắc Bokashi với lượng rác 100g/m<sup>2</sup>. Một ống cống bị thối được xử lý bằng Bokashi nay đã sạch mùi.

Bokashi trong chăn nuôi : mấy ngày đầu chưa quen, sau đó ăn mạnh và chóng lớn.

### 6.3.2 Chế phẩm emuni, chế phẩm phân giải xenluloza

Các chủng loại vi sinh vật của Trung tâm Ứng dụng Vi sinh vật thuộc Đại học Quốc gia Hà Nội.

**6.3.2.1 Chế phẩm vi sinh vật Emuni**

- Các vi sinh vật có khả năng phân giải Xenluloza như vi khuẩn Bacillus SP, Cellulomonas sp, xạ khuẩn Streptomyces, Nấm sợi Aspergillus japonicus. A.oryzae.

- Các vi sinh vật có khả năng phân giải tinh bột, protein như nấm men Saccharomyces cerevisiae.

- Vi khuẩn Azotobacter sp có khả năng cố định nitơ khí quyển, vi khuẩn sinh chất kích thích cho sự tăng trưởng của thực vật.

- Vi khuẩn Pseudomonas SP có khả năng chuyển hoá lân khó tan thành dễ tan, vi khuẩn sinh chất kháng sinh Bacterioxin.

Tác dụng :

- Xử lý phế thải nông nghiệp làm phân hữu cơ vi sinh.

- Phân giải nhanh rác thải, phân bắc, phân chuồng, giảm thiểu tối đa mùi hôi thối, hạn chế ruồi muỗi, diệt nhiều mầm bệnh và trứng giun.

- Chống ách tắc bề phốt.

- Bón phân hữu cơ sản xuất từ chế phẩm Emuni sẽ làm cho đất tơi xốp, tăng độ phì nhiêu, giữ nước, tăng khả năng chống chịu sâu bệnh, nâng cao năng suất và chất lượng sản phẩm cây trồng.

Cách sử dụng :

- Dùng khử mùi hôi xí, chuồng trại chăn nuôi, gia súc, gia cầm : 100 g chế phẩm cho vào 40 lít nước, phun tưới đều chuồng trại (1 lần trong một tuần).

- Dùng xử lý môi trường từ rác thải : 100g chế phẩm hoà vào 100 lít nước phun vào rác, ủ đồng.

- Dùng xử lý hồ xí bề phân, bề phốt: 100 g chế phẩm trộn đều với 2 lít nước phun vào hồ xí cuối ngày (từ 1 - 1,5m<sup>3</sup>) dùng hai tháng một lần.

- Dùng ủ phân hữu cơ : 100 g chế phẩm cho 1 tấn phân rác có độ ẩm 45%, có thể bổ sung thêm phân gia súc hoặc than bùn, che đậy kỹ để tránh mất nhiệt. Sau một đến hai tuần có thể đảo trộn, khoảng 20 ngày phân hoại là có thể dùng được.

**6.3.2.2 Chế phẩm vi sinh vật xenluloza**

Chế phẩm này được phân lập từ các mẫu đất ở các tỉnh phía Bắc. Các chủng vi sinh vật được nuôi cấy trên các nguồn xenluloza tự nhiên như bã mía, cám trấu, mùn cưa, vỏ lạc, rơm, vỏ cà phê với độ ẩm 50%, nó có hoạt tính mạnh trên vỏ cà phê với độ ẩm 50%, nó có hoạt tính mạnh trên vỏ lạc, rơm, cám trấu, yếu nhất ở phế thải từ nguồn cà phê.

Cách sử dụng :

- Dùng khử hôi xí, chuồng trại chăn nuôi gia súc gia cầm : 100g chế phẩm cho vào 40 lít nước phun tưới đều lên chuồng trại (1 lần trong một tuần).

- Dùng xử lý môi trường từ rác thải: 100 g chế phẩm hoà vào 100 lít nước phun vào rác (đồng ủ).

- Dùng xử lý hồ xí, bể phân, bể phốt 100g chế phẩm trộn đều với 2 lít nước phun vào hồ xí cuối ngày (với dung tích bể từ 1 - 1,5 m<sup>3</sup>) dùng 2 tháng một lần.

- Dùng để ủ phân hữu cơ : 100g chế phẩm cho 1 tấn rác với độ ẩm từ 45% có bổ sung thêm phân của gia súc hoặc than bùn (sau đó che đậy kín) tránh mất nhiệt. Sau từ một đến hai tuần ta đảo trộn, khoảng 20 ngày sau phân loại có thể dùng được.

Sản phẩm cuối cùng của quá trình xử lý phế thải hữu cơ chứa xenluloza là phân hữu cơ. Phân hữu cơ được xác định thành phần hoá học.

Bảng 6.3.2 Các thành phần hoá học trong các loại phân

Loại phân	Mức	N,%	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ,%	K <sub>2</sub> O,%
Trâu	Tối đa	0,358	0,250	1,60
	Tối thiểu	0,246	0,115	1,129
	Trung bình	0,306	0,171	1,360
Bò	Tối đa	0,380	0,294	0,902
	Tối thiểu	0,302	0,164	0,924
	Trung bình	0,341	0,227	0,958
Lợn	Tối đa	0,861	1,958	1,412
	Tối thiểu	0,537	0,932	0,954
	Trung bình	0,669	1,253	1,194
Phân rác	Tối đa	0,973	0,800	0,612
	Tối thiểu	0,450	0,450	0,350
	Trung bình	0,740	0,625	0,481
Phân than bùn và bã bùn	Tối đa	0,550	0,614	0,350
	Tối thiểu	0,250	0,350	0,150
	Trung bình	0,450	0,482	0,250

Trong thành phần hoá học phân hữu cơ chế biến từ phế thải hữu cơ thấy có đủ các yếu tố vi lượng. Số lượng nguyên tố vi lượng được trình bày ở bảng 6.3.2

### 6.3.3 Vi sinh vật micromix 3

Là tập hợp các chủng vi vật hiếu khí và ưa nhiệt có khả năng phân giải xenluloza mạch để bổ sung vào bể xử lý rác thải, nhằm phân huỷ nhanh chất thải hữu cơ, rút ngắn thời gian phân huỷ và nâng cao hiệu suất sử dụng bể xử lý. Vi sinh vật được nghiên cứu và đưa ra quy trình sản xuất chế phẩm tại phòng Nghiên cứu các Chất hoạt tính Sinh học từ Vi sinh vật do Viện Công nghệ Sinh học, Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia nghiên cứu.

#### 6.3.3.1 Thành phần của vi sinh vật Micromix 3

Các nguyên tố	Al	Si	Mg	Ca	Sr	Fe	V	Mn	Ba	Ti
Các thành phần, %	10	>10	0,5	10	0,01	5	0,002	0,05	0,01	0,5
Các nguyên tố	Ni	Cr	Mo	Sn	Cu	Pb	Ga	Zn	Na	Ag

Các thành phần %	0,01	0,01	0,0005	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,5	0,0001
------------------	------	------	--------	------	------	------	------	------	-----	--------

### 1. Tuyển chọn các chủng ưa nhiệt tổng hợp xenlulaza

Số lượng chủng có hoạt tính xenlulaza của các nhóm vi sinh vật cao phân lập được từ bề ủ rác cao; vi khuẩn 40%, xạ khuẩn 90% và nấm mốc 36,37%.

Các chủng xạ khuẩn phân lập được phân theo nhóm màu cho thấy nhóm xám (GY) là cao nhất chiếm 67,5%, sau đó là nhóm đỏ ® - 23,75% và nhóm trắng (W) - 8,75%. Không thấy xuất hiện các chủng thuộc nhóm lục (Gn), xanh da trời (B) và tím (V).

Khả năng phân giải CMC - Na và bột thấy của các chủng vi sinh vật cũng khác nhau (bảng 6.4).

Bảng 6.4 Tỷ lệ các chủng vi sinh vật có hoạt tính xenlulaza (nuôi ở 45°C)

Tổng số chủng có hoạt tính xenlulaza	Hoạt tính C <sub>x</sub> (%)		Hoạt tính C <sub>1</sub> (%)	
	Yếu	Mạnh	Yếu	Mạnh
140	43,02	56,98	66,1	33,9

Ghi chú : yếu : (D-d) < 20 mm; mạnh (D - d) > 20 mm

Để tuyển chọn các vi sinh vật ưa nhiệt có khả năng sinh tổng hợp xenlulaza mạnh, các chủng đã thuần khiết được nuôi trên môi trường có bột xenlulaza và CMD ở 50°C. Trong số 40 chủng có hoạt tính xenlulaza đã chọn được 12 chủng xạ khuẩn (ký hiệu C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub>, CD<sub>30</sub>, CD<sub>31</sub>, CD<sub>6,2</sub>, CD<sub>6,9</sub>, CD<sub>6,10</sub>, N<sub>24</sub>, N<sub>43</sub>, CD<sub>99</sub>, CD<sub>108</sub>, CD<sub>5,12</sub>) và tám chủng vi khuẩn (ký hiệu CD<sub>-1</sub>, CD<sub>-2</sub>, CD<sub>-3</sub>, CD<sub>-4</sub>, CD<sub>-14</sub>, CD<sub>45</sub> và C<sub>5</sub>) có hoạt tính xenlulaza (cả C<sub>1</sub> và C<sub>x</sub>) mạnh để tiếp tục nghiên cứu.

### 2. Đặc điểm sinh học và đặc điểm phân loại của các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn

#### a. Vi khuẩn :

Kết quả phân loại : Từ kết quả thử nghiệm các chủng vi sinh vật với bộ KIT API 50 CHB đối với vi khuẩn Gram dương, các đặc điểm hình thái tế bào, tính chất nuôi cấy so sánh với đặc điểm phân loại các chủng Bergey cho thấy : các chủng : CD<sub>-1</sub>, CD<sub>3</sub>, và CD<sub>-14</sub> giống loài *Bacillus stearothermophilus*, Donk (1920) 373 A<sub>1</sub> → ATCC 12980 : CD<sub>-2</sub>, CD<sub>4</sub>, CD<sub>9</sub> giống loài *Bacillus polymyxa*, Prazmowski (1880), Macé (1889), 588 A<sub>1</sub> → ATCC 842. Như vậy, tất cả các chủng vi khuẩn Gram dương tuyển chọn được đều thuộc chi *Bacillus* riêng chủng C<sub>5</sub> thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm. Chủng C<sub>5</sub> thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm. Chủng này có các đặc điểm phân loại giống chi *pseudomonas*, nhưng chưa định tên loài.

#### b. Xạ khuẩn:

Kết quả phân loại: Các chủng xạ khuẩn tuyển chọn được đều thuộc chi *Streptomyces* (Waksman và Henryci, 1943). Dựa vào khoá phân loại xạ khuẩn của Nônamura và so sánh với các phần mô tả đặc điểm phân loại giống các loại sau :



- Các chủng C<sub>3</sub>, C<sub>69</sub>, và N<sub>43</sub> giống loài *Streptomyces thermoflavus* (Kudrima và Makximova) Pridham 1970 → ISP 5252.

- Chủng CD<sub>-30</sub> giống loài *S.flavoviridis krasilnikov*, 1941 → ISP 5153

- Chủng CD<sub>-31</sub> giống loài *S.pulcher* Rao, Renn và Marsh 1967 → ISP 5566

- Chủng CD<sub>-62</sub> giống loài *S.tendae*, Ettlinger et al, 1958 → ISP 5101

- Chủng CD<sub>-512</sub> giống loài *S.seleroliolus thirumalchar* → ISP 5269

- Chủng CD<sub>-108</sub> giống loài *S.flarovirens*, Pridham 1958 → ISP 5152

- Chủng N<sub>24</sub> giống loài *S.gedanensis*, Waksman 1953 → ISP 5518

- Chủng CD<sub>-99</sub> có hình dạng, cấu trúc cuộn sinh bào tử dạng chùm không giống loài nào đã được mô tả, vì hầu hết các loài tuộc nhóm này nếu cuộn sinh bào tử xoắn chùm thì bào tử của chúng có cấu trúc xoắn. Do vậy, tạm để tên chủng này là *Streptoverticillium* SP. CD<sub>-99</sub>.

### 6.3.3.2 Nghiên cứu quy trình sản xuất chế phẩm *Micromix 3*

Từ các kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh học, các yếu tố ảnh hưởng lên sinh trưởng và sinh học tổng hợp xenlulaza và khả năng phân giải xenlulaza của hỗn hợp các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn cho thấy: có thể sử dụng các chủng tuyển chọn để nhân giống sản xuất chế phẩm vi sinh vật ưa nhiệt bổ sung vào bể xử lý rác thải hiếu khí. Chế phẩm *Micromix 3* được sản xuất từ hỗn hợp các chủng:

Vi khuẩn : CD<sub>4</sub>, CD<sub>-2</sub>, CD<sub>-3</sub>, CD<sub>-4</sub>, CD<sub>-9</sub>, CD<sub>14</sub> và CD<sub>45</sub>.

Xạ khuẩn : C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub>, CD<sub>30</sub>, CD<sub>-62</sub>, CD<sub>69</sub>, CD<sub>-99</sub>, CD<sub>-108</sub>, CD<sub>-512</sub>, CD<sub>-610</sub>, N<sub>24</sub> và N<sub>43</sub>

Chủng C<sub>5</sub> là chủng vi khuẩn Gram âm chưa phân loại được đến loài cho nên chúng tôi không dùng để sản xuất chế phẩm *Micromix 3*.

Ưu điểm của các chủng trên có nhiệt độ sinh trưởng và sinh tổng hợp xenlulaza tốt từ 45 - 55°C, phù hợp với nhiệt độ của các bể xử lý rác thải của các xí nghiệp chế biến rác thải ở nước ta  $t_o = 50 \pm 2^\circ\text{C}$ . pH ban đầu thích hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp enzym từ 6 - 10. Chúng sinh trưởng dễ dàng trên các nguồn cơ chất rẻ tiền như xenluloza, tinh bột, ri đường và bột đậu tương. Nghiên cứu các điều kiện lên men, nhằm đưa ra quy trình nhân giống sản xuất chế phẩm *Micromix 3* phù hợp với điều kiện hiện nay ở nước ta.

#### 1. Nhân giống trong bình tam giác:

Các chủng giống trước khi cấy vào bình tam giác được cấy lại trên các ống thạch nghiêng cho phát triển tốt sau đó mới cấy vào bình tam giác và lắc trên máy lắc 220 vòng trên phút từ 24 - 36 giờ ở 45°C.

#### 2. Nhân giống trong bình lên men 10 lít (giống cấp 2)

Sau khi nhân giống các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn trong các bình tam giác đã mọc tốt được bổ sung từ 5 - 10% hỗn hợp các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn vào hai bình lên men có sục khí và nuôi ở nhiệt độ từ 40 - 45°C. Kết quả phân tích số lượng của từng vi khuẩn lớn nhất từ 24 - 36h, còn các chủng xạ khuẩn từ 48 - 60h. Vì vậy,

thời gian làm giống cấp hai của hỗn hợp các chủng vi khuẩn trong bình lên men tốt nhất ở 24 - 36h, còn các chủng xạ khuẩn ở 48 - 60h. Đây là thời gian các chủng vi sinh vật đang sinh trưởng tốt để bổ sung vào môi trường nhân giống xộp.

*Bảng 6.5 Sự sinh trưởng của hỗn hợp vi khuẩn và xạ khuẩn trong bình lên men 10 lít*

Thời gian, h	Mật độ tế bào vi khuẩn (OD, $\lambda = 560$ nm)	Sinh khối xạ khuẩn, mg/ml
0	0,147	0,12
12	0,767	0,20
24	1,95	2,31
36	2,23	4,78
48	1,98	6,85
60	1,73	7,43
72	1,52	7,25

### 3. Nhân giống trên môi trường xộp

Môi trường xộp phải đảm bảo độ ẩm 50 - 55%, được đắp thành đồng cao 0,5m, hàng ngày có đảo trộn, nhiệt độ 40 - 50°C. Kết quả phân tích số lượng các nhóm vi sinh vật trên môi trường xenluloza được trình bày ở bảng 5.6.

*Bảng 6.6 Sự phát triển của các nhóm vi sinh vật trong quy trình sản xuất phế phẩm Micromix 3 (CFUg<sup>-4</sup>, nuôi kiểm tra ở 45°C)*

Nhóm vi sinh vật	Môi trường kiểm tra	Thời gian lên men				
		1	3	6	9	12
		Số lượng vi sinh vật (CFU/g)				
Vi khuẩn	Xenluloza	$3,2 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^9$	$7,5 \cdot 10^{12}$	$8,5 \cdot 10^{13}$	$8,9 \cdot 10^{12}$
Xạ khuẩn	Xenluloza	$3,5 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^5$	$8,2 \cdot 10^8$	$7,4 \cdot 10^9$	$8,2 \cdot 10^{9+}$
Nấm men	Xenluloza	$1,1 \cdot 10^1$	$2,7 \cdot 10^2$	$2,1 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^2$

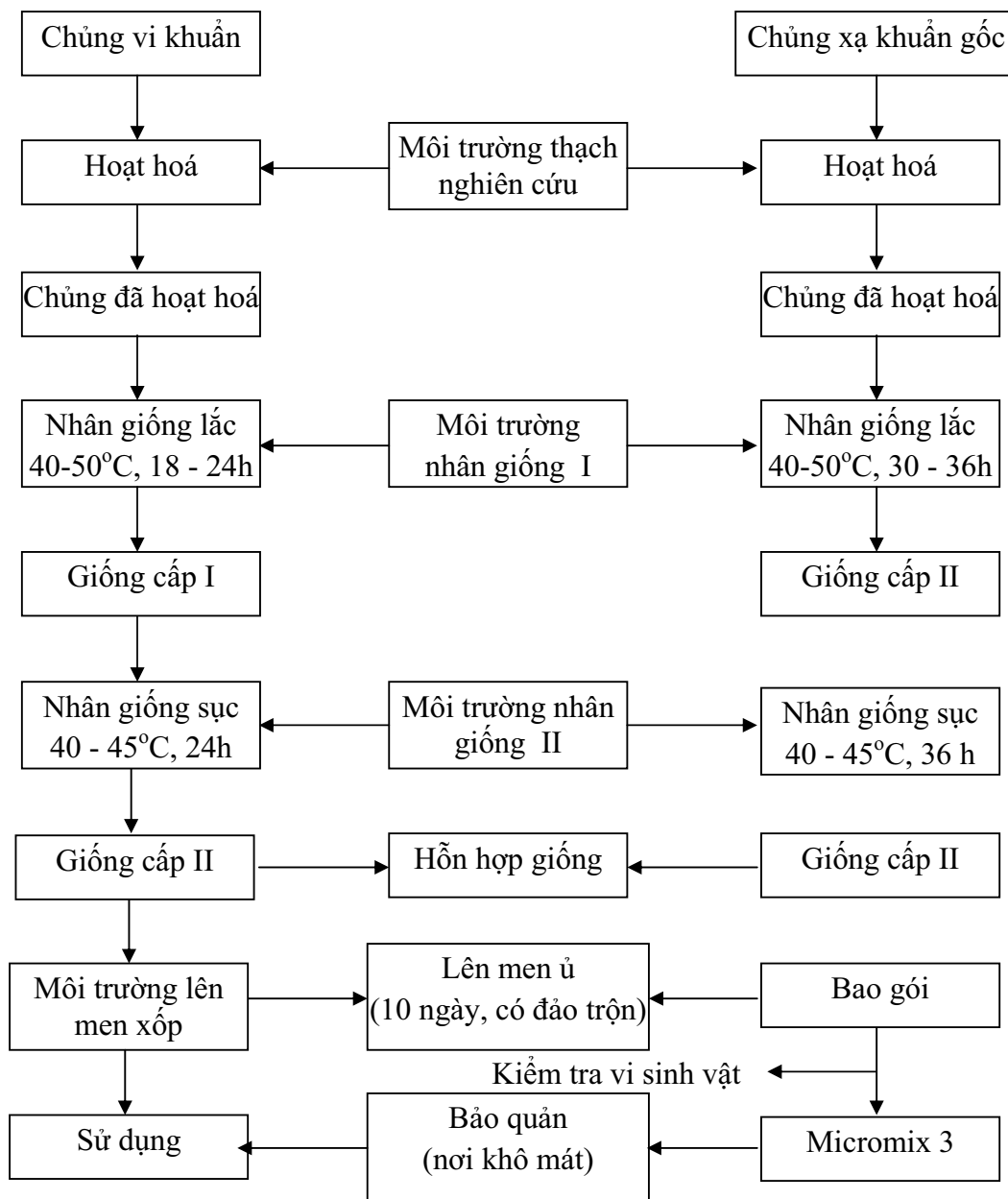
Thời gian lên men sản xuất chế phẩm Micromix 3 trên môi trường xộp thường kéo dài từ 10 - 12 ngày. Mặc dù không bổ sung nhưng nấm mốc vẫn phát triển trên bề mặt của đồng ủ với số lượng không nhiều.

#### 6.3.3.3 Thời gian bảo quản chế phẩm Micromix 3:

Kết quả nghiên cứu thành phần và số lượng của nhóm vi sinh vật trong chế phẩm Micromix 3 được bảo quản trong túi polime hàn kín ở nơi thoáng mát, chế phẩm Micromix 3 có thể bảo quản ở nhiệt độ bình thường trong thời gian hai tháng.

Từ các kết quả nghiên cứu trên có thể đưa ra quy trình nhân giống sản xuất chế phẩm Micromix 3.

Qua nhiều lần thí nghiệm có thể nhận thấy để chế phẩm Micromix 3 đảm bảo chất lượng tốt, không sử dụng chế phẩm làm giống lên men sản xuất chế phẩm tiếp, nếu sử dụng như vậy thì hiệu suất xử lý rác thải sẽ giảm.



Hình 6.1 Sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm Micromix 3

Ứng dụng của chế phẩm Micromix 3 trong phân huỷ rác thải giàu xenluloza

### 1. Khả năng phân huỷ rác thải ở quy mô xí nghiệp

Thí nghiệm được thực hiện tại Xí nghiệp Chế biến Phế thải Cầu Diễn Hà Nội, dung tích bể ủ 150 m<sup>3</sup>. Bể thí nghiệm được bổ sung 30kg chế phẩm Micromix 3 và bể đối chứng bổ sung chế phẩm của Xí nghiệp. Quy trình thí nghiệm được tiến hành theo quy trình của Xí nghiệp. Nhiệt độ của bể ủ được khống chế không quá 50°C ± 2°C bằng quạt thổi khí hoàn toàn tự động.

Sự biến động của các nhóm vi sinh vật trong phân huỷ rác thải có sử dụng chế phẩm Micromix 3

Kết quả nghiên cứu sự biến động của các nhóm vi sinh vật cho thấy vi khuẩn và xạ khuẩn ưa nhiệt có khả năng phân giải xenluloza trong bể thí nghiệm sinh trưởng nhanh hơn và nhiều hơn trong bể đối chứng. Trong quá trình phân giải các chất hữu cơ bằng phương pháp ủ hiếu khí, nhiệt lượng trong đồng ủ toả ra nhiều hơn đồng nghĩa với tốc độ sinh trưởng của vi sinh vật trong bể ủ mạnh hơn.

Số lần quạt hoạt động trung bình trong một ngày của bể thí nghiệm cao hơn hai lần bể đối chứng. Điều đó chứng tỏ rằng, trong thời gian gần đây vi sinh vật phân giải các chất hữu cơ trong bể thí nghiệm phát triển tốt hơn, nhiệt lượng toả ra nhiều hơn nên quạt phải hoạt động nhiều hơn.

Việc bổ sung chế phẩm Micromix 3 vào bể xử lý rác thải đã rút ngắn được thời gian xử lý có thổi khí từ 47 ngày xuống còn 32 ngày.

### 2. Chất lượng mùn sau khi ủ:

Lượng mùn ở bể bổ sung chế phẩm Micromix 3 nhiều hơn bể đối chứng: với 150 m<sup>3</sup> rác ủ, bể đối chứng chỉ thu được bình quân 45 m<sup>3</sup> mùn, trong khi đó bể thí nghiệm thu được 55,5 m<sup>3</sup> mùn tăng từ 20 - 25%.

Bảng thành phần mùn rác của bể ủ rác thải sinh hoạt

Bể ủ	Mùn, %	ΣC, %	ΣN, %	N phân huỷ, %	ΣP, %	ΣK, %	Axit humic, %
Đối chứng 1	30,72	2,52	0,08	0,01	0,52	0,95	0,47
Đối chứng 2	37,64	3,78	0,09	0,12	0,67	1,05	0,52
Đối chứng 3	122,52	150	112,5	120	128,85	110,53	110,64

Kết quả đánh giá chất lượng mùn rác sau khi ủ (bảng 5.7) cho thấy các chỉ tiêu phân tích ở bể thí nghiệm đều cao hơn bể đối chứng trên 10%, trong đó lượng mùn cao hơn 22,52%, hàm lượng nitơ dễ tiêu - 20%, axit humic tăng 10%.

### 3.2 Ảnh hưởng của chế phẩm Micromix 3 và mùn rác lên sự sinh trưởng của cây:

Một chế phẩm muốn được áp dụng trong nông - lâm nghiệp, ngoài việc chế phẩm đó có hoạt tính sinh học kích thích sự sinh trưởng của cây, không gây độc cho cây, không ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm của hạt và quá trình phát triển của cây. Do đó, chế phẩm phải được kiểm tra độc tính và chất lượng trước khi bón cho cây.

Ảnh hưởng lên bèo tấm (*Lemna acquinotalis* welwitsch T93): Bèo tấm *lemna* là một loại thực vật phát triển rộng rãi và rất mẫn cảm với tác động của môi trường. Các nhà khoa học Thụy Điển và Mỹ đã lựa chọn chủng bèo tấm *Lemna acquinotalis* làm biotest và đưa ra quy trình để đánh giá chất lượng nước thải và các chất có độc tính bằng cách xác định nồng độ ức chế sinh trưởng 50% (EC 50).

- EC 50 của chế phẩm Micromix 3 : 198 g/l
- EC 50 của mùn rác thí nghiệm tại Viện Công nghệ Sinh học : 292 g/l
- EC 50 của mùn rác Xí nghiệp Chế biến Phế thải Cầu Diễn : 293 g/l

Như vậy chế phẩm Micromix 3 và mùn rác được xử lý bằng chế phẩm này đều không gây độc cho cây, vì đối với bèo tấm *Lemna acquinotalis* T93 những chất được xem là gây độc có EC 50 dưới 100 g/l.

## CHƯƠNG VII:

### TÁC NHÂN VI SINH VẬT TRONG QUÁ TRÌNH XỬ LÝ Ô NHIỄM MÔI TRƯỜNG NƯỚC

#### 7.1. VI SINH VẬT GÂY BỆNH VÀ CHỈ TIÊU VỆ SINH VỀ VI SINH VẬT TRONG NƯỚC CẤP SINH HOẠT:

##### 7.1.1. Các vi sinh vật gây bệnh:

Một số vi sinh vật có thể gây bệnh cho người, động vật và thực vật. Những vi sinh vật gây ra bệnh là do chúng thực hiện các phản ứng trao đổi trong vật chủ. Đa số vi sinh vật gây bệnh là loại sống ký sinh và lấy thức ăn từ vật chủ. Còn dạng khác của vi sinh vật gây bệnh là chúng sản ra các độc tố đối với vật chủ. Có rất nhiều loại bệnh truyền nhiễm liên quan đến nước. Vì vậy toàn bộ các công trình kỹ thuật về vệ sinh phải có khả năng tiêu diệt được những vi sinh vật có mặt trong nước. Đó cũng chính là trách nhiệm to lớn của những người làm công tác xử lý nước.

##### *7.1.1.1. Khái niệm về dịch tễ học và các đường truyền nhiễm:*

Có nhiều loại bệnh khác nhau, đó là: Bệnh đơn phát, bệnh dịch diễn ra trong một thời kỳ hoặc trong từng địa phương hay trong một vùng rộng lớn, thậm chí trong nhiều nước trên thế giới. Bệnh đơn phát không có tính lan truyền. Những bệnh dịch lan truyền thường qua ban khâu là : nguồn gây bệnh → đường truyền bệnh → người, vật bị nhiễm bệnh.

Nguồn gây bệnh có thể là người, vật ốm đã bị mắc bệnh hoặc người, vật khỏe nhưng có mang vi khuẩn gây bệnh. Đường truyền bệnh có thể :

- Qua nước: Do ăn, uống nước, tắm rửa, giặt giũ, rửa thức ăn, rau cỏ, bát đĩa...
- Qua thức ăn hay thực phẩm nói chung. Vì trong nhiều loại thực phẩm có thể chứa nhiều loại vi khuẩn gây bệnh.
- Qua tiếp xúc trực tiếp hay gián tiếp giữa người bệnh với người khỏe. Tiếp xúc trực tiếp là do bắt tay, hôn .... Tiếp xúc gián tiếp là do cùng chung quần áo, bát đĩa, đồ dùng sách vở ...
- Qua không khí : Là do hít thở không khí chứa hơi nước, bụi, vi sinh vật gây bệnh; kể cả đờm, nước bọt của người bệnh.
- Qua côn trùng : ruồi muỗi, bọ nhặng ....

Những người làm công tác vệ sinh phải tạo điều kiện sống để sao cho vi sinh vật gây bệnh không thể xâm nhập vào nước, thức ăn, không khí ... Ở những nơi chúng có thể xâm nhập được thì phải có biện pháp tẩy trùng môi trường. Khi vi sinh vật gây bệnh xâm nhập được vào người, động vật chủ thì tùy thuộc vào nhiều yếu tố mà vật chủ có thể bị hoặc không bị mắc bệnh. Đa số vi sinh vật gây bệnh là loại sống ký sinh và phụ thuộc vào vật chủ, phụ thuộc vị trí xâm nhập vào vật chủ. (Ví dụ không thể gây bệnh được khi vi khuẩn lỵ (Disenterie) xâm nhập vào vết thương) tùy thuộc số lượng

vi sinh vật ban đầu xâm nhập vào, điều kiện môi trường, biện pháp tiêm chủng phòng bệnh.

Những loại vi khuẩn gây bệnh có khả năng tạo ra độc tố ngoại hoặc độc tố nội. Độc tố ngoại là độc tố do vi sinh vật tạo ra và tiết ra môi trường qua quá trình sống - hoạt động của chúng. Độc tố nội là những độc tố sản ra trong tế bào vi sinh vật - tức là nằm trong thành phần của tế bào., Chúng chỉ thải ra môi trường sau khi vi sinh vật chết. Thông thường thì độc tố ngoại nguy hiểm hơn độc tố nội.

Khi xâm nhập vào vật chủ, các độc tố của vi khuẩn sẽ gây tác động và làm hại các chức năng của cơ thể vật chủ. Đa số các độc tố của vi khuẩn có tác dụng đặc hiệu: có loại làm thương tổn màng não, có loại làm hại các cơ quan trong cơ thể như thận, gan, phổi ...

Không nhất thiết bệnh phát ra mãnh liệt ngay từ đầu. Nhiều bệnh như lao... diễn ra rất nhiều năm và thậm chí cả một đời người bệnh.

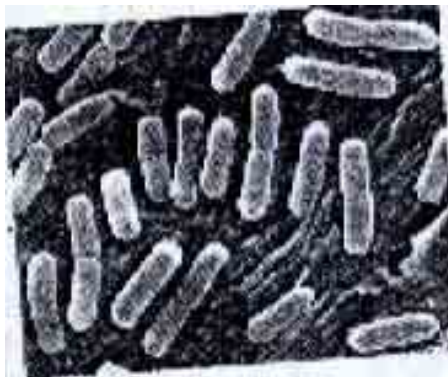
Nói chung không bệnh nào phát ra ngay sau khi người bệnh bị nhiễm bệnh mà thường phải qua một thời gian để các loại vi khuẩn kịp phát triển. Thời gian kể từ lúc nhiễm bệnh đến lúc phát bệnh ốm - gọi là thời kỳ ủ bệnh.

Để tiêu diệt bệnh, người ta phải triệt một trong những khâu truyền bệnh. Những người làm công tác cấp thoát nước liên quan nhiều nhất và trực tiếp đến đường bệnh qua nước và có trách nhiệm diệt trùng gây bệnh trên đường truyền bệnh này.

#### **7.1.1.2. Các bệnh truyền nhiễm qua nước:**

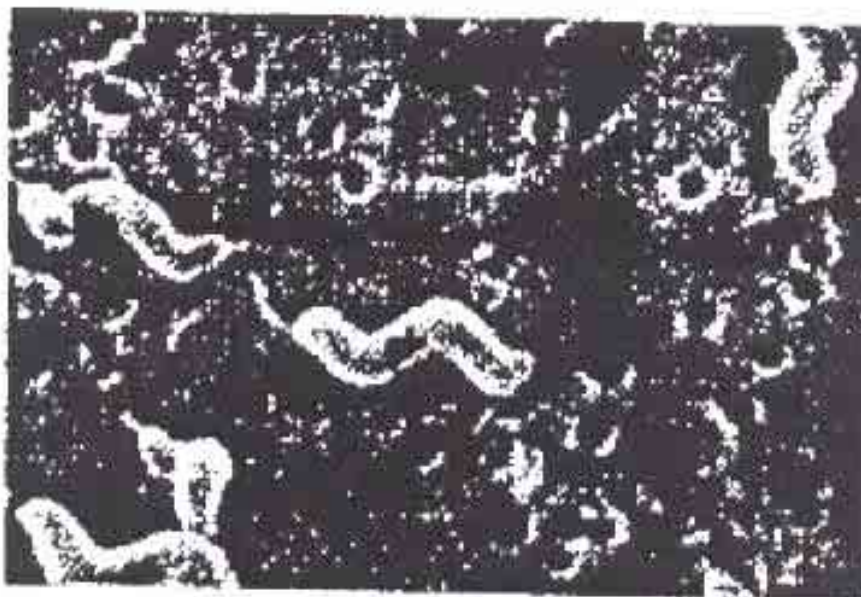
Trong số những bệnh truyền nhiễm qua nước thì những bệnh đường ruột chiếm nhiều nhất. Đa số các loài vi khuẩn gây bệnh đường ruột đều giống nhau về hình thái, sinh lý và thuộc họ Enterobacteriaceae. Chúng là loại trực khuẩn kích thước 1 - 3 x 0,5 - 0,6  $\mu$ , gram âm, không tạo ra bào tử và không có giáp mạc. Các loài vi khuẩn của từng bệnh khác nhau về hoạt tính men, khả năng vận động.

*a. Vi khuẩn gây bệnh đường ruột cho người, gia súc, gia cầm là:* Trực khuẩn đường ruột (*Escherichia*), vi khuẩn bệnh thương hàn và phó thương hàn - typhor và paratyphos (*Saimonella*), vi khuẩn bệnh lỵ Disenterie (*Shigella*), vi khuẩn bệnh tả (*Vibrio cholerae*).

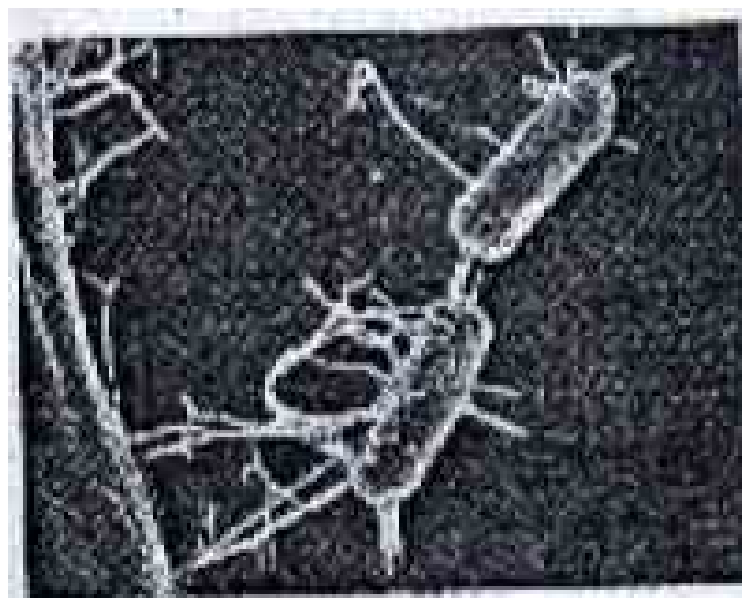


***Vi khuẩn Escherichia coli***

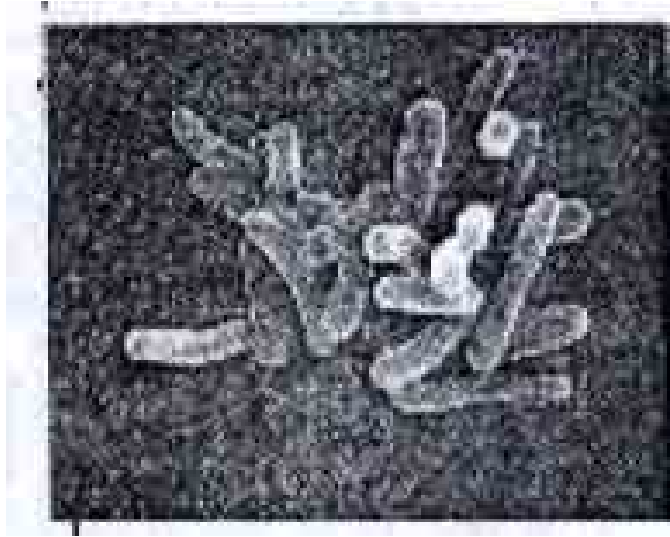




Vi khuẩn E.coli



Salmonella

*Shigella**Vibrio cholerae*

- **Vi khuẩn *Escherichia coli***: Là trực khuẩn đường ruột gây bệnh Colenterit ở trẻ em và bệnh lý Disenterie ở người lớn. Trực khuẩn đường ruột thường là loại vi khuẩn loại đối kháng với vi khuẩn thối rữa. Có khả năng sinh chất kháng sinh như Colicin làm chết các vi khuẩn gây bệnh khác. Khi dùng chất kháng sinh để diệt trực khuẩn đường ruột thì sẽ kích thích vi khuẩn thối rữa và những vi khuẩn gây bệnh khác.

Nhóm trực khuẩn đường ruột đặt biệt rất nguy hiểm ở chỗ chúng rất dễ thích nghi với cơ thể người. Chúng bền vững cả với dịch vị của người. Trong điều kiện tự nhiên như nước, đất, kể cả thực phẩm, ở da, chúng có thể tồn tại hàng tuần thậm chí hàng mấy tháng. Tuy nhiên khi đun sôi có thể diệt chết ngay được. Các dung dịch chất kháng sinh 3-5% (như dung dịch Chloramin, phenon, formalin) trong vòng 10-15 phút có thể tiêu diệt được chúng.

- **Vi khuẩn *Salmonella***: Là loại gây bệnh thương hàn typhos và paratyphos. Trong số các vi khuẩn này, có loại chỉ gây bệnh đối với người (typhos), có loại gây bệnh cả đối với người lẫn động vật (paratyphos). *Salmonella* rất phổ biến trong thiên nhiên, tồn tại trong các động vật có sừng, chó, mèo, chim, chuột, cá v.v...

Khi bị bệnh typhos hoặc paratyphos thì ruột non bị thương tổn, đồng thời toàn cơ thể bị nhiễm độc do độc tố nội (tức là sau khi trực khuẩn typhos bị phân huỷ). Toàn bộ hệ thần kinh trung ương bị tác động - thương tổn - người bất tỉnh.

Salmonella không sinh sản ở môi trường bên ngoài nhưng có thể tự bảo tồn ở nước sông trong 6 tháng, ở nước băng giá suốt mùa đông, ở nước giếng khơi trong 4 tháng, ở nước cấp thành phố dưới 3 tháng.

Trong nước thải vì có sự cạnh tranh với các loài vi khuẩn khác nên Salmonella chỉ sống được khoảng 40 ngày, Chúng có thể sống trong thực phẩm, rau quả ... cho tới khi rau quả bị thối rữa, sống trong bia được 2-4 ngày.

Salmonella bền vững cả đối với những kháng sinh hoặc điều kiện khô ráo. Dung dịch thủy ngân  $1/_{00}$  và dung dịch axit cacbonic 5% phải sau nửa giờ mới tiêu diệt được chúng. Tất nhiên khi clorua hoá nước cấp sẽ tiêu diệt được Salmonella.

- **Vi khuẩn Shigella:** Xâm nhập vào cơ thể qua miệng rồi phát triển ở niêm mạc, đại tràng. Khi tế bào vi khuẩn chết, giải phóng độc tố nội. Độc tố ngấm vào thần kinh và phản ứng lại gây tổn thương ruột.

Khi bệnh phát ra thì thường bị ỉa chảy có máu lẫn mủ. So với ỉa amibs thì số lần đi ngoài nhiều hơn.

Nguồn bệnh là người đã mắc bệnh. Trực khuẩn ỉa Shigella có thể truyền do tiếp xúc trực tiếp, qua thức ăn nước uống, đặc biệt là do ruồi nhặng.

So với Salmonella thì Shigella không bền vững bằng. Nhưng nó có thể chịu đựng được ở nhiệt độ thấp tới hàng tháng. Chúng có thể tồn tại ở nước sông tới 3 tháng, ở nước cấp thành phố 1 tháng, ở nước thải 1 tuần.

Đối với dung dịch sát trùng axit cacbonic 1%, sau nửa giờ thì chúng bị tiêu diệt. Khử trùng nước cấp đô thị bằng clorua hoá có thể tiêu diệt hoàn toàn trực khuẩn ỉa.

- **Vi khuẩn Vibriion gây bệnh tả Cholera:** Đây là điển hình của bệnh truyền nhiễm qua nước. Dịch tả là bệnh rất khủng khiếp, lan truyền nhanh và có tỷ lệ tử vong cao.

Vi khuẩn Vibriion là loại phẩy khuẩn 1,5 - 2 $\mu$ , đôi khi dai giống trực khuẩn hoặc có khi ngắn giống cầu khuẩn. Nó bắt màu tốt, gram âm, không giáp mạc, không tạo nha bào, nếu soi tươi thì rất di động. Là loại hiếu khí, dễ dàng nuôi cấy trên các môi trường kiềm yếu; không bền vững đối với môi trường axit. Khi độ axit của dạ dày yếu đi thì rất dễ mắc bệnh này. Vi khuẩn vibriion xâm nhập vào cơ thể bằng thực đạo, phát triển ở niêm mạc tiểu tràng, giải phóng nội độc tố gây ra một loạt triệu chứng điển hình: lượng nước ngưng tụ rất lớn (tới 30lít/ngày đêm), nôn mửa và đi ngoài lỏng. Cơ thể bị mất nước nghiêm trọng, cường độ các quá trình gây oxy hoá giảm và các sản phẩm chưa kịp cháy hết ( $CO_2$ ) sẽ đọng lại ở các mô ... Tỷ lệ tử vong rất cao.

Phẩy khuẩn tả Vibriion rất nhạy với nhiệt độ cao. Đun nóng tới 52°C sau 30 phút là chết, ngược lại rất thích nghi với nhiệt độ thấp. Ở nước sông, nước giếng chúng bảo tồn được 3 tháng, nước cấp sinh hoạt 1 tháng. Nước thải là môi trường tốt nhất đối với chúng nên chúng có thể tồn tại được tới 7 tháng. Ở nước biển phẩy khuẩn tả còn có thể sống lâu hơn, có thể sinh sản với tốc độ cao hơn ở nước ngọt

Phẩy khuẩn tả bị tiêu diệt ở dung dịch axit cacbonic 1% trong 5 phút, ở dung dịch thủy ngân 0,1 % thì chết ngay trong nước không có chất hữu cơ hoặc với nồng độ Clo 0,01% thì chúng cũng chết trong vòng 15 phút. Để đề phòng bệnh tả nên rửa hoa quả bằng dung dịch axit axêtic loãng vì khuấy khuẩn tả không chịu nổi môi trường axit. Các vi khuẩn gây bệnh đường ruột, trong đó có vibriôn, đều bị chết khi đun sôi nước.

*b. Các bệnh khác lây truyền qua nước:*

Ngoài các bệnh đường ruột còn có các bệnh khác có thể lây truyền qua nước như:

- *Bệnh do Leptospira* là bệnh điển hình truyền qua nước. Nhiễm bệnh này là do dùng nước bị nhiễm khuẩn do tắm. Nước bị nhiễm khuẩn là do chuột đưa vào. Người ta phân biệt hai dạng bệnh do leptospira là : Veilia (sốt da vàng) và sốt rét nước. Leptospira là loại vi khuẩn hiếu khí nhưng chúng chịu đựng được ở môi trường ít oxy, rất di động thích nghi nhiệt độ thấp, tồn tại được 5 tháng ở nước sông, 2 tháng ở nước giếng.

+ *Bệnh sốt da vàng* là bệnh truyền nhiễm. Triệu chứng ban đầu là sốt cao đột ngột, đau các cơ và đau đầu. Vi khuẩn xâm nhập và làm huỷ hoại gan, thận hoặc chảy máu ruột.

+ *Bệnh sốt rét nước* khác ở chỗ vi khuẩn thường xâm nhập qua các chỗ xây da do tắm và người bệnh không vàng da - mặt đỏ.

Để đề phòng bệnh do Leptospira người ta phải có biện pháp bảo vệ nguồn nước, diệt chuột, tiêm chủng vaccin. Đối với hệ thống cấp nước đô thị, phải tiến hành khử trùng bằng clo hoặc các chất diệt trùng khác.

- *Bệnh lỵ amit (amebs)* - trong thời gian ấm cũng diễn ra như bệnh lỵ thường. Amip lỵ thường gặp trong nước, đất và trong cơ thể người. Amip gây bệnh lỵ có tên là *Eltamoeba histolytica*.

- *Bệnh bại liệt - Polyomealit* - thường xảy ra ở trẻ em. Bệnh do virus xâm nhập vào các cơ quan hệ tiêu hoá. Loại virus này rất bền vững. Nó chịu đựng được điều kiện khô ráo, nhiệt độ thấp, đun sôi tới 60°C là chết trong vòng 15 đến 20 phút. Các chất sát trùng ở nồng độ thường dùng đều tiêu diệt được virus bại liệt.

- *Bệnh Tularê* : Bệnh này biểu hiện bề ngoài có điểm giống bệnh dịch hạch. Tuy nhiên đó chỉ là bề ngoài mà thôi. Bệnh này truyền bằng nhiều đường nhưng phần lớn truyền qua nước là chính. Đặc trưng của bệnh này là huỷ hoại tuyến bạch huyết. Tuyến này sưng lên. Vi khuẩn gây bệnh là loại hiếu khí nhưng không tạo bào tử, lúc non ở dạng trực khuẩn, khi già ở dạng cặp khuẩn bất động. Nhiệt độ thích hợp nhất đối với chúng là khoảng 37°C. Với nhiệt độ cao 56 -58°C trong vòng 10 phút là chúng bị chết. Chúng chịu đựng được ở nhiệt độ thấp. Ở nước sông chúng bảo tồn được 1 tháng, ở nước giếng 2 tháng, ở nước cấp đô thị 3 tháng. Ở dung dịch thủy ngân 1% chỉ trong 3 giây là chúng chết hết. Khử trùng bằng Clo cũng tiêu diệt chúng.

Nguồn truyền bệnh là chuột cống, chuột đồng và chuột nhà. Để phòng và chống bệnh Tularê người ta diệt chuột và dùng vaccin.

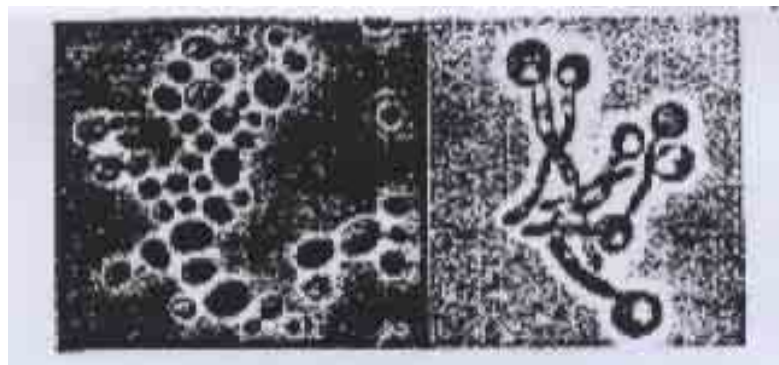
- *Bệnh viêm kết mạc*: Trong các đô thị có nhiều bể tắm thì những người tắm ở bể đó hay bị bệnh viêm kết mạc.

*c. Các bệnh truyền nhiễm do virus:*

Ngoài những bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn còn có nhiều bệnh khác truyền qua nước do virus. Điển hình nhất là bệnh poliomyelit. - Bệnh bại liệt trẻ em hay còn gọi là bệnh viêm tủy xám. Bệnh do loại virus. Đó là loại virus rất bền vững. Nó chịu đựng được cả nhiệt độ sấy nóng và nhiệt độ thấp. Tuy nhiên nếu tăng nhiệt độ tới 60<sup>0</sup>C thì hoạt tính của chúng giảm và trong vòng 15 + 20 phút là chúng bị tiêu diệt. Loại virus này có rất nhiều trong nước thải. Nhưng khi xử lý nước thải trong bể aêrôten hoặc xử lý cặn trong bể mêtan thì chúng đều bị tiêu diệt.

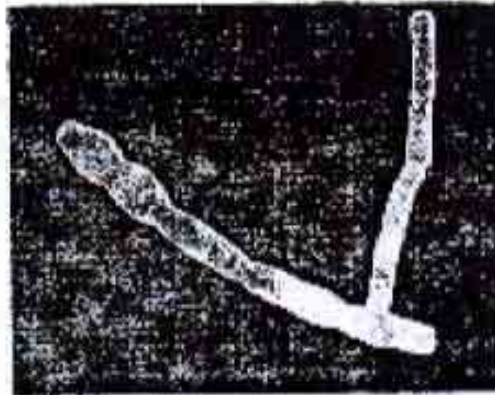
Các công trình xử lý nước cấp khử được hầu hết các loại virus này bằng cách khử trùng nước cấp bằng Clo với nồng độ dư 0,2 - 0,5 mg/l.

Sau đây là hình ảnh về một số vi sinh vật gây bệnh:



*Candida albicans (dạng lưỡng hình)*

Gây bệnh “nhiễm nấm men” ở người



*Bacillus cereus*

Gây bệnh “ngộ độc thực phẩm” ở người



*Pseudomonas aeruginosa* gây “bệnh cơ hội” trên người

*Staphylococcus aureus* gây bệnh “ngộ độc thực phẩm”

*Clostridium perfringens* gây bệnh “ngộ độc thực phẩm”

### **7.1.2. Các chỉ tiêu vệ sinh về vi sinh vật**

#### **7.1.2.1. Các khái niệm chung về những vi sinh vật chỉ thị vệ sinh**

Mục đích của việc kiểm tra vệ sinh trong nước là xác định mức độ an toàn của nước đối với sức khoẻ con người. Về mặt vi trùng học, ta phải tìm những loại vi sinh vật gây bệnh truyền nhiễm cho người. Tuy nhiên có rất nhiều loại vi sinh vật gây bệnh có thể tồn tại trong nước do đó phân lập chúng trong nước là một việc làm rất khó, không thể thực hiện được. Mặt khác để có thể có được kết quả phân tích ít nhất cũng phải mất 2 -3 tuần lễ - (tức là khi dân chúng đã uống nước nhiễm trùng rồi). Vì vậy từ lâu (cuối thế kỷ 19) người ta đã cố gắng tìm ra một loại vi khuẩn điển hình nào dù đó dù gây bệnh hay không gây bệnh nhưng có trong phân người và đại diện cho tất cả các loại vi sinh vật gây bệnh trong nước. Nói cách khác, sự có mặt của những vi sinh vật đại diện trong nước cũng nói lên sự có mặt của những vi sinh vật gây bệnh khác trong nước, tức là nước bị nhiễm bẩn bởi phân người. Cuối cùng người ta cũng đã thành công. Trong phân người thường xuyên có mặt ba loại vi sinh vật :

- Trực khuẩn đường ruột Escherichia coli
- Cầu khuẩn: Streptococcus

- Vi khuẩn yếm khí tạo nha bào Clostridium theo Huston và Klein trong 1ml nước thải sinh hoạt chứa từ 100.000 - 800.000 trực khuẩn đường ruột; từ 1000 - 60.000 cầu khuẩn và từ 100 đến 2000 vi khuẩn yếm khí tạo nha bào. Như vậy trong nước thải sinh hoạt lượng trực khuẩn đường ruột chiếm nhiều nhất. Tuy nhiên đây không phải là vấn đề chúng ta quan tâm về số lượng, là giá trị chủ yếu của vi sinh vật chỉ thị về sự nhiễm phân là tốc độ chết của chúng phải xấp xỉ với tốc độ chết của đa số vi sinh vật khác. Chỉ có loại vi sinh vật nào thường xuyên có trong phân người và tuân theo điều kiện trên mới có thể dùng làm chỉ tiêu về sự nhiễm bẩn do phân được.

Xét 3 loại vi khuẩn có trong phân ta thấy: Vi khuẩn nhóm Clostridium bảo tồn trong nước lâu hơn những vi sinh vật gây bệnh. Cầu khuẩn lại chóng chết hơn. Còn trực khuẩn đường ruột có thời gian bảo tồn trong nước gần giống những vi sinh vật gây bệnh khác. Do đó trực khuẩn đường ruột là chỉ tiêu vệ sinh chủ yếu về sự nhiễm bẩn nước.

Ngoài ra người ta còn kiến nghị hai loại nữa là vi sinh vật ưa nóng và thực khuẩn thể (bacteriophage) làm hai chỉ tiêu phụ. Tuy nhiên tất cả các chỉ tiêu vệ sinh trên đều gọi là chỉ tiêu gián tiếp vì chúng cho biết một cách gián tiếp về sự nhiễm nước bởi vi sinh vật gây bệnh. Nếu khi có bệnh dịch xảy ra, các nhà vi sinh vật phải xác định chính xác loại vi khuẩn nào gây ra bệnh dịch. Khi đó gọi là chỉ tiêu vệ sinh trực tiếp về sự nhiễm bẩn nước.

#### **7.1.2.2. Ý nghĩa của chỉ tiêu vệ sinh về trực khuẩn đường ruột**

Trực khuẩn đường ruột là nguồn gốc đầu tiên gây ra các bệnh thương hàn, phó thương hàn và lỵ. Trong quá trình tiến hoá của mình nó có khả năng ký sinh vào vật thể sống đồng thời mất dần khả năng sử dụng trực tiếp các chất hoá học khác làm thức ăn. Từ đó hình thành các loại trực khuẩn gây ra các bệnh trên đây. Nhóm trực khuẩn đường ruột Escherichia Coli có rất nhiều trong ruột già của người: từ 100 triệu đến 1 tỷ

con trong 1 gam phân người. Con người sau khi sinh ra được 20 giờ trong ruột già đưa trẻ có chứa nhiều vi khuẩn, nhưng vẫn chưa có trực khuẩn đường ruột. Qua hàng tuần, hàng tháng khi đưa trẻ bắt đầu được nuôi bằng thức ăn tạp thì E. Coli mới theo vào ruột và cư trú ở ruột già của trẻ, từ đó chúng tồn tại trong người mãi mãi cho đến lúc người chết. Trong quá trình sống - hoạt động sinh lý của người, E.Coli theo phân thải ra môi trường. E.Coli có trong phân tất cả các loài súc vật, chim muông hoang dại (những loài không tiếp xúc với người). Như vậy E.Coli là chỉ tiêu vệ sinh rõ ràng, hiển nhiên về sự nhiễm bẩn môi trường do hoạt động của con người.

Để đánh giá mức độ nhiễm bẩn của nước về vi sinh vật, người ta dùng hai chỉ tiêu là coli titre và Coli chỉ số.

Chuẩn độ coli (coli titre) là thể tích nhỏ nhất của nước (tính bằng ml) trong đó 1 tế bào chứa 1 Coli. Chẳng hạn khi nói Coli titre là 333, nghĩa là cứ 333ml nước có chứa 1 trực khuẩn đường ruột.

Chỉ số coli: là số Coli chứa trong một lít nước. Thí dụ: Coli chỉ số là 3, tức là có 3 Coli trong một lít nước.

Mối quan hệ giữa Coli chỉ số và Coli titre là số nghịch đảo của nhau :

$$\text{Coli chỉ số} = \frac{1000}{\text{Coli titre}}$$

#### **7.1.2.3. Ý nghĩa của chỉ tiêu vệ sinh về vi sinh vật ưa nóng**

Để tăng sản lượng thu hoạch nông nghiệp, người ta thường dùng phân người, súc vật, nước thải để bón ruộng. Nhưng vì những chất bón trên đều chứa rất nhiều trực khuẩn đường ruột và đều có thể dẫn đến nhiễm bẩn nguồn nước, nhất là nguồn nước ngầm. Khi có dịch xảy ra, người ta phải tìm nguyên nhân và cần biết rõ bệnh dịch xảy ra do bón ruộng bằng phân người hay súc vật. Muốn vậy, ngoài chỉ tiêu về E.Coli người ta phải phân tích xác định lượng vi khuẩn ưa nóng. Phân người và nước thải chứa rất ít vi khuẩn ưa nóng, nhưng phân súc vật - phân chuồng thì lại chứa rất nhiều. Như thế người ta sẽ xác định được nguyên nhân của sự nhiễm bẩn đất và nước thải là do bón loại phân nào.

#### **7.1.2.4. Ý nghĩa chỉ tiêu vệ sinh về Thực khuẩn thể: (phage)**

Thực khuẩn thể (phage) sống ký sinh vào vi khuẩn. Khi vắng mặt vi khuẩn tương ứng của thực khuẩn thể thì thực khuẩn thể vẫn tồn tại được khá lâu trong nước. Chúng chỉ chết khi không nhận được thức ăn mà thôi. Vì vậy nếu phát hiện thấy thực khuẩn thể (ứng với loại vi sinh vật gây bệnh) trong nước thì chắc chắn cũng có vi sinh vật gây bệnh đã hay đang tồn tại.

#### **7.1.2.5. Ý nghĩa chỉ tiêu vệ sinh an toàn về giun**

Có hai loại giun sán là : giun sán địa chất và giun sán sinh học. Giun sán địa chất là loại giun sán mà trong quá trình phát triển không cần nhờ vật chủ trung gian. Giun sán sinh học là loại phải sống nhờ vào hai hoặc ba vật chủ trung gian.

Giun địa chất gồm: Giun đũa, giun kim, giun tóc... Giun sinh học gồm giun búi, sán chỉ, sán xơ mít, giun xoắn ...



Môi trường bên ngoài (đất, nước) bị nhiễm bẩn bởi giun sán là do nhiễm phân chứa giun sán.

Con người bị nhiễm giun sán là do ăn phải trứng giun hoặc bọ ở trong nước, trái cây, thức ăn, ... tươi sống.

Trong nước thải sinh hoạt và do đó nước sông hồ bị nhiễm bẩn bởi nước thải nên cũng chứa nhiều loại giun như giun đũa, giun kim, .... Trong ruột người, động vật chứa rất nhiều trứng giun, trứng giun này theo phân ra môi trường bên ngoài - lẫn vào đất, nước, trái cây, rau tươi... Từ đó chúng lại xâm nhập vào người, động vật và gây ra không ít những bệnh hiểm nghèo.

#### **7.1.2.6. Đánh giá nước dùng để ăn uống:**

Đáp ứng yêu cầu về chất lượng chất lượng thức ăn uống là một vấn đề khó và phức tạp. Nước dùng để ăn phải đáp ứng được những yêu cầu sau :

- Không nguy hại đối với cơ thể người, phải hợp khẩu vị.
- Tiện cho việc nấu thức ăn.
- Tiện cho việc rửa, giặt rũ quần áo ...

Ở đây chủ yếu chỉ xét yêu cầu đầu tiên : - Nước dùng để ăn uống phải được đánh giá theo các mặt: vi trùng học, sinh học, lý hoá học, giác quan vệ sinh, địa hình ...

#### **1. Đánh giá về vi trùng học**

Nước dùng để ăn uống không được chứa bất kỳ loại vi khuẩn gây bệnh nào. Nhưng đồng thời có rất nhiều loại vi khuẩn gây bệnh, nên không thể xác định sự có mặt của từng loại trong một mẫu nước, tức là không thể phân tích chỉ tiêu trực tiếp. Vì vậy chỉ tiêu vệ sinh về vi trùng học được đánh giá một cách gián tiếp, bằng trực khuẩn đường ruột, và tổng số vi khuẩn (MNP - Most Probable Number).

#### **2. Đánh giá về sinh học**

Trong nước để ăn uống không được chứa trứng giun sán, động thực vật phù du. Những loại động thực vật phù du tuy không độc hại nhưng nếu có trong nước cũng làm người dùng nước nhìn thấy ghê sợ, và chắc chắn cũng mang theo vi khuẩn.

Trong các nguồn nước mặt, nhất là hồ đầm thường có hiện tượng “phú dưỡng nở hoa” (Eutrofication). Do đó trong nước sẽ chứa các sản phẩm trao đổi hoặc các sản phẩm phân huỷ tế bào tảo rêu và làm nước có mùi vị khác thường: tanh, hôi,thối ...

#### **3. Đánh giá về vật lý**

Nước dùng để ăn uống phải trong sạch, không màu, mùi, vị, pH và nhiệt độ phải nằm trong giới hạn quy định theo quy phạm.

#### **4. Đánh giá về hoá học**

Trong thành phần nước tự nhiên chứa nhiều tạp chất hoá học khác nhau kể cả các chất phóng xạ. - Các chất khoáng chứa rất nhiều trong nước thiên nhiên, trong đó có nhiều hợp chất cần cho cơ thể con người. Tuy nhiên, những chất đó (amino, cation) được bổ sung chủ yếu từ thức ăn chứ không phải từ nước (trừ iod và fluor). Như vậy sự có mặt của những ion đó sẽ làm cho nước có cảm giác phù hợp là chính.

- Iod cần thiết cho sự hoạt động bình thường của tuyến giáp (mỗi ngày cơ thể người cần  $300\mu\text{g}$  iod). Nếu thiếu thì tuyến giáp họng bị kém phát triển, bề ngoài gọi là bệnh bướu cổ, khả năng tư duy kém - con người sinh đàn độn mất thông minh. Nguồn chính để bổ sung iod cho cơ thể người là nước, nhất là nước biển. Từ nước biển, iod theo hơi nước bay vào khí quyển rồi theo mưa vào đất liền - sông - hồ - đất. Càng ở những vùng cao và xa biển lượng iod trong khí quyển càng ít. Do đó nước ở những vùng cao nguyên chứa ít iod và bệnh bướu cổ phát sinh nhiều. Để chống bệnh bướu cổ người ta phải ioduor hoá nước, bổ sung muối iod vào thức ăn.

- Fluor cũng là một trong những nguyên tố phổ biến trong thiên nhiên. Nước mặt chứa ít Fluor hơn so với nước ngầm. Nếu nồng độ Fluor trong thức ăn uống quá thấp (dưới  $5,5 - 0,7 \text{ mg/l}$ ) sẽ làm mục xương răng (bị rụng răng). Nếu nồng độ Fluor quá cao (trên  $1,5\text{mg/l}$ ) sẽ làm người ta nhiễm độc Fluor. Do vậy nồng độ Fluor tối thích trong nước uống là  $0,7 - 1\text{mg/l}$ . Nếu nguồn nước không đủ Fluor người ta phải cho thêm vào.

- Chất phóng xạ cũng có trong nước thiên nhiên và trong không khí xung quanh ta với một lượng rất ít. Tổng lượng các chất phóng xạ trong cơ thể người không đáng kể. Sự có mặt của các chất phóng xạ với một lượng đáng kể trong cơ thể người sẽ dẫn đến hậu quả là cơ thể thường bị tác động của các tia  $\alpha, \beta, \gamma$ .

Sự phát triển của công nghiệp hiện đại sẽ làm cho nước thải chứa nhiều chất phóng xạ và do đó cả nước thiên nhiên, ngay cả động thực vật, thức ăn của người, cũng chứa nhiều chất phóng xạ.

- Nitrat: Đó là muối của axit nitric, chứa nhiều trong nước mặt và nước ngầm. Có nitrat trong nước chứng tỏ có các loại muối hoà tan và chứng tỏ có các muối hoà tan và chứng tỏ có quá trình khoáng hoá các chất bản hữu cơ diễn ra.

Nitrat quá nhiều trong nước uống (trên  $10 \text{ mg/l}$ ) gây nguy hiểm đối với trẻ sơ sinh 2-3 tháng, vì nó gây ra bệnh thiếu máu methemoglobine.

- Chất hữu cơ: Trong nước thiên nhiên, theo nguồn gốc, những tạp chất hữu cơ có thể chia ra:

- + Các chất hữu cơ sống.
- + Các chất hữu cơ chết (cặn bã hữu cơ)
- + Sản phẩm trao đổi của các vi sinh vật sống lẫn vào nước.
- + Các chất hữu cơ cùng với nước thải sinh hoạt, công nghiệp xả vào nguồn nước.

Theo mức độ phân huỷ, người ta chia ra: các chất dễ phân huỷ, khó phân huỷ và những chất độc.

Chỉ tiêu COD (oxy hoá) định lượng tổng cộng tất cả các chất hữu cơ trong nước nhưng không xác định được lượng các chất dễ hoặc khó phân huỷ. Khi đó tốt nhất là xác định chỉ tiêu NOS (BOD) - tức là đại lượng phản ánh lượng các chất hữu cơ dễ phân huỷ. Nước nguồn dùng để cấp nước sinh hoạt có NOS =  $2 - 3 \text{ mg/l}$ , đôi khi hơn một chút nhưng không được quá  $4\text{mg/l}$ .

### 5. Đánh giá theo giác quan

Đối với nước dùng để ăn uống, khi nồng độ các tạp chất rất thấp, đôi khi các phương pháp phân tích hoá học không đủ chính xác thì người ta dùng giác quan để thử. Có thể dùng 3 trong 5 giác quan của người (vị, khứu, thị giác) để đánh giá chất lượng nước uống. Tất nhiên khi nước đục, có màu, mùi, vị khác thường thì con người sẽ cảm thấy được. Đó là phản xạ tự vệ tự nhiên của người.

- *Màu*: Nếu nước trong sạch thì nước không màu. Nếu có màu, chứng tỏ nước thiên nhiên chứa tạp chất như hutnic, tanin, muối sắt ...

- *Mùi*: Nước dùng để ăn uống, không được có mùi. Nếu có mùi chứng tỏ nước bị nhiễm bẩn và nguyên nhân có thể là : do tạo thành  $H_2S$ , sản phẩm của sự phân huỷ các chất hữu cơ có chứa S hoặc do có  $FeS_2$ , chất này tác dụng với axit cacbonic rồi tạo thành  $H_2S$ . Có thể do các sản phẩm thổi rửa hay do các vi sinh vật phù du phát triển trong nước.

- *Vị*: Nước dùng để uống có vị "ngon" đặc biệt. Tất nhiên ở đây có thể sai lệch do cảm giác chủ quan của từng người, của dân từng địa phương. Thường nếu nước có chứa  $CO_2$  thì làm cho nước có vị tươi mát. Nếu nước có chứa các loại muối khoáng người ta cũng dễ thấy: như muối NaCl thấy mặn, các loại muối khác có thể chát, axit hữu cơ thấy chua...

### 6. Đánh giá theo trạng thái vệ sinh địa hình

Tất cả các phương pháp đánh giá trong phòng thí nghiệm trên chỉ đặc trưng cho một dung tích nhỏ của mẫu nước phân tích (1-2lít). Trong khi đó như ta biết :các loại vi khuẩn, các chất hữu cơ phân bố không đều ở toàn khối nguồn nước. Do đó cần phải đánh giá về trạng thái vệ sinh địa hình. Nội dung công việc bao gồm:

a) *Nghiên cứu bản đồ địa lý, địa chất khu vực xung quanh nguồn nước*: Ở đây ta sẽ xác định được những hồ, nhánh sông chảy tới bờ cấp, những vùng dân cư, công nghiệp có khả năng gây nhiễm bẩn nguồn nước... Và mặt cắt địa chất, tính chất của hai bờ, đáy sông, hồ.

b) *Quan sát nguồn cấp nước, các điểm gây nhiễm bẩn nguồn nước* : nước thải sinh hoạt, công nghiệp, nhà tắm, giặt công cộng, lược sử tình hình dịch bệnh vùng dân cư... Nếu nguồn cấp nước là nguồn nước ngầm thì song song với mặt cắt địa chất phải xét trữ lượng nước, vị trí và biện pháp khai thác nước, tình trạng mạng lưới thoát nước vùng dân cư lân cận.

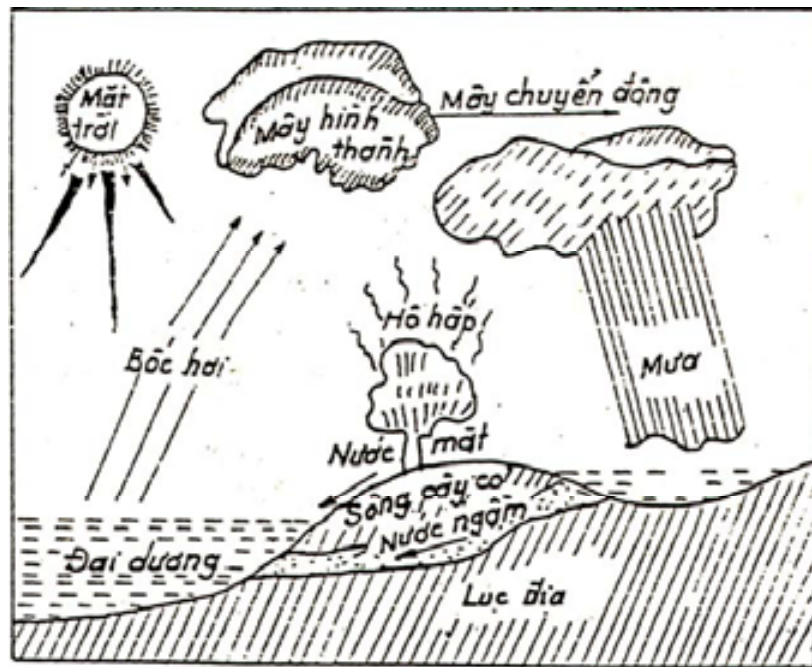
## 7.2. SỰ NHIỄM BẨN NGUỒN NƯỚC, QUÁ TRÌNH TỰ LÀM SẠCH CỦA NƯỚC NGUỒN (SÔNG, HỒ)

Nhìn chung những quá trình sinh hóa diễn ra khi xử lý nước thiên nhiên không phức tạp như khi xử lý nước thải, vì các chất hữu cơ trong nước thiên nhiên, nước cấp

ít hơn cả về lượng cũng như loại các chất. Chúng ta hãy xét các loại nguồn nước, sự nhiễm bẩn và quá trình tự làm sạch của nước nguồn, đặc biệt là nguồn nước mặt để tạo cơ sở cho quá trình làm sạch nước trong công nghệ xử lý nước.

### 7.2.1. Các loại nguồn nước:

Tất cả các loại nước trong thiên nhiên đều qua dạng nước mưa. Nước bay hơi từ đại dương, ngưng tụ lại thành những đám mây rồi lại rơi xuống lục địa thành mưa, tuyết. Sau đó nước tập trung vào sông hồ rồi lại chảy ra biển, đại dương. Chu trình thủy văn gồm 3 nguồn nước: Nước mưa, nước mặt, nước ngầm.



Hình 7.2 Sơ đồ chu trình thủy văn

- *Nước mưa*: Về mặt vệ sinh, vi trùng học và hóa học, thì nước mưa sạch nhất, chỉ có nhược điểm là nồng độ muối trong đó quá ít.

*Nước ngầm*: Về mặt vệ sinh thì nước ngầm kém nước mưa, nhưng sạch hơn nước mặt. Nhiều khi không phải xử lý mà vẫn sử dụng được. Thực chất nước ngầm là do nước mặt thấm xuống đất. Thành phần hóa lý của nước ngầm tùy thuộc cấu tạo địa chất và thành phần nước mặt.

Đối với nước ngầm, sự nhiễm bẩn về vi khuẩn rất đa dạng. Thông thường nước ngầm mạch nông bị nhiễm bẩn nhiều hơn so với nước ngầm mạch sâu. Càng thấm sâu xuống lòng đất, vi khuẩn càng ít đi bởi vì những lớp đất trên cũng có khả năng giữ lại hầu hết vi khuẩn. Nhiều số liệu cho thấy ở dưới các hố phân, vi khuẩn không thể thâm nhập xuống chiều sâu 30-40cm cách mặt đất. Tuy nhiên có khi ở độ sâu 1.5m và hơn nữa cũng phát hiện thấy vi khuẩn và làm nước ngầm bị nhiễm khuẩn.

Các chất hóa học thấm xuống lòng đất sâu hơn. Nhưng trong quá trình thẩm thấu cùng với nước xuống đất, các chất đó có thể bị thay đổi thành phần. Chẳng hạn cách mặt đất 0.5m nhiều chất hữu cơ đã bị phân hủy hoặc oxy hóa. Người ta đã nghiên cứu, phân tích và cho thấy ở độ sâu 30.5cm NOS không vượt quá 5ml/l, thậm chí khi NOS ban đầu trên mặt đất là 100mg/l, ở độ sâu đó không còn thấy phosphat nữa.

Vi khuẩn và hóa chất không chỉ thẩm thấu theo chiều sâu mà còn khuếch tán theo chiều ngang. Thí nghiệm cho thấy cùng với nước ngầm, các hóa chất khuếch tán xa hơn vi khuẩn (xem bảng sau).

Tác giả	Khoảng cách giới hạn khuếch tán (m)	
	Vi khuẩn	Hóa chất
Stibes, Croburst (Buthor 1954)	20	34
Stibes, Croburst (Buthor 1954)	70	135
Caldwell (Buthor 1954)	15	90
Muscat (1941)	Hàng chục	150
Kipichnicoy (1946)	6	40

Khoảng cách khuếch tán tùy thuộc lượng bản ban đầu, tính chất đất, kích thước hạt. Tuy nhiên, có thể coi rằng vi sinh không thể thấm vào giếng nước cách xa nguồn bản 20m đối với đất á sét, 200m đối với đất cát (Jucóp & Ampolski 1951).

- *Nước mặt*: Khi nước mưa rơi xuống đất, chảy vào các sông hồ gọi là nước mặt. Nước mặt bản nhất cả về vi sinh vật, chất hữu cơ, vô cơ. Nước mặt rất giàu các chất dinh dưỡng – môi trường tốt cho nhiều vi sinh vật phát triển, kể cả nấm và động vật hạ đẳng.

### 7.2.2. Sự nhiễm bản nguồn nước mặt:

Sự nhiễm bản nguồn nước có thể do tự nhiên hoặc nhân tạo. Các chất bản có thể ở dạng chất lơ lửng, keo, tan, chất độc, vi sinh vật, sinh vật... Sự nhiễm bản tự nhiên là do mưa rơi xuống mặt đất, kéo theo các chất bản xuống sông hồ hoặc do các sản phẩm sống, hoạt động phát triển của sinh vật, vi sinh vật - kể cả xác chết của chúng. Sự nhiễm bản nhân tạo chủ yếu do nước thải vùng dân cư đô thị, công nghiệp cũng như tàu thuyền xả ra.

#### - Nhiễm bản tự nhiên:

Nước mưa hay tuyết là nguồn bổ cập cho nguồn nước mặt, nước ngầm. Thành phần nước mưa biến đổi theo thời gian, không gian và tùy thuộc lượng các tạp chất bản trong không khí, trên mặt đất. Nếu ở trong những khu vực nghiên cứu hạt nhân thì nước mưa chứa cả những chất phóng xạ. Ngay cả lượng mưa cũng ảnh hưởng tới thành phần nước sông hồ. nếu tính rằng với thời gian 20', thì lượng nước mưa ở Hà Nội hay các thành phố ở Việt Nam sẽ là bao nhiêu và tập trung vào sông hồ chứa bao nhiêu chất bản từ các mặt phủ, mặt đất ở các vùng?

Nước mưa cũng rất bẩn và ảnh hưởng nhiều tới chế độ dòng chảy của sông hồ và chất lượng nước trong đó.

**- Nhiễm bẩn nhân tạo:**

- Nước thải đô thị: Đó là nước thải sinh hoạt và công nghiệp trong phạm vi đô thị.

Trong nước thải đô thị chứa rất nhiều vi sinh vật, giun sán, cả vi sinh vật gây bệnh, nhất là vi sinh vật gây bệnh đường ruột. Chúng chiếm một khối lượng đáng kể trong các chất hữu cơ trong nước thải.

Về thành phần cơ lý, chất bẩn trong nước thải bao gồm các chất lơ lửng không tan (huyền phù), keo và tan. Theo Heukelekian và Balmat, trong nước thải sinh hoạt các chất dạng huyền phù chứa 80% là hữu cơ, keo, các chất tan chủ yếu là các chất khoáng. Các chất hữu cơ trong nước thải sinh hoạt chủ yếu là các chất béo, đạm (chứa nitơ), đường (chứa carbon) như xenlulo, hemixenlulo, pectin, tinh bột... Ngoài ra trong nước thải còn chứa cation  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ...

- Nước thải sản xuất – công nghiệp: Nhiều lĩnh vực công nghiệp tiêu thụ và thải ra một lượng nước khổng lồ như công nghiệp luyện kim đen, hóa học, chế biến lọc hóa dầu, dệt nhuộm, thực phẩm... Thành phần tính chất nước thải công nghiệp rất đa dạng. Ngoài các chất bẩn thông thường, trong nước thải công nghiệp còn chứa các chất độc hại. Khi lẫn với nước nguồn, chúng sẽ tiêu diệt các loài thủy sinh vật. Khi nền công nghiệp càng phát triển, các chất bẩn mới xuất hiện càng nhiều, mức độ độc của chúng đối với sinh vật lại chưa rõ. Vì vậy phải xác định độ độc của chúng cũng như nồng độ giới hạn cho phép đối với các loài sinh vật, phải xác định mức độ cần thiết làm sạch, các phương pháp xử lý nước thải.

Trong các xí nghiệp công nghiệp còn có cả các loại nước thải quy ước sạch. Đó là các loại nước làm nguội thiết bị, sản phẩm, nhất là ở các nhà máy nhiệt điện. Tuy nước này không bẩn, nhưng có thể ngẫu nhiên do sự cố thiết bị nên cũng có thể làm nhiễm bẩn nguồn nước. Các loại nước này có thể làm nhiệt độ nước nguồn tăng lên, làm nghèo oxy trong đó hoặc làm sinh vật bị tiêu diệt.

- Nước tưới tiêu, thủy lợi: Trong nông nghiệp sử dụng nhiều nước để tưới ruộng. Hệ thống nước tưới của thủy lợi là sản phẩm quan trọng trong cách mạng xanh. Nước tưới ruộng, phần lớn thấm xuống đất và bay hơi, một phần quay lại hồ. Phần nước này mang theo chất lơ lửng xói mòn từ đất, nhiều loại chất độc, thuốc trừ sâu... Vì khối lượng nước này quá nhiều, không thể thực hiện xử lý làm sạch được. Kết quả một mặt gây ô nhiễm nguồn nước, mặt khác làm giảm độ phì của đất. Một điều nguy hiểm đối với các vùng khô, bay hơi mạnh: những kênh mương tưới rất nông cạn, nên lượng nước mất đi do bay hơi rất lớn. Kết quả làm tăng hàm lượng muối trong nước tưới và đất trồng, làm thay đổi thành phần nước ngầm.

- Sự nhiễm bẩn do vận tải đường thủy: Vận tải thủy là dạng vận tải kinh tế nhất. Tuy chậm nhưng ngày nay hình thức này rất phổ biến. Có thể nói ở các nước, từ 50-90% hàng hóa được vận tải bằng đường thủy. Trong công nghiệp lọc hóa dầu, bất kỳ loại dầu nào cũng đều chứa nước. Khi vận chuyển, nước tích lại dưới đáy tàu. Sau khi bơm dầu đi, để tránh ô nhiễm sông biển, người ta cấm xả nước này gần bờ biển nếu

hàm lượng dầu vượt quá 50mg/l. Cho dù xả bằng cách nào cũng làm biến bị ô nhiễm và tiêu diệt sinh vật biển - nhất là thực vật - nguồn cung cấp oxy cho khí quyển ở đất liền.

Ngoài các sản phẩm dầu, các tàu thuyền còn làm nhiễm bản sông biển do xả nước thải sinh hoạt. Vì vậy phải có thiết bị riêng trên tàu thuyền để xử lý hoặc chứa rồi xả ra những vùng quy định.

### 7.2.3. Quá trình tự làm sạch của nguồn nước mặt:

Sông hồ là những công trình thiên nhiên hoặc nhân tạo, là những nguồn cung cấp nước mặt, đồng thời là nơi tiếp nhận nước mưa, nước thải sinh hoạt, công nghiệp... Tất cả các dòng nước chảy về sông hồ đều mang theo các chất bản hữu cơ, vô cơ. Ở những điều kiện bình thường thích hợp thì những chất đó kích thích sự phát triển của sinh vật. Ở những vùng sông, suối vùng núi cao thì sự sống của sinh vật đơn điệu, nghèo nàn hơn, vì ít chất dinh dưỡng hơn. Nhưng những con sông chảy qua những vùng đồng bằng phì nhiêu màu mỡ, dân cư đông đúc, trù phú thì hoạt động sống của sinh vật rất phong phú vì đầy đủ chất hữu cơ, chất dinh dưỡng. Nếu các chất bản (theo lượng từng chất và số loại chất) vừa đủ phù hợp với khả năng đồng hóa của sinh vật thì các quá trình sinh hóa sẽ diễn ra trong điều kiện hiếu khí và có lợi cho con người. Nếu các chất bản quá nhiều, vượt quá khả năng đồng hóa của sinh vật thì các dạng sinh vật thượng đẳng sẽ phải bỏ đi, chỉ còn lại vi khuẩn phát triển, tạo điều kiện yếm khí, gây tổn thất cho con người. Khi đó, nguồn nước sông hồ bị nhiễm bản. Ngày nay, do sự phát triển đô thị, công nghiệp và nền kinh tế xã hội nói chung, các dòng sông sẽ bị nhiễm bản quá mức, và là mối lo ngại lớn cho con người.

#### 7.2.3.1. Quá trình tự làm sạch:

Quá trình tự làm sạch của nguồn nước có thể chia làm 2 giai đoạn:

- Quá trình xáo trộn, pha loãng giữa các dòng chất bản với khối lượng nước nguồn. Đó là quá trình vật lý thuần túy.

- Quá trình tự làm sạch với nghĩa riêng của nó. Đó là quá trình khoáng hóa các chất bản hữu cơ – hay rộng hơn, đó là quá trình chuyển hóa, phân hủy các chất bản hữu cơ nhờ các thủy sinh vật, vi sinh vật. Ở mức độ nhất định, dù ít dù nhiều, tất cả những cơ thể sống đó đều tham gia vào quá trình, đồng thời chúng sinh trưởng, sinh sản (kể cả chết) và phát triển. Sinh khối của chúng tăng lên.

Trong các dòng sông chảy, các dòng chất bản sẽ pha loãng với nước sông trên một khoảng nhất định. Trong suốt khoảng chiều dài đó, có thể phân biệt các vùng sau đây:

- Vùng xả chất bản;
- Vùng xáo trộn hoàn toàn;
- Vùng bản nhất, ở đó hàm lượng oxy hòa tan ít nhất;
- Vùng phục hồi, ở đó kết thúc quá trình tự làm sạch.

tan  
ít bản  
cđ

ng - hoạt động

*Hình 7.3 Ảnh hưởng của chất bẩn đối với sự sống - hoạt động của sinh vật trong nước sông.*

Cường độ quá trình tự làm sạch tùy thuộc nhiều yếu tố: dung lượng nước sông, tốc độ dòng chảy, điều kiện làm thoáng hòa tan oxy theo bề mặt, chiều sâu dòng chảy, nhiệt độ, thành phần hóa lý của nước, tính chất các chất bẩn...

Trước hết, xét một số khái niệm cơ bản:

***a- Tổng sản phẩm sơ cấp trong nước nguồn:***

Theo phương thức dinh dưỡng, tất cả các cơ thể sống trên trái đất được chia thành 2 loại: sinh vật sản xuất và sinh vật tiêu thụ. Sinh vật sản xuất là các loại tự dưỡng, tạo chất hữu cơ bằng cách cố định  $\text{CO}_2$ . Sinh vật tiêu thụ là các sinh vật dị dưỡng, chỉ sử dụng chất hữu cơ có sẵn. Sinh vật sản xuất bao gồm tất cả các thực vật, vi khuẩn tự dưỡng (trùng nấm). Sinh vật tiêu thụ gồm tất cả những loài sinh vật còn lại.

Chất hữu cơ tạo ra trong quá trình quang hóa hợp được gọi là sản phẩm sơ cấp. Khối lượng chủ yếu của sản phẩm sơ cấp được tổng hợp nhờ thực vật. vai trò của vi khuẩn trong quá trình này không lớn lắm.

Việc tổng hợp sản phẩm sơ cấp là cơ sở sự sống trên trái đất. Việc tái tạo các chất hữu cơ liên quan mật thiết với quang hóa, tức là tùy thuộc điều kiện chiếu sáng. Tuy nhiên, lượng sản phẩm sơ cấp không chỉ phụ thuộc cường độ quang hóa mà còn tùy thuộc lượng thực vật. Dù quang hợp có mạnh nhưng lượng thực vật trong sông hồ ít thì lượng sản phẩm sơ cấp cũng ít. Ngược lại dù quang hợp có hơi yếu nhưng trong sông hồ nhiều thực vật phù du và thực vật thượng đẳng thì lượng sản phẩm sơ cấp sẽ rất lớn. Độ sâu nguồn nước càng tăng thì độ chiếu sáng càng giảm và lượng sản phẩm



sơ cấp sẽ tùy thuộc nhiều vào sự phân bố thực vật theo chiều dày lớp nước. Thực vật nằm ở lớp sâu, ít được chiếu sáng thì sản lượng sơ cấp sẽ giảm.

Giai đoạn quang hợp ngoài ánh sáng thường ngắn hơn giai đoạn quang hợp trong bóng tối, nên tảo có thể sống, tồn tại ở ngoài vùng chiếu sáng tốt. Khi nổi lên mặt nước, chúng nhận một lượng bức xạ mặt trời cần thiết, khi chìm xuống sâu chúng sẽ thực hiện quang hợp tối. Khi khí hậu ôn hòa, tảo phân bố trong sông, hồ không đều, lớp trên nhiều tảo hơn lớp dưới. Như vậy phần tảo bị đốt ánh sáng bao giờ cũng ít hơn so với khi chúng phân bố đều theo chiều dày lớp nước.

Thành phần của nước, cụ thể là lượng nitơ, phospho cũng ảnh hưởng tới lượng sản phẩm sơ cấp. Nhu cầu các nguyên tố dinh dưỡng đối với các loài thực vật không giống nhau.

- Lượng sản phẩm sơ cấp được biểu thị bằng khối lượng (hoặc đơn vị năng lượng tương đương), được tổng hợp trong một đơn vị thời gian. Sản phẩm có thể tính theo đơn vị dung tích, diện tích hoặc toàn bộ nguồn nước.

Khi quang hợp, các quá trình tái tạo sinh khối mới của thực vật phù du, việc tạo oxy và năng lượng liên quan với nhau.

Cần chú ý rằng không phải lúc nào sự tăng sinh khối của tảo cũng đồng nhất với lượng sản phẩm sơ cấp.

#### ***b- Chuyển hóa và phân hủy chất hữu cơ:***

- Sinh khối của các sinh vật tự dưỡng: Tảo, thực vật nước bậc cao, vi khuẩn là nguồn thức ăn cho các loài dị dưỡng – vi khuẩn, nấm, động vật phù du, Necton. Trong số này có nhóm sinh vật đặc biệt gọi là sinh vật hoại sinh, khoáng hóa chất hữu cơ chết, chúng cung cấp các nguyên tố khoáng cho cho loại tự dưỡng.

- Vi khuẩn và nấm phân hủy các loài tảo chết nhờ hệ men ngoại bào. Một phần chất hữu cơ sẽ bị khoáng hóa, phần còn lại chuyển thành các chất đơn giản hơn mà chúng có thể sử dụng được. Trong tế bào các vi sinh vật đó, các chất đơn giản này được chuyển hóa và nằm trong thành phần của tế bào ở dạng protein và các chất dinh dưỡng dự trữ. Như vậy, những vi sinh vật hoại sinh tham gia vào việc phân hủy chất hữu cơ của loại tự dưỡng và tổng hợp chất hữu cơ cho tế bào của mình. Chúng là loại dị sinh bậc 1. Những loại dị sinh bậc 1 còn bao gồm cả loại động vật sử dụng thực vật, kể cả cá hoa. Những chất hữu cơ tạo nên loại động vật ăn thực vật (phytophage) – là loài dị sinh bậc 2. Cứ như vậy, tạo nên chất hữu cơ- sản phẩm bậc 3...

Để đặc trưng cho trình tự chuyển hóa các chất hữu cơ, người ta dùng khái niệm “mức dinh dưỡng”. Các loại sử dụng phytophage - bậc 3... Việc chuyển hóa chất hữu cơ (và cả năng lượng trong đó) từ mức dinh dưỡng này sang mức khác, số loài và sinh khối của chúng thường giảm dần và tạo ra nhiều tháp sinh khối. Những loài nhỏ nhưng tốc độ sinh sản nhanh với cùng một sinh khối thường tạo ra nhiều chất hữu cơ hơn các loài to lớn. Tuy nhiên cũng có khi, sinh khối của loài thuộc mức dinh dưỡng sau lớn hơn sinh khối của loài thuộc mức dinh dưỡng trước. Sinh khối là tổng khối lượng của tất cả các sinh vật thuộc một mức dinh dưỡng nào đó, còn sản phẩm là sinh khối tạo ra ở một mức dinh dưỡng nào đó trong một khoảng thời gian nhất định (trong đó kể cả khối lượng đã tiêu thụ, chết hoặc tách khỏi hệ thống).

Khác với sinh khối, năng lượng của một chất hữu cơ nào đó khi chuyển từ mức dinh dưỡng này sang mức dinh dưỡng khác thì luôn luôn giảm.

Trong bất kỳ “mức dinh dưỡng nào”, thức ăn do những vi sinh vật sử dụng đều không hấp thụ được hết và bao giờ cũng còn lại một ít. Ở lượng đã hấp thụ được, một phần tiêu hao cho việc tăng sinh khối, một phần bị oxy hóa để sinh năng lượng. Năng lượng này lại có thể sử dụng cho mức dinh dưỡng tiếp theo. Phần năng lượng tiêu thụ trong các quá trình sống, hoạt động của sinh vật, được tản vào không gian và bị loại khỏi quá trình chuyển hóa chất hữu cơ. Tuy nhiên khi tản năng lượng, cũng diễn ra quá trình khoáng hóa chất hữu cơ. Đồng thời với việc giải phóng năng lượng cũng giải phóng CO<sub>2</sub> và các nguyên tố dinh dưỡng vào nước. CO<sub>2</sub> và các nguyên tố dinh dưỡng lại tạo ra sản phẩm sơ cấp - tức là lại tích lũy năng lượng.

Tổng năng lượng, bao gồm tích lũy khi tăng sinh khối (S), tiêu hao trong các quá trình trao đổi chất (T) và còn lại phần thức ăn chưa hấp thụ được (C) bao giờ cũng bằng năng lượng chứa trong thức ăn ban đầu (A):

$$A = S + T + C \quad (\text{Đơn vị năng lượng hoặc lượng oxy})$$

Hiệu suất sử dụng thức ăn được đặc trưng bằng các hệ số không thứ nguyên:

$$K_1 = \frac{S}{A} \quad \text{Hệ số sử dụng thức ăn tiêu thụ cho sinh trưởng}$$

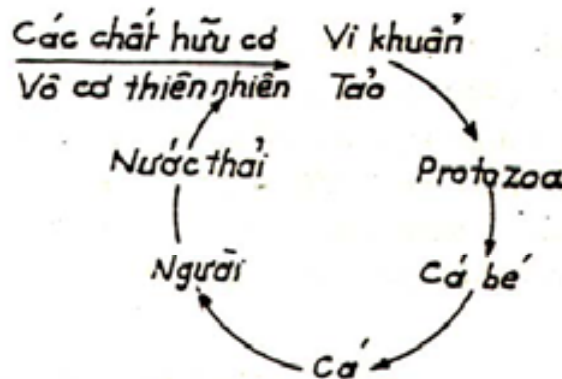
$$K_2 = \frac{S}{A - C} = \frac{S}{S + T} \quad \text{Hệ số sử dụng phần thức ăn đã hấp thụ tiêu thụ cho sinh}$$

trưởng

K<sub>1</sub> và K<sub>2</sub> càng cao thì hiệu quả sử dụng thức ăn cho việc tăng sinh khối càng cao.

Số mức năng lượng của loại pelagian (sinh vật phù du) thường là 3-4, của sinh vật đáy là 2-3.

- VD:
- |                   |                                |
|-------------------|--------------------------------|
| Mức dinh dưỡng 1: | Vi khuẩn                       |
| Mức dinh dưỡng 2: | Trích trùng ăn vi khuẩn        |
| Mức dinh dưỡng 3: | Động vật phù du ăn trích trùng |
| Mức dinh dưỡng 4: | Cá bé ăn động vật phù du       |
| Mức dinh dưỡng 5: | Cá lớn                         |



Hình 7.4 Chu trình sinh hoá tự nhiên trong sông hồ

Có thể nói vi khuẩn là nhân tố chính của quá trình sinh hóa bình thường trong nguồn nước thiên nhiên. Chúng biến các chất hữu cơ hòa tan thành tế bào của mình và

các chất vô cơ. Những chất vô cơ lại được tái sử dụng để xây dựng tế bào. Những vi khuẩn và tảo lại là thức ăn cho các sinh vật hạ đẳng sử dụng. Động vật hạ đẳng, tảo, vi khuẩn lại là thức ăn cho cá bé rồi các loại cá lại là thức ăn cho con người. Chu trình cứ thế tiếp diễn. Cần chú ý rằng sinh khối của cá chiếm phần rất nhỏ trong sản phẩm sơ cấp. Nếu trong nước chỉ có loài cá ăn cỏ - tức là loài thuộc mức dinh dưỡng thứ 2 thì sinh khối cuối cùng sẽ nhiều hơn đáng kể.

### ***7.2.3.2. Vai trò của các loài thủy sinh trong quá trình tự làm sạch nguồn nước:***

Vai trò của các loài thủy sinh vật trong quá trình phân hủy chất hữu cơ trong nước nguồn có thể tóm tắt như sau:

- Thực vật phù du làm giàu oxy trong nước. Oxy thì cần cho quá trình phân hủy chất hữu cơ, làm giảm các nguyên tố dinh dưỡng trong nước. Thực vật phù du là nguồn thức ăn cho các loài sinh vật ăn thực vật. Tuy nhiên nếu thực vật phù du phát triển quá mạnh thì lại làm nguồn nước bị nhiễm bẩn lần thứ hai.

- Những loài thực vật lớn cũng làm giàu oxy trong nước và làm giảm lượng các chất dinh dưỡng, tham gia tích cực vào việc khử các sản phẩm dầu, các chất độc, dễ tách khỏi bùn nước. Ở những sông hồ ít nước, chúng dễ biến thành đầm lầy.

- Vi khuẩn đóng vai trò chính trong quá trình phân hủy các chất hữu cơ, chúng có khả năng phân hủy bất kỳ loại hợp chất hữu cơ nào trong thiên nhiên, là nguồn thức ăn cho các sinh vật ở mức tiếp theo.

- Động vật phù du ăn thực vật và vi khuẩn, đồng thời cũng tham gia quá trình phân hủy các chất hữu cơ. Có thể tách các chất lơ lửng và làm cho nước trong. Chúng làm giảm hàm lượng oxy trong nước do hô hấp cũng như do chúng ăn thực vật phù du. Chúng làm xáo trộn nước và hấp thụ các sinh vật gây bệnh, có thể khử trùng trong nước.

- Các loại động vật phù du lớn ăn thực vật phù du, tham gia quá trình phân hủy chất hữu cơ - ở mức độ nào đó cũng ảnh hưởng tới chế độ oxy trong nước. Cá là tột đỉnh của các mức dinh dưỡng. Những loài cá ăn thực vật sẽ làm cản trở hiện tượng “nở hoa” trong nguồn nước và gây ảnh hưởng đối với thành phần tất cả các loài thủy sinh vật ở các mức dinh dưỡng khác nhau.

Mối quan hệ về thức ăn giữa các loài thủy sinh vật rất phức tạp, nên gặp nhiều khó khăn trong nghiên cứu. Việc tính toán các sản phẩm của các mức dinh dưỡng rất cần thiết, do một mặt ta hình dung nguồn thức ăn của con người và cá, mặt khác để xác định sự phân hủy chất hữu cơ trong nguồn nước diễn ra tới mức độ nào. Trong nguồn nước số mức dinh dưỡng càng nhiều thì phần sản phẩm sơ cấp nằm trong sản phẩm cuối cùng càng ít.

### ***7.2.3.3. Ảnh hưởng của các chất bẩn đối với nước nguồn:***

Tùy thuộc số lượng, thành phần tính chất của mình mà các chất bẩn có thể gây ra những hậu quả khác nhau đối với nước nguồn:

- Làm thay đổi tính chất hóa lý, độ trong, màu, mùi, vị, pH, hàm lượng các chất hữu cơ, vô cơ, xuất hiện các chất độc, chất nổi, chất dễ lắng cặn...

- Làm giảm hàm lượng oxy hòa tan do phải tiêu hao cho các quá trình oxy hóa sinh hóa các chất bản hữu cơ.

- Làm thay đổi số lượng và các chủng loại vi sinh vật, sinh vật, xuất hiện các loại vi sinh vật gây bệnh, làm cá chết... Kết quả không thể sử dụng làm nguồn cung cấp nước được.

Nhìn chung tất cả những thay đổi đó có liên quan mật thiết với nhau. Đặc biệt các chất bản trong nước thải sản xuất là những chất độc hại đối với thủy sinh vật. Nồng độ các chất hữu cơ quá cao sẽ tạo điều kiện yếm khí trong nước, các chất sulfure sẽ làm giảm khả năng oxy hóa khử của nước. Nếu hàm lượng các chất dinh dưỡng trong nước nguồn tăng lên sẽ dẫn đến hiện tượng "nở hoa" - phát triển rêu tảo...

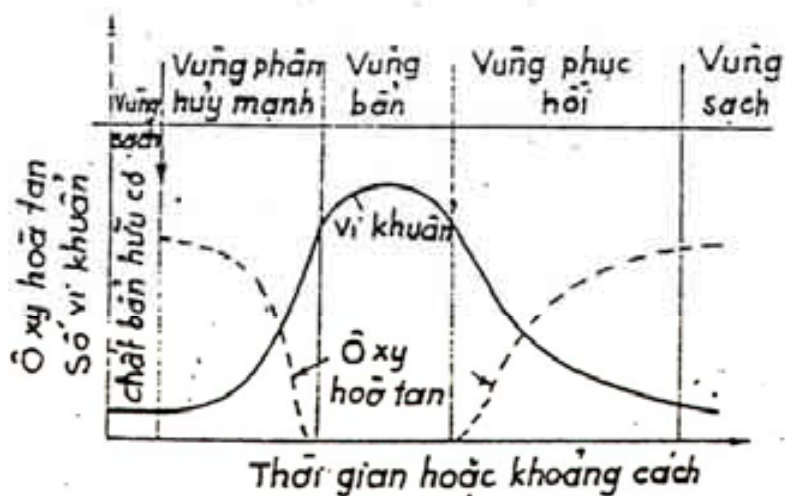
- Ảnh hưởng độc hại: Các chất bản độc hại có thể gây tác động khác nhau đối với thủy sinh vật, tùy thuộc bản chất, nồng độ của chúng. Một chất độc nào đó có thể phá hoại chế độ trao đổi chất hoặc nhịp độ sinh trưởng, phát triển của thủy sinh vật, tới một giá trị nồng độ nào đó, chúng sẽ bị tiêu diệt. Đối với nhiều loại sinh vật, có thể chưa thấy ngay tác động độc hại, mà mới chỉ làm hỏng cơ quan sinh sản, hoặc gây ảnh hưởng tới nhiều thế hệ sau. Kết quả là số lượng cá thể sinh vật, số loài sẽ bị giảm dần...

Các loài sinh vật có khả năng chịu đựng khác nhau đối với từng loại chất độc. VD: As có thể làm tôm, Daphnia, Xiclop chết ở nồng độ 0.25-2.5mg/l; đối với cá: 10-2mg/l.

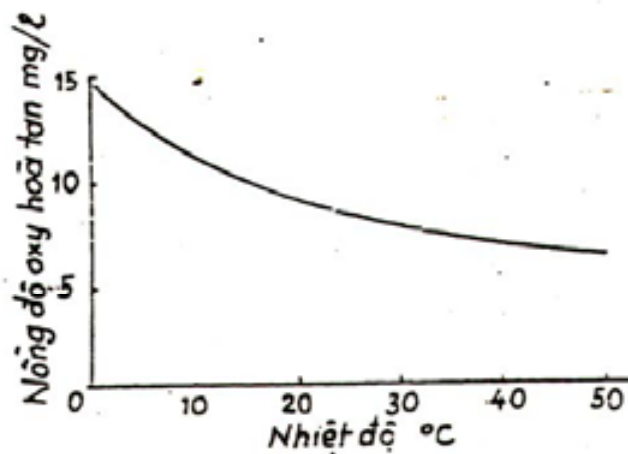
Trong thực tế bảo vệ vệ sinh nguồn nước, người ta đã xác định nồng độ giới hạn cho phép của từng chất độc đối với vi sinh vật và sinh vật. Nồng độ giới hạn cho phép là giá trị nồng độ cao nhất, với giá trị đó, các quá trình khoáng hóa các chất hữu cơ không bị phá hủy, không làm xấu giá trị "thực phẩm" của nước, không gây độc hại đối với quá trình sống, hoạt động của thủy sinh vật - những tác nhân quan trọng trong quá trình chuyển hóa chất hữu cơ. Như vậy nồng độ giới hạn cho phép sẽ đảm bảo cho quá trình sinh hóa diễn ra bình thường, đảm bảo cho chất lượng nước được tốt, đồng thời không làm giảm giá trị hàng hóa của các sinh vật.

- Sự thay đổi chế độ hòa tan của oxy trong nước nguồn; lượng vi khuẩn và nấm trong nước tùy thuộc nhiều yếu tố. Trong nguồn nước sạch thường không đủ chất hữu cơ (chất dinh dưỡng) cho các loại hoại sinh. Khi các chất hữu cơ lẫn vào nước nguồn thì các vi sinh vật phát triển nhảy vọt. Trong quá trình sinh trưởng phát triển, các vi sinh vật tiêu thụ càng nhiều oxy. Kết quả nồng độ oxy trong nước giảm, thậm chí bị tiêu thụ hoàn toàn, làm thay đổi thế năng oxy hóa khử của môi trường; các phản ứng khử diễn ra chủ yếu: khử nitrat, khử sulfat, hình thành các chất sulfure và tạo điều kiện yếm khí trong môi trường. Sự thay đổi chế độ khí oxy hòa tan sẽ kéo theo sự thay đổi quần thể sinh vật. Các loài thích nghi với nước sạch trước đây thì bây giờ khi thiếu oxy sẽ bị chết (đầu tiên là cá rồi tiếp là những động vật thượng đẳng), đồng thời các loài quần thể thích nghi với điều kiện thiếu khí sẽ phát triển, độ oxy hóa các chất hữu cơ giảm và trong nước nguồn sẽ tích lũy sản phẩm không bị oxy hóa hoàn toàn.

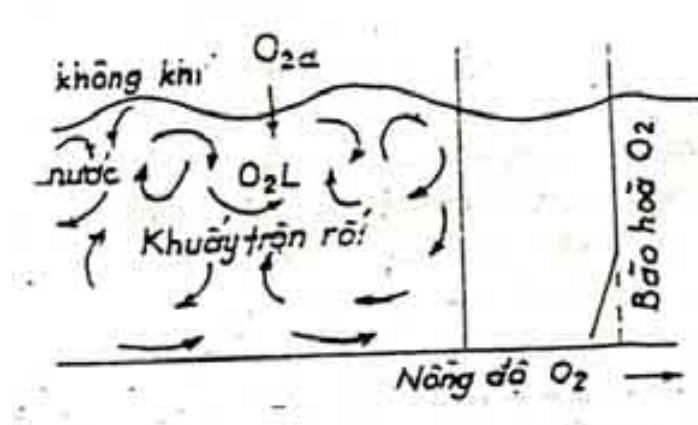
- Nồng độ oxy trong nước sông bản rất thấp, ở 20°C chỉ khoảng 8mg/l (Hình 7-5). Khi nhiệt độ tăng lên, độ hòa tan oxy lại giảm. Trong khi đó cường độ các quá trình oxy hóa và tốc độ tiêu thụ oxy lại tăng lên và ngược lại.
- Trong các dòng sông chảy xiết, do dòng chảy rối nên các lớp nước trên cùng gần biên giới nước – không khí sẽ hòa tan được nhiều oxy. Khi khuấy trộn với các lớp dưới ít oxy thì việc cung cấp oxy cho vi sinh vật sẽ được đầy đủ (Hình 7-6).



Hình 7.5 Mối quan hệ giữa nồng độ trung hoà tan và số vi khuẩn ở các vùng khác nhau

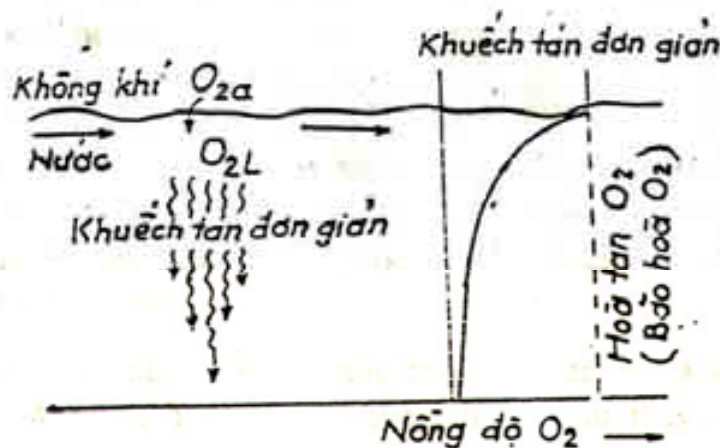


Hình 7.6 Độ hoà tan oxy trong nước ở các vùng nhiệt độ khác nhau



Hình 7.7 Sự hoà tan oxy trong dòng chảy

Ở các dòng sông chảy chậm hoặc ở các hồ, các lớp nước trên cùng có oxy hòa tan, nhưng oxy chỉ khuếch tán xuống các lớp dưới với lượng ít nên nói chung ở các lớp nước dưới thường tạo thành điều kiện yếm khí.



Hình 7.8 Sự hoà tan oxy trong dòng chảy chậm

- Nồng độ các chất dinh dưỡng: Sự tiêu thụ oxy là kết quả trực tiếp của các quá trình trao đổi hiệu khí của vi sinh vật. Thông thường, cường độ quá trình trao đổi chất còn bị giới hạn bởi thiếu chất dinh dưỡng trong nước nguồn. Nồng độ chất hữu cơ thấp thì chỉ cho phép một ít vi khuẩn và nấm phát triển. Do đó hạn chế sự phát triển động vật trong nguồn.

Khi xả nước thải với chất hữu cơ vào nguồn, tốc độ phát triển của vi khuẩn, nấm cũng tăng lên. Kết quả lại tỷ lệ nghịch với nồng độ oxy. Nếu chất hữu cơ quá nhiều, nguồn oxy không đủ, sẽ tạo điều kiện yếm khí. Như vậy tốc độ trao đổi chất của vi khuẩn phải luôn luôn thấp hơn tốc độ hòa tan oxy với nồng độ giới hạn của các chất dinh dưỡng. Với điều kiện hiếu khí, protozoa kéo theo cả các động vật thượng đẳng cùng phát triển. Như vậy nồng độ oxy càng cao thì càng nhiều động vật có thể tồn tại

và càng được cung cấp nhiều thức ăn. Cuối cùng, điều kiện sinh hóa tốt nhất nên duy trì ở sông là cung cấp vừa đủ, có giới hạn chất dinh dưỡng và ít loài vi sinh vật..

Trong nước thải đô thị thường chứa nhiều lượng nguyên tố dinh dưỡng (N, P). Những chất này kích thích tảo phát triển rất mạnh, sông hồ không dùng làm nguồn cấp nước được. Tảo phát triển làm nước có màu, tảo xanh *Aphanizomenon blos-aquae*, *Anabaena*, *microcystic* v.v... làm nước có màu xanh lam; tảo xanh *Oscillatoria rubecens* làm nước ngả màu hồng; *Aphanocapsa pulchre* tạo một lớp váng đen trên mặt nước. Tảo lục làm nước có màu lục, khuê tảo (*Melosira*, *Navicula*) làm nước có màu vàng nâu; *Chrisophit* làm nước có màu vàng vàng.

Tảo phát triển còn làm cho nước có mùi vị khó chịu, như mùi cỏ, mùi mỡ khét, thối... Ngoài ra còn gây ứ tắc cơ học ở các lưới chắn của công trình thu nước, các bể lọc của nhà máy nước. Hiện tượng trên còn gọi là hiện tượng “nở hoa” (*Eutrofication*). Khi tảo chết sẽ gây thối rữa trong nước, vi sinh vật oxy hóa các chất hữu cơ và tiêu thụ oxy làm oxy hòa tan bị nghèo đi. Theo tính toán của D.Ulman, để oxy hóa lượng chất hữu cơ do 1 người thải ra, cần 80g oxy trong một ngày, còn để oxy hóa chất hữu cơ của tảo (tảo phát triển do phospho trong nước thải tính theo 1 người) đòi hỏi tới 320g O<sub>2</sub>. Vì vậy người ta phải khử N, P trước khi xả nước thải ra nguồn và phải tìm biện pháp chống “nở hoa” trong nước nguồn.

Ảnh hưởng của các chất lắng cặn và các chất nổi: Nước mưa, nước thải sinh hoạt, công nghiệp, nước tiêu từ các hệ thống thủy lợi, chứa rất nhiều chất lơ lửng và lá cây. Khi ra tới sông hồ, tốc độ dòng chảy giảm. Kết quả gây lắng cặn ở đáy sông hồ, làm thay đổi hình dạng dòng sông. Những chất hữu cơ lắng cặn là đối tượng hoạt động phát triển vi sinh vật. Kết quả cũng làm giảm lượng oxy hòa tan, gây thối rữa... tiêu diệt thủy sinh vật. Các chất nổi như dầu mỡ chứa nhiều trong nước thải sinh hoạt, công nghiệp cũng làm hạn chế oxy hòa tan.

#### 7.2.4. Phân loại nguồn nước theo mức độ nhiễm bẩn:

Chất lượng nước nguồn được đánh giá trên cơ sở các số liệu phân tích hóa lý, vi sinh vật. Mỗi dạng phân tích đều có ưu nhược điểm nhất định và không thay thế nhau được. Để đánh giá tốt nhất thì nên có cả 3 dạng phân tích trên.

Các chỉ tiêu phân tích hóa học cho phép đánh giá về lượng và đặc tính các chất bẩn, ảnh hưởng của chúng đối với sự thay đổi chất lượng nước nguồn. Các chỉ tiêu phân tích vi sinh vật cho phép xác định sắc xuất tồn tại trong nước của các loài vi sinh vật gây bệnh. Phân tích sinh vật giúp xác định mức độ bẩn của nước trên toàn cục diện, nhiều khi cũng cho phép xác định hậu quả của sự nhiễm bẩn đột xuất mà các phương pháp nghiên cứu hóa lý, vi sinh vật chưa thể thực hiện kịp thời ngay được.

Phân tích sinh vật là dựa trên sự thích ứng của một số sinh vật đối với nước có chất lượng nhất định.

Do khả năng tự làm sạch của nguồn nước, các chất bẩn lẫn vào sẽ được pha loãng và bị phân hủy. Sự phân hủy chất bẩn diễn ra dần dần và do vậy các điều kiện bình thường của nguồn nước cũng dần dần được phục hồi trở lại như trước khi có chất bẩn (nước thải) xả vào. Quá trình này là một quá trình lâu dài và vùng nhiễm bẩn của sông có thể kéo dài hàng chục, hàng trăm cây số. Quy mô của vùng này tùy thuộc vào

tỷ lệ giữa lượng nước thải và nước sông, nồng độ & tính chất các chất bẩn, tốc độ dòng chảy và nhiều yếu tố khác.

Tùy thuộc độ bẩn của nước mà người ta chia các sông, hồ và các đoạn sông thành các vùng sau đây (xem bảng 7-2):

**Bảng 7-2: Phân loại các đoạn sông theo độ nhiễm bẩn (theo R.Kolvints, M.Marson, G.Lipman)**

Vùng hoại sinh (Theo R.Kolvints và M.Marson)	Mức độ sạch (Theo G.Lipman)
- Polixaprophit, ký hiệu : P	IV
- Alpha-Mezoxaprophit, ký hiệu : $\alpha$ -m	III
- Beta-Mezoxaprophit, ký hiệu : $\beta$ -m	II
- Oligoxaprophit, ký hiệu : O	I

Khi nguồn nước bị nhiễm bẩn thì điều kiện hóa lý của nó bị thay đổi, một số loài thủy sinh vật phát triển, một số loài bị tiêu diệt - tức là các quần thể bị thay đổi. Nhiều sinh vật chỉ thích ứng với các điều kiện chất lượng nhất định, tức là chỉ sống ở những vùng nhiễm bẩn nhất định.

- *Vùng P*: Hàm lượng các chất hữu cơ không bền vững khá cao, nhiều sản phẩm phân hủy yếm khí. Trong nước nhiều chất đạm – protein. NOS tới hàng chục mg/l. Không có quang hợp. Oxy chỉ có thể hòa tan trong nước qua mặt thoáng và tiêu thụ ngay cho việc oxy hóa ở các lớp nước trên mặt cho nên thực tế trong nước không có oxy. Nước chứa  $\text{CH}_4$  và  $\text{H}_2\text{S}$ . Ở vùng này chứa rất nhiều vi sinh vật hoại sinh, tới hàng trăm ngàn hoặc hàng triệu tế bào trong 1ml. Ở cận đáy không có oxy, chứa nhiều detrit, diễn ra các quá trình khử sắt ở dạng FeS: bùn có màu đen, mùi tanh  $\text{H}_2\text{S}$ . Ở vùng này phát triển nhiều sinh thực vật dạng dị dưỡng: các loài vi khuẩn (kể cả vi khuẩn dạng chỉ Sphaerotilus), vi khuẩn lưu huỳnh (Beggiatoathioptrix), vi khuẩn dạng nhầy (Zoogleea ramigera), các loại vi khuẩn hạ đẳng trích trùng – tiên mao.

- *Vùng  $\alpha$ -m*: Ở vùng này bắt đầu diễn ra sự phân hủy hiếu khí các chất hữu cơ & tạo ra amoniac, chứa nhiều  $\text{CO}_2$  tự do, một ít oxy, không có metan và  $\text{H}_2\text{S}$ . Lượng chất bẩn theo NOS vẫn còn cao tới hàng chục mg/l. Lượng vi khuẩn hoại sinh tới hàng chục, hàng trăm ngàn tế bào trong 1ml.

Trong nước và cận lắng ở đáy diễn ra các quá trình oxy hóa khử. Sắt ở dạng oxyt và dioxyt ( $\text{Fe}^{2+}$  và  $\text{Fe}^{3+}$ ), bùn xám màu đen. Ở vùng  $\alpha$ -m có các loài vi sinh vật chịu được điều kiện thiếu oxy và nhiều  $\text{CO}_2$ . Có các loài thực vật dị dưỡng và xạ khuẩn. Phát triển nhiều loại vi khuẩn dạng nhầy, dạng chỉ, nấm; có các loại tảo: *Oscillatoria stigeochlonium*.



Trong số các động vật, phát triển nhiều là loại trich trùng (*Carchesium*), có loài luân trùng *Rotatoria brachionus* và nhiều loại có tiên mao - giả túc. Trong bùn nhiều *turbiphycid* và bọ *Chironomid*.

- *Vùng β-m*: Là những vùng hầu như không có chất hữu cơ, tức là đã phân hủy (khoáng hóa) hoàn toàn. Lượng vi khuẩn hoại sinh tới hàng ngàn tế bào trong 1ml và tăng nhanh vào thời kỳ thực vật nước bị chết. Nồng độ oxy rất cao và CO<sub>2</sub> dao động mạnh trong suốt ngày đêm. Ban ngày lượng oxy rất cao và có thể tới bão hòa, CO<sub>2</sub> hoàn toàn không có, về đêm lại thấy thiếu hụt oxy. Trong bùn có nhiều detrit và quá trình oxy hóa diễn ra rất mạnh. Bùn màu vàng. Ở vùng này có nhiều động thực vật khác nhau. Các loài thực vật tự dinh phát triển mạnh. Hiện tượng nở hoa - thực vật phù sinh xuất hiện, phát triển: các loài tảo xanh dạng chỉ, khuê tảo *apirit*. Trong bùn có giun, bọ, *chironomit*, nhuyễn thể.

- *Vùng O*: Là vùng nước sạch, lượng chất hữu cơ không đáng kể và lượng các sản phẩm khoáng hóa cũng ít. Hàm lượng CO<sub>2</sub> và oxy ổn định, ít dao động cả ban ngày lẫn ban đêm. Không thấy xuất hiện hiện tượng nở hoa. Cặn lắng dưới đáy cũng chứa ít detrit, các vi sinh vật tự dinh và động vật đáy (giun, bọ *chironomid* và nhuyễn thể). Dấu hiệu chứng tỏ nước rất sạch và có 1 ít tảo hồng (*thoria*, *Batrachospermum*) và bọ nước (*Mchi*).

Các loài sinh vật chỉ thị riêng biệt không đủ đánh giá độ nhiễm bẩn của nước. Chẳng hạn khi phân hủy protit của nước thải sinh hoạt sẽ tạo ra nhiều sulfure, nên ở đó có nhiều vi khuẩn lưu huỳnh loại *Beggiatoa* và *thiothrix*. Trong khi đó những vi khuẩn này cũng có thể sống ở những nguồn nước khoáng có lưu huỳnh mà không chứa các chất bẩn hữu cơ. Vi khuẩn lưu huỳnh là chỉ thị có lưu huỳnh trong nước nhưng không cho biết xuất xứ của lưu huỳnh - hữu cơ hay vô cơ. Vì vậy khi đánh giá mức độ bẩn của nguồn nước, chỉ có thể căn cứ theo các quần thể đặc trưng đối với từng vùng hoại sinh chứ không phải theo từng loài riêng biệt.

Ngày nay có nhiều kiểu phân loại nguồn nước theo độ bẩn. VD: người ta phân ra 6 nhóm nguồn nước theo bảng 7-3:

**Bảng 7-3: Chỉ tiêu hóa học và vi trùng học về mức độ nhiễm bẩn của các loại nguồn nước.**

Mức độ bẩn	Chỉ tiêu hóa học, mg/l						Chỉ tiêu vi trùng học		
	Oxy hòa tan		Lơ lửng	NOS <sub>5</sub>	Độ oxy hóa	Nito amôn	Coli titre, ml	Số vi khuẩn	Đếm trực tiếp số v.k
	Hè	Đông							
Rất sạch	9	14-13	1-3	0.5-1	1	0.05	10-100	a.10 <sup>1</sup>	10 <sup>5</sup>
Sạch	8	12-11	4-10	1.1-1.9	2	0.1	10-1	a.10 <sup>2</sup>	10 <sup>6</sup>
Hơi bẩn	7-6	10-9	11-19	2-2.9	3	0.2-0.3	1-0.05	a.10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>
Bẩn vừa	5-4	5-4	20-50	3-3.9	4	0.4-1	0.05-0.005	a.10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>
Bẩn	3-2	5-1-0	51-100	4-10	5-15	1.1-3	0.005-0.001	a.10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
Rất bẩn	0	0	>100	>10	>15	>3		0.001	a.10 <sup>P</sup>

Ở những nguồn nước **rất sạch** thì hoàn toàn không thấy dấu vết tác động của con người. Ở đó, độ bão hòa oxy tới 95%,  $\text{NOS}_5$  không quá 1mg/l, chất lơ lửng 3mg/l. Nguồn này dùng cho tất cả các đối tượng cấp nước.

Những nguồn nước **sạch** về các chỉ tiêu hóa học không khác lắm so với những nguồn nước rất sạch nhưng đã thấy dấu vết hoạt động của con người - cụ thể là lượng vi khuẩn hoại sinh tăng lên. Nguồn này cũng dùng cho các đối tượng cấp nước. Để khử trùng chỉ cần clo hóa là đủ.

Nguồn nước **hơi bẩn**, hàm lượng chất hữu cơ đã tăng lên, có ion clo và amon. Đó là dấu hiệu nhiễm bẩn bởi nước mưa trên mặt đất, nước thải sinh hoạt chảy xuống. Nước hơi bẩn phải được xử lý thích đáng mới được dùng để cấp nước sinh hoạt dân dụng. Nước này có thể dùng để nuôi cá hoặc các mục tiêu khác.

Loại nguồn nước **bẩn vừa** là những sông hồ đã bị thay đổi tính chất tự nhiên do có nước thải chảy vào. Mùa đông có thể tạo điều kiện yếm khí trong hồ ở những vùng xứ lạnh, vì bị bao phủ bởi lớp băng đá trên mặt. Nước này không dùng để cấp nước sinh hoạt được, cũng không dùng cho mục đích văn hóa thể thao, nuôi cá. Phạm vi sử dụng nguồn nước này rất bị hạn chế, chỉ dùng cho 1 số quá trình sản xuất hoặc tưới tiêu, giao thông đường thủy.

Nguồn nước **bẩn** và **rất bẩn**: đã hoàn toàn mất tính chất tự nhiên. Mùa hè xông mùi khó chịu. Trong nước chứa nhiều  $\text{CO}_2$ , các hợp chất sulfure, chứng tỏ do hoạt động của tàu bè, cảng. Do vậy nguồn nước này chỉ dùng cho giao thông tàu bè. Còn việc dùng để tưới ruộng cũng bị hạn chế vì không thích hợp với nhiều loại cây trồng.

Khi đánh giá độ bẩn của nguồn nước, trước khi phân tích hóa học, nhiều khi các chỉ tiêu: màu, mùi, độ trong, đục cũng là các dấu hiệu quan trọng chứng tỏ sự có mặt của nhiều chất bẩn. VD: mùi các chất độc xả vào như phenon, dichloretan, orezon, dầu... Dầu lẫn vào chẳng những có mùi mà còn có váng nổi lên.

### 7.3. CÁC QUÁ TRÌNH VI SINH VẬT TRONG CÁC CÔNG TRÌNH XỬ LÝ NƯỚC THIÊN NHIÊN

Các quá trình vi sinh hóa diễn ra khi xử lý nước thiên nhiên không phức tạp như khi xử lý nước thải vì các chất hữu cơ trong nước thiên nhiên ít hơn nhiều cả về lượng từng chất cũng như cả về số loại chất. Nước ngầm chứa ít chất bẩn và vi sinh vật hơn so với nước mặt. Nước mặt chứa các chất bẩn như chất lơ lửng, màu, chất hữu cơ, vô cơ, vi khuẩn và nhiều loại vi sinh vật khác. Những chất bẩn đó phải được loại trừ trước khi đưa đến người sử dụng. Các loại công trình xử lý tùy thuộc đặc tính nước thô. Chẳng hạn nước chứa các chất không tan dễ lắng thì có thể cho lắng ở các bể lắng để loại các chất đó; nước có màu và chứa các chất keo, phải xử lý bằng cách cho keo tụ rồi lắng và lọc sau đó. Nước cứng phải được làm mềm; nước chứa muối thì phải khử muối; nước chứa sắt thì phải khử sắt. Nếu nước chứa nhiều loại chất bẩn và vi khuẩn... thì phải xử lý rất phức tạp. Nhìn chung khi xử lý nước thiên nhiên, vi sinh vật tham gia chủ yếu vào các quá trình lắng và lọc.

### 7.3.1. Lắng:

Một trong những phương pháp đơn giản nhất để xử lý nước thiên nhiên là lắng. Khi lắng, những hạt lơ lửng nặng sẽ lắng xuống. Vi khuẩn hấp phụ và dính vào các hạt đó cũng dính và lắng theo. Kết quả nồng độ các chất lơ lửng, lượng nitơ amôn, vi khuẩn giảm đi rất nhiều, thậm chí trong một số trường hợp giảm được cả màu.

Có thể thực hiện việc lắng nước trong các hồ lớn - gọi là hồ sơ lắng. Với thời gian, nước lưu lại trong đó 5-7 ngày thì lượng vi khuẩn đường ruột giảm tới 90%. Tuy nhiên còn 10% chúng vẫn có thể tồn tại được mấy tuần hoặc hàng tháng. Khoảng thời gian này tùy thuộc mức độ trong sạch của nước. Nước càng bẩn thì vi khuẩn gây bệnh càng chóng chết, vì sẽ có sự đối kháng cạnh tranh giữa những loài vi sinh vật.

Khi sơ lắng trong mấy ngày đầu sẽ diễn ra quá trình tự làm sạch. Tuy nhiên, thời gian sơ lắng càng kéo dài thì sẽ diễn ra quá trình ngược lại, chất lượng của nước sẽ kém đi, vì sẽ phát hiện và phát triển tảo rêu, năng lượng của ánh sáng mặt trời sẽ biến thành sinh khối của chúng và khi chúng chết sẽ làm nồng độ chất hữu cơ tăng lên, xuất hiện vi sinh vật thối rửa, nước sẽ có mùi vị xấu, giảm lượng oxy hòa tan, thế năng oxy hóa bị giảm. Kết quả sẽ gây khó khăn cho việc xử lý tiếp theo. Để chống sự phát triển tảo (nở hoa) trong các hồ lắng, người ta dùng các biện pháp như: thả cá, che tối bể, dùng các alhycide.

Trong thực tế, người ta thường lợi dụng địa hình tự nhiên, chẳng hạn các vịnh cạnh bờ sông làm hồ sơ lắng thì sẽ rất kinh tế. Trong công nghệ xử lý nước thiên nhiên người ta xây dựng nhiều loại bể lắng khác nhau với thời gian lắng khác nhau tùy thuộc chất lượng nước, các yêu cầu kinh tế - kỹ thuật và công nghệ. Ở tất cả các loại hồ, bể lắng, thường thấy nhiều loại thực vật phù du và nhiều tảo xanh lam, khuê tạo tạo thành màng mỏng gọi là rêu. Trên các màng mỏng, rêu lại có cả các loài động vật phù du. Ngoài ra cần phải thấy rằng ở các bể lắng còn diễn ra những quá trình sinh hóa liên quan đến việc phân giải các chất hữu cơ trong điều kiện yếm khí.

### 7.3.2. Lọc nước:

*Bể lọc chậm:* Trong số các công trình xử lý nước thiên nhiên thì bể lọc chậm là công trình liên quan nhiều nhất tới vi sinh vật. Ngay từ đầu khi sáng tạo ra loại công trình này, người ta muốn tái tạo các quá trình sinh hóa tự nhiên giống như khi cho nước thấm lọc qua đất. Nhưng không những chỉ đơn thuần tái tạo những điều kiện tự nhiên đó, mà người ta còn xây dựng những công trình nhằm cải thiện điều kiện tự nhiên theo hướng có lợi hơn nữa.

Lớp trên cùng của vật liệu lọc là lớp cát hạt nhỏ. Ở đó sẽ giữ lại các hạt chất bẩn và hình thành những quần lạc sinh vật, diễn ra các quá trình sinh học và làm sạch nước. Những quần lạc bao gồm nhiều nhất là những vi sinh vật khoáng hóa (oxy hóa nitơ của muối amôn thành nitrit, rồi nitrat,  $H_2S$  thành muối sulfat...) và một ít động thực vật phù du. Tất cả những quần lạc sinh vật sẽ tạo nên màng sinh vật dày đặc. Tuy nhiên chiều dày của lớp cát có màng sinh vật này chỉ vài cm mà thôi vì những vi sinh vật này chủ yếu là loại hiếu khí nên sống trên bề mặt bể lọc. Những yếu tố ảnh hưởng tới hiệu quả công tác của bể là: nhiệt độ, vận tốc, kích thước hạt. Nếu hạt cát quá nhỏ thì bể nhanh chóng bị ứ tắc; nếu hạt quá lớn thì không giữ được các chất lơ lửng ở màng sinh vật mà đi theo nước lọc.

Kích thước hạt ở lớp lọc thường 0.2 – 0.4mm. Vì hạt rất nhỏ nên lớp trên cũng chóng bị vít tắc và khoảng từ 2-10 tuần phải xúc lớp đó để rửa hoặc thay mới. Tốc độ lọc tùy thuộc chất lượng nước và thường chọn 0.1-0.3m/h.

Nhiệt độ là yếu tố chủ yếu ảnh hưởng tới quá trình làm sạch nước vì tác nhân hoạt động chủ yếu ở đây là quần lạc sinh vật. Hiệu quả làm sạch nước của bể lọc rất tốt, hơn 99.99% vi khuẩn bị giữ lại. Tốc độ chậm đòi hỏi diện tích bể lọc rất lớn nên ngày nay người ta thường ít dùng bể này. Ngoài ra về mùa hè, nước sông, hồ chứa thường có tảo và làm lớp cát lọc chóng bị ứ tắc.

*Bể lọc nhanh:* Ở đây chủ yếu diễn ra quá trình vật lý, hóa và hóa lý. Đôi khi chỉ gặp một vài hiện tượng sinh hóa mà thôi. Chẳng hạn khi thời tiết ẩm, nitơ amôn bị khử, trong nước lọc, lượng nitrit, nitrat tăng lên.

*Khử các chất phóng xạ bằng cách lọc nước:* Vi sinh vật nước nói chung và quần lạc sinh vật ở bể lọc nói riêng là tác nhân có thể hấp phụ các chất phóng xạ. Do đó hiệu suất khử các chất phóng xạ của bể lọc rất tốt. Tùy thuộc từng loại chất và nồng độ của các chất trong nước, hiệu suất khử các chất phóng xạ có thể đạt từ 50-96%.

### 7.3.3. Xử lý nước bằng hóa chất:

Keo tụ bằng phèn nhôm hoặc sắt là một trong những phương pháp phổ biến để xử lý nước. Trong nước thiên nhiên chứa nhiều loại hạt keo dạng vi khuẩn, đất sét hoặc hữu cơ. Những ion nhôm có điện tích dương mạnh, còn đa số các hạt keo có điện tích âm. Với giá trị pH thích hợp chúng sẽ hấp phụ rồi keo tụ với nhau và tạo thành bông cặn kết tủa. Ở những điều kiện tĩnh, bông cặn sẽ lắng và kéo theo cả những vi khuẩn. hiệu suất khử vi khuẩn khi keo tụ tùy thuộc loại bể phản ứng và bể lắng, có thể đạt 90-99%.

### 7.3.4. Khử trùng nước:

Giai đoạn kết thúc của việc xử lý nước thiên nhiên là khử trùng. Như ta biết, để tăng hiệu suất khử trùng, trước đó người ta phải loại trừ các chất bản hữu cơ, vô cơ trong nước (chỉ trừ một số loại nước ngầm rất sạch, không cần xử lý mới thực hiện khử trùng trực tiếp mà thôi). Vì vậy người ta thường khử trùng sau khi nước ra khỏi bể lọc, trước khi vào bể chứa. Trong bể chứa nước sạch, clo sẽ gây phản ứng giết chết vi khuẩn.

Những biện pháp khử trùng thông thường chỉ nhằm diệt các loại vi khuẩn không tạo nha bào vì các loại vi khuẩn liên quan đến đường truyền bệnh qua nước đều là những loại không tạo nha bào.

Người ta phân biệt các biện pháp khử trùng cá thể và tập trung. Các biện pháp cá thể như: đun sôi, dùng thuốc viên sát trùng, dùng nước bạc (ion bạc). Các biện pháp tập trung: khử trùng bằng clo và các biện pháp khác.

Theo Chick, khi dùng một tác nhân vật lý hay hóa học nào đó để khử trùng thì tỷ lệ % giữa lượng vi khuẩn còn sống sót với số vi khuẩn ban đầu là một đại lượng không đổi và được biểu thị bằng công thức:

$$K = \frac{1}{t} \lg \frac{N_1}{N_2} \quad (\text{X-I})$$

- K - tốc độ chết của vi khuẩn;
- t - thời gian tác động của tác nhân diệt trùng;
- $N_1$  - Nồng độ vi khuẩn ban đầu;
- $N_2$  - Nồng độ vi khuẩn còn sống sót;

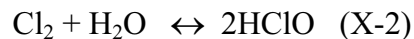
Ý nghĩa thực tiễn của định luật Chick là ở chỗ: Kết quả khử trùng luôn luôn tùy thuộc mức độ nhiễm khuẩn của nước. Chẳng hạn, cũng là 99% vi khuẩn bị tiêu diệt, nhưng nếu lượng vi khuẩn ban đầu là 100 thì còn sống 1 vi khuẩn, nếu lượng vi khuẩn ban đầu là 10,000 thì còn sống 100 cá thể. Như vậy, nếu nói hiệu suất diệt trùng đều tốt như trường hợp sau thì còn xa mới an toàn.

#### 7.3.4.1. Khử trùng nước bằng chlore:

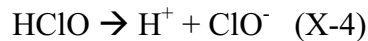
##### a. Cơ chế diệt trùng của chlore trong nước :

- Khi chlore hóa, do tăng thế năng oxy hóa, làm nguyên sinh chất của tế bào bị oxy hóa.

- Tác dụng oxy hóa bởi oxy tạo ra: Khi chlore hóa, chlore tác dụng với nước tạo thành hypochlorơ (HClO). Acid này không bền vững nên tạo ra oxy nguyên tử và oxy hóa tế bào của vi khuẩn. Phản ứng diễn ra như sau:



- Acid hypochlorơ cũng có thể phân ly:



Ion  $\text{ClO}^-$  cũng có khả năng gây oxy hóa tế bào chất.

Nhưng theo Rose E.Mackiney thì dạng không phân ly HClO có hoạt tính mạnh hơn nhiều so với dạng phân ly. Thực nghiệm cho thấy hiệu suất khử trùng ở pH = 7 cao hơn ở giá trị pH = 9. Điều đó, theo R. E.Mackiney là do khi pH tăng lên thì dạng phân ly sẽ tăng và hiệu suất khử trùng giảm.

- Tác dụng trực tiếp của chlore: Bản thân chlore cũng tác dụng trực tiếp với tế bào vi khuẩn, vì chlore liên kết với các chất trong thành phần tế bào và làm vi khuẩn chết.

- Tác động bởi tia cực tím: Do có phản ứng hóa học xảy ra giữa chlore và các chất hữu cơ trong nước nên xuất hiện các tia tử ngoại và giết chết vi khuẩn.

Nói chung, khử trùng bằng chlore rất hiệu quả vì nó tạo ra gốc oxy hóa làm giảm hệ thống men ngăn cản quá trình hô hấp bình thường của vi khuẩn.

##### b. Các yếu tố ảnh hưởng tới hiệu quả khử trùng của chlore:

- Trong nước thiên nhiên thường chứa các chất dễ bị oxy hóa. Do đó khi cho chlore - một chất oxy hóa mạnh vào nước thì nó sẽ tác dụng mạnh với các chất trong nước. Các chất dễ bị oxy hóa trong nước có thể là chất hữu cơ (như humus tan trong nước, các sản phẩm phân hủy protein, mỡ, đường, nitrat, muối sắt hóa trị 2,  $\text{H}_2\text{S}$ ...).

Lượng các chất này trong nước càng nhiều thì lượng chlore tiêu thụ để oxy hóa các chất đó cũng càng nhiều. Ta gọi đó là mức độ hấp thụ chlore của nước.

Lượng chlore tiêu thụ cho tổ hợp tất cả các phản ứng phụ thuộc nhiều yếu tố: liều lượng chlore cho vào ban đầu, thời gian tiếp xúc, thế năng oxy hóa, nồng độ ion hydro, nhiệt độ...

Ở những điều kiện nhất định thì hiệu suất khử trùng của chlore phụ thuộc liều lượng chlore cho vào nước, thời gian chlore tự do tồn tại trong nước, pH, nhiệt độ, lượng vi khuẩn...

Liều lượng chlore cần thiết để khử trùng bao gồm: lượng chlore tiêu thụ và lượng chlore đủ để giết chết vi khuẩn. Trong thực tế có thể coi rằng: để đạt được hiệu quả khử trùng, nồng độ chlore dư còn lại trong nước sau 1/2h tiếp xúc phải không dưới 0.1-0.33mg/l.

- Ảnh hưởng của liều lượng chlore: Lượng chlore dư tồn tại trong nước tùy thuộc lượng chlore cho vào lúc đầu. Mặt khác liều lượng chlore ban đầu càng cao thì tốc độ giết chết vi khuẩn cũng càng mạnh.

- Ảnh hưởng của thời gian tiếp xúc: Nếu thời gian tiếp xúc càng lâu, tức là bể chứa càng lớn thì liều lượng chlore cần thiết để diệt trùng có thể giảm rất nhiều so với bể chứa nhỏ. Nhưng cần thấy rằng thời gian tiếp xúc càng lâu thì lượng chlore dư càng giảm.

- Ảnh hưởng của nhiệt độ: Nhiệt độ ảnh hưởng tới tất cả các phản ứng hóa học và cả đến quá trình khử trùng bằng chlore. Ở nhiệt độ thấp  $0^{\circ}\text{C}$  thì tốc độ phản ứng rất chậm. Khi nhiệt độ tăng thì tốc độ diệt khuẩn tăng rất nhanh. Cứ mỗi lần tăng  $10^{\circ}\text{C}$  thì tốc độ diệt khuẩn tăng lên 2 lần. Tuy nhiên nếu nhiệt độ tăng lên thì lượng chlore dư cũng nhanh chóng bị mất đi.

- Ảnh hưởng của amoniac: Khi cho amoniac vào nước thì sẽ giảm được lượng chlore tiêu thụ trong quá trình khử trùng. Vì khi cho amoniac vào nước thì hiện tượng phân hủy chlore do quang hóa sẽ chấm dứt ngay. Tuy nhiên một số nhà nghiên cứu cho rằng khi đó sẽ tạo thành chlore-amin. Chất này có thế năng oxy hóa rất thấp và làm hoạt tính của chlore bị giảm. Một số ý kiến khác lại cho rằng amoniac sẽ tác dụng với các chất hữu cơ, vô cơ trong nước và những chất này sẽ không bị oxy hóa bởi chlore nữa.

### ***c. Tác dụng của việc khử trùng bằng chlore:***

- Khử trùng bằng chlore không độc: Chlore là một chất độc. Sau khi khử trùng, trong nước vẫn còn một lượng chlore nhất định. Nhưng Trekinski và nhiều người khác đã cho thấy: nồng độ chlore tự do trong nước là 0.3-0.5mg/l thì hoàn toàn không độc với cơ thể người. Với nồng độ đó, người ta lại thấy ngon và thơm mát hơn.

- Dùng chlore để khử mùi vị của nước: Chlore là chất oxy hóa mạnh, do đó đôi khi người ta dùng nó để khử mùi (nhất là mùi  $\text{H}_2\text{S}$ ) và vị của nước. Trong những trường hợp này, trong nước thường còn lại một lượng chlore khá lớn và người ta lại phải khử lượng chlore này. Muốn vậy người ta phải cho một lượng chất nào đó vào nước để liên kết với chlore nhưng không tạo thành chất độc đối với cơ thể. Những chất

thường dùng để khử chlore: hyposulfit, sulfat natri, khí sulfure, chlore sắt, than hoạt tính.

- Khử trùng trên mạng lưới cấp nước: Trước khi sử dụng đường ống dẫn nước hoặc khi ống dẫn nước bị nhiễm trùng gây bệnh thì người ta phải tiến hành khử trùng ở đài nước và ống dẫn với liều lượng chlore cao. Liều lượng chlore cần thiết là 30-50 mg/l theo chlore tự do với thời gian chlore hóa là 24h hoặc 80-100 mg/l chlore tự do với thời gian 8h.

Để tránh độc bởi chlore cho người dùng, trước khi khử trùng phải báo trước để họ mở khóa xả nước đó đi, không sử dụng nữa.

#### 7.3.4.2. Khử trùng bằng các phương pháp khác:

**a. Phương pháp vật lý:** Có những ưu điểm là: không cho thêm hoá chất nào vào nước tức là không làm nước có mùi vị gì khác; không cần duy trì một lượng dư của chất khử trùng nên không hại cho cơ thể người; không cần những thiết bị phức tạp để định lượng nên không cần thí nghiệm kiểm tra; không cần bề tiếp xúc vì các tác nhân vật lý có thể diệt trùng ngay tức khắc; không phải chuyên chở hóa chất, không cần kho nên trạm xử lý rất nhỏ. Các phương pháp vật lý bao gồm:

- Sóng siêu âm: Khi sóng siêu âm tác động vào chất lỏng thì sẽ diễn ra hiện tượng ép mạnh và cắt nước. Lực tác động của các sóng rất mạnh đến nỗi tạo ra hiện tượng khí thực trong nước và tạo ra áp suất rất lớn tới hàng ngàn atmôtphe, tức khắc tế bào vi khuẩn bị nổ tung. Vi khuẩn càng gần các bọt khí thực, càng bị va đập mạnh. Tác dụng khử trùng sẽ bị giảm tỷ lệ nghịch với bình phương khoảng cách từ vi khuẩn tới bọt khí. Khi cường độ siêu âm của máy phát sóng là  $0,3 - 0,5 \text{ w/cm}^2$  thì sẽ tạo ra hiện tượng khí thực. Tất nhiên trong nước càng tạo nhiều bọt khí thì hiệu suất khử trùng càng cao. Mặt khác độ nhớt của nước càng cao thì càng khó tạo thành khí thực và hiệu suất khử trùng càng thấp. Hình dạng vi khuẩn trong nước sẽ ảnh hưởng tới hiệu suất khử trùng. Cầu khuẩn bền vững nhất và trực khuẩn chóng bị tiêu diệt nhất. Nhưng khi tăng cường độ sóng siêu âm thì cả cầu khuẩn lẫn trực khuẩn đều chết, cả vi khuẩn tạo và không tạo nha bào cũng chết. Sóng siêu âm diệt được trùng cả trong nước đục, nước chứa bùn.

- Tia tử ngoại: Tia tử ngoại nằm trong khoảng sóng từ 136 – 4000 Å. Khi chiếu tia tử ngoại qua nước sẽ làm vi khuẩn chết ngay vì tia tử ngoại có tác dụng quang hóa; thành phần của nước hoàn toàn không thay đổi. Nhưng giá trị pH thay đổi rất nhiều và nhiệt độ nước cũng tăng, ảnh hưởng tới hiệu suất khử trùng. Tia tử ngoại chỉ có thể xuyên qua nước trong, không màu. Khi độ đục và độ màu tăng lên thì hiệu suất diệt trùng của tia tử ngoại cũng kém đi.

Tia tử ngoại có thể tiêu diệt được cả vi khuẩn không tạo nha bào và tạo nha bào. Ngày nay phương hướng này được sử dụng rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới.

#### **b. Phương pháp hoá học:**

- Khử trùng bằng ion bạc: Như ta đã biết, ion bạc và nhiều kim loại khác có tác dụng diệt trùng. Hiệu suất khử trùng tùy thuộc đầu tiên vào nồng độ ion bạc trong nước. Vì vậy, những người kỹ thuật thường hướng tới việc tăng nồng độ ion bạc bằng cách tăng diện tích bề mặt tiếp xúc. Chẳng hạn như người ta đã dùng than bạc đỏ

xuống đầm nước để lấy nước dùng. Sau này người ta thay than bạc bằng tấm bạc và chế tạo thành thiết bị có dung tích 100 lít nước để sử dụng. Nhược điểm chủ yếu của phương pháp này là phần lớn ion bạc tập trung ở gần tấm kim loại và rất lâu mới phân tán vào toàn khối nước. Để tăng cường quá trình người ta cho dòng điện đi qua tấm bạc thì các ion bạc đã phân bố rất nhanh vào nước, hiệu quả diệt trùng tăng lên.

Tuy nhiên phương pháp khử trùng bằng ion bạc không dùng được với nước chứa muối chlorure (tạo AgCl kết tủa) và nước đục chứa các keo hữu cơ. Ngoài ra ion bạc không diệt được vi khuẩn nha bào.

- **Phương pháp ôzôn hóa:** Khi đo dòng điện cao thế phóng qua không khí sẽ biến  $O_2$  của không khí thành ôzôn ( $O_3$ ). Sau đó cho không khí chứa ôzôn vào nước và gọi là ôzôn hoá. Thực chất tác dụng diệt trùng của ôzôn là: ôzôn không bền và dễ tách ra oxy nguyên tử - một chất oxy hóa mạnh có khả năng oxy hóa tất cả các chất hữu cơ trong đó có vi khuẩn.

Ưu việt của phương pháp này là tiêu diệt được cả tảo, rêu; khử được mùi, vị của nước; cho quá liều lượng ôzôn cũng không nguy hiểm vì ôzôn nhanh chóng trở thành oxy phân tử ( $O_2$ ), nên trong nước không thừa ôzôn. Do đó không cần thận trọng khi định liều lượng. Mặt khác ôzôn có thể điều chế tại chỗ, không phải mất công vận chuyển, kho tàng. Khác clo, ôzôn không tạo mùi vị khó chịu. Nhược điểm của ôzôn là không tiêu diệt được vi khuẩn tạo nha bào ở điều kiện bình thường.

- Ngoài ra còn dùng những phương pháp khử trùng khác như: iôdua hóa, biôxít clo, tia phóng xạ  $\beta$ .

#### 7.4. CÁC HIỆN TƯỢNG BẤT LỢI DO SỰ PHÁT TRIỂN VI SINH VẬT, SINH VẬT TRONG ỐNG DẪN, CÔNG TRÌNH VÀ THIẾT BỊ CẤP NƯỚC, BIỆN PHÁP KHẮC PHỤC

##### 7.4.1. Các hiện tượng sinh vật, vi sinh vật:

Các quá trình sinh hóa diễn ra trong nguồn nước và hệ thống cấp nước đều ảnh hưởng xấu đến chất lượng nước cấp. Các sinh vật từ ngoài lọt vào ống dẫn nước – môi trường không thích nghi với sự sống - hoạt động bình thường của chúng, được gọi là sinh vật ngoại lai. Những sinh vật “nguyên địa” cùng với dòng nước và lọt vào hệ thống cấp nước khác với loại ngoại lai ở chỗ, chúng chịu đựng được với môi trường trong hệ thống cấp nước, chúng có thể sinh sản phát triển được. Loại sinh vật ngoại lai chủ yếu tạo ra hiện tượng bất lợi đối với bể lọc. Còn sinh vật nguyên địa thì bất lợi đối với toàn hệ thống cấp nước.

**7.4.1.1. Các hiện tượng do sinh vật ngoại lai:** Những sinh vật ngoại lai bao gồm: vi khuẩn dạng chỉ, nấm, tảo, các động vật phù du. Trong số vi khuẩn dạng chỉ, đặc biệt chú ý là *Sphaerotilus natans*. Trong số các loại nấm nguy hiểm nhất là *Leptomitius lacteus*.

- *Leptomitius lacteus* sống quanh năm ở sông hồ nhưng phát triển mạnh nhất về mùa đông. Điều kiện thường xuyên phải có để *Leptomitius lacteus* phát triển là sự có mặt của các chất hữu cơ. Sự phát triển của *Leptomitius lacteus* phát triển thành từng khối nhầy cùng với Sph. Natans trong 1,5 – 2 giờ có thể hoàn toàn vớt lưới, làm lưới



chấn của công trình thu bị hỏng. Ở các bể lọc chúng cùng với các sợi nấm nhầy tạo một mảng chắc ngăn nước – không cho nước đi qua bể lọc.

- Tảo cũng gây nhiều hiện tượng bất lợi trong các công trình cấp nước gồm khuê tảo, lục tảo, tảo xanh lam.

Khuê tảo có khung silic cứng. Chúng tạo nên các màng chắc trên mặt vật liệu lọc, không cho nước qua bể lọc, làm giảm năng suất bể.

Khuê tảo *Melosira islandica* thường phát triển về hai mùa xuân và thu, có khi tới 600 – 700 và thậm chí tới 1000 tế bào/ml nước. Mùa hè: Không đáng kể chỉ không quá 20. Ngoài ra còn có các loại khuê tảo khác như *Melisira italicxa*, *Atricionella formosa*, *synedra v.v...*

Sự phát triển mạnh mẽ của khuê tảo còn do có nhiều sắt trong nước. Khả năng ôxy hóa của sắt sẽ cao khi pH và nhiệt độ nước thấp.

**7.4.1.2. Các hiện tượng do sinh vật nguyên địa:** Sinh vật nguyên địa lọt vào hệ thống cấp nước ngay từ các nguồn nước, qua các công trình thu nước. Chúng có thể tồn tại, sinh sản bình thường trong ống dẫn. Nhiều loại phát triển mạnh trong ống – kênh dẫn nước, thậm chí phát triển mạnh hơn so với trong nguồn nước vì không có đối thủ tự nhiên. Những sinh vật nguyên địa bao gồm: vi khuẩn, nấm, nhuyễn thể, đài tiêu động vật, ... các động vật hạ đẳng và động vật bậc thấp. Tảo không thuộc sinh vật nguyên địa vì ở đó không có ánh sáng nên chúng không sống - hoạt động được.

Nhiều loại sinh vật nguyên địa có thể bám chắc vào thành tường, thành ống và không bị dòng chảy lôi đi. Sự phát triển sinh vật trong ống thường bền chắc và ở những chỗ khó nhìn thấy. Vì vậy việc chống các hiện tượng này thường khó hơn so với các hiện tượng do sinh vật ngoại lai. Cũng vì vậy, những tồn tại do chúng gây ra cũng rất lớn.

Mầm mống của những hiện tượng bất lợi là vi khuẩn. Trong đó có loại tạo giáp mạc dày cứng liên kết với nhau. Trong nước bẩn chứa các chất hữu cơ, phát triển các loài *zoogloea ramigera* và *Sphacrotilus natans*. Trong nước sạch và trong các ống dẫn nước cấp phát triển rất nhiều vi khuẩn sắt, vi khuẩn khử sulfat nấm...

Sự phát triển sinh vật còn do loài xiclop, bọ và côn trùng.

Nhuyễn thể cũng thường gặp trong các ống dẫn nước. Đặc biệt nguy hiểm là loài *Dreissena polymorpha*. Nhiều khi chúng làm tắc ống, lưới chắn rác, phai chắn hoặc bám phủ trên bề mặt các công trình thủy. Nếu chúng chết nhiều sẽ làm giảm mùi vị, chất lượng của nước.

Các loài sinh vật nguyên địa thường phát triển ở các công trình nhà máy nước. Ở các lớp vật liệu trên cùng của các bể lọc thường có các quần thể vi khuẩn, thảo trùng, trich trùng, nhuyễn thể. Ở các bể chứa có giun, tôm, nhuyễn thể. Khi thực hiện chlore hóa thì các loại động vật đó không thể xuất hiện được. Thành phần của các lớp sinh vật phát triển, tùy thuộc chất lượng nước, vật liệu ống, công trình, tốc độ, nhiệt độ nước... Chúng cũng thay đổi theo mùa, theo chế độ vận hành quản lý. Sự hình thành các quần thể sinh vật bắt đầu từ khi diễn ra hiện tượng lắng bùn trên mặt thành ống nhẵn, rồi từ đó vi khuẩn phát triển. Ở đây các quá trình hấp phụ, diện tích của các tế bào và hạt cặn đóng vai trò rất quan trọng.

Chẳng hạn khi dùng nước thô từ nguồn nước sạch, tốc độ phát sinh phát triển sinh vật trong ống của hệ ngưng của tuốc bin hơi là 0.03-0.6g chất khô/m<sup>2</sup>.100h. Nếu dùng chất bẩn thì tốc độ phát triển vi khuẩn dạng chỉ là 47-48g chất khô/m<sup>2</sup>.100h.

#### **7.4.2. Ảnh hưởng của hiện tượng phát sinh phát triển sinh vật đối với chất lượng nước và vật liệu ống:**

Các loại sinh vật phát triển ở mạng lưới cấp nước chủ yếu là loại hiếu khí. Chúng tiêu thụ oxy và thải ra CO<sub>2</sub>. Khi tăng nồng độ CO<sub>2</sub> trong nước sẽ làm nước bị acid hóa và tăng khả năng ăn mòn ống bê tông và kim loại.

Sự phát triển sinh vật trên thành ống, kênh mương nhiều khi tạo thành lớp bên chắc, chứa các sản phẩm hoạt động của vi sinh vật, tăng nồng độ CO<sub>2</sub> trong nước. Vì vậy người ta cho rằng, nếu thực vật phát triển thì bê tông được bảo vệ, còn động vật phát triển thì bê tông bị phá hủy.

Khi các loài sinh vật đó chết hàng loạt (do các điều kiện sống thay đổi hoặc đổi mùa) thì xảy ra hiện tượng phân hủy và tạo ra H<sub>2</sub>S. Do đó nước có mùi thối H<sub>2</sub>S, màu nâu đen, nhất là do sulfure sắt. Việc tạo H<sub>2</sub>S còn do trong điều kiện yếm khí và có các vi khuẩn sulfat. Chúng oxy hóa các hợp chất hữu cơ bằng oxy của sulfat. Sulfure (S) bị khử thành H<sub>2</sub>S. Vì vậy rất có cơ sở cho rằng, do ảnh hưởng của H<sub>2</sub>S, sẽ tạo điều kiện cho ăn mòn điện hóa các loại thiết bị bằng sắt, gang, thép. Vi khuẩn sắt phát triển trong các ống dẫn nước sẽ hấp thụ oxyt sắt tan và oxy hóa thành dioxit sắt ít tan. Vi khuẩn sắt phát triển mạnh làm nước có màu hồng nâu, mùi vị tanh của kim loại. Dạng vi khuẩn sắt phát triển trong ống còn phụ thuộc hàm lượng chất hữu cơ trong nước.

Khi trong ống phát triển các loại nhuyễn thể: sò hên co vỏ vôi thì có khi cũng thấy cặn cacbonat trên thành ống. Trong tinh thể canxi cũng nhiều vi sinh vật.

Như vậy do sinh vật phát triển làm chất lượng nước kém đi, lưới chắn rác, các công trình thu nước, ống dẫn nước bị tắt. Đường kính, tiết diện ống bị giảm, độ nhám ống tăng lên và giảm khả năng vận chuyển của ống. Trong các thiết bị máy móc sản xuất do phát triển sinh vật nên điều kiện truyền – trao đổi nhiệt sẽ kém đi; vật liệu ống bị ăn mòn sinh hóa, chất lượng nước xấu đi. Do đó phải có các hiện tượng ngăn ngừa hiện tượng phát triển sinh vật trong hệ thống cấp nước.

#### **7.4.3. Các biện pháp chống hiện tượng phát sinh phát triển sinh vật:**

Biện pháp chống sự phát sinh phát triển sinh vật ngoại lai là tiến hành chlore hóa hoặc keo tụ sơ bộ trước khi lắng hoặc lọc nước. Chlore sẽ làm tảo chết và lắng xuống đáy.

Chất keo tụ thường dùng là sulfat nhôm. Liều lượng chlore tùy thuộc số lượng tảo trong nước. Theo E.S.Velmina, khi số lượng tế bào trong 1ml là 1000-2000 thì chọn liều lượng chất keo tụ là 40-60 mg/l.

2000-4000 thì chọn 50-70 mg/l

4000-6000 thì chọn 80 mg/l

Với liều lượng như vậy, sau lắng lượng tế bào chỉ còn 100-400/ml. Chống sinh vật nguyên địa khó hơn. Tùy thuộc từng loại sinh vật và điều kiện sống của chúng. Điều kiện môi trường đối với chúng rất khác nhau. Do đó không thể có biện pháp

chuẩn được. Nếu là nguồn nước ngầm, chứa sắt hoặc  $H_2S$  với hàm lượng cao, để chống vi khuẩn sắt hoặc vi khuẩn lưu huỳnh, có thể xử lý sơ bộ để hàm lượng sắt còn lại không quá 0.1 mg/l và không còn  $H_2S$ .

Để chống hiện tượng phát triển sinh vật ở các tàu biển hoặc công trình thủy, người ta thường dùng sơn, trong đó chứa các hợp chất đồng, thủy ngân, asen và các chất độc khác. Với nước biển, sơn có tác dụng 1 năm, với nước ngọt có thể tới 3 năm, hoặc hơn nữa. Với ống dẫn, người ta ít dùng mặt phủ bằng sơn vì khó làm hơn. Để tiêu diệt sự phát sinh phát triển sinh vật, người ta phải dùng các biện pháp hóa lý, như chlore hóa. Liều lượng và thời gian chlore hóa tùy từng trường hợp và phải đảm bảo lượng chlore dư ở các điểm phân phối nước là 0.1-1 mg/l.

Đối với các loài động vật, đại tiểu động vật, giun, tôm, nhuyễn thể... thì chế độ chlore hóa và liều lượng chlore phải cao hơn.

Phương pháp điện (lọc điện và cathod) cũng là biện pháp tốt để chống phát sinh phát triển sinh vật. Dùng phương pháp lọc điện khi lưu lượng nước ít. Bộ Dreissera bị tiêu diệt khi dùng dòng điện xoay chiều tần số công nghiệp với mật độ  $25mA/cm^2$ . Phương pháp cathod bao gồm: cực âm của nguồn điện một chiều nối với công trình, điện cực dương đặt trong công trình. Phương pháp này cho hiệu suất cao hơn và kinh tế hơn 2 phương pháp trên. Ngày nay người ta nghiên cứu dùng siêu âm để bảo vệ công trình. Cường độ siêu âm:  $1-2W/cm^2$ , trong vài phút sẽ diệt được các loài nhuyễn thể. Ngoài ra người ta còn dùng các phương pháp tẩy rửa - cọ rửa cơ học như nạo vét đáy, ở kênh, nhặt cỏ...

## 7.5. VI SINH VẬT VỚI QUÁ TRÌNH XỬ LÝ Ô NHIỄM MÔI TRƯỜNG NƯỚC

Cùng với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học kỹ thuật, sự phát triển của sản xuất và tiêu dùng của khoảng 6 tỉ người dân trên hành tinh hàng năm đã tạo ra một lượng chất thải khổng lồ, từ đó đã gây ra ô nhiễm trầm trọng môi trường sống : ô nhiễm nguồn nước, mặt đất và không khí. Trước thực trạng này con người đã và đang tích cực khắc phục tình trạng ô nhiễm, cố gắng trả lại cho hành tinh sự trong sạch ban đầu của nó. Hiện nay, việc xử lý ô nhiễm môi trường được đặt ra một cách khẩn cấp và có ý rất lớn. Nó vừa liên quan đến việc bảo vệ môi trường, tạo cân bằng sinh thái, đồng thời lại giúp tiết kiệm lương thực, nguyên liệu và tạo ra nguồn năng lượng mới.

Trong phần này, đề cập chủ yếu đến vấn đề xử lý ô nhiễm nguồn nước thải mà cụ thể là quan tâm đến vi sinh vật và quá trình xử lý nước thải.

### 7.5.1. Các loại nước thải:

Có rất nhiều loại nước thải khác nhau, thông thường người ta phân làm 2 loại chính:

#### a. Nước thải sinh hoạt:

Là nước thải từ các khu tập trung dân cư. Nước thải này được sinh ra từ sinh hoạt như ăn uống, tắm giặt cũng như phân, nước tiểu con người hàng ngày thải ra được xả vào hệ thống cống rãnh của thành phố. Trong nước thải loại này có chứa nhiều phân, rác, các hợp chất hữu cơ và muối hoà tan, đặc biệt là chứa nhiều loại vi sinh vật gây bệnh , các loại trứng giun, sán ... Đây là loại nước thải phổ biến và có số lượng nhiều

nhất. Mức độ ô nhiễm của loại nước thải này phụ thuộc vào nếp sống văn minh, trình độ dân trí của từng đô thị, của từng quốc gia.

### **b. Nước thải công nghiệp:**

Là loại nước thải của một nhà máy hay khu công nghiệp tập trung với các loại hình sản xuất khác nhau :

- Các nhà máy chế biến thực phẩm như đường, rượu bia, đồ hộp, sữa, giết mổ gia súc...

- Các nhà máy sản xuất nguyên vật liệu như giấy, xà phòng, công nghiệp dệt, công nghiệp hoá dầu, sản xuất các loại hoá chất ...

Ở nước thải công nghiệp, ngoài việc chứa hàm lượng cao các hợp chất hữu cơ như protein, các dạng carbohydrate, dầu mỡ (từ công nghệ chế biến thực phẩm), hemicellulose, lignin (công nghiệp sản xuất giấy), còn có các hợp chất hoá học khó phân huỷ như các hợp chất vòng thơm có N, các alkyl benzensulfonate (công nghiệp sản xuất bột giặt), các loại dung môi, các kim loại nặng như chì, thủy ngân ...

Nói chung, so với nước thải sinh hoạt, nước thải công nghiệp có các chỉ số BOD (nhu cầu oxygen sinh hoá) và COD (nhu cầu oxygen hoá học) cao hơn nhiều. Nước thải công nghiệp có độ ô nhiễm cao hơn so với nước thải sinh hoạt.

Theo các quy phạm, luật về bảo vệ môi trường, mỗi nhà máy phải có công trình xử lý nước thải của mình trước khi thải ra hệ thống thoát nước của thành phố. Nhưng thực tế cho thấy hiện nay quy định nói trên ít được quan tâm thực hiện nghiêm túc. Nhiều nhà máy còn tùy tiện xả trực tiếp nước thải qua xử lý ra hệ thống cống thoát nước của thành phố. Thậm chí có nơi, có lúc còn xả trực tiếp ra đồng ruộng hay khu vực dân cư, sông, rạch gần đó. Kết quả là hiện nay ở các đô thị, tình trạng ô nhiễm sông, rạch, kênh, hồ trở nên phổ biến và nhiều nơi đang ở mức báo động.

## **7.5.2. Khu hệ vi sinh vật và các tác nhân gây bệnh trong nước thải:**

### **7.5.2.1. Khu hệ vi sinh vật trong nước thải:**

Trong nhiều trường hợp, mỗi loại nước thải có một khu hệ vi sinh vật đặc trưng. Nước thải sinh hoạt chứa phân, nước rửa, tắm giặt, thức ăn thừa ... chứa rất nhiều vi khuẩn , trung bình từ vài triệu đến vài chục triệu cá thể trong 1ml. Trong đó chủ yếu là:

- Vi khuẩn gây thối như *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bac.cereus*, *Bac.subtilis*, *Enterobacter cloacae* ...

- Đại diện của các nhóm khác như vi khuẩn phân giải đường, tinh bột, cellulose, urea...

Các vi khuẩn thuộc nhóm Coliform, là vi sinh vật chỉ thị cho mức độ ô nhiễm phân trong nước ở mức độ cao, có thể dao động từ vài nghìn đến vài trăm nghìn cá thể trong 1ml nước thải.

Trong nước thải giàu chất hữu cơ, các vi khuẩn có dạng hình ống giữ vai trò rất quan trọng, trước hết phải kể đến một đại diện là vi khuẩn *Sphaerotilus natans*, thường hay bị nhầm là "nấm nước thải". Nó phủ lên mặt đáy của vùng nước cực bản một lớp

khối tế bào dày đặc, bằng mắt thường cũng có thể quan sát được. Trên sông nó tạo thành các sợi và các búi. Khi bị đứt ra sẽ trôi nổi đầy trên mặt nước. Bọ này thường phát triển mạnh ở vùng nước có đủ oxygen. Ngoài việc xuất hiện ở nước thải sinh hoạt, *Sphaerotilus natans* thường được thấy có trong nước thải của các nhà máy cellulose và thực phẩm. Do sự phát triển mạnh của *Sphaerotilus*, oxygen bị tiêu thụ nhiều. Khi một lượng lớn *Sphaerotilus natans* tích tụ ở những vùng nước lặn sẽ xuất hiện tình trạng báo động về oxygen. Nó sẽ nhanh chóng làm cho oxygen trong nước biến mất hoàn toàn. Cuối cùng rồi cả khối *Sphaerotilus natans* cũng chết vì bị thổi rửa, H<sub>2</sub>S sẽ xuất hiện cùng một lúc với một số chất khác. Trong môi trường lúc này khí H<sub>2</sub>S được tạo thành còn do quá trình phản ứng sulfate hoá của vi khuẩn phản sulfate như *Desulfovibrio desulfuricans*.

Bên cạnh vi khuẩn, trong nước thải giàu chất hữu cơ cũng có chứa nhiều loại nấm men. Có thể dao động từ vài ngàn đến vài chục ngàn tế bào nấm men trong 1ml. Phổ biến nhất là đại diện của *Saccharomyces*, kể là *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*.

Trong nước thải sinh hoạt cũng chứa nhiều bào tử cả sợi nấm mốc. Nấm mốc tiêu biểu là *Leptomitia lacteus*, *Fusarium aquaeducteum*. Giống như *Sphaerotilus natans*, ở những nơi ô nhiễm mạnh (như nhiễm dịch kiềm fulite của công nghiệp chế biến gỗ), các giống nấm này phát triển rõ lên và tạo thành những đám nấm đáng sợ.

Một số nước thải cũng phát hiện nhiều vi khuẩn phản nitrat hoá như *Thiobacillus denitrificans*, *Micrococcus denitrificans*; vi khuẩn sinh methane (CH<sub>4</sub>) ...

Trong nước thải chứa dầu, người ta cũng tìm thấy các vi khuẩn phân giải hydrocarbon như *Pseudomonas*, *Nocardia* ...

Trong nước thải có thể còn có một tập hợp khá đông đúc các loài tảo (Alage), gồm khoảng 15.000 loài. Chúng thuộc Tảo silic (*Bacillariophyta*), Tảo lục (*Chlorophyta*), Tảo giáp (*Pyrrophyta*)...

#### 7.5.2.2. Các tác nhân gây bệnh trong nước thải:

Ngoài những nhóm sinh lý khác nhau của vi sinh vật có trong nước thải đã nói trên, người ta còn đặc biệt quan tâm đến sự có mặt của các vi sinh vật gây bệnh, đặc biệt là ở những địa phương còn tệ nạn phóng uế bừa bãi trên sông rạch hoặc hệ thống nhà vệ sinh chưa hợp lý.

Các vi sinh vật gây bệnh thường không sống lâu trong nước thải vì đây không phải là môi trường thích hợp, nhưng chúng cũng có thể tồn tại trong một thời gian nào đó tùy từng loại vi khuẩn. Trong thời gian này nếu gặp điều kiện thuận lợi, tiếp xúc với người, gia súc, chúng sẽ gây các bệnh truyền nhiễm. Trong số các đối tượng gây bệnh sống trong nước, phải kể đến một số đại diện gây các bệnh rất nguy hiểm và rất phổ biến là:

- Vi khuẩn gây bệnh thương hàn (*Salmonella dysenteria*) : Vi khuẩn này sống được trong nước tùy thuộc vào chất dinh dưỡng và nhiệt độ của nguồn nước. Thông thường sống được trong vòng 20 ngày vào mùa hè và 60 ngày vào mùa đông.

- Vi khuẩn gây bệnh kiết lỵ (*Shigella*) : Sống tối đa 12 ngày ở 20<sup>0</sup>C trong nước cống, và nhiệt độ càng thấp chúng càng sống lâu hơn.

- Xoắn khuẩn (*Leptospira*) : Gây nên các chứng sưng gan, sưng thận và tê liệt hệ thần kinh trung ương. Chúng có thể sống tối đa 33 ngày ở 25<sup>0</sup>C.

- Trực trùng đường ruột (*E. Coli*): Có thể sống tối đa trong nước thải từ 9 đến 14 ngày ở 20<sup>0</sup>C.

- Vi khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*) : Cũng sống tối đa được 3 tuần trong nước thải.

- Phẩy khuẩn tả (*Vibrio cholera*) : Sống tối đa 13 ngày trong nước thải.

- Các virus (*Adenovirus, Echo, Coxsackie ...*) cũng có chu kỳ sống ngắn như các vi khuẩn.

Các vi khuẩn gây bệnh nói trên phân tán tương đối chậm trong đất khô, trong đó nước phân tán theo chiều ngang cũng ít (khoảng 1m), trong khi đó ảnh hưởng theo chiều sâu khá nhiều (khoảng 3m).

### 7.5.2.3. Vai trò của vi sinh vật trong sự tự làm sạch của các nguồn nước

Trước khi đề cập đến các biện pháp tích cực của con người nhằm xử lý ô nhiễm môi trường nước, chúng ta cần xem xét một hiện tượng rất đáng được quan tâm trong tự nhiên. Đó là quá trình tự làm sạch các nguồn nước do các yếu tố sinh học mà trong đó vi sinh vật đóng một vai trò rất quan trọng.

Các ao hồ, dòng sông cũng như một số vùng bờ biển luôn bị làm bẩn với các mức độ khác nhau do rác và nước thải của con người. Việc làm sạch các nguồn nước này có một ý nghĩa rất to lớn. Nhờ các quá trình này, các chất bẩn thường xuyên loại khỏi môi trường nước. Ta sẽ xem xét quá trình tự làm sạch các nguồn nước xảy ra như thế nào.

Ở đây các quá trình vật lý, hoá học như các hiện tượng sa lắng và oxy hoá giữ một vai trò quan trọng, song đóng vai trò quyết định vẫn là các quá trình sinh học. Tham gia vào các quá trình tự làm sạch này có rất nhiều loại sinh vật, từ các loại cá, chim đến nguyên sinh động vật và vi sinh vật.

Ở chỗ nước thải đổ ra, nước còn đục, có rất nhiều rác cặn bẩn của thức ăn, thường tụ tập nhiều loài chim khác nhau và cả cá nữa. Chúng sẽ nhặt nhạnh các mẫu thức ăn lớn và rác thải. Tuy vậy, chúng chỉ có thể sử dụng một phần rất nhỏ của các chất bẩn làm thức ăn. Các động vật bậc thấp mà trước hết là các ấu trùng của ấu côn trùng, giun và nguyên sinh động vật có vai trò lớn hơn một chút, chúng có thể sử dụng các hạt nhỏ và cực nhỏ của thức ăn. Song vi khuẩn và nấm giữ vai trò quyết định hơn cả. Chúng có thể sử dụng các hợp chất hữu cơ tồn tại ở thể rắn cũng như hoà tan trong dung dịch nước, và phân giải chúng đến muối vô cơ, CO<sub>2</sub> và H<sub>2</sub>O trong những trường hợp thuận lợi nhất của môi trường. Nói cách khác, trong những điều kiện thuận lợi của môi trường vi sinh vật có khả năng khoáng hoá một cách hoàn toàn nhiều chất bẩn hữu cơ.

Bên cạnh vai trò tích cực của các nhóm vi khuẩn, nấm mốc, trong nước thải còn có các loại tảo cũng đóng góp một phần quan trọng trong quá trình chuyển hoá các chất gây ô nhiễm môi trường khác. Trong nước thải, thông qua hoạt động sống của mình tảo cung cấp oxygen cho môi trường. Chúng còn tiết vào môi trường các chất

kháng sinh, những chất này là vũ khí lợi hại diệt các mầm bệnh trong nước thải (đặc biệt là khu hệ vi sinh vật gây bệnh đường ruột). Đối với các vi sinh vật gây bệnh, tảo còn gây cản trở sự phát triển của chúng bằng cách gây kiềm hoá môi trường sống của một số vi khuẩn, cạnh tranh nguồn thức ăn đối với các nhóm vi khuẩn này. Ngoài ra tảo còn tiết một số chất có hoạt tính sinh học, giúp kích thích sự phát triển của một số vi sinh vật có lợi trong môi trường nước thải. Một đóng góp không thể không nhắc tới của tảo là một số trong chúng có khả năng hấp thụ mạnh các kim loại nặng (chì, cadimi ...) và các tia phóng xạ.

Thông thường, protein, đường và tinh bột được phân giải nhanh nhất. Cellulose, lignin, mỡ, sáp bị phân giải chậm hơn nhiều, và sự phân giải xảy ra không hoàn toàn. Do vậy quần thể vi sinh vật cũng thay đổi tùy theo tiến độ của sự tự làm sạch và thành phần của chất thải có trong nước thải.

Trong thực tế cho thấy lực tự làm sạch các nguồn nước luôn thay đổi và phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố sau làm ví dụ :

- Lực tự làm sạch đạt trị số cực đại ở những vùng nước có sự chuyển động mạnh, tạo dòng chảy, làm chia đều nước thải và giúp trao đổi khí giữa nước và không khí xảy ra mạnh. Người ta nhận thấy sự phân giải mạnh các chất bản chỉ xảy ra khi có mặt của oxygen. Khi có dòng chảy của nước, oxygen hoà tan được cung cấp nhiều hơn. Ngược lại ở những thuỷ vực thiếu sự chuyển động của nước như ao tù, nơi nước đọng, nước thải đổ vào sẽ bị ứ đọng, thiếu oxygen, sự phân giải các chất bản kém. Quá trình tự làm sạch bị cản trở.

- Lực tự làm sạch cũng thay đổi theo mùa. Ở những nước có mùa hè, đông cách biệt về nhiệt độ rõ rệt thì lực tự làm sạch ở mùa hè lớn hơn ở mùa đông. Điều này xảy ra do hai nguyên nhân: vào mùa hè, nhiệt độ cao, có ánh nắng chiếu nhiều sẽ kích thích vi khuẩn phát triển nhanh và các thực vật nổi sẽ cung cấp thêm nhiều oxygen cho nước.

Khi nói đến ảnh hưởng của yếu tố khí hậu, người ta cũng nhận thấy ở vùng nhiệt đới quá trình tự làm sạch xảy ra nhanh hơn nhiều so với vùng ôn đới ...

Quá trình tự làm sạch nguồn nước một cách tự nhiên nói trên chỉ xảy ra ở những địa điểm mà thành phần và số lượng các chất bản phù hợp với lực tự làm sạch của các thuỷ vực. Thực tế hiện nay, các thuỷ vực bị chứa quá nhiều nước thải và rác so với khả năng tự làm sạch của nó, ngay cả ở những điều kiện môi trường thuận lợi nhất.

Tóm lại, quá trình tự làm sạch các nguồn nước gây ra do các tác nhân sinh học là một hiện tượng rất quý trong tự nhiên. Hiểu và nắm được quy luật hoạt động của nó, con người đã lợi dụng nó để làm sạch các nguồn nước thải có độ ô nhiễm vừa phải hoặc nước thải qua xử lý sinh học trong điều kiện nhân tạo.

### 7.5.3. Xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học:

Trong nhiều biện pháp xử lý ô nhiễm, biện pháp sinh học được mọi người đặc biệt quan tâm sử dụng. So với các biện pháp vật lý, hoá học, biện pháp sinh học chiếm vai trò quan trọng về quy mô cũng như giá thành đầu tư, do chi phí năng lượng cho một đơn vị khối lượng chất khử là ít nhất. Đặc biệt xử lý bằng biện pháp sinh học sẽ không gây tái ô nhiễm môi trường - một nhược điểm mà biện pháp hoá học hay mắc

phải. Biện pháp sinh học sử dụng một đặc điểm rất quý của vi sinh vật, đặc điểm đã thu hút sự chú ý của các nhà nghiên cứu và các nhà sản xuất là khả năng đồng hoá được rất nhiều nguồn cơ chất khác nhau của vi sinh vật, từ tinh bột, cellulose, cả nguồn dầu mỡ và dẫn xuất của nó đến các hợp chất cao phân tử khác như protein, lipid, cùng các kim loại nặng như chì, thủy ngân ... Thực chất của phương pháp này là nhờ hoạt động sống của vi sinh vật (sử dụng các hợp chất hữu cơ và một số chất khoáng có trong nước thải làm nguồn dinh dưỡng và năng lượng) để biến đổi các hợp chất hữu cơ cao phân tử có trong nước thải thành các hợp chất đơn giản hơn. Trong quá trình dinh dưỡng này vi sinh vật sẽ nhận được các chất làm vật liệu để xây dựng tế bào, sinh trưởng và sinh sản, nên sinh khối được tăng lên.

Biện pháp sinh học để xử lý nước thải có thể làm sạch hoàn toàn các loại nước thải công nghiệp chứa các loại chất bẩn hoà tan hoặc phân tán nhỏ. Do vậy biện pháp này thường dùng sau khi loại bỏ các tạp chất phân tán thô ra khỏi chất thải.

Đối với nước thải chứa các tạp chất vô cơ thì biện pháp này dùng để khử các muối sulfate, muối ammonium, muối nitrate, tức là những chất chưa bị oxy hoá hoàn toàn.

Xử lý sinh học làm sạch nguồn nước cũng là một vấn đề không kém phần quan trọng so với làm sạch không khí, tuy nhiên nó có lịch sử lâu đời hơn nhiều trong việc áp dụng vào thực tiễn. Theo quan điểm của giải pháp kỹ thuật, nó cần vốn đầu tư ít hơn so với làm sạch không khí. Thiết bị làm sạch chỉ là các bể nước chảy, trong đó có sự tham gia của nấm và vi khuẩn (cả hiếu khí và kỵ khí) để phân rã các chất hữu cơ. Trong rất nhiều trường hợp dòng nước thải có chứa các kim loại nặng hoặc các chất hữu cơ khó phân hủy. Mục đích làm sạch nước thải là giải phóng các chất khoáng ở thể rắn hoặc lỏng và chất hữu cơ khỏi nước, trước khi nó chảy vào sông hoặc suối và tạo điều kiện để phân hủy các chất hữu cơ bằng cách biến đổi chúng bằng enzyme thành các chất tan không độc với môi trường xung quanh.

Hàm lượng các chất hữu cơ được phân rã bởi vi sinh vật được đánh giá theo chỉ số "tiêu thụ sinh học oxy" BOD. Đây là số lượng oxy cần cho vi sinh vật để oxy-hoá vật liệu hữu cơ trong quá trình hô hấp. Thí dụ BOD<sub>5</sub> có nghĩa là số lượng oxy (mg) cần cho vi sinh vật trong quá trình phân rã các chất hữu cơ thời gian 5 ngày. Chỉ số "tiêu thụ hóa học oxy" (COD) biểu thị số lượng oxy cần trong quá trình oxy hóa hóa học hoàn toàn các chất nói trên đến CO<sub>2</sub> và H<sub>2</sub>O.

Để làm sạch nước thải trong các hệ thống làm sạch người ta sử dụng các kỹ thuật xử lý khác nhau, tuy nhiên chúng đều hoạt động theo các giai đoạn sau:

- 1) Loại bỏ các hạt dễ lắng trong bể lắng cát ở hồ nước thứ nhất.
- 2) Oxy hóa bằng vi sinh vật các chất hữu cơ hòa tan với việc sử dụng bùn hoạt tính và biofilter.
- 3) Ủ phân cặn được loại bỏ từ hồ nước thứ nhất và thứ hai ở điều kiện yếm khí trong phân hầm biogas, kết quả nhận được khí methane và cặn. Từ cặn này sau khi loại nước ta sẽ nhận được compost và sử dụng nó để đốt hoặc làm phân.



Sau đó nước trong đã được làm sạch sẽ được đổ trực tiếp vào sông hoặc thông qua hồ chứa nước. Nước được xử lý chứa các sản phẩm của các quá trình khoáng hóa như các ion phosphate, nitrate và ammonia v.v... Khả năng gây nhiễm bẩn các hồ chứa nước có thể loại bỏ được, nếu nước thải được sử dụng để tưới ruộng hoặc làm phân bón cho đất trồng rừng. Nói chung các giải pháp kỹ thuật của vấn đề làm sạch nước thải có rất nhiều phương án.

**BẢNG 7.4 : Nồng độ giới hạn cho phép của các chất trong nước thải (CCP) đưa vào các công trình làm sạch bằng biện pháp sinh học.**

TÊN CHẤT	CCP (g/m <sup>3</sup> nước thải)	TÊN CHẤT	CCP* (g/m <sup>3</sup> nước thải)
Acid acrylic	100	Mỡ bôi trơn	100
Rượu amylic	3	Acid butyric	500
Aniline	100	Đồng (ion)	0,4
Acetaldehyde	750	Metacrylamide	300
Acid benzoic	150	Rượu metylic	200
Benzene	100	Acid monochloacetic	100
Vanadium (ion)	5	Arsen (ion)	0,2
Vinyl acetate	250	Nickel (ion)	1
Vinilinden chlorua	1000	Sản phẩm của dầu	100
Hydroquinol	15	Pyridine	400
Acid dichloacetic	100	Tributylphosphate	100
Dichlocyclohexane	12	Triethylamine	85
Diethylamine	100	Trinitrotoluene	12
Diethyleneglycol	300	Triphenylphosphate	10
Caprolactan	100	Phenol	1000
Rezorcic	100	Formaldehyde	160
Amon rodanua	500	Chlobenzene	10
Chì (ion)	1	Toluen	200
Acid stearic	300	Sulphanole	10
Sulfur (theo H <sub>2</sub> S)	20	Antimon (ion)	0,2
Kerosene (dầu lửa)	500	Crezol	100
Lactonitryl	160		

(\*) : Ghi chú: CCP là nồng độ giới hạn cho phép của các chất (g/m<sup>3</sup> nước thải)

Ngoài ra, các điều kiện của môi trường như hàm lượng O<sub>2</sub>, pH, nhiệt độ của nước thải ... cũng phải nằm trong một giới hạn nhất định để bảo đảm sự sinh trưởng, phát triển bình thường của các vi sinh vật tham gia vào quá trình xử lý.

### 7.5.3.1. Thành phần và cấu trúc các tác nhân sinh học tham gia xử lý nước thải

Yếu tố quan trọng nhất của biện pháp sinh học để xử lý nước thải là sử dụng bùn hoạt tính (activated sludge) hoặc màng sinh vật.

- Bùn hoạt tính cũng như màng sinh vật là tập hợp tất cả các loại vi sinh vật khác nhau.

- Bùn hoạt tính là bông màu vàng nâu dễ lắng, có kích thước 3 -150  $\mu\text{m}$ . bao gồm các vi sinh vật sống và cơ chất rắn (40%). Những vi sinh vật sống bao gồm vi khuẩn, nấm men, nấm mốc, một số nguyên sinh động vật, dòi, giun.

Màng sinh vật phát triển ở bề mặt các vật liệu lọc có dạng nhầy, dày từ 1-3mm hoặc hơn. Màu của nó thay đổi theo thành phần của nước thải, từ vàng xám đến nâu tối. Màng sinh vật cũng bao gồm vi khuẩn, nấm men, nấm mốc và một số động vật nguyên sinh khác. Trong quá trình xử lý, nước thải sau khi qua bể lọc sinh vật có mang theo các hạt của màng sinh vật với các hình dạng khác nhau, kích thước từ 15 - 30 $\mu\text{m}$ , có màu vàng xám và nâu.

Muốn đưa bùn hoạt tính vào các thiết bị xử lý, cần thực hiện một quá trình gọi là "khởi động" tức là quá trình để cho các loại bùn gốc ban đầu (thường kém về khả năng lắng và hoạt tính) được nuôi dưỡng để trở thành loại bùn có hoạt tính cao và tính kết lắng tốt. Có thể gọi đó là quá trình "hoạt hoá" bùn hoạt tính. Cuối thời kỳ "khởi động" bùn sẽ có dạng hạt. Các hạt này có độ bền cơ học khác nhau, có mức độ vỡ ra khác nhau khi chịu tác động khuấy trộn. Sự tạo hạt của bùn ở dạng này hay dạng khác phụ thuộc vào tính chất và nồng độ của bùn gốc, chất lượng môi trường cho thêm vào để hoạt hoá bùn, phương thức hoạt hoá và cuối cùng là thành phần các chất có trong nước thải.

Loại bùn gốc tốt nhất lấy từ bùn ở các thiết bị xử lý nước thải đang hoạt động. Nếu không có loại này thì có thể lấy loại bùn chưa thích nghi như bùn lấy từ các bể xử lý theo kiểu tự hoại, bùn cống rãnh, kênh vạch ô nhiễm nhiều, bùn phân heo, phân bò đã phân huỷ ... Các vi sinh vật chứa trong bùn này nghèo về số lượng nhưng đa dạng về chủng loại.

#### ***7.5.3.2. Xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học trong điều kiện tự nhiên***

Cơ sở khoa học của phương pháp này là dựa vào khả năng tự làm sạch của đất và nước dưới tác động của các tác nhân sinh học có trong tự nhiên, nghĩa là thông qua hoạt động tổng hợp của các tác nhân từ động vật, thực vật đến vi sinh vật để làm biến đổi nguồn nước thải bị nhiễm bẩn bởi các hợp chất hữu cơ và vô cơ, và từ đó tiến tới giảm được các chỉ số COD và BOD của nước thải xuống tới mức cho phép khiến các nguồn nước này có thể sử dụng tưới cho cây trồng hay dùng để nuôi các loại thủy sản.

Biện pháp xử lý này thường áp dụng đối với các loại nước thải công nghiệp có độ nhiễm bẩn không cao hoặc nước thải sinh hoạt

Việc xử lý nước thải này được thực hiện bằng các cánh đồng tưới, bãi lọc hoặc hồ sinh học.

Diễn biến của quá trình xử lý như sau: Người ta cho nước thải chảy qua các khu ruộng đang canh tác hoặc những cánh đồng trồng không canh tác được ngăn bờ tạo thành những ô thửa, hoặc cho nước thải chảy vào các ao, hồ có sẵn. Nước thải ở trong các thủy vực này sẽ thấm qua các lớp đất bề mặt, cặn sẽ được giữ lại ở đáy. Trong quá trình tồn lưu nước ở đây, dưới tác động của vi sinh vật cùng các loại tảo, thực vật sẽ xảy ra quá trình oxy hoá sinh học, chuyển hoá các hợp chất hữu cơ phức tạp thành các chất đơn giản hơn, thậm chí có thể bị khoáng hoá hoàn toàn. Như vậy, sự có mặt

của oxygen không khí trong các mao quản của đất hoặc oxygen được thải ra do hoạt động quang hợp của tảo và thực vật sẽ là yếu tố quan trọng, cần cho quá trình oxy hoá nguồn nước thải. Càng xuống lớp đất ở dưới sâu lượng oxygen càng ít đi, vì vậy sẽ ảnh hưởng đến quá trình oxy hoá, làm quá trình này giảm dần. Cuối cùng đến một độ sâu nhất định chỉ còn lại hoạt động của vi khuẩn gây quá trình khử nitrat.

Quá trình xử lý này cho thấy ngoài việc làm sạch nguồn nước thải, con người còn sử dụng chính nguồn nước đã được xử lý này để phục vụ tưới cho cây trồng trên đồng ruộng hay để nuôi các loại thủy sản.

Tùy theo phương pháp xử lý mà nguồn nước sau xử lý sẽ được ứng dụng khác nhau:

- Ở phương pháp xử lý bằng cánh đồng tưới và bãi lọc chức năng xử lý nước thải là chủ yếu, còn tác dụng phục vụ nông nghiệp (nước tưới cho cây trồng) là thứ yếu.

- Ở biện pháp hồ sinh học thì ngoài nhiệm vụ xử lý bằng nước thải, biện pháp này còn phục vụ cho việc nuôi trồng thủy sản, cung cấp nguồn nước tưới cho cây trồng và giúp điều hoà dòng chảy của nước mưa trong hệ thống nước thải của các đô thị.

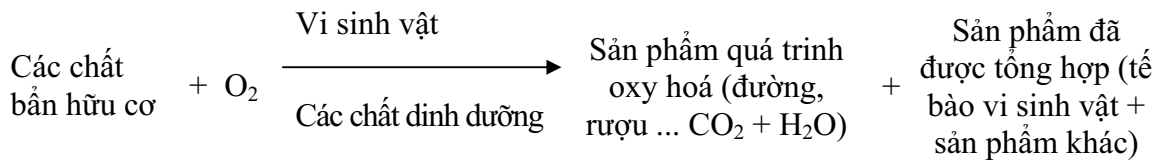
Ở các đô thị của Việt Nam có rất nhiều ao hồ, sông rạch, do vậy việc xử lý nước thải sinh hoạt thành phố bằng biện pháp sinh học trong điều kiện tự nhiên là khá thích hợp. Biện pháp này ít tốn kém vốn đầu tư, việc bảo trì, vận hành không đòi hỏi có người quản lý thường xuyên. Ngoài ra, các hình thức xử lý này ít nhiều cũng quen thuộc với người dân Việt Nam qua việc trước nay thường sử dụng ao hồ để thả bèo, nuôi tôm cá.

### 7.5.3.3. Xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học trong điều kiện nhân tạo:

#### 1 Xử lý hiếu khí nước thải :

##### a. Nguyên lý chung của quá trình oxy hoá sinh học trong điều kiện hiếu khí :

Khi nước thải tiếp xúc với bùn hoạt tính, các chất thải có trong môi trường như các chất hữu cơ hoà tan, các chất keo và phân tán nhỏ sẽ được chuyển hoá bằng cách hấp phụ và keo tụ sinh học trên bề mặt các tế bào vi sinh vật. Tiếp sau đó là giai đoạn khuếch tán và hấp thụ các chất bản từ mặt ngoài của tế bào vào trong tế bào quan màng bán thấm (tức màng nguyên sinh). Các chất vào trong tế bào dưới tác động của hệ enzym nội bào sẽ được phân huỷ. Quá trình phân giải các chất bản hữu cơ xảy ra trong tế bào chất của tế bào sống là các phản ứng oxy hoá khử, có thể diễn biến ở dạng tổng quát như sau :



Sự oxy hóa các chất hữu cơ và một số chất khoáng trong tế bào vi sinh vật nhờ vào quá trình hô hấp. Nhờ năng lượng do vi sinh vật khai thác được trong quá trình hô hấp mà chúng có thể tổng hợp các chất để phục vụ cho quá trình sinh trưởng, sinh sản... Kết quả là số lượng tế bào vi sinh vật không ngừng được tăng lên.

Các quá trình trên liên tục xảy ra, nồng độ các chất ở xung quanh tế bào sẽ giảm dần. Các thành phần thức ăn mới từ môi trường bên ngoài (nước thải) lại khuếch tán và bổ sung thay thế vào. Thông thường quá trình khuếch tán các chất trong môi trường

xảy ra chậm hơn quá trình hấp thụ qua màng tế bào, do vậy nồng độ các chất dinh dưỡng xung quanh tế bào bao giờ cũng thấp hơn nơi xa tế bào. Đối với sản phẩm của tế bào tiết ra thì ngược lại, nhiều hơn so với nơi xa tế bào.

*b. Các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến môi trường xử lý*

Để bảo đảm quá trình xử lý bằng biện pháp sinh học trong điều kiện hiếu khí được tiến hành tốt, người ta theo dõi và điều chỉnh các yếu tố môi trường sau đây:

- *Oxygen (O<sub>2</sub>)* : Trong các công trình xử lý hiếu khí, O<sub>2</sub> là một thành phần cực kỳ quan trọng của môi trường. Công trình phải bảo đảm cung cấp đầy đủ lượng O<sub>2</sub> một cách liên tục và hàm lượng O<sub>2</sub> hoà tan trong nước ra khỏi bể lắng đợt hai không nhỏ hơn 2mg/l.

- *Nồng độ các chất bản hữu cơ* phải thấp hơn ngưỡng cho phép. Có nhiều chất bản hữu cơ nếu nồng độ quá cao, vượt quá mức cho phép sẽ ảnh hưởng xấu đến hoạt động sống của vi sinh vật tham gia xử lý, cần kiểm tra các chỉ số BOD và COD của nước thải. Cụ thể: hỗn hợp nước thải công nghiệp và nước thải sinh hoạt chảy vào công trình xử lý là bể lọc sinh học phải có BOD toàn phần (BOD<sub>tp</sub>) ≤ 500mg/l, nếu dùng bể aeroten, thì BOD<sub>tp</sub> không được quá 1000mg/l. Nếu nước thải có chỉ số BOD<sub>tp</sub> vượt quá giới hạn nói trên, cần thiết phải dùng nước thải đã qua xử lý hay nước sông đã pha loãng.

- *Nồng độ các chất dinh dưỡng cho vi sinh vật* : Để vi sinh vật tham gia thực hiện các quá trình oxy hoá nước thải một cách có hiệu quả, cần thiết phải cung cấp cho chúng đầy đủ các chất dinh dưỡng trong môi trường sống. Lượng các chất dinh dưỡng cần thiết để các quá trình sinh sản xảy ra bình thường không được thấp hơn giá trị nêu ở bảng 7.5.

**BẢNG 7.5 : Nồng độ các chất dinh dưỡng cần thiết**

(Theo M.X. Moxitrep, 1982)

<b>BOD<sub>tp</sub> của nước thải (mg/l)</b>	<b>Nồng độ nitrogen trong muối ammonium (mg/l)</b>	<b>Nồng độ phosphor trong P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (mg/l)</b>
< 500	15	36
500 - 1000	25	8

Ngoài nguồn nitrogen, phosphor có nhu cầu như đã nêu ở bảng 7.5, các yếu tố dinh dưỡng khoáng khác như K, Ca, S ... trong nước thải thường cũng đủ cung cấp cho nhu cầu của vi sinh vật, ta không cần phải cho thêm vào nữa.

Các chất dinh dưỡng nói trên rất cần cho hoạt động sống của vi sinh vật tham gia xử lý nước thải, nếu thiếu sẽ kìm hãm và ngăn cản các quá trình oxy hoá sinh học. Nếu thiếu nitrogen một cách lâu dài, ngoài việc cản trở các quá trình sinh hoá, còn làm cho bùn hoạt tính khó lắng và dễ trôi theo nước ra khỏi bể lắng.

Để xác định sơ bộ lượng các nguyên tố dinh dưỡng cần thiết đối với nhiều loại nước thải công nghiệp, có thể chọn tỉ lệ sau :

$$\text{BOD}_{tp} : \text{N} : \text{P} = 100 : 5 : 1$$

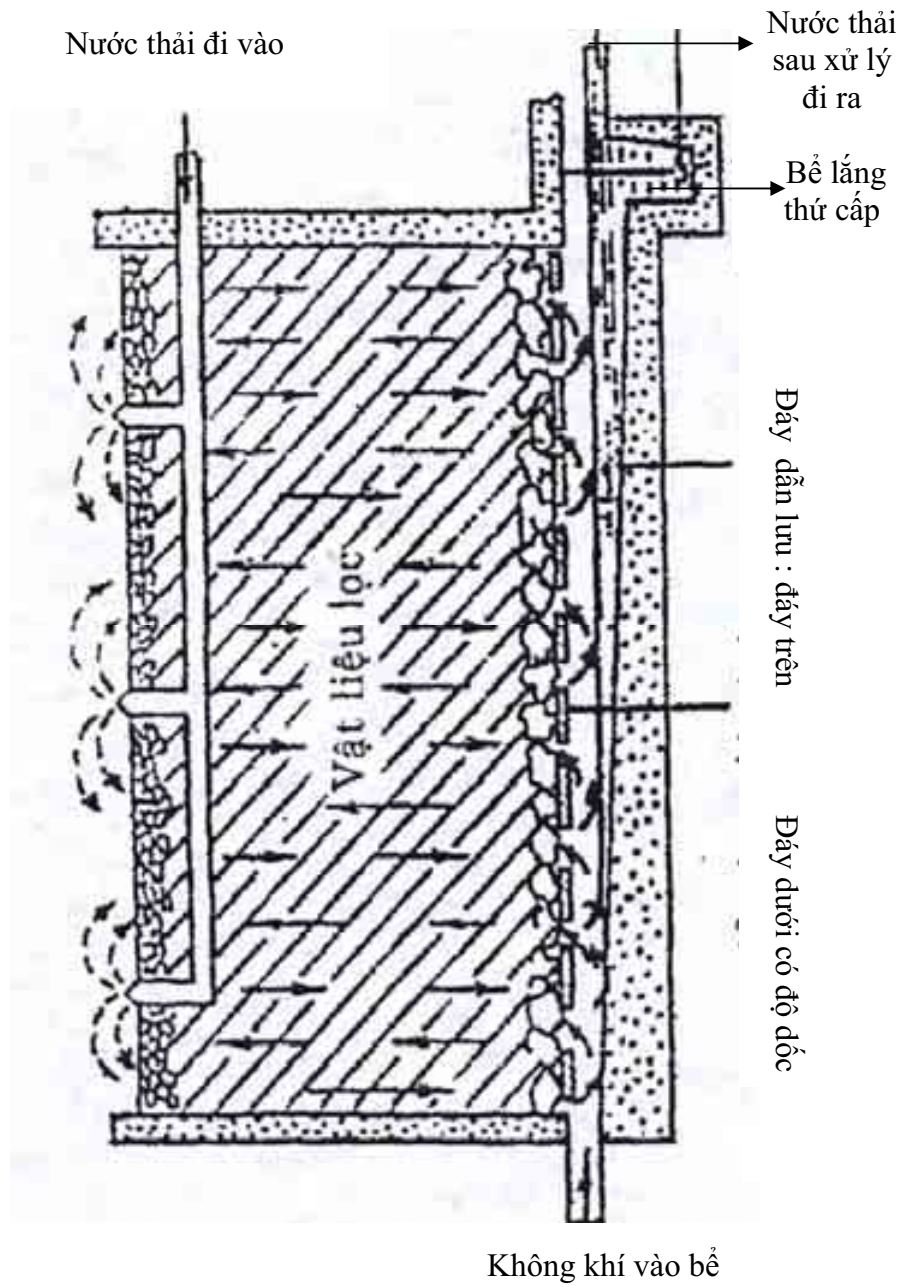
Ngoài ra các yếu tố khác của môi trường như pH,  $t^0$  cũng có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình hoạt động của vi sinh vật trong các thiết bị xử lý. Qua thực nghiệm cho thấy, thường giá trị pH tối ưu cho hoạt động phân giải của các vi sinh vật trong bể xử lý hiếu khí là 6,5 - 8,5 và nhiệt độ của nước thải trong các công trình nằm trong khoảng  $6^0C - 37^0C$ .

**c. Các dạng công trình xử lý hiếu khí nước thải:**

\* Để xử lý nước thải bằng phương pháp sinh học trong điều kiện hiếu khí, thường sử dụng hai loại công trình là *bể lọc sinh học (biofilter)* và *bể sục khí (aerotan)*.

- *Bể lọc sinh học (biofilter)* :

Là thiết bị xử lý nước thải dựa theo nguyên tắc lọc với sự tham gia của vi sinh vật. Thiết bị này làm bằng bê tông có dạng hình tròn hay hình chữ nhật có hai đáy (*hình 7.8*). Đáy trên gọi là đáy dẫn lưu, được cấu tạo bằng bê tông cốt thép có thùng lỗ với tổng diện tích các lỗ thùng không nhỏ hơn 5 - 8% diện tích của đáy. Đáy dưới được xây kín, có độ dốc nhất định (để nước dễ dàng chảy về một phía) và thông với bể lắng thứ cấp, là nơi nước thải sau khi xử lý xong đổ ra. Ở bể này nước được lưu lại một thời gian ngắn để được lắng cặn trước khi đổ ra ngoài hoà vào hệ thống thoát nước của thành phố. Chiều cao của bể lọc (hay chiều cao của cột nguyên liệu) sẽ phụ thuộc vào thành phần của nước thải cũng như khả năng oxy hoá của màng sinh vật.



Hình 7.10: Bể lọc sinh học

Để tạo điều kiện hiếu khí cho quá trình xử lý, từ phía dưới của đáy dẫn lưu, người ta cho không khí đi lên qua vật liệu lọc hoặc tấm mang bằng thông khí tự nhiên (do chênh lệch nhiệt độ trong bể lọc) hay thổi khí bằng quạt.

Vật liệu dùng trong bể lọc là các loại đá cuội, đá dăm và xỉ than đá (theo phương pháp cổ điển). Hiện nay để tăng diện tích tiếp xúc giữa vi sinh vật và hệ thống nước lọc sinh học, người ta thay các vật liệu lọc bằng những tấm mang làm bằng vật liệu nhẹ, xốp có cấu tạo dạng ống hoặc dạng miếng, được thiết kế sao cho có nhiều nếp gấp khúc (để tăng diện tích bề mặt).

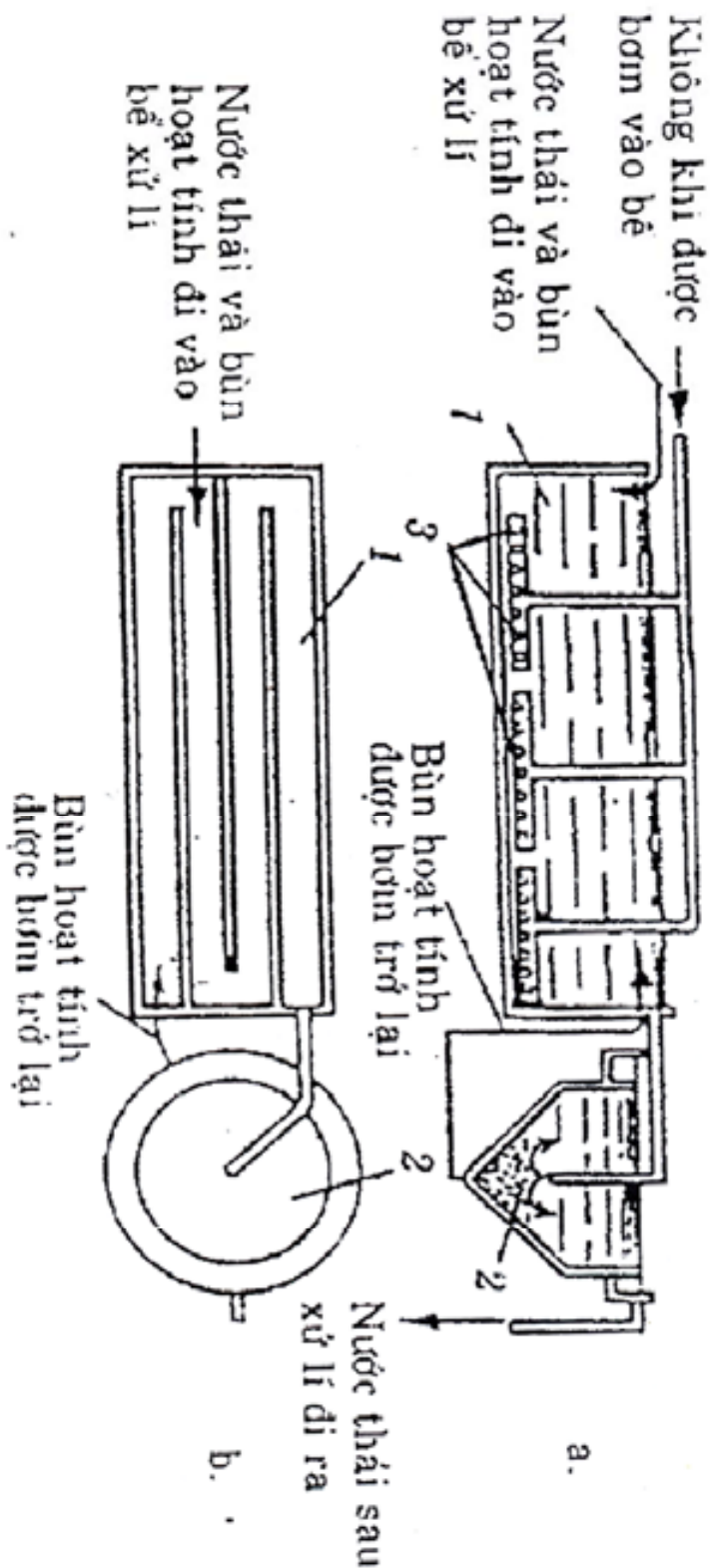
Nước thải có chứa vi sinh vật tham gia xử lý được tưới từ trên xuống lớp vật liệu lọc hay tấm mang theo nguyên tắc chênh lệch thế năng. Khi dòng nước thải chảy qua vật liệu lọc hay tấm mang, vi sinh vật sẽ phát triển tạo thành màng sinh vật bám vấp khắp bề mặt của nguyên liệu lọc và tấm mang, và khu trú ở đây. Như vậy, khi dòng nước thải chảy liên tục với một vận tốc nhất định từ trên bề mặt của bể lọc xuống sẽ tiếp xúc trực tiếp với màng sinh vật. Và lúc đó sẽ xảy ra quá trình oxy hoá các chất bẩn có trong nước thải, để cuối cùng khi đến bể lắng thứ cấp, nước thải sẽ có chỉ số BOD<sub>5</sub> giảm đi rất nhiều so với nước thải chưa xử lý.

Trong quá trình vận hành của bể lọc sinh học, sự sinh trưởng và chết đi của màng sinh vật xảy ra không ngừng. Màng sinh vật bị chết sẽ bị tách ra khỏi nơi bám và bị cuốn theo dòng chảy, chảy ra khỏi bể lọc, cuối cùng sẽ được lắng lại ở bể lắng thứ cấp vùng nơi cặn bùn.

Hiệu quả làm sạch nước thải của bể lọc sinh học khá cao. Nếu hệ thống bể lọc hoạt động tốt có thể xử lý làm giảm 90% chỉ số BOD<sub>5</sub> của nước thải.

- *Bể sục khí (Aerotan):*

Ngoài việc dùng bể lọc sinh học, trong xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học ở điều kiện hiếu khí, người ta có thể sử dụng bể sục khí (aerotan).



Hình 27: Bể sục khí (Aerotan)  
 a. Mặt cắt dọc ; b. Mặt cắt ngang

Hình 7.11 Bể sục khí (Aerotan)  
 a. Mặt cắt dọc ; b. Mặt cắt ngang



Bể sục khí (hình 7.11) là hệ thống bể oxy hoá (1) có dạng hình chữ nhật được ngăn ra làm nhiều buồng (3 đến 4 buồng) nối với bể lắng (2). Giống như ở bể lọc sinh học, quá trình xử lý nước thải ở bể sục khí được tiến hành nhờ hoạt động của hệ vi sinh vật ở bùn hoạt tính. Nhưng quá trình này được thực hiện trong điều kiện có thông khí mạnh nhờ hệ thống sục khí từ dưới đáy bể lên (3). Cường độ thông khí:  $5\text{m}^3/\text{m}^2/\text{giờ}$ , bảo đảm oxygen tối đa cho quá trình oxy hoá. Ở bể oxy hoá, bùn hoạt tính lấy từ bùn gốc sau khi qua giai đoạn khởi động hay sử dụng bùn lắng lấy từ bể lắng cặn (2) chuyển vào. Ở đây bùn hoạt tính gặp oxygen của không khí được bơm vào bể sẽ tiến hành quá trình oxy hoá và khoáng hoá các chất bẩn trong nước thải một cách khá triệt để. Sau khi chảy suốt qua các buồng của bể oxy hoá, nước thải sẽ chảy vào bể lắng. Ở đây cũng sẽ xảy ra quá trình lắng cặn xuống đáy bể, phần nước ở trên là nước đã được xử lý sẽ được dẫn ra ngoài.

Trong quá trình vận hành, ở bể oxy hoá, theo thời gian lượng bùn hoạt tính sẽ tăng lên, đồng thời cũng tích lũy nhiều tế bào vi sinh vật già cỗi khiến hoạt tính của bùn sẽ giảm. Người ta nói bùn bị già. Vì vậy khi cho bùn thu ở bể lắng trở lại bể oxy hoá, không nhất thiết cho toàn bộ số bùn có trong bể lắng, mà chỉ cho một phần, để bảo đảm nồng độ bùn hoạt tính là 2 - 4g/l.

Xử lý nước thải bằng bể aeroten phức tạp và đòi hỏi nhiều công sức hơn so với bể lọc sinh học. Người ta phải theo dõi liên tục và kịp thời điều chỉnh các chỉ số sau:

- + Nồng độ bùn hoạt tính
- + Chế độ thông khí
- + Nồng độ các chất bẩn trong nước thải
- + Nồng độ các chất dinh dưỡng cho vi sinh vật.

## 2. Xử lý kỵ khí nước thải

Quy trình xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học trong điều kiện kỵ khí là quy trình sinh học phân huỷ một cách yếm khí các chất hữu cơ chứa trong nước thải để tạo thành khí  $\text{CH}_4$ , các sản phẩm vô cơ kể cả  $\text{CO}_2$  và  $\text{NH}_3$ .

Quy trình này có những ưu điểm sau:

- Nhu cầu về năng lượng không nhiều.
- Ngoài vai trò xử lý nước thải, bảo vệ môi trường, quy trình còn tạo được nguồn năng lượng mới là khí sinh học, trong đó  $\text{CH}_4$  chiếm tỷ lệ 70 - 75%.
- Cũng như xử lý sinh học hiếu khí, ở quy trình này, bùn hoạt tính cũng được sử dụng làm tác nhân gây biến đổi thành phần của nước thải. Bùn hoạt tính được sử dụng ở đây có lượng bùn dư thấp, có tính ổn định khá cao, để duy trì hoạt động của bùn không đòi hỏi cung cấp nhiều chất dinh dưỡng, bùn có thể tồn trữ trong thời gian dài.
- Về mặt thiết bị: Công trình cấu tạo khá đơn giản, có thể làm bằng vật liệu tại chỗ với giá thành không cao.

Bên cạnh những ưu việt nêu trên, cho đến nay quy trình xử lý sinh học kỵ khí cũng còn có những hạn chế sau :

- Quy trình này nhạy cảm với các chất độc hại, với sự thay đổi bất thường về tải trọng của công trình. Do vậy, khi sử dụng cần có sự theo dõi sát sao các yếu tố của môi trường.

- Xử lý nước thải chưa triệt để, cần phải xử lý hiếu khí sau đó.

Thấy được những ưu điểm của loại quy trình này nên các nhà khoa học đã cố gắng đầu tư nghiên cứu từ quy mô pilot với các mô hình có khối tích nhỏ: 6m<sup>3</sup>, 30 m<sup>3</sup>, 200 m<sup>3</sup>... đến quy mô lớn. Đến nay đã có trên dưới vài chục nhà máy xử lý sinh học kỵ khí nước thải ở các nước như Hà Lan, Hoà Kỳ, Thụy Sĩ, Cộng hoà Liên bang Đức ....

*a. Các quá trình chuyển hoá chủ yếu trong phân huỷ kỵ khí:*

- Quá trình thuỷ phân (Hydrolysis):

Muốn hấp thụ được các chất hữu cơ có trong nước thải, vi sinh vật phải thực hiện các công đoạn chuyển hoá các chất này. Việc đầu tiên là phải thuỷ phân các chất có phân tử lượng cao thành các polymer có phân tử lượng thấp và monomer. Vì chỉ khi đó các chất này mới có khả năng được hấp thụ qua màng tế bào vi sinh vật. Để thực hiện quá trình thuỷ phân, các vi sinh vật này phải có hệ enzyme các loại như proteinase, lipase, cellulase ... Sau thuỷ phân, các sản phẩm đó sẽ được tạo thành như các amino acid, đường, rượu, các acid béo mạch dài ...

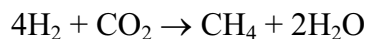
Quá trình thuỷ phân xảy ra khá chậm, phụ thuộc vào nhiều yếu tố của môi trường như nhiệt độ, pH, cấu trúc của các chất hữu cơ cần phân giải.

- *Quá trình acid hoá (Acidogenesis) :*

Các sản phẩm của quá trình thuỷ phân sẽ được tiếp tục phân giải dưới tác động của các vi sinh vật lên men acid béo dễ bay hơi như acid acetic, acid formic, acid propionic. Ngoài ra còn có một số dạng như rượu methanol, ethanol, aceton, NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>. H<sub>2</sub> ...

- *Quá trình acetate hoá (Acetogenesis) :*

Các acid là sản phẩm của quá trình trên lại được tiếp tục thuỷ phân để tạo lượng acid acetic cao hơn. Sản phẩm của quá trình này phụ thuộc vào áp suất riêng phần của H<sub>2</sub> trong môi trường. Áp suất riêng phần của H<sub>2</sub> được giữ < 10<sup>-3</sup> atm để vi sinh vật có thể thực hiện biến đổi H<sub>2</sub> thành CH<sub>4</sub> theo phản ứng sau:



Thực tế cho thấy khi áp suất riêng phần của H<sub>2</sub> lớn thì sản phẩm của quá trình này chứa nhiều acid béo trung gian như acid propionic (C<sub>3</sub>). acid butyric (C<sub>4</sub>) ... Do vậy, làm chậm quá trình tạo methane.

- *Quá trình methane hoá (Methanogenesis) :*

Đó là giai đoạn cuối cùng của quá trình phân hủy các sản phẩm hữu cơ đơn giản của những giai đoạn trước để tạo thành  $\text{CH}_4$  và  $\text{CO}_2$  nhờ các vi khuẩn lên men methane. Chúng có hai nhóm sau :

+ Nhóm biến đổi acetate: Nhóm này có tốc độ phát triển chậm và đây là nguyên nhân đòi hỏi công trình xử lý kỵ khí phải có thời gian lưu các chất thải ở công trình lâu.

+ Nhóm biến đổi hydrogen : Nhóm này có tốc độ phát triển nhanh hơn nhiều, do đó có khả năng giữ áp suất riêng phần của  $\text{H}_2$  thấp, tạo điều kiện tốt cho quá trình biến đổi acetate từ các acid béo.

*b. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phân hủy kỵ khí :*

- *Oxygen* : Trong xử lý kỵ khí nước thải, oxygen được coi là độc tố đối với các vi sinh vật. Do đó lý tưởng nhất là tạo được điều kiện kỵ khí tuyệt đối trong bể xử lý.

- *Chất dinh dưỡng* : Chất dinh dưỡng có ảnh hưởng đến sự trưởng thành và phát triển của vi sinh vật, liên quan mật thiết đến các quá trình phân hủy các chất hữu cơ chứa trong chất thải. Do đó việc cung cấp đầy đủ các dinh dưỡng cho vi sinh vật trong quá trình phân hủy nói trên là rất cần thiết. Cũng như các vi sinh vật khác, vi sinh vật phân giải kỵ khí đòi hỏi các chất dinh dưỡng chính yếu bao gồm các hợp chất chứa carbon, nitrogen, phosphor và một số các nguyên tố vi lượng với một tỷ lệ thích hợp. nếu không cung cấp đầy đủ các chất dinh dưỡng sẽ ảnh hưởng đến các quá trình phân giải các chất trong nước thải. Chẳng hạn, nếu không đủ nitrogen sẽ ảnh hưởng đến sự hình thành các enzyme thực hiện quá trình phân giải. Nhưng nếu cung cấp quá nhiều nitrogen sẽ làm hạn chế sự phát triển của vi sinh vật có trong nước thải. Việc cung cấp đầy đủ các chất dinh dưỡng cần thiết sẽ tạo cho bùn có tính lắng tốt và hoạt tính cao, hoạt động tốt trong quá trình xử lý.

- *Nhiệt độ:*

Nhóm các vi sinh vật kỵ khí có 3 vùng nhiệt độ thích hợp cho sự phân hủy các hợp chất hữu cơ, và ở mỗi vùng nhiệt độ sẽ thích hợp với mỗi nhóm vi sinh vật kỵ khí khác nhau.

+ Vùng nhiệt độ cao:  $45^{\circ}\text{C} - 65^{\circ}\text{C}$  (thermophilic).

+ Vùng nhiệt độ trung bình :  $20^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$  (mesophilic)

+ Vùng nhiệt độ thấp : dưới  $20^{\circ}\text{C}$  (psychrophilic).

Hai vùng nhiệt độ đầu thích hợp cho hoạt động của nhóm các vi sinh vật lên men methane, ở vùng nhiệt độ này lượng khí methane tạo thành cao. Đối với vùng nhiệt độ cao ( $45^{\circ}\text{C} - 65^{\circ}\text{C}$ ), để duy trì nhiệt độ này cần thiết phải cung cấp thêm lượng nhiệt, điều này sẽ gây tốn kém cho công trình, tính kinh tế của công trình xử lý sẽ bị hạn chế.

Ở nước ta, nhiệt độ trung bình từ  $20^{\circ}\text{C} - 32^{\circ}\text{C}$ , sẽ thích hợp cho nhóm vi sinh vật ở vùng nhiệt độ trung bình phát triển.

- *pH* :

Trong quy trình xử lý kỵ khí, pH của môi trường có ảnh hưởng lớn đến tốc độ phân huỷ các chất hữu cơ, cụ thể là ảnh hưởng đến 4 quá trình chuyển hoá của sự phân huỷ kỵ khí. Ở các quá trình xử lý, người ta nhận thấy các quá trình cơ bản chịu ảnh hưởng trực tiếp lẫn nhau, khi một trong các quá trình này bị cản trở hoặc thúc đẩy sẽ ảnh hưởng tới quá trình xảy ra tiếp theo, do đó sẽ làm tốc độ phân huỷ các chất chậm lại hoặc nhanh hơn. Ví dụ : Khi nhiệt độ thay đổi hoặc khi thành phần nước thải thay đổi (do nạp mới vào công trình) thì nhóm vi sinh vật acid hoá thích nghi hơn so với nhóm vi sinh vật sinh methane. Khi pH giảm mạnh (ví dụ:  $\text{pH} < 6$ ) sẽ làm giảm quá trình sinh khí  $\text{CH}_4$ . Hơn nữa khi pH giảm, các acid trung gian tích lũy nhiều, làm các phản ứng phân huỷ khó thực hiện và dẫn đến dừng quá trình acetate hoá...

pH tối ưu trong quá trình phân huỷ kỵ khí là 6,5 - 8,5.

- *Các độc tố*:

Qua tìm hiểu đặc điểm sinh lý các vi sinh vật tham gia xử lý nước thải bằng phương pháp kỵ khí, người ta nhận thấy:

+ Một số các hợp chất như  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ... và các ion tự do của các kim loại nặng có nồng độ 1mg/l sẽ thể hiện tính độc đối với các vi sinh vật kỵ khí.

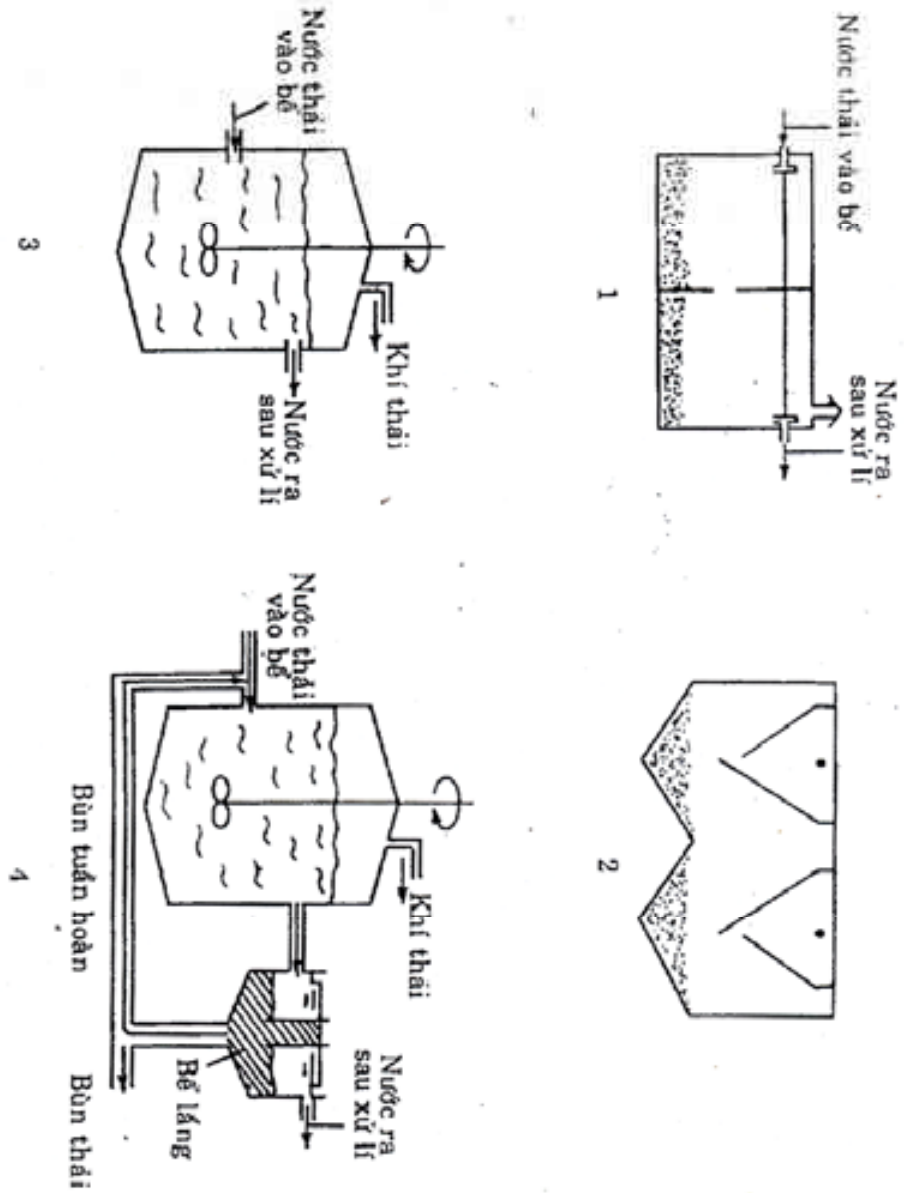
+ Các hợp chất như formadehyde,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  với nồng độ 50 - 400mg/l sẽ gây độc hại với các vi sinh vật kỵ khí trong công trình xử lý.

+  $\text{S}^{2-}$  được coi là tác nhân gây ức chế quá trình tạo methane. Sở dĩ có lập luận này là do nhiều nguyên nhân khác nhau:  $\text{S}^{2-}$  làm kết tủa các nguyên tố vi lượng như Fe, Ni, Co, Mo ... do đó hạn chế sự phát triển của vi sinh vật, đồng thời, các electron giải phóng ra từ quá trình oxy hoá các chất hữu cơ sử dụng cho quá trình sulfate hoá và làm giảm quá trình sinh methane.

+ Các hợp chất  $\text{NH}_4^+$  ở nồng độ 1,5 - 2mg/l gây ức chế quá trình lên men kỵ khí.

*c. Các dạng công trình xử lý kỵ khí nước thải:*

Các công trình xử lý kỵ khí đã được ứng dụng từ rất lâu đời và có quá trình phát triển từ đơn giản đến phức tạp, ngày một hoàn thiện hơn, đáp ứng yêu cầu xử lý nước thải.



Hình 7.12 Các dạng bể xử lý kỵ khí

1. Bể tự hoại ; 2 Bể lắng hai vỏ ; 3,4 Bể methane cổ điển

Vào nửa đầu thế kỷ XX, Công nghệ sinh học kỵ khí đã được ứng dụng để xử lý cặn, chất thải đậm đặc ... được thể hiện qua một số công trình quen biết cổ điển như:

- *Bể tự hoại*: Đây là công trình xử lý nước thải loại nhỏ dùng cho từng hộ gia đình. Loại công trình này thực hiện hai chức năng: lắng và chuyển hoá cặn lắng của nước thải (chủ yếu là nước thải từ các nhà vệ sinh) bằng quá trình phân giải sinh học kỵ khí.

- *Bể lắng hai vò*: Có nguyên tắc hoạt động và thực hiện hai chức năng tương tự như bể tự hoại, nhưng ở quy mô lớn hơn, xử lý nước thải với công suất lớn hơn.

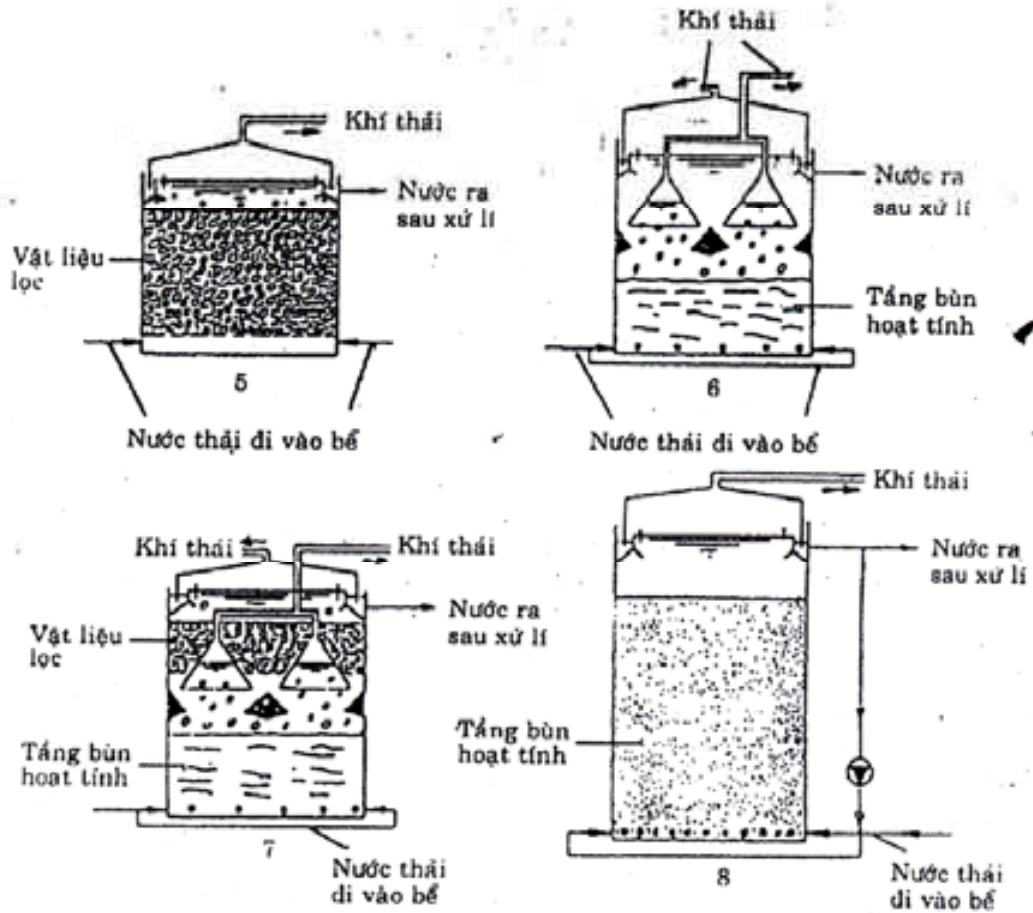
Từ những năm của thập niên 70 trở về sau, công trình xử lý nước thải áp dụng biện pháp sinh học kỵ khí đã phát triển thêm một bước mới hoàn thiện hơn. Thời gian này xuất hiện hàng loạt các công trình nghiên cứu đã được đưa vào ứng dụng thực tế để xử lý nước thải sinh hoạt và cả một số loại nước thải công nghiệp giàu chất hữu cơ. Trong số đó, đáng lưu ý có các dạng công trình sau :

- *Bể methan cổ điển*: Được ứng dụng để xử lý cặn lắng (từ bể lắng) và bùn hoạt tính dư của trạm xử lý nước thải. Hầu hết các trạm xử lý nước thải của thành phố đều xử dụng loại công trình này.

- *Bể lọc kỵ khí AF (Anaerobic Filter)* : Ở công trình này quá trình xử lý thực hiện qua vật liệu lọc để vi sinh vật kỵ khí dính bám vào và thực hiện quá trình chuyển hoá sinh hoá các chất hữu cơ chứa trong nước thải và đồng thời tránh sự rửa trôi của màng vi sinh vật.

- *Bể xử lý sinh học kỵ khí với dòng chảy ngược qua bông bùn hoạt tính UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)*: Loại công trình này không có vật liệu đỡ (vật liệu học) như ở bể lọc kỵ khí AF. Ở đây các vi sinh vật kỵ khí liên kết và tập hợp lại thành đám lớn dạng hạt và có vai trò chủ yếu để chuyển hoá các hợp chất hữu cơ. Chúng đủ nặng để tránh hiện tượng rửa trôi ra khỏi công trình. Bể UASB có cấu tạo gồm hai ngăn: ngăn lắng và ngăn phân hủy. Bằng biện pháp thiết kế khá đặc biệt của ngăn lắng cùng với tính lắng tốt của bùn kỵ khí sử dụng trong công trình, người ta giải quyết được vấn đề lưu lại nồng độ sinh khối bùn cao trong bể và giảm được thời gian lưu nước.

- Ngoài các kiểu công trình trên, trong thực tế người ta còn nghiên cứu hình thành các dạng công trình kết hợp giữa công trình UASB và AF hoặc công trình bùn lỏng (Fluidized sludge bed).

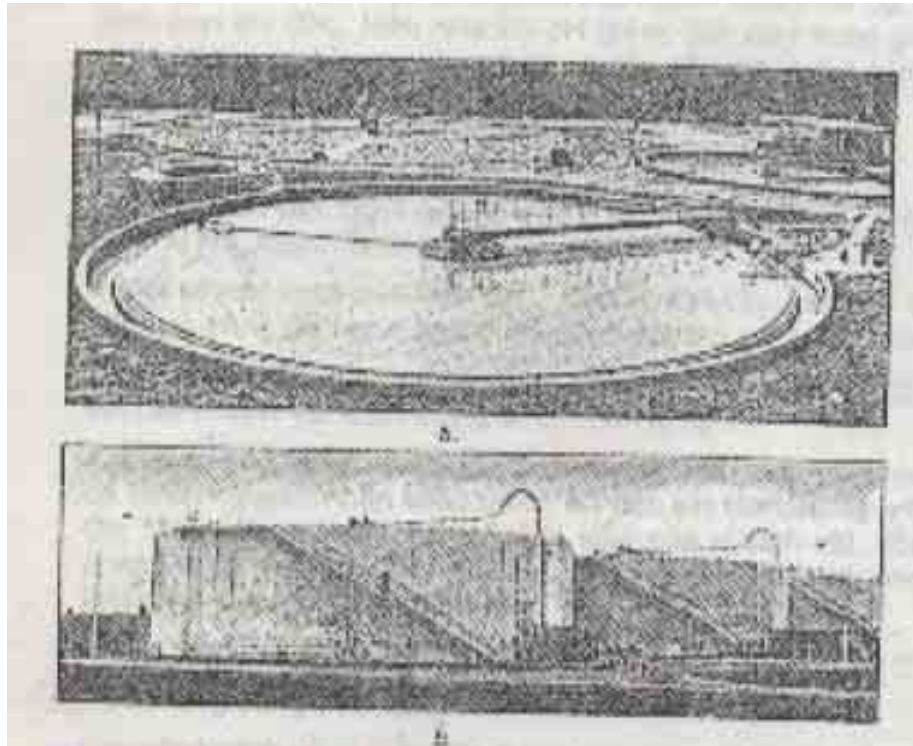


Hình 7.13 Các dạng bể xử lý kỵ khí (tiếp theo)

5. Bể lọc kỵ khí AF ; 6. Bể UASB;

7. Bể hỗn hợp UASB + AF ; 8. Bể bùn bông;

Ngoài các sơ đồ thể hiện cách xử lý nước thải đã nêu trên, ta có thể quan sát hiện trạng xây dựng các công trình xử lý qua các hình chụp.



Hình 7.14 Hệ thống xử lý nước thải

a. Hình chụp hệ thống xử lý nước thải bằng phương pháp hiếu khí. Bể ở gần có thể nhìn rõ là bể lắng. Bể ở xa là bể lọc với những tia nước thải được tưới xuống các lớp vật liệu lọc (đá, cát...)

b. Hình chụp hệ thống xử lý nước thải bằng phương pháp kỵ khí. Hệ thống các bể chứa nước thải và bùn hoạt tính. Phần lớn của bể nằm chìm dưới đất.



## CHƯƠNG VIII

### TÁC NHÂN VI SINH VẬT TRONG XỬ LÝ CHẤT THẢI

#### 8.1 KHÁI NIỆM VỀ CHẤT THẢI:

Chất thải là sản phẩm được phát sinh trong quá trình sinh hoạt của con người, sản xuất công nghiệp, nông nghiệp, thương mại, du lịch, giao thông, sinh hoạt tại các gia đình, trường học, các khu dân cư, nhà hàng, khách sạn. Ngoài ra còn phát sinh ra trong giao thông vận tải như khí thải của các phương tiện giao thông đường bộ, đường thủy... Chất thải là kim loại, hoá chất và từ các loại vật liệu khác.

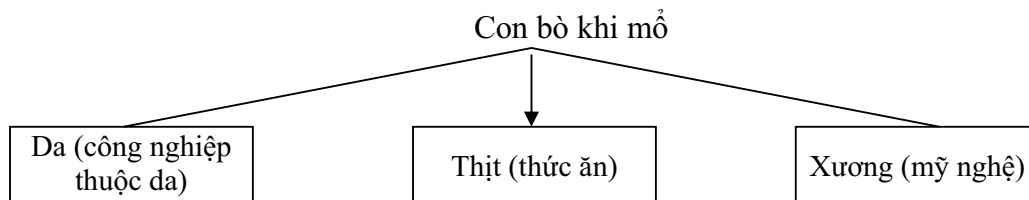
Phế thải của sản xuất công nghiệp có thể là nguyên liệu phục vụ cho các ngành công nghiệp khác như hoá dầu phục vụ làm đường giao thông, làm ra các sản phẩm tiêu dùng.

Phế thải nông thôn sinh ra trong quá trình chăn nuôi, trồng trọt.

Phế thải sinh ra trong quá trình sản xuất thực phẩm được dùng làm nguyên liệu cho một số ngành khác như phế thải nhà máy bia, rượu dùng cho chăn nuôi. Tóm lại, các chất thải sinh ra có loại phải loại bỏ để tránh làm ảnh hưởng môi trường, có chất thải được dùng cho các ngành công nghệ khác (phải thông qua quá trình tái chế các sản phẩm cho xã hội theo hướng phát triển bền vững).

Ví dụ :

Con bò (trong quá trình phát triển) có phế thải (phân)



- Quá trình sinh trưởng thải ra phân (cung cấp phân bón phục vụ trồng, làm khí gas sinh hoạt).

- Da (nguyên liệu thuộc da dùng trong đời sống sinh hoạt).
- Thịt (làm thức ăn, nguyên liệu công nghiệp thực phẩm).
- Xương, sừng (nguyên liệu cho mỹ nghệ, thức ăn gia súc).

Do đó, trong quá trình xử lý chất thải nắm vững việc phân loại chất thải để đưa ra các giải pháp công nghệ xử lý chất thải làm nguyên liệu cho các ngành sản xuất khác. Xử lý triệt để và kiểm soát chặt chẽ các sản phẩm xử lý để không gây ảnh hưởng môi trường (chất thải bệnh viện, hoá dầu ....

## 8.2 PHÂN LOẠI CHẤT THẢI

### 8.2.1 Phân loại chất thải theo nguồn gốc phát sinh

- Chất thải sinh hoạt : phát sinh hàng ngày ở các đô thị, làng mạc, khu du lịch, nhà ga, trường học, công viên...

- Chất thải công nghiệp: phát sinh trong quá trình sản xuất công nghiệp nặng, công nghiệp nhẹ (nhiều thành phần phức tạp, đa dạng trong đó chủ yếu các dạng rắn, lỏng, khí).

- Chất thải nông nghiệp: sinh ra trong quá trình trồng trọt, chăn nuôi, chế biến nông sản trước và sau thu hoạch...

### 8.2.2 Phân loại theo trạng thái chất thải:

- Chất thải trạng thái rắn: bao gồm chất thải sinh hoạt, chất thải nhà máy chế tạo máy, xây dựng (kim loại, da, hóa chất sơn, nhựa, thủy tinh, vật liệu xây dựng ...)

- Chất thải trạng thái lỏng: phân bùn bể phốt, nước thải từ nhà máy lọc dầu, rượu bia, nước ở nhà máy sản xuất giấy và vệ sinh công nghiệp ...

- Chất thải trạng thái khí: bao gồm khí thải các động cơ đốt trong máy động lực, giao thông: ô tô, máy kéo, tàu hỏa, nhà máy nhiệt điện, sản xuất vật liệu ...

### 8.2.3 Phân loại theo tính chất nguy hại

- Vật phẩm nguy hại sinh ra tại các bệnh viện trong quá trình điều trị người bệnh (Các loại vật phẩm gây bệnh thông thường được xử lý ở chế độ nhiệt cao, từ 1.150°C trở lên; cá biệt có loại vi sinh vật gây bệnh bị tiêu diệt khi nhiệt độ xử lý lên tới 3.000°C ...).

- Kim loại nặng: các chất thải sinh ra trong quá trình sản xuất công nghiệp có thành phần As (asen), Pb (chì). Hg (thủy ngân), Cd (cadimi) ... là mầm mống gây bệnh ung thư cho con người.

- Các chất phóng xạ: các phế thải có chất phóng xạ sinh ra quá trình xử lý giống caô trồng, bảo quản thực phẩm, khai khoáng, năng lượng ...

## 8.3 KHÁI NIỆM VỀ XỬ LÝ CHẤT THẢI

Xử lý chất thải là dùng các biện pháp kỹ thuật để xử lý các chất thải và không làm ảnh hưởng đến môi trường; tái tạo lại các sản phẩm có lợi cho xã hội nhằm phát huy hiệu quả kinh tế. Xử lý chất thải là một công tác quyết định đến chất bảo vệ môi trường. Hiện nay, ô nhiễm môi trường và suy thoái về môi trường là một nỗi lo của nhân loại: môi trường đất bị huỷ hoại, môi trường nước bị ô nhiễm, đặc biệt môi trường không khí bị ô nhiễm nặng, nhất là những thành phố lớn tập trung đông dân cư, tài nguyên môi trường cạn kiệt.

### 8.3.1 Các phương pháp xử lý chất thải rắn đô thị

#### 8.3.1.1 Phương pháp chôn lấp.

Phương pháp truyền thống đơn giản nhất là chôn lấp rác. Phương pháp này chi phí thấp và được áp dụng phổ biến ở các nước đang phát triển.

Việc chôn lấp được thực hiện bằng cách dùng xe chuyên dùng chở rác tới các bãi đã xây dựng trước. Sau khi rác được đổ xuống, xe ủi sẽ san bằng, đầm nén trên bề mặt và đổ lên một lớp đất. Hàng ngày phun thuốc diệt ruồi và rắc vôi bột ... Theo thời gian, sự phân huỷ vi sinh vật làm cho rác trở nên tối xốp và thể tích của bãi rác giảm xuống. Việc đổ rác lại tiếp tục cho đến khi bãi đầy thì chuyển sang bãi mới. Hiện nay, việc chôn lấp rác thải sinh hoạt và rác thải hữu cơ vẫn được sử dụng ở các nước đang phát triển nhưng phải tuân thủ các quy định về bảo vệ môi trường một cách nghiêm ngặt. Việc chôn lấp chất thải có xu hướng giảm dần, tiến tới chấm dứt ở các nước đang phát triển. Các bãi chôn lấp rác phải cách xa khu dân cư, không gần nguồn nước mặt và nước ngầm. Đáy của bãi rác nằm trên tầng đất sét hoặc được phủ các lớp chống thấm bằng màng địa chất, ở các bãi chôn lấp rác cần phải thiết kế khu thu gom và xử lý nước rác trước khi thải ra môi trường. Việc thu phí gas để biến đổi thành năng lượng là một trong những khả năng vì một phần kinh phí đầu tư cho bãi rác có thể thu hồi lại.

Ưu điểm của phương pháp này:

- Công nghệ đơn giản, rẻ và phù hợp với nhiều loại rác thải
- Chi phí cho các bãi chôn lấp thấp

Nhược điểm của phương pháp này:

- Chiếm diện tích đất tương đối lớn.
- Không được sự đồng tình của dân cư xung quanh.
- Tìm kiếm xây dựng bãi mới là việc làm rất khó khăn.
- Nguy cơ dẫn đến ô nhiễm môi trường nước, khí, cháy, nổ.

### **8.3.1.2 Đốt rác sinh hoạt:**

Xử lý rác bằng phương pháp đốt là làm giảm tới mức tối thiểu chất thải cho khâu xử lý cuối cùng. Nếu sử dụng công nghệ tiên tiến còn có ý nghĩa cao để bảo vệ môi trường thì đây là phương pháp xử lý rác tốn kém nhất so với phương pháp chôn lấp rác hợp vệ sinh, chi phí để đốt một tấn rác cao hơn khoảng 10 lần.

Công nghệ đốt rác thường sử dụng ở các quốc gia phát triển vì phải có một nền kinh tế đủ mạnh để bao cấp cho việc thu đốt rác sinh hoạt như là một dịch vụ phúc lợi xã hội của toàn dân. Tuy nhiên, việc thu đốt rác sinh hoạt gồm nhiều chất thải khác nhau sinh khói độc và dễ sinh ra khói độc dioxin nếu không giải quyết tốt việc xử lý khói (xử lý khói là phần đắt nhất trong công nghệ đốt rác).

Năng lượng phát sinh có thể tận dụng cho các lò hơi, lò sưởi hoặc cho ngành công nghiệp nhiệt và phát điện. Mỗi lò đốt phải được trang bị một hệ thống xử lý khí thải tốn kém, nhằm khống chế ô nhiễm không khí do quá trình đốt gây ra.

Hiện nay, tại các nước châu Âu có xu hướng giảm việc đốt rác thải vì hàng loạt các vấn đề kinh tế cũng như môi trường cần phải giải quyết. Việc thu đốt rác thải thường chỉ áp dụng cho việc xử lý rác thải độc hại như rác thải bệnh viện hoặc rác thải công nghiệp vì các phương pháp xử lý khác không xử lý triệt để được.

### **8.3.1.3 Một số giải pháp khác :**

#### **1. Phương pháp xử lý rác bằng công nghệ Hydromex**

Đây là một công nghệ mới, lần đầu tiên được áp dụng tại Mỹ. Công nghệ Hydromex nhằm xử lý rác đô thị (kể cả rác độc hại) thành các sản phẩm phục vụ ngành xây dựng, vật liệu, năng lượng và sản phẩm dùng trong nông nghiệp hữu ích.

Bản chất của công nghệ Hydromex là nghiền rác nhỏ sau đó polime hoá và sử dụng áp lực lớn để ép nén, định hình các sản phẩm.

Rác thải của công nghệ Hydromex là nghiền rác nhỏ sau đó polime hoá và sử dụng áp lực lớn để ép nén, định hình các sản phẩm.

Rác thải được thu gom (rác hỗn hợp, kể cả rác công kênh) được chuyển về nhà máy, không cần phân loại và đưa vào máy cắt nghiền nhỏ, sau đó đưa đến các thiết bị trộn bằng băng tải. Chất thải lỏng pha trộn trong bồn phản ứng, các phản ứng trung hoà và khử độc thực hiện trong bồn. Sau đó, chất thải lỏng từ bồn phản ứng được bơm vào các thiết bị trộn; chất lỏng và rác thải kết dính với nhau hơn sau khi cho thêm thành phần polime hoá vào. Sản phẩm ở dạng bột ướt được chuyển đến máy ép khuôn cho ra sản phẩm mới. Các sản phẩm này bền, an toàn về mặt môi trường.

#### **2. Công nghệ ép kiện và cách ly rác**

Phương pháp ép kiện được thực hiện trên cơ sở toàn bộ rác thải được tập trung thu gom vào nhà máy. Rác được phân loại bằng thủ công trên băng tải, các chất tro có thể tận dụng tái chế: kim loại, ny lon, giấy, thủy tinh, plastic ... được thu hồi để tái chế. Những chất còn lại được băng tải chuyển qua hệ thống ép nén rác bằng thủy lực với mục đích làm giảm tối đa thể tích rác.

### **8.3.1.4 Phương pháp xử lý ủ rác lên men sản xuất phân hữu cơ sinh học :**

#### **8.3.1.4.1. Nguyên lý ủ phân :**

Ủ sinh học có thể được coi là quá trình ổn định sinh hoá các chất hữu cơ để thành các chất mùn, với thao tác sản xuất và kiểm soát một cách khoa học, tạo môi trường tối ưu với quá trình sản xuất. Quá trình ủ được thực hiện theo hai phương pháp:

- \* Phương pháp ủ yếm khí.
- \* Phương pháp ủ hiếu khí (thổi khí cưỡng bức)

Quá trình ủ áp dụng đối với chất hữu cơ không độc hại, hai yếu tố nhiệt độ và độ ẩm luôn được kiểm soát trong quá trình ủ, quá trình tự tạo ra nhiệt riêng nhờ sự oxy hoá các chất thối rữa. Sản phẩm cuối cùng của quá trình phân huỷ là CO<sub>2</sub>, nước và các chất hữu cơ bền vững như lignin, xenluloza, sợi ...

#### **1. Nguyên lý ủ phân ở chế độ yếm khí**

Thực chất của quá trình ủ yếm khí là sự phân giải phức tạp glucit, lipit và protein với sự tham gia của các vi sinh vật kỵ khí. Nguyên lý ủ phân ở chế độ yếm khí là sử dụng chủ yếu các vi sinh vật có sẵn trong tự nhiên, sử dụng lượng O<sub>2</sub> tối thiểu trong quá trình phân huỷ. Đây là phương pháp đã được áp dụng từ lâu, các phế thải hữu cơ được bổ sung thêm phân bón và một số chế phẩm vi sinh vật phân giải hữu cơ khác,

sau đó được đánh thành luống hoặc đống và phủ kín. Sau 3 - 4 tháng phủ kín cộng với nhiệt độ, độ ẩm, độ xốp phế thải hữu cơ được phân huỷ thành phần hữu cơ :

Rác hữu cơ (bổ sung nhiệt độ, độ ẩm, vi sinh vật)  $\rightarrow$  CH<sub>4</sub> + H<sub>2</sub>S + H<sub>2</sub>O (N, P, K)

## 2. Nguyên lý ủ phân ở chế độ hiếu khí

Thực chất ủ phân ở chế độ hiếu khí là quá trình ủ sinh học quy mô công nghiệp. Rác tươi được chuyển về nhà máy, sau đó được chuyển vào bộ phận nắp rác và được loại lấy phần rác hữu cơ. Phần rác hữu cơ này được trộn với phân người và chế phẩm EM<sub>TC</sub>, vi sinh vật phân giải xenluloza (Emuni 6). Sau đó máy xúc đưa vật liệu này vào bể ủ lên men, có chế độ thổi góp cưỡng bức nhờ hệ thống quạt gió. Thời gian ủ là 21 ngày.

Nguyên lý của phương pháp là chủ yếu sử dụng các chủng vi sinh vật có sẵn trong tự nhiên, bổ sung thêm một số chế phẩm vi sinh vật phân giải mạnh xenluloza, protein, lignin... Điều chỉnh nhiệt độ, độ ẩm, oxi, độ thoáng khí, pH và các chất dinh dưỡng có lợi nhất nhằm kích thích sự phát triển của hệ vi sinh vật có trong bể ủ phân huỷ các chất hữu cơ tạo thành mùn.

Phế thải hữu cơ + nhiệt độ + độ ẩm + độ thoáng khí + O<sub>2</sub> + chất dinh dưỡng (phân người) + EM + thời gian từ 1,5 - 2 tháng = phân hữu cơ.

Rác hữu cơ + O<sub>2</sub> (nhiệt độ, độ ẩm, vi sinh vật)  $\rightarrow$  H<sub>2</sub>O + CHNOS (humus)

CHNOS (humus) được gọi là compost là thành phần dinh dưỡng chế độ phân rác.

Tỷ lệ C/N của mùn không phản ánh tỷ lệ đó của đất hay của phân chuồng tuy nhiên nó phản ánh sự trộn chất đạm nên có nó là một chỉ số hoạt tính sinh học.

Tỷ lệ C/N khi lớn hơn 1 là một chỉ số thơm.

Cặn nước có ít cacbon và nitơ hơn mùn trong đất.

### 8.3.1.4.2 Các phương pháp làm phân ủ

#### 1. Phương pháp ủ thành đống lên men có đảo trộn

Đây là phương pháp cổ điển nhất: Rác được chất thành đống có chiều cao khoảng 1,5 - 2,5 m, mỗi tuần đảo trộn 2 lần. Nhiệt độ trung bình là 55°C, độ ẩm duy trì là 50 - 60%. Kết thúc quá trình ủ sau 4 tuần, 3 - 4 tuần tiếp theo không đảo trộn nữa, lúc này hoạt động của vi sinh vật sẽ chuyển hoá các chất hữu cơ thành mùn. Phương pháp này dễ thực hiện nhưng mất vệ sinh, gây ô nhiễm nguồn nước và không khí.

#### 2. Phương pháp ủ rác thành đống không đảo trộn, có thổi khí cưỡng bức

Rác được chất thành đống cao 2-2,5m. Phía dưới được lắp đặt hệ thống phân phối khí. Nhờ quá trình thổi khí cưỡng bức mà các quá trình được tiến hành nhanh hơn, nhiệt độ ổn định và ít ô nhiễm. Phương pháp này đòi hỏi trình độ công nghệ vừa phải, dễ áp dụng.

#### 3. Phương pháp lên men trong các thiết bị chứa

Phương pháp này dựa trên cơ sở của các phương pháp trên, có thể kiểm soát chặt chẽ lượng khí và nước thải sinh ra trong quá trình lên men. Người ta thường bổ sung các vi sinh vật đã tuyển chọn để quá trình lên men xảy ra nhanh hơn, dễ kiểm soát hơn và ít ô nhiễm hơn.

#### 4. Phương pháp lên men trong lò quay

Rác sau khi thu gom được phân loại và đập nhỏ bằng búa rồi đưa vào lò quay nghiêng với độ ẩm là 50%. Trong khi quay rác được đảo trộn do vậy không cần phải thổi khí. Rác sau khi lên men được ủ chín trong vòng 20-30 ngày.

##### 8.3.1.4.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến tiến độ ủ và chất lượng sản phẩm :

#### 1. Phân loại và nghiền

Việc phân loại cẩn thận các chất thải là rất quan trọng để có thể đạt được một quá trình compost hoàn hảo.

Việc giảm đi kích thước của nguyên liệu (bằng cách băm nhỏ hoặc sàng pha loại) như một hệ quả làm tăng nhanh tốc độ phân huỷ.

#### 2. Nhiệt độ

Sự giải phóng CO<sub>2</sub> tối đa xảy ra ở nhiệt độ 55°C. Nó bắt đầu tăng từ từ trong khoảng từ 25 đến 40°C, sau đó tăng từ 45 - 55°C.

Mỗi vi sinh vật đều có nhiệt độ tối ưu để tăng trưởng.

Nhiệt độ tối ưu cho quá trình ổn định sinh hoá là 40 - 55°C

Nhiệt độ cao (ngưỡng treê) đối với đồng ủ thì tốc độ, mức ủ sẽ nhanh.

Lưu ý cần ngăn ngừa quá khô, quá lạnh ở phần nào đó của đồng ủ.

#### 3. Độ ẩm

Độ ẩm tối ưu đối với quá trình ủ từ 50 - 52%.

Nếu vật liệu quá không đủ độ ẩm cho sự tồn tại của vi sinh vật hoặc nếu vật liệu quá ẩm thì sẽ diễn ra quá trình lên men yếm khí, O<sub>2</sub> không lọt vào được.

#### 4. pH

pH giảm xuống 6,5 - 5,5 trong giai đoạn tiêu huỷ ưa mát và sau đó tăng nhanh ở giai đoạn ưa ấm tới pH = 8 sau đó giảm nhẹ xuống 7,5 trong giai đoạn lạnh và trở nên già cỗi.

Nếu dùng vôi để tăng pH ở giai đoạn đầu và pH sẽ tăng lên ngoài ngưỡng mong muốn làm cho nitơ ở dạng muối sẽ mất đi.

#### 5. Độ thoáng khí và phân phối O<sub>2</sub>:

Thông thường áp lực tĩnh là 0,1 - 0,15 mm cột nước, cần tạo ra để đẩy không khí qua chiều sâu từ 2 - 2,5 m vật liệu, áp lực đó chỉ cần quạt gió là đủ chứ không cần máy nén. Các cửa cửa bể ủ sẽ đảm bảo cho làm thoáng, chỉ cần đảo cửa lò ủ mỗi ngày một lần. Đối với các vật liệu nhỏ (kích thước nhỏ hơn hoặc bằng 25mm) O<sub>2</sub> có thể xuyên thấm vào qua cửa sâu 0,15 - 0,2 m.

Sự phân phối O<sub>2</sub> cho bể ủ là rất cần thiết bởi vi sinh vật hiếu khí cần O<sub>2</sub>, lượng O<sub>2</sub>, tiêu thụ là 4,2 g O<sub>2</sub>/1 kg rác/ngày, nghĩa là khoảng 4m<sup>3</sup>O<sub>2</sub>/1 tấn rác/ngày. Nhu cầu O<sub>2</sub> tiêu thụ rất lớn trong những ngày đầu của quá trình compost và rồi giảm dần. Sự sản sinh CO<sub>2</sub> luôn tương đương với lượng CO<sub>2</sub> tiêu thụ.

Quá trình kỵ khí bắt đầu khi tỷ lệ  $O_2$  trong các bể ủ nhỏ hơn 10%, sau đó khí metan  $CH_4$  xuất hiện. Quá trình kỵ khí đặc biệt quan trọng khi tỷ lệ  $O_2$  dưới 5%.

Cần có một quá trình sục khí mạnh để hỗ trợ cho vi sinh vật hiếu khí và sự phân huỷ tối ưu. Tỷ lệ  $O_2$  tiêu thụ không ổn định, phụ thuộc vào nhiệt độ, sự thay đổi trong thành phần và mức độ ủ chín của phân compost và kích thước nguyên liệu.

#### **6. Tỷ lệ C/N, N/P:**

Tương quang C/N bị làm nhỏ dần cho đến khi tỷ lệ nitơ cố định và nitơ khoáng hoá như nhau. Sau một quá trình dài, tỷ lệ C/N của phần còn lại sẽ bằng với tỷ lệ của vi sinh vật. Quá trình này cần có thời gian, nếu ngay từ đầu, tỷ lệ C/N thấp, sự khoáng hoá nitơ thu được từ sự cố định. Tỷ lệ C/N cao có thể làm mất nitơ bởi amoniac  $NH_3$ .

Tỷ lệ N/P trong một tế bào được đặt trong khoảng từ 5 đến 20. Nếu tỷ lệ N/P của phần còn lại cao hơn tỷ lệ của những tế bào vi sinh vật thì cần bổ sung một lượng photphat trên tỷ lệ 100 phần nguyên liệu hữu cơ. Ưu thế trong tỷ lệ N/P khiến cho sự phân huỷ cao, giải phóng một lượng nhỏ  $O_2$  và một lượng lớn hơn được sản sinh.

#### **7. Tổn thất nitơ trong quá trình ủ và sự bảo tồn nitơ:**

Nghiên cứu phân tích nitơ trong tất cả các giai đoạn ủ, từ lúc đưa vật liệu thô vào cho thấy rằng nitrat, nitrit có mặt ở tất cả các mẫu; mẫu rác tươi mới, có trong lớp váng của bể phân huỷ thí nghiệm.

Nitrat, nitrit hoàn toàn không có trong các mẫu lấy ở dưới sau 70 giờ ở bể phân huỷ thí nghiệm. Điều này chứng tỏ rằng nitrat, nitri bị sử dụng trong quá trình sinh hoá với tốc độ lớn hơn là tốc độ hình thành chúng.

Sự bảo tồn nitơ có thể sử dụng các kỹ thuật mới về quản lý và lọc sinh học không khí có thể thu được tới 95% mức thất thoát 50% nitơ dưới dạng khí trong quá trình ủ compost, làm cho quy trình ủ compost có kiểm soát bằng lọc sinh học trở thành kỹ thuật bảo tồn nitơ hiệu quả nhất. Phân compost trong bể lọc sinh học dùng làm chất gom nitơ, tạo ra các kỹ thuật mới có sử dụng bộ lọc sinh học như một bộ phận của quy trình xử lý làm phân compost.

#### **8. Bảo vệ nước ngầm và nước mặt**

Ủ compost có kiểm soát được đặc trưng bằng các phương thức quản lý sao cho ngăn ngừa được nước rò rỉ bảo hoà dinh dưỡng trong dòng chảy thải ra từ cơ sở chế biến, có thể gây ô nhiễm nước ngầm và nước mặt. Có thể sử dụng một số biện pháp để ngăn ngừa nước rò rỉ.

Các toà nhà và mái che các luồng ủ thông gió (ủ chín)

Bề mặt nền đổ bê tông hay xi măng đất (tránh dùng nhựa đường vì khi gặp nhiệt độ từ phân compost dễ bị chảy và đứt gãy).

Thu gom nước mưa và các bể lắng bên ngoài các luồng ủ chín.

Dùng vải che các đồng ủ để không khí có thể thoát ra ngoài, ngăn được nước mưa.

##### **8.3.1.4.4. Cơ chế phân huỷ rác thành phân hữu cơ**

## 1. Thành phần các vi sinh vật trong đồng ủ

Quá trình compost là một quá trình oxi hoá hoá - 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.

Thành phần các vi sinh vật có trong đồng ủ làm phân compost bao gồm các chủng giống vi sinh vật phân huỷ, xenluloza, vi sinh vật phân giải protein, vi sinh vật phân giải tinh bột, vi sinh vật phân giải phosphat.

### a. Vi sinh vật phân giải xenluloza

Trong thiên nhiên có nhiều nhóm vi sinh vật có khả năng phân huỷ xenluloza nhờ có hệ enzym xenluloza ngoại bào. Trong đó vi nấm là nhóm có khả năng phân giải mạnh vì nó tiết ra môi trường một lượng lớn enzym có đầy đủ các thành phần. Nấm mốc có hoạt tính phân giải xenluloza, đáng chú ý là *Tricoderma*. Hầu hết các loài thuộc chi *Tricoderma* sống hoại sinh trong đất, rác và có khả năng phân huỷ xenluloza. Trong nhóm vi nấm ngoài *Tricoderma* còn có rất nhiều giống khác có khả năng phân giải xenluloza như *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* ...

Nhiều loài vi khuẩn cũng có khả năng phân huỷ xenluloza, tuy nhiên cường độ không mạnh bằng vi nấm. Nguyên nhân là do số lượng enzym tiết ra môi trường của vi khuẩn thường nhỏ hơn, thành phần các loại enzym không đầy đủ. Thường ở trong đồng ủ rác có ít loài vi khuẩn có khả năng tiết ra đầy đủ bốn loại enzym trong hệ enzym xenluloza. Nhóm này tiết ra một loại enzym, nhóm khác tiết ra loại khác, chúng phối hợp với nhau để phân giải cơ chất trong môi quan hệ hỗ sinh. Nhóm vi khuẩn hiếu khí bao gồm: *Clostridium* và đặc biệt là nhóm vi khuẩn sống trong dạ cỏ của động vật nhai lại. Chính nhờ nhóm vi khuẩn này mà trâu bò có thể sử dụng được xenluloza trong cỏ, rơm rạ làm thức ăn. Đó là những cầu khuẩn thuộc chi *Ruminococcus* có khả năng phân huỷ xenluloza thành đường và các axit hữu cơ.

Ngoài vi nấm và vi khuẩn, xạ khuẩn và niêm vi khuẩn cũng có khả năng phân huỷ xenluloza. Người ta thường sử dụng xạ khuẩn, đặc biệt là chi *Streptomyces* trong việc phân huỷ rác thải sinh hoạt. Những xạ khuẩn này thường thuộc nhóm ưa nóng, sinh trưởng và phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 45 - 50<sup>0</sup>C rất thích hợp với quá trình ủ rác thải.

### b. Vi sinh vật phân giải protein

Trong môi trường rác ủ đồng, nitơ tồn tại ở các dạng khác nhau, từ nitơ phân giải ở dạng khí cho đến các hợp chất hữu cơ phức tạp có trong cơ thể động, thực vật và con người. Trong cơ thể sinh vật, nitơ tồn tại chủ yếu dưới dạng các hợp chất đạm như protein, axit amin. Khi cơ thể sinh vật chết đi, lượng nitơ này hữu cơ này tồn tại trong đất (rác). Dưới tác dụng của các nhóm vi sinh vật hoại sinh, protein được phân giải thành các axit amin. Các axit amin này lại được một nhóm vi sinh vật phân giải thành  $\text{NH}_3$  hoặc  $\text{NH}_4^+$  gọi là nhóm vi khuẩn amin hoá. Quá trình này gọi là sự khoáng hoá chất hữu cơ vì qua đó, nitơ hữu cơ được chuyển thành dạng nitơ khoáng. Dạng  $\text{NH}_4^+$  sẽ được chuyển hoá thành dạng  $\text{NO}_3^-$  nhờ nhóm vi khuẩn nitrat hoá.

Các hợp chất nitrat lại được chuyển hoá thành dạng  $\text{N}_2$  phân tử, quá trình này gọi là sự nitrat hoá được thực hiện bởi nhóm phân tích nitrat. Khí  $\text{N}_2$  sẽ được cố định lại

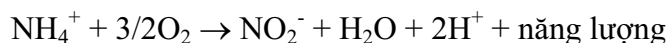


trong tế bào vi khuẩn và tế bào thực vật, sau đó chuyển thành dạng  $N_2$  hữu cơ nhờ nhóm vi khuẩn cố định  $N_2$ . Do đó vòng tuần hoàn  $N_2$  khép kín. Trong hầu hết các khâu chuyển hoá của vòng tuần hoàn đều có sự tham gia của các vi sinh vật khác nhau. Nếu sự hoạt động của một nhóm nào đó ngừng lại thì toàn bộ sự chuyển hoá của vòng tuần hoàn sẽ bị ảnh hưởng nghiêm trọng.

Trong quá trình compost, nhóm vi khuẩn chính phân giải protein là vi khuẩn nitrat hoá, vi khuẩn cố định nitơ.

Nhóm vi sinh vật tiến hành nitrat hoá bao gồm hai nhóm tiến hành hai giai đoạn của quá trình. Giai đoạn oxi hoá  $NH_4^+$  thành  $NO_2^-$  gọi là nitrit hoá, giai đoạn oxi hoá  $NO_2^-$  thành  $NO_3^-$  gọi là giai đoạn nitrat hoá.

Nhóm vi khuẩn nitrit hoá bao gồm bốn chi khác nhau: Nitrozomonas, Nitrozocystic, Nitrozolobus và Nitrosospira, chúng đều thuộc loại tự dưỡng bắt buộc, không có khả năng sống trên môi trường thạch, bởi vậy phân lập chúng rất khó, phải dùng silicagen thay cho thạch. Nhóm vi khuẩn này 6 nhóm tự dưỡng hoá năng có khả năng oxi hoá  $NH_4^+$  bằng  $O_2$  không khí và tạo ra năng lượng:



Nhóm vi khuẩn nitrat hoá tiến hành oxi hoá  $NO_2^-$  thành  $NO_3^-$  bao gồm ba chi khác nhau: Nitrobacter, Nitrospira và Nitrococcus.

Quá trình oxi hoá  $NO_2^-$  thành  $NO_3^-$  được thực hiện bởi nhóm vi khuẩn nitrat hoá. Chúng cũng là những vi sinh vật tự dưỡng hoá năng có khả năng oxi hoá  $NO_2^-$  tạo thành năng lượng. Năng lượng này được dùng để đồng hoá  $CO_2$  tạo thành đường.



Nhóm vi khuẩn cố định nitơ có trong môi trường rác ủ là các nhóm: Azotobacter - là một loại vi khuẩn hiếu khí, không sinh bào tử, có khả năng cố định nitơ phân tử, sống tự do trong đất (rác).

Clostridium là một loại vi khuẩn kỵ khí sống tự do trong rác, có khả năng hình thành bào tử, loại phổ biến nhất là Clostridium pastenisiu có hình que ngắn, khi còn non có khả năng di động bởi tiên mao. Khi già mất khả năng di động. Khi hình thành bào tử thường có hình con thoi do bào tử hình thành lớn hơn kích thước tế bào. Clostridium có khả năng đồng hoá nhiều nguồn cacbon khác nhau như các loại đường, rượu, tinh bột ... Nó thuộc loại kỵ khí nên các sản phẩm trao đổi chất của nó là các axit hữu cơ, butanol, etanol, axeton, đó là các sản phẩm chưa được oxi hoá hoàn toàn.

### **c. Vi sinh vật phân giải tinh bột**

Trong rác bủ ủ có nhiều loại vi sinh vật có khả năng phân giải tinh bột. Một số vi sinh vật có khả năng tiết ra môi trường đầy đủ các loại enzyme trong hệ enzyme amilaza. Ví dụ như một số vi nấm bao gồm một số loại trong các chi Aspergillus, Fusarium, Rhizopus. Trong nhóm vi khuẩn có một số loài thuộc chi Bacillus, Cytophaza, Pseudomonas ... Xạ khuẩn cũng có một số các chi Aspergillus, Fusarium, Rhizopus. ... Trong nhóm vi khuẩn có một số loài thuộc chi Bacillus, Cytophaza, Pseudomonas... Xạ khuẩn cũng có một số chi có khả năng phân huỷ tinh bột. Đa số các vi sinh vật không có khả năng tiết đầy đủ hệ enzyme amilaza phân huỷ tinh bột. Chúng chỉ có thể

tiết ra môi trường một hoặc một vài men trong hệ đó. Ví dụ như các loài *Aspergillus candidus*, *Pasteurianum*, *Bacillus subtilis*, *B. Mesenterices*, *Clostridium*, *A. Oryzae* ... chỉ có khả năng tiết ra môi trường một loại enzym  $\alpha$  - amilaza. Các loài *Aspergillus oryzae*. *Clostridium acetobuliticum* chỉ tiết ra môi trường  $\alpha$  - amilaza. Một số loài khác chỉ có khả năng tiết ra môi trường enzym gluco amilaza. Các nhóm này cộng tác với nhau trong quá trình phân huỷ tinh bột thành đường. Trong sản xuất người ta thường sử dụng các nhóm vi sinh vật có khả năng phân huỷ tinh bột. Ví dụ trong chế biến rác thải hữu cơ người ta cũng sử dụng những chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ tinh bột để phân huỷ tinh bột có trong thành phần rác hữu cơ.

#### d. Vi sinh vật phân giải phosphat

Trong rác ủ, phospho tồn tại ở nhiều dạng hợp chất khác nhau. Phospho được tích lũy trong rác khi động thực vật chết đi, những hợp chất phospho hữu cơ này được vi sinh vật phân giải tạo thành các hợp chất phospho vô cơ khó tan. Do đó phospho tồn tại ở hai dạng: phospho hữu cơ và phospho vô cơ.

Vi sinh vật phân giải lân hữu cơ chủ yếu thuộc hai chi: *Bacillus* và *Pseudomonas*. Các loài có khả năng phân giải mạnh là *B. Megatherium*, *B. Mycoides* và *Pseudomonas* sp. Ngày nay người ta đã phát hiện ra một số xạ khuẩn và vi nấm cũng có khả năng phân giải phospho hữu cơ.

Vi sinh vật phân giải lân vô cơ bao gồm các loại vi khuẩn có khả năng phân giải mạnh là *Bacillus megatherium*, *B. butyricus*, *B. mycoides*. *Pseudomonas radiobacter* *P. gracilis* ... Trong nhóm vi nấm thì *Aspergillus niger* có khả năng phân giải mạnh nhất. Ngoài ra một số xạ khuẩn cũng có khả năng phân giải lân vô cơ.

## 2. Sự hoạt động của các vi sinh vật trong đồng ủ

Các quá trình sinh hoá diễn ra trong đồng ủ rác chủ yếu do hoạt động của các vi sinh vật sử dụng các hợp chất hữu cơ làm nguồn dinh dưỡng cho các hoạt động sống của chúng. Các loại vi khuẩn và nấm đóng vai trò quan trọng trong quá trình phân giải các hợp chất. Các loại vi sinh vật phát triển tốt trong các điều kiện môi trường được xác định như bảng 8.1

**Bảng 8.1. Các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến vi sinh vật**

Yếu tố môi trường	Khoảng xác định
Nhiệt độ, °C	0 - 70
Nồng độ muối, % NaCl	0 - 3
pH	1,0 - 1,2
Nồng độ oxi, %	0 - 21
Áp suất, mPa	0 - 115
Ánh sáng	Bóng tối, ánh sáng mạnh

Các vi sinh vật tham gia vào quá trình phân giải tại các đồng ủ rác được chia thành ba nhóm chủ yếu sau:

- Các vi sinh vật ưa lạnh: phát triển mạnh ở nhiệt độ 0 - 20°C.
- Các vi sinh vật ưa ấm: phát triển mạnh ở nhiệt độ 20 - 40°C.

- Các vi sinh vật ưa nóng: phát triển mạnh ở nhiệt độ 40 - 70<sup>0</sup>C.

Sự phát triển của các loại vi sinh vật theo nhiệt độ được thể hiện theo đồ thị sau: Thời kỳ đầu của quá trình ủ rác, quá trình hiếu khí được diễn ra, giai đoạn này các chất hữu cơ dễ bị oxi hoá sinh hoá thành dạng đơn giản như protein, tinh bột, chất béo các một lượng nhất định chất xenluloza. Trong quá trình này, các vi sinh vật tiếp nhận một lượng năng lượng rất lớn và vì thế có tồn tại một lượng năng lượng đáng kể ở dạng nhiệt. Lượng năng lượng nhiệt được tạo thành bên trong lòng đồng ủ được tạo ra nhiều hơn so với lượng nhiệt được thoát ra bên ngoài và do đó nhiệt độ bên trong các đồng bể ủ được tăng lên. Giá trị nhiệt độ tăng tới 60 - 70<sup>0</sup>C, kéo dài trong thời gian khoảng 30 ngày. Ở khoảng nhiệt độ này, các phản ứng hoá học diễn ra sẽ trội hơn các phản ứng vi sinh vật bởi vì hầu hết chủng vi sinh vật không phát triển được ở nhiệt độ 70<sup>0</sup>C.

Trong quá trình phân huỷ hiếu khí, các polime ở dạng đa phân tử được vi sinh vật chuyển hoá sang dạng đơn phân tử và tồn tại ở dạng tự do. Các polime đơn phân tử sau đó lại được vi sinh vật hấp thụ, sử dụng trong việc tiếp nhận năng lượng để kiến tạo nên tế bào mới. Khi O<sub>2</sub> bị các vi sinh vật hiếu khí tiêu thụ dần thì các vi sinh vật yếm khí bắt đầu xuất hiện và nhiều quá trình lên men khác được bắt đầu diễn ra trong đồng ủ. Các vi sinh vật tham gia vào quá trình lên men là nhóm vi sinh vật dị dưỡng trong điều kiện cả yếm khí lẫn kỵ khí nghiêm ngặt. Các chất hữu cơ dạng đơn giản, các axit amin, đường ... được chuyển hoá thành các axit béo dễ bay hơi, rượu, CO<sub>2</sub> và N<sub>2</sub>. Các axit béo dễ bay hơi, rượu sau đó lại được chuyển hoá tiếp tục với sự tham gia của các vi sinh vật axeton và các vi sinh vật khử sunfat.

Các vi sinh vật axeton tạo ra các axit axetic, khí CO<sub>2</sub> còn các vi khuẩn thì chỉ tạo ra khí N<sub>2</sub> và khí CO<sub>2</sub>. Các chất này là nguồn nguyên liệu ban đầu của quá trình metan hoá. Các vi khuẩn tạo sunfat và vi khuẩn tạo metan là những vi khuẩn thuộc nhóm tạo vi sinh vật kỵ khí bắt buộc. Có hai nhóm vi sinh vật chủ yếu tham gia vào quá trình tạo metan, phần lớn là nhóm các vi sinh vật tạo metan từ khí N<sub>2</sub> và khí CO<sub>2</sub>, phần nhỏ (gồm 2 đến 3 chủng loài) là những vi sinh vật tạo metan từ axit axetic. Trong tổng lượng khí metan tạo thành từ đồng ủ thì có tới 70% được tạo thành từ axit axetic. Nếu như có tồn tại nhiều sunfat trong các đồng ủ thì các vi khuẩn khử sunfat sẽ mang tính trội hơn vi khuẩn metan và như vậy sẽ không có khí metan tạo thành nếu sunfat vẫn tồn tại. Trong quá trình chuyển hoá yếm khí và kỵ khí, nhiệt độ của các đồng ủ giảm xuống vì các chủng loại vi sinh vật ở giai đoạn này tạo ra ít nhiệt lượng hơn nhiều so với quá trình chuyển hoá hiếu khí (chỉ bằng 7% so với quá trình hiếu khí). Nếu nồng độ của các axit hữu cơ, axit béo dễ bay hơi tạo ra càng nhiều thì trong nước rác sẽ có pH thấp (4 - 5) và có nồng độ COD, BOD<sub>5</sub> cao.

Như vậy, rác hữu cơ tại các đồng ủ được phân huỷ theo nhiều giai đoạn chuyển hoá sinh học khác nhau để tạo ra sản phẩm cuối cùng là mùn hữu cơ để làm phân compost.

### 3. Lựa chọn các chủng giống vi sinh vật xử lý rác thải làm phân

Tình trạng phổ biến hiện nay tại các cơ sở chế biến rác là ủ rác tự nhiên với các vi sinh vật có sẵn trong rác. Điều này dẫn đến một số hạn chế nhất định trong quá trình xử lý, thời gian ủ kéo dài, chất lượng phân thành phẩm không cao ... khi tạo được điều kiện thuận lợi (nhiệt độ, độ ẩm, pH ...) thì không phải chỉ các vi sinh vật có lợi phát

triển mà cả các vi sinh vật có hại cũng phát triển, sinh độc tố làm hại cây trồng và ô nhiễm đất. Chính vì vậy, việc tuyển chọn các vi sinh vật hữu hiệu để bổ sung vào đồng ủ thực sự cần thiết. Tuy nhiên để có thể tuyển chọn được chủng giống vi sinh vật hữu hiệu cần phải dựa trên những nguyên tắc sau:

- Phải có hoạt tính sinh học cao như khả năng phân giải xenlulozavà các hợp chất cao phân tử khác.

- Phải sinh trưởng mạnh trong điều kiện đồng ủ lẫn át các vi sinh vật khác.

- Các tác dụng cải tạo đất tốt, tức là phát huy các khả năng sau khi đã bón vào đất.

- Không độc hại cho người, vật nuôi, cây trồng và các vi sinh vật hữu ích trong vùng rễ.

- Có khả năng sinh trưởng mạnh trên môi trường đơn giản, dễ kiếm, thuận lợi cho quá trình sản xuất chế phẩm.

Các vi sinh vật có các đặc điểm trên đây khi được bổ sung vào rác ủ vẫn có thể thực hiện chức năng, do đó có thể nâng cao sản lượng mùn mà không ảnh hưởng tới môi trường sống.

Có thể bổ sung vào đồng ủ một số nhóm vi sinh vật hữu hiệu sau:

#### **\* Xạ khuẩn**

Các chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải nhanh các hợp chất cao phân tử trong rác. Trong đó hoạt tính phân giải các hợp chất ligno, xenluloza (là hợp chất rất khó bị phân huỷ bởi đa số vi sinh vật) nổi bật hơn cả. Ngoài ra còn có khả năng sinh các chất kích thích sinh trưởng thực vật (gibberellin, axit indolaxetic ...). Vì vậy, trong đất xạ khuẩn có khả năng phát huy tác dụng với cây trồng. Nhờ khả năng chịu nhiệt độ cao mà xạ khuẩn có thể sinh trưởng và hoạt động mạnh mẽ trong đồng ủ thực tế.

#### **\* Vi khuẩn**

- Vi khuẩn phân giải xenluloza: có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ cao, bên cạnh hoạt tính phân giải hợp chất ligno - xenluloza còn sinh nhiều enzym ngoại bào phân huỷ các cao phân tử khác như protein, tinh bột. Ưu điểm của những vi khuẩn chịu nhiệt này là sinh trưởng khá nhanh do đó có thể lấn át các nhóm vi sinh vật không hữu ích khác.

- Vi khuẩn sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật: gồm các vi sinh vật mà trong quá trình trao đổi chất có khả năng tổng hợp các hormon thực vật như gibberelin, axit indolaxetic, xifokinin. Các chủng vi khuẩn này thường được bổ sung vào giai đoạn cuối của quá trình sản xuất sản phẩm ủ và phát huy tác dụng khi được bổ sung vào đất trồng trọt.

- Vi khuẩn lactic: sản sinh axit axetic từ đường và một số hydrocarbon khác được sinh ra nhờ hoạt động của một số vi sinh vật phân huỷ xenluloza, tinh bột. Ngược lại vi khuẩn lactic lại có tác dụng tăng cường sự phân huỷ của các chất như lignin, xenluloza, sự sinh trưởng của vi khuẩn lactic không gây trở ngại đến quá trình phân huỷ các chất hữu cơ. Trong quá trình trao đổi chất, vi khuẩn có sản sinh ra axit lactic, có khả năng ức chế các vi sinh vật gây hại.

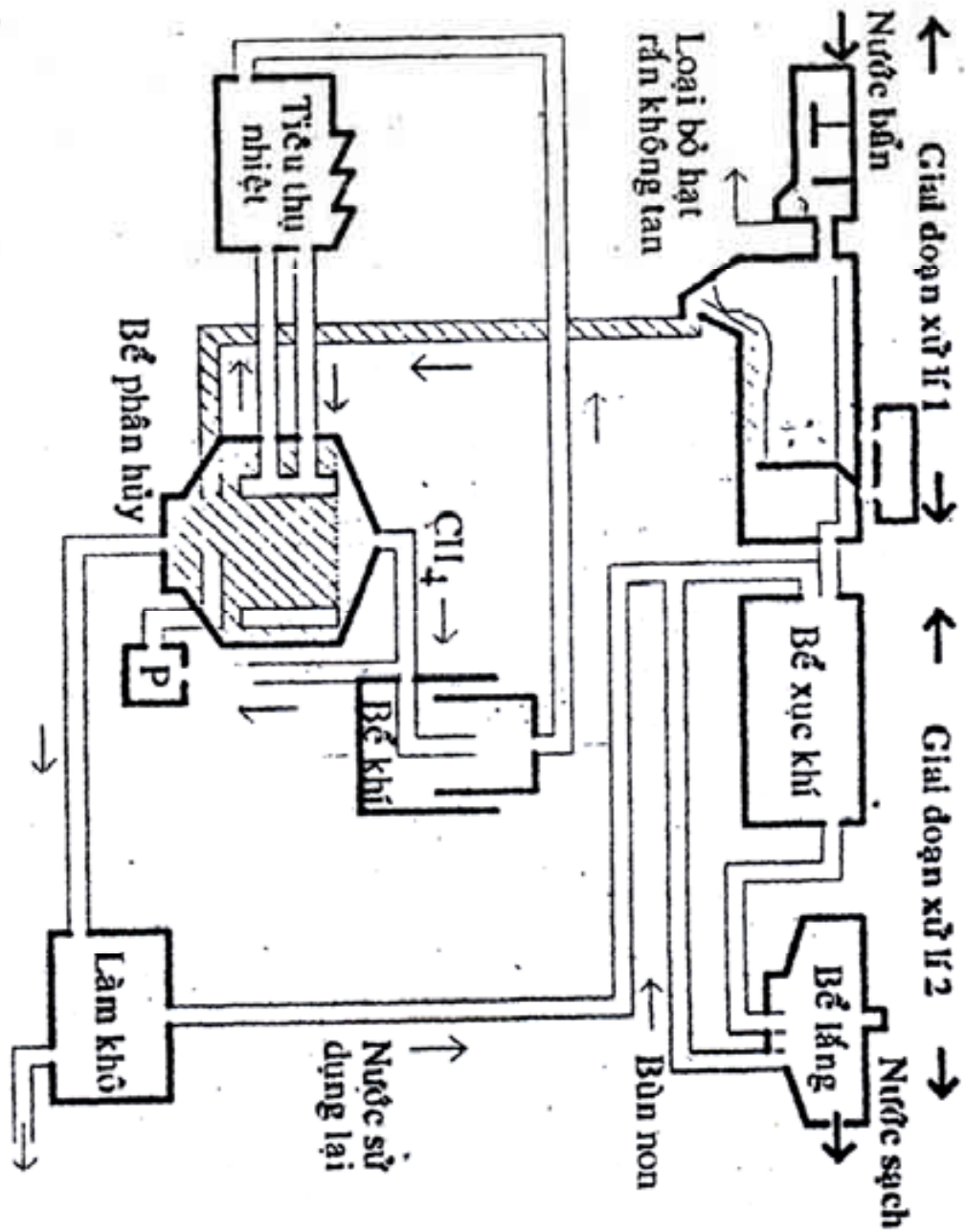
**\* Vi nấm**

- Các chủng vi nấm sử dụng trong chế phẩm có dải nhiệt độ cho sinh trưởng khá rộng. Chủ yếu hoạt động của vi nấm diễn ra mạnh ở giai đoạn ủ hiếu khí.

- Vi nấm phân giải xenluloza: ngoài khả năng phân giải xenluloza còn có thể sinh ra một số enzym ngoại bào khác như proteaza, amilaza. Hoạt động của chủng này phân huỷ nhanh chóng các chất hữu cơ tạo ra các sản phẩm làm cơ chất cho các vi sinh vật hữu ích khác phát triển.

- Vi nấm phân giải phosphat: rất cần trong quá trình biến đổi các phosphat khó tan thành dạng cây dễ thụ, nâng cao chất lượng phân thành phẩm.

Thực tế cho thấy công nghệ mới có sử dụng các vi sinh vật hữu hiệu và tuyển chọn cho năng suất và chất lượng cao hơn so với quá trình mà chương trình phát triển của Liên hợp quốc khuyến cáo. Thời gian ủ từ 2 - 2,5 tháng giảm xuống còn 25 - 30 ngày. Năng suất mùn rác của bể là 130m<sup>3</sup> từ 25 tấn đến 30 - 35 tấn. Phân ủ bằng vi sinh vật không có mùi hôi, không ủ rác, hạn chế tối đa ruồi muỗi.



Hình 8.1 Sơ đồ công nghệ xử lý phân giải yếm khí phế thải

### 8.3.2. Xử lý sinh học phế thải sinh hoạt

Cho đến nay phế thải hoạt động sống của con người đều được xử lý một cách tự nhiên nhờ vi sinh vật. Đại thể quá trình này gồm một số giai đoạn sau: 1) Loại bỏ phần rắn, tủa và cặn; 2) Phân huỷ các chất hữu cơ tan trong nước nhờ vi khuẩn hiếu khí để tạo ra bùn non (hay còn gọi là bùn hoạt tính). Bùn non sau đó bị loại bỏ hoặc đưa vào bể phản ứng để tái sử dụng; 3) Tạo tủa và tách P và N (giai đoạn này đôi khi không cần thiết); 4) Xử lý bùn tạo ra ở giai đoạn 1 và 2 bằng phân huỷ yếm khí. Quá trình này làm giảm thể tích cặn, số lượng vi sinh vật gây bệnh, làm mất mùi khó chịu và tạo ra còn gọi là biogas (hình 8.1)

#### 8.3.2.1. Xử lý sinh học hiếu khí đối với phế thải:

Bản chất của nó là quá trình xử lý phân giải sinh học phế thải có sự hiện diện của oxy. Quá trình này bao gồm một số công đoạn sau: 1) Hấp thụ chất xử lý lên bề mặt tế bào; 2) Phân huỷ các chất trên bằng enzyme ngoại bào; 3) Hấp thụ các chất tan vào bên trong tế bào; 4) Giải phóng sản phẩm; 5) Xử lý tiếp bằng nhóm vi sinh vật khác.

Cụ thể trong vấn đề này có ba công nghệ xử lý sinh học vẫn thường được sử dụng, đó là công nghệ xử lý qua màng lọc thẩm thấu, xử lý nhờ bùn hoạt tính (bùn non) và xử lý bằng "lớp nén giã".

**1) Xử lý nhờ màng lọc thẩm thấu:** Công nghệ xử lý này đã được biết từ lâu và hiện chiếm khoảng 70% số lượng các hệ thống xử lý làm sạch ở Châu Âu và Mỹ.

Ưu điểm: Là thiết kế đơn giản, không tốn kém, thời gian sử dụng lâu tới 30 - 50 năm.

Nhược điểm cơ bản là hệ thống xử lý cho phép quá nhiều vi sinh vật phát triển trong đó, điều này làm giảm độ thông khí, cản dòng chảy, dẫn đến làm tắc và làm hỏng bộ lọc.

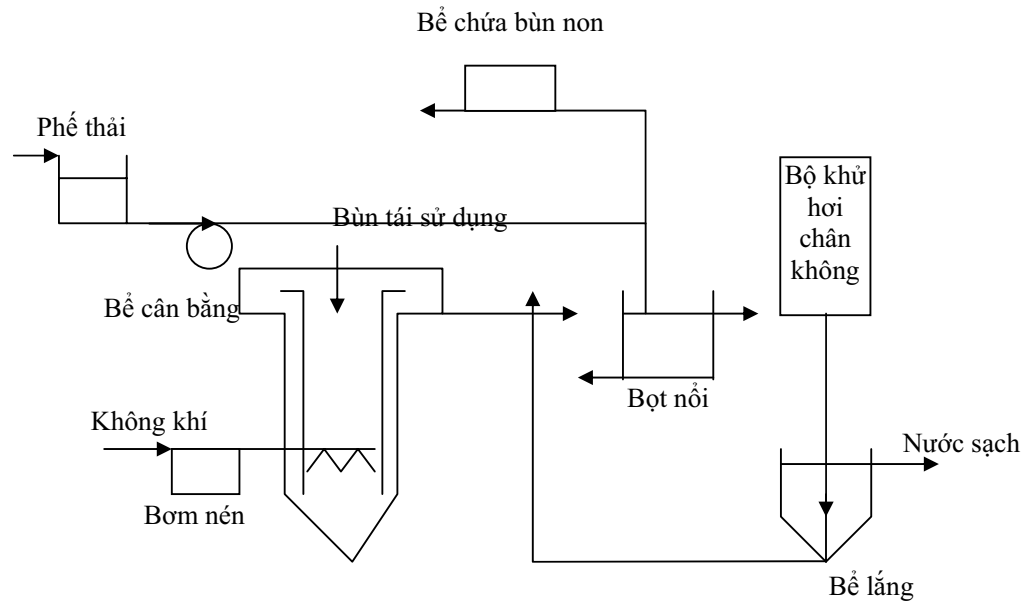
Sau này người ta đã cải tiến đưa vào sử dụng bộ lọc hai lớp, cho phép thay phiên nhau sử dụng theo chu kì thời gian. Kiểu lọc này rất phù hợp cho việc xử lý nước thải công nghiệp.

Từ những năm 70 người ta bắt đầu thay thế bộ lọc thẩm thấu cấu tạo từ clinke, đá sỏi, cát... bằng bộ lọc thẩm thấu bằng nhựa, cho phép xử lý nước thải công nghiệp có nồng độ cao hơn. Ngoài ra, có thể thiết kế bộ lọc có chiều cao lớn hơn bằng nhựa dẻo, như vậy tăng được công suất hoạt động của hệ thống xử lý lên khá nhiều.

Thay đổi lớn nhất được thực hiện vào năm 1973 cùng với việc đưa vào sử dụng hệ thống xử lý quay (rotary reactor). Thiết bị này có hình dáng tổ ong bằng nhựa xoay được. Điều này cho phép nó luôn thay đổi vị trí, lúc ngâm trong nước, lúc nằm trong không khí. Nhờ vậy tăng được diện tích tiếp xúc với không khí, làm cho quá trình thông khí xảy ra nhanh hơn nhiều.

Thường bộ lọc thẩm thấu chỉ gồm màng nước mỏng nằm phía bên trên lớp bùn non dày chứa nhiều loại vi khuẩn (trong đó có Zoogloea) nấm và tảo. Trong số các loài tảo thấy có mặt tảo lam Cyanophyceae và Chlorophyceae. Ngoài ra còn khá nhiều các đại diện của nhóm động vật Metazoa (trong đó có giun đất, sâu bọ và giáp xác). Ruồi và giun có tác dụng điều hoà sự tạo màng.

**2) Xử lý bằng bùn hoạt tính (bùn non):** Công nghệ xử lý phế thải bằng bùn hoạt tính có công suất lớn hơn nhiều so với xử lý bằng bộ lọc thấm. Tuy nhiên nó cũng có một số nhược điểm sau : do cường độ sử dụng lớn, nên mức tiêu thụ năng lượng để khuấy trộn không khí cũng như số lượng sinh khối được tạo ra lớn hơn. Công nghệ này rất thích hợp để xử lý phế thải cho các điểm dân cư đông đúc, vì nó chiếm ít diện tích hơn so với hệ thống xử lý theo công nghệ lọc thấm.



Hình 8.2 Hệ thống xử lý phế thải sử dụng bùn non

Thực tế có khá nhiều kiểu hệ thống xử lý theo công nghệ này. Thiết kế của chúng khác nhau tùy thuộc vào hệ số thông khí và cách thức cung cấp khí.. Bùn non trong hệ thống xử lý này chứa nhiều nước hơn so với bùn non trong bộ lọc thấm, vì vậy chứa ít chủng loại vi sinh vật hơn. Để tiện việc xử lý đạt kết quả, việc xác định thành phần và nồng độ chất trong phế thải là vấn đề quan trọng bậc nhất nhằm tạo điều kiện cho việc sử dụng nhóm vi sinh vật xử lý phù hợp. Trong thực tế có nhiều nhóm vi sinh vật tham gia quá trình xử lý, quan trọng nhất là các nhóm vi khuẩn tự dưỡng chất hữu cơ như : *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* và *Moraxella*. Trong trường hợp nước thải có hàm lượng chất vô cơ cao, thì người ta lại thấy có mặt các loại vi khuẩn như: *Thiobacillus*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* và *Ferrobacillus*, chịu trách nhiệm oxy hoá S,  $NH_3$  và Fe.

Do bản chất của sự phân huỷ nói trên rất đa dạng, nên khái niệm phân huỷ sinh học cũng bao gồm nhiều nội dung và cũng rất đa dạng. Tuy nhiên, bản chất của chúng thể hiện trong ba nội dung sau: 1) Phân huỷ sơ cấp làm thay đổi bản chất hoá học của các chất cần xử lý; 2) Phân huỷ sinh học sơ cấp tuy chỉ gây biến đổi không đáng kể, nhưng nó lại làm thay đổi tính chất của chất cần xử lý; 3) Phân huỷ sinh học triệt để biến phế thải hữu cơ cần xử lý, thành sản phẩm vô cơ.



**3) Xử lý phế thải bằng "lớp nén giả":** Công nghệ sử dụng "lớp nén giả" để xử lý phế thải bắt đầu được áp dụng từ những năm 80. Nó được coi như là sự kết hợp giữa hai kiểu xử lý, xử lý bằng lớp lọc thấm và bằng bùn non. Trong thực tế có hai kiểu hệ thống xử lý bằng "lớp nén giả".

a. *Hệ thống bẫy Simore Hartley:* Hệ thống này do Viện công nghệ thuộc Trường tổng hợp Massachusetts (Mỹ) thiết kế. Trong thiết bị này, sinh khối được tích lũy trên tấm chắn bằng polyester xếp nằm bên trong thiết bị xử lý. Các tấm chắn này theo chu kỳ sẽ lần lượt đẩy ra ngoài một lượng sinh khối khá lớn, tới khoảng  $15\text{kg/m}^3$  chất mang. Sau khi giải phóng sinh khối bằng cách nén ép chúng, các tấm chắn này lại quay ngược trở lại vào bên trong thiết bị và bắt đầu công việc lại từ đầu.

b. Bể oxy hóa Dor Oliver: Trong thiết bị xử lý này người ta sử dụng chất lót bên dưới là cát và theo chu kỳ nó được đưa ra ngoài được tẩy sạch và tái sử dụng.

### 8.3.2.2. Xử lý sinh học yếm khí đối với phế thải :

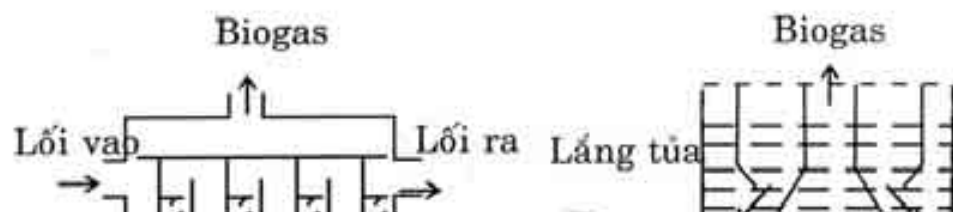
Trong quá trình xử lý phế thải yếm khí (lên men tạo khí methane). Có ba nhóm vi khuẩn tham gia vào quá trình:

- 1) Nhóm vi khuẩn chịu trách nhiệm thủy giải và lên men;
- 2) Nhóm vi khuẩn tạo  $\text{H}_2$  và acetic acid;
- 3) Nhóm vi khuẩn tạo khí methane tự dưỡng sử dụng  $\text{H}_2$ .

Để nâng cao năng suất của quá trình lên men, hiện người ta vẫn tiếp tục hoàn thiện các loại giống, chủng, vi khuẩn lên men yếm khí bằng biện pháp chọn lọc tự nhiên hoặc nhờ phương pháp công nghệ di truyền. Đặc biệt về mặt công nghệ người ta cần phải chú ý khắc phục các yếu tố giới hạn tốc độ phân huỷ cơ chất có mặt trong phế thải như cellulose, tinh bột ..., và tốc độ tạo khí methane. Cần lưu ý là một số sản phẩm cuối của quá trình lên men như  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{S}$ , thường có tác động ức chế ngược làm giảm hoạt tính hoạt động của vi khuẩn tạo khí methane.

#### 1. Hệ thống xử lý yếm khí:

Trong thực tế có rất nhiều kiểu thiết bị lên men yếm khí. Từ những dạng cấu tạo đơn giản hoàn toàn thủ công, cho đến các hệ thống xử lý có cấu tạo khá phức tạp hiện đang hoạt động ở một số nước phát triển. ở Việt Nam các ứng dụng xử lý yếm khí tạo biogas đã được bắt đầu từ những năm 80. Dưới đây là hai kiểu thiết bị lên men yếm khí tương đối điển hình và đang được sử dụng khá rộng rãi .



Hình 8.3: Thiết bị xử lý nước thải trại chăn nuôi A và nước thải thành phố B

## 2. Kiểm soát sinh học các hệ xử lý:

Điều kiện tiên quyết để ổn định quá trình phân huỷ yếm khí nước thải là sự theo dõi thường xuyên các tác động có thể có của độc chất có mặt trong dòng nước thải đi vào hệ thống xử lý. Điều này cần thiết nhằm mục đích sao cho thiết bị không bị quá tải, dẫn đến làm giảm tuổi thọ của nó.

Thông thường người ta theo dõi theo nhu cầu sử dụng oxy, độ pH và hàm lượng ATP của quần thể vi sinh vật và dựa vào các thông số này để kiểm soát và điều hòa quá trình lên men yếm khí. Trong đó việc theo dõi biến thiên hàm lượng ATP là quan trọng nhất. Thông thường để đánh giá khả năng hoạt động của hệ xử lý người ta tiến hành xác định sự biến thiên của hàm lượng ATP nội bào. Đồ thị nhận được cho ta thấy rằng, khi trong dòng dịch đi vào có mặt chất độc, thì hàm lượng của ATP, số lượng bùn hoạt tính được tạo thành và số lượng hạt rắn trong huyền phù đều giảm mạnh. Sau một khoảng thời gian nhất định, các tham số trên mới khôi phục trở lại trạng thái trước khi xuất hiện độc chất.

## 3. Kiểm soát nguồn bệnh:

Một trong những ưu điểm của quá trình lên men yếm khí là nó giúp loại bỏ các nguồn gây bệnh. Nguyên nhân chủ yếu là do sự có mặt của acid béo bão hòa được tạo thành bởi phản ứng  $\beta$ -oxy hoá trong dịch lên men. Các acid này thường kết hợp với  $H_2$ , cũng được tạo thành trong quá trình trên, tạo ra octanic acid là chất kháng khuẩn rất mạnh.

## 4. Thu nhận các chất hữu ích từ lên men yếm khí:

Một trong những nhiệm vụ quan trọng nhất của quá trình xử lý phế thải, là tái sử dụng các chất hữu cơ có trong phế thải. Nội dung của vấn đề này bao gồm hai khía cạnh: 1) Tách và cô đặc các chất hữu ích có trong phế thải; 2) Biến phế thải thành sản phẩm có ích. Trong thực tế, hiện người ta đặc biệt quan tâm đến vấn đề xử lý và tái sử dụng nguồn nước, xử lý phế thải nói chung để sản xuất khí sinh học, đồng thời tạo ra sản phẩm làm nguồn thức ăn gia súc hoặc phân bón hữu cơ.

### a. Xử lý tái sử dụng nước thải:

Xu thế hiện nay là người ta tiến hành xử lý các dạng nước thải khác nhau và tái sử dụng chúng để phục vụ cho các ngành công nghiệp nặng như ngành năng lượng,

sản xuất phân bón và khai thác than. Vì nói chung nước sử dụng trong các lĩnh vực nói trên không đòi hỏi độ sạch như đối với nước dân dụng.

**b. Xử lý tạo nguồn phân hữu cơ:**

Cho đến nay quy mô sử dụng phân hữu cơ có nguồn gốc từ động vật và nước thải của ngành chăn nuôi không lớn so với phân vô cơ. Tuy nhiên xu thế trên trong tương lai sẽ thay đổi vì một số nguyên nhân sau:

1) Để sản xuất phân vô cơ cần phải tiêu tốn nhiều năng lượng, và tuy hàm lượng NPK của nó cao, nhưng sử dụng lâu ngày sẽ làm hỏng đất;

2) Hiện nay đã xuất hiện một số công nghệ mới cho phép tạo được phân hữu cơ có hàm lượng NPK cao;

3) Việc xử lý phế thải tạo phân hữu cơ bao giờ cũng tạo ra khí sinh học, là nguồn cung cấp năng lượng đáng kể (bảng 8.1)

**Bảng 8.1 Thành phần chất dinh dưỡng trong phân động vật:**

Loài động vật	Chất khô	N	P	K	Mg
Đại gia súc	4 - 23	2,4 - 6,5	0,4 - 1,8	2,0 - 5,8	0,2 - 0,6
Heo	4 - 25	1,6 - 6,8	0,6 - 2,1	1,7 - 3,6	0,3 - 0,7
Gà	23 - 68	9,6 - 23	2,4 - 12	3,8 - 11,6	1,2 - 2,2

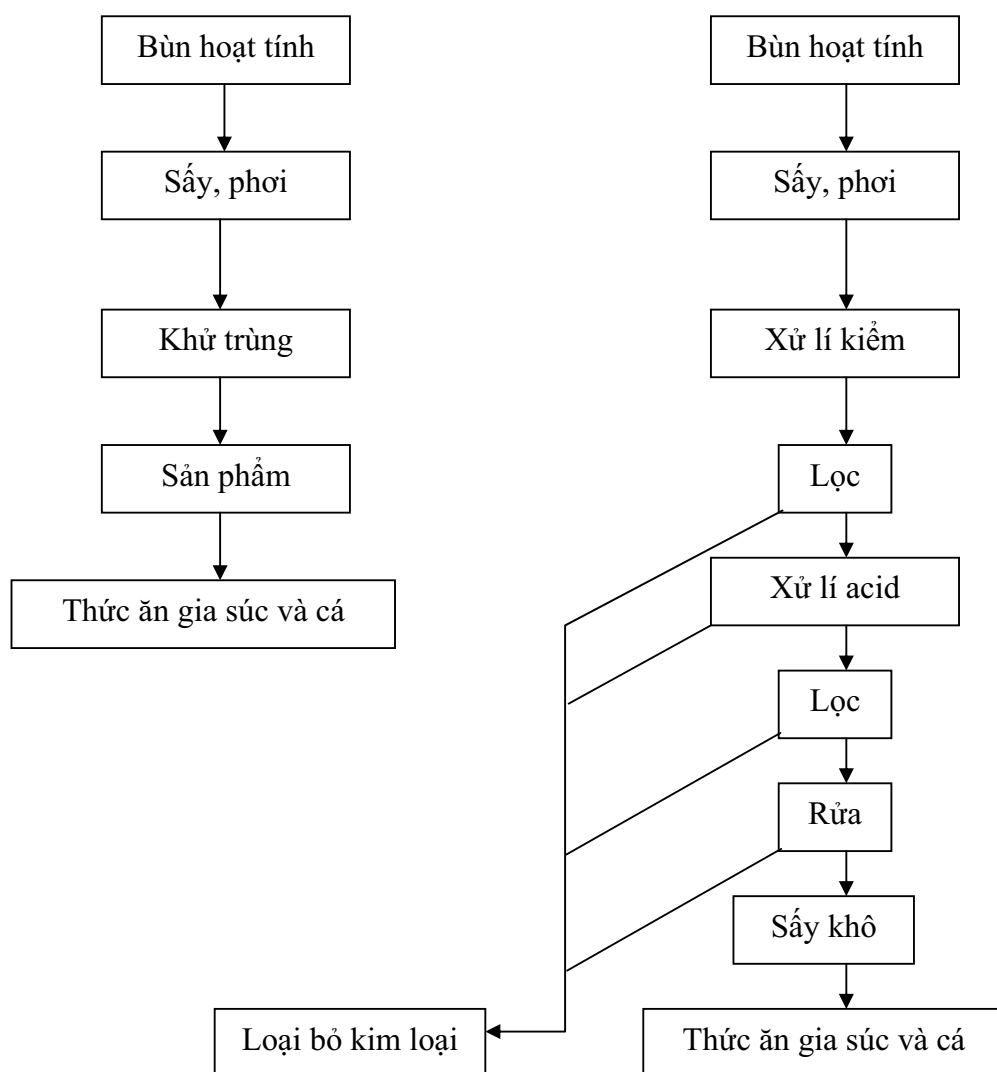
**c. Xử lý phế thải tạo thức ăn gia súc:**

Hàng năm chỉ riêng ở Anh hoạt động sống của con người thải ra chừng  $2,5 \cdot 10^{10}$  kg phế thải, ngành chăn nuôi thải ra chừng  $1,8 \cdot 10^{11}$  kg. Từ lượng phế thải này, qua quá trình xử lý sẽ tạo ra một số lượng bùn hoạt tính không lờ có hàm lượng protein chiếm tới khoảng 30 - 40% sinh khối khô. Tiếp tục xử lý chúng sẽ tạo được một nguồn thức ăn cho gia súc rất có giá trị (bảng 8.2)

Bảng 8.2 - Thành phần hóa học của bùn hoạt tính:

Thành phần	% Trọng lượng khô
Nước	7,85
Protein tổng số (N x 6,25)	37,80
Protein thực sự	31,25
Mỡ	1,73
Tro	25,16
Trong không tan trong acid	12,33
Carbohydrate (theo glucose)	9,80
Xơ	10,30
Năng lượng tương đương (kcal/g)	16,20

Quy trình công nghệ thu nhận protein từ bùn hoạt tính không phức tạp và gồm các công đoạn sau (hình 8.4)



**Hình 8.4 : Quy trình công nghệ thu nhận protein từ bùn hoạt tính.**

Theo quy định của Anh (1981) về việc sử dụng protein từ bùn hoạt tính, thì vấn đề kiểm soát sự hiện diện của mầm bệnh, đặc biệt là Salmonella, phải được tuân thủ rất nghiêm ngặt.

### 8.3.3. Xử lý sinh học phế thải công nghiệp:

Trong thực tế người ta thường phân biệt phế thải công nghiệp thành hai nhóm: 1) Phế thải của ngành công nghiệp có liên quan đến sinh học;

2) Phế thải của các ngành công nghiệp không liên quan đến sinh học như công nghiệp hóa chất, cơ khí, công nghiệp nặng...

Vì phế thải của các ngành công nghiệp không liên quan đến sinh học rất đa dạng và chứa nhiều thành phần khó bị phân hủy bằng xử lý sinh học, nên trước khi tiến hành xử lý sinh học, cần phải xử lý sơ bộ phế thải bằng phương pháp hóa học hoặc vật

lý. Cho đến nay, việc sử dụng các chủng vi sinh vật đặc hiệu để phân hủy phế thải vẫn chưa phổ biến. Tuy nhiên, đây là một giải pháp rất có triển vọng để:

- 1) Phân hủy đặc hiệu tại chỗ một số loại phế thải riêng biệt;
- 2) Bổ sung tập đoàn các chủng vào hệ thống xử lý nhằm gia tăng hiệu quả của nó;
- 3) Phân hủy dầu ô nhiễm hoặc để tách kim loại;
- 4) Làm sạch khí thải;
- 5) Thu nhận sinh khối có ích từ phế thải;
- 6) Lên men tạo khí methane (biogas) từ phế thải.

Về công nghệ cần đặc biệt lưu ý đến:

a) việc cung cấp đầy đủ oxy để quá trình phân hủy sinh học phế thải được thực hiện triệt để. Trong thực tế để đạt được điều này người ta thường hoặc sử dụng hệ thống xử lý tạo bong bóng khí, hoặc bổ sung trực tiếp oxy vào hệ thống.

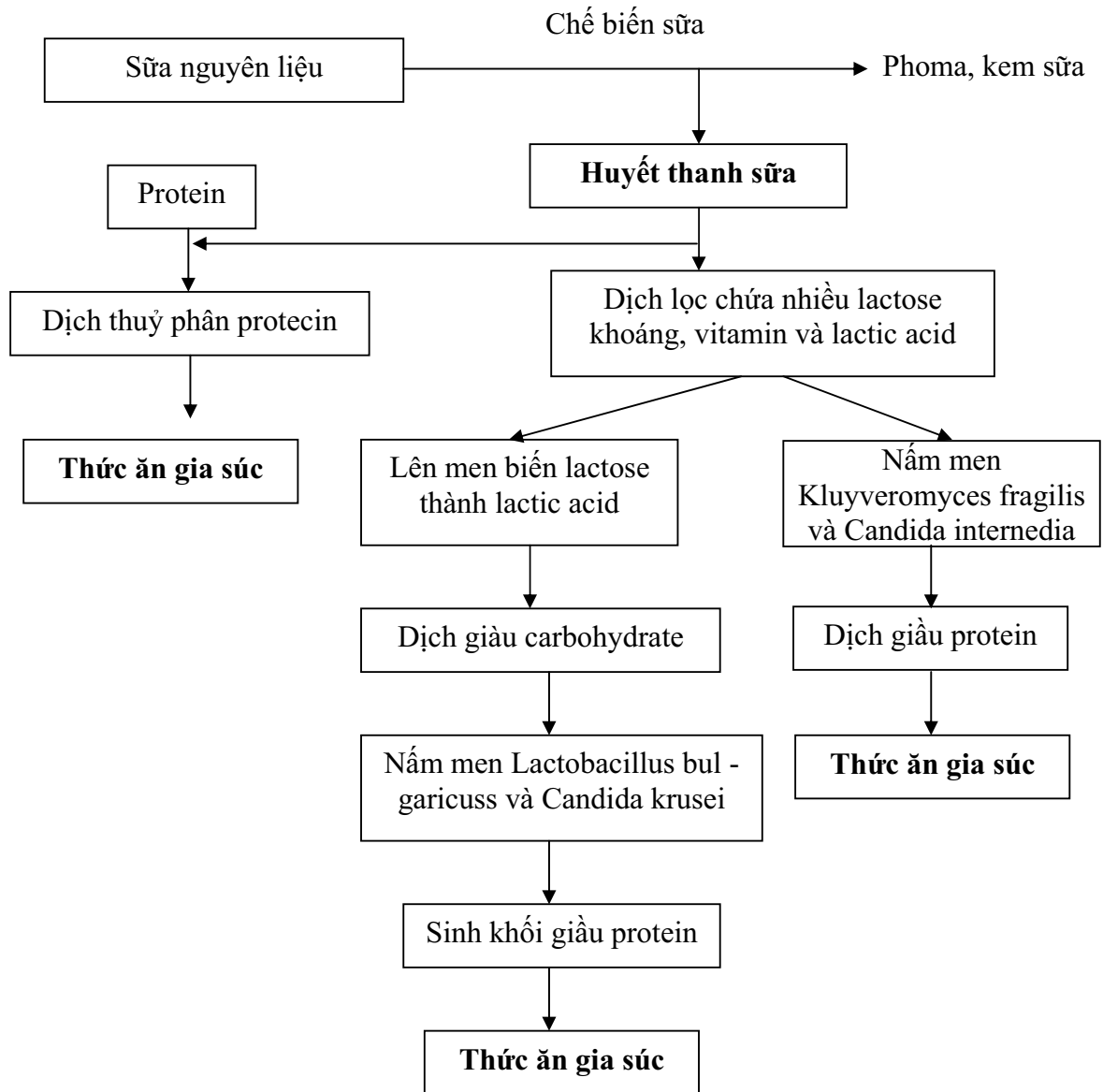
b) Để xử lý phế thải chứa độc chất nên sử dụng hệ thống màng xử lý chứa vi sinh vật (đơn giản nhất là màng thấm).

Dưới đây chúng ta sẽ xem xét một số biện pháp xử lý sinh học đối với một số loại phế thải công nghiệp.

#### **8.3.3.1. Xử lý sinh học đối với phế thải công nghiệp chế biến sữa:**

Huyết thanh sữa là phế thải chủ yếu của ngành công nghiệp chế biến sữa. Thành phần huyết thanh sữa phụ thuộc vào hình thức sử dụng sữa. Người ta thường cô đặc huyết thanh sữa để sử dụng làm thức ăn chăn nuôi. Tuy nhiên có điểm khiếm khuyết là thành phần dinh dưỡng của nó không được cân bằng: Huyết thanh sữa chứa nhiều chất khoáng và đường lactose. Do vậy, trong thực tế người ta thường trích ly protein từ huyết thanh sữa bằng cách li tâm. Sau khi li tâm dịch lọc vẫn còn chứa khá nhiều lactose (35-50 g/l), vitamine, khoáng chất và lactic acid. Do đó người ta sử dụng một số công nghệ khác để nâng cao hơn nữa hiệu quả sử dụng huyết thanh sữa. Trong đó chủ yếu là cho lên men bởi nấm men *Lactobaccillus bulgaricus* hoặc *Candida krusei* và lên men bởi nấm men *Kluyveromyces fragilis* hoặc *Candida intermedia*. Sau quá trình lên men người ta thu được sinh khối vi sinh vật và dịch còn lại có hàm lượng protein khá cao.

Từ dịch huyết thanh sữa ngoài các sản phẩm giàu protein, người ta còn thu được nguồn nguyên liệu cho ngành công nghiệp hóa học như ethanol chẳng hạn. Hoặc bằng phản ứng thủy giải hóa học đường lactose tạo ra glucose và galactose, là nguồn nguyên liệu có giá trị. Bằng cách sử dụng nấm men đột biến không chứa enzyme  $\beta$ -galactosidase, nhưng vẫn có khả năng thủy giải lactose và sử dụng glucose mới được tạo ra làm nguồn cung cấp C. Kết quả là dịch lọc huyết thanh sữa trở nên ngọt hơn và hiện được sử dụng khá rộng rãi trong một số ngành công nghiệp thực phẩm. Hiện nay để làm "ngọt hóa" dịch phế thải chứa huyết thanh sữa, người ta không sử dụng các chủng đột biến như đã đề cập ở trên, mà sử dụng trực tiếp enzyme  $\beta$ -galactosidase được cố định trên vật liệu mang không tan trong công nghệ thủy giải lactose. Các bước xử lý chủ yếu phế thải chứa huyết thanh sữa được mô tả trong hình 8.5.



**Hình 8.5 Sơ đồ xử lý phế thải công nghiệp chế biến sữa**

### 8.3.3.2 Xử lý phế thải công nghiệp sản xuất giấy:

Công nghệ xử lý phế thải công nghiệp sản xuất giấy phụ thuộc vào quy trình công nghệ sản xuất bột giấy từ gỗ: Sản xuất bột giấy bằng cách xử lý kiềm hay acid.

Xử lý kiềm tạo ra phế thải ở dạng dịch màu đen chứa nhiều lignin khó phân giải và các acid hữu cơ có trọng lượng phân tử thấp. *Dịch này rất khó xử lý bằng con đường sinh học.* Do vậy, trong trường hợp này, tốt hơn cả là cho dịch bay hơi và đốt cháy để lấy năng lượng. Còn xử lý acid tạo ra dịch phế thải chứa khoảng 60% lignin, một số loại đường trong đó có mannose, galactose, glucose, xylose và arabinose.

Chúng chiếm khoảng 30%, còn lại là acetic acid, methanol và furfural. Với thành phần nêu trên, *dịch phế thải này hoàn toàn thích hợp* để lên men tạo sinh khối giàu protein làm thức ăn cho gia súc.

Lignin và các dẫn xuất của nó có mặt khá nhiều trong nước phế thải của ngành sản xuất giấy. Các hợp chất này rất khó bị phân hủy và do vậy cho đến nay chúng vẫn là đối tượng nghiên cứu của các nhà công nghệ sinh học.

### 8.3.3.3. Xử lý nước phế thải công nghiệp chứa chất màu:

Nước phế thải của các nhà máy dệt, nhuộm và sản xuất màu thường chứa các chất màu và các sắc tố. Ngoài ra nó còn chứa một số chất độc trong đó có những chất gây bệnh ung thư cho người và động vật. Cho đến nay *nước thải chứa chất màu nói trên thường vẫn được xử lý bằng các biện pháp hóa học*, vì khả năng phân giải chất màu và sắc tố của vi sinh vật nói chung là yếu. Thí dụ, người ta có thể dùng bùn non để loại bỏ chất màu ra khỏi nước thải, nhưng bùn non không xảy ra quá trình phân hủy bản thân chất màu, mà chỉ xảy ra sự tách chúng ra khỏi nước thải nhờ quá trình hấp phụ. Tuy nhiên cũng có một số nhóm thuốc nhuộm, trong đó có nhóm thuốc nhuộm là azo-, là một trong những nhóm chất màu quan trọng nhất, lại dễ dàng bị phân hủy bởi biện pháp xử lý sinh học cả ở điều kiện hiếu khí và yếm khí. Nguyên nhân chủ yếu là vì ở điều kiện yếm khí, nhiều loại vi sinh vật có khả năng tổng hợp enzyme nói trên sẽ bị phân rã tiếp bởi phản ứng oxy hóa được enzyme aeroreductase do vi sinh vật tạo ra xúc tác.

### 8.3.4 Phân hủy sinh học các chất tổng hợp hữu cơ:

Quá trình phân hủy các chất tổng hợp hữu cơ trong tự nhiên phụ thuộc vào bản chất của chúng như độ bền vững của chất, độ hòa tan trong nước, kích thước và diện tích của phân tử, độ bay hơi..., các yếu tố bên ngoài như độ pH, khả năng oxy hóa bởi ánh sáng, yếu tố sinh học. Trong đó yếu tố *Phân huỷ sinh học* thể hiện thông qua sự có mặt của cộng đồng vi sinh vật là có ý nghĩa hơn cả. Chúng có những ưu thế sau:

a) Trong cộng đồng vi sinh vật, các loài vi sinh vật khác nhau thường bổ sung cho nhau những thành phần thiết yếu cho sự tồn tại của riêng từng loài và như vậy giúp duy trì sự tồn tại chung của cộng đồng. Đây là một quan hệ rất phức tạp và đóng vai trò chủ đạo trong quá trình phân hủy. Ví dụ: cộng đồng vi khuẩn phân rã cyclohexane gồm hai loài. Trong đó vi khuẩn *Norcadia* chịu trách nhiệm phân hủy chính, vì nó có khả năng oxy hóa cyclohexane. Tuy nhiên nó không thể tồn tại riêng lẻ và cần sự có mặt của *Pseudomonas*, vì vi khuẩn này cung cấp biotin là chất cần thiết cho sự phát triển của *Norcadia*, mà bản thân nó không tự tổng hợp được. Do vậy, *tốc độ phân rã các chất tổng hợp hữu cơ chủ yếu phụ thuộc vào cộng đồng vi sinh vật, chứ không phụ thuộc vào từng loại vi sinh vật riêng lẻ*.

b) Các thành viên trong cộng đồng vi sinh vật *phân hủy các chất hữu cơ tổng hợp theo cơ chế bổ sung lẫn nhau*. Có nghĩa là mỗi một thành viên trong cộng đồng chỉ chịu trách nhiệm một công đoạn trong toàn bộ quá trình phân hủy.

c) Trong cộng đồng vi sinh vật bao giờ cũng xảy ra sự *trao đổi thông tin di truyền giữa các loài vi sinh vật*. chủ yếu trao đổi thông tin qua plasmid. Thí dụ, người ta biết có hai loài *Pseudomonas*, trong đó một loài có khả năng sống độc lập trên

chlorocatechol, còn loài kia chứa plasmid TOL mang gene chịu trách nhiệm tổng hợp enzyme benzodioxygenase. Cả hai đều không thể sống độc lập trên cơ chất chứa 4-chlorobenzoate. Tuy nhiên sau khi nuôi cấy chúng liên tục qua nhiều thế hệ cùng nhau, người ta tạo ra được thể đột biến có khả năng sống trên 4-chlorobenzoate. Điều này xảy ra là nhờ có sự trao đổi thông tin di truyền giữa hai loài nói trên.

#### **8.3.4.1. Phân hủy sinh học các dẫn xuất hữu cơ chứa chlore:**

Các chất hữu cơ tổng hợp chứa chlore thường vẫn được sử dụng làm dung môi hữu cơ, và do vậy chúng là một trong những nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường. Cho đến nay quá trình phân hủy các chất này bởi vi sinh vật hầu như còn được biết rất ít. Trong thực tế người ta đã phân lập được những chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy dichloromethane, tuy cơ chế hoạt động của quá trình này vẫn chưa được lý giải hoàn toàn. Có lẽ chủng nói trên tổng hợp được enzyme halohydrilase xúc tác phản ứng tạo chloromethanol từ dichloromethane. Chất này sau đó sẽ tự phân rã và tạo ra formaldehyde. Còn các dẫn xuất nhân thơm chứa chlore bị phân hủy bởi enzyme dioxygenase xúc tác phản ứng oxy hóa gắn O và nguyên tử C liên kết với Cl và làm cho liên kết C-Cl bị yếu đi nhiều. Các sản phẩm tạo thành sau đó là dẫn xuất catechol chứa nhóm halogen thay thế. Đây là các chất trao đổi chủ yếu trong quá trình phân hủy các hợp chất nhân thơm chứa Cl. Sau đó chúng sẽ bị phân hủy tiếp bởi enzyme pyrocatechase, dẫn đến sự mở vòng nhân thơm.

#### **8.3.4.2 Phân hủy sinh học các dẫn xuất nhân thơm chứa các nhóm thế đơn:**

Nói chung các dẫn xuất nhân thơm chứa các nhóm thế đơn thường bị phân rã trong quá trình khá giống nhau: trước hết là phản ứng gắn oxy vào nhân thơm, sau đó là phản ứng loại bỏ nhóm thế (Ví dụ:  $\text{SO}_3\text{H}$ ) và cuối cùng là quá trình tái tạo lại nhân thơm (hình 5.10).

Polychlorobiphenyl (PCB) là nhóm chất rất bền vững trong tự nhiên. Tuy nhiên nếu xét riêng từng mặt thì bản thân gốc biphenyl nói chung cũng dễ dàng bị phân hủy bởi vi sinh vật giống như các hợp chất chứa nhân thơm khác. Tuy nhiên khi mức độ chloro hóa gia tăng, thì khả năng phân hủy của vi sinh vật đối với chúng ta lại giảm mạnh. Trong thực tế khi số gốc Cl được gắn lớn hơn 4, tức là lớn hơn số Cl trong phân tử tetrachloro PCB, thì hầu như không xảy ra quá trình phân hủy vi sinh vật.

Benzopyrene là polyme đa vòng. Quá trình phân rã nó tạo ra các dẫn xuất chứa nhóm -OH và epoxy có khả năng gây bệnh ung thư. Trong thực tế các chất này hầu như không bị phân hủy trong hệ thống xử lý bùn hoạt tính. Tuy nhiên người ta cũng đã ghi nhận được một số chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy benzopyrene và tạo ra các phức chất có cấu tạo rất phức tạp.

Polystyrol cũng rất bền đối với phân hủy vi sinh vật. Tuy nhiên cho đến nay cũng đã xuất hiện những thông báo về sự phân hủy bột vỏ lốp xe hơi (chủ yếu là cao su styrolbutadiene) bởi một số loài vi sinh vật, khi bổ sung thêm chất hoạt bề mặt vào môi trường nuôi cấy chúng.

#### **8.3.4.3 Xử lý sinh học ô nhiễm dầu mỡ:**

Vấn đề ô nhiễm môi trường sống bởi dầu mỡ là một vấn đề lớn của loài người và ở Việt Nam cũng đã bắt đầu xảy ra ở mức độ khá nghiêm trọng. Do vậy vấn đề xử lý ô



nh nhiễm dầu nói chung và xử lý ô nhiễm dầu bằng các biện pháp sinh học nói riêng ngày càng được quan tâm. Thông thường người ta chia ô nhiễm dầu mỏ làm hai loại:

- 1) *Nước thải bị ô nhiễm trong quá trình khai thác dầu khí,*
- 2) *Ô nhiễm dầu nói chung đối với môi trường sống.*

Sau đây chúng ta sẽ xem xét một số trường hợp xử lý ô nhiễm dầu điển hình.

Nước ô nhiễm trong quá trình khai thác dầu khí thường được xử lý bằng biện pháp sinh học sau khi đã loại bỏ phần lớn lượng dầu có mặt trong nước bằng các biện pháp vật lý hoặc bằng hóa chất tạo nhũ. Hiện nay hệ thống xử lý ô nhiễm sử dụng bùn hoạt tính kết hợp thổi oxy trong thiết bị dạng cột được coi là thích hợp nhất. Trong thực tế những sự cố rò rỉ dầu mỏ lớn nhất thường xảy ra ở biển. Sau khi thoát ra dầu sẽ chịu các tác động vật lý khác nhau (kể cả gió thổi). Trong quá trình đó khoảng 25-40% lượng dầu mỏ rò rỉ bị phân hủy, đặc biệt là đối với alkanen có trong lượng phân tử thấp. Mức độ phân hủy vi sinh vật đối với dầu rò rỉ bị phân tán như trên phụ thuộc khá nhiều vào yếu tố như: hàm lượng tương đối của chất bão hòa, các chất nhân thơm chứa N, S, và O, mức độ phân nhánh của các chất alkane cũng như hàm lượng của phân đoạn nặng (như nhựa đường chẳng hạn) của dầu mỏ. Trong đó, thành phần chứa alkene có độ phân nhánh cao hoặc các hợp chất nhân thơm chứa lưu huỳnh và phân đoạn chứa nhựa đường, là những thành phần khó bị phân hủy nhất của dầu mỏ. Ngoài ra tốc độ phát triển của bản thân vi sinh vật phân hủy dầu còn phụ thuộc vào sự có mặt của các chất dinh dưỡng có sẵn trong tự nhiên (hoặc do bổ sung), đặc biệt là N và P. Cũng cần lưu ý là các yếu tố vật lý như nhiệt độ, nồng độ oxy áp suất thủy lực và mức độ tạo huyền phù của dầu ảnh hưởng nhiều lên tốc độ phân hủy của nó.

Sự ô nhiễm dầu đất và nguồn nước ngọt cũng là một vấn đề phải quan tâm. Thực tế trong đất luôn có mặt rất nhiều loài vi sinh vật có khả năng phân hủy dầu. Tuy nhiên hiệu quả phân hủy của chúng sẽ giảm đi nhiều, nếu dầu ô nhiễm ban đầu tạo ra các dẫn xuất tan trong nước hoặc có hoạt tính bề mặt, làm do dầu lan truyền dễ dàng (điều này cũng có liên quan đến sự lan truyền do gió, thủy triều lên xuống).

#### **8.3.4.4 Phân huỷ sinh học thuốc trừ sâu:**

Hiện nay vấn đề ô nhiễm môi trường do ngành sản xuất thuốc trừ sâu hóa học, cũng như do việc sử dụng nó trong nông nghiệp gây ra, đang là tâm điểm của nhiều nước. Do vậy các biện pháp phòng trừ và khắc phục hậu quả do ô nhiễm thuốc trừ sâu gây ra (đặc biệt là các biện pháp sinh học), đang được quan tâm chú ý.

Về nguyên tắc, dư thừa lượng thuốc trừ sâu trong đất bị phân hủy bởi cộng đồng vi khuẩn và nấm khá nhanh. Thông thường độ độc của thuốc trừ sâu giảm mạnh sau giai đoạn biến đổi đầu tiên của chúng. Điều này cho phép xây dựng công nghệ xử lý ô nhiễm thuốc trừ sâu bằng vi sinh vật khá đơn giản. Quá trình phân rã thuốc trừ sâu được xúc tác bởi một số enzyme thủy phân ngoại bào của vi sinh vật như esterase, acylamidase và phosphoesterase. Ví dụ: enzyme parathiohydrolase do *Pseudomonas* SP. tổng hợp có khả năng phân hủy tới 94-98% dư thuốc trừ sâu parathion. Hoạt độ của enzyme này phụ thuộc vào cấu trúc, độ ẩm và dung độ của đất... Do vậy, trong thực tế enzyme thể hiện hoạt độ phân rã parathion ở các điều kiện khác nhau thì khác nhau. Ngoài ra, hiện nay đã xuất hiện khả năng sử dụng enzyme nói trên ở dạng cố

định trên các màng lọc để xử lý nước thải của các nhà máy sản xuất thuốc trừ sâu hóa học hoặc để làm sạch nguồn nước dân dụng.

#### 8.3.4.5. Phân hủy sinh học các chất tẩy rửa:

Theo khả năng bị phân hủy sinh học, người ta chia đất tẩy rửa tổng hợp làm hai loại: *Loại cứng và loại mềm*. Vào thời kỳ đầu, người ta sử dụng các chất tẩy rửa có độ phân nhánh cao như alkylbenzosulphonate. Đó là các chất khá bền đối với quá trình phân hủy sinh học. Để tránh tích lũy các chất alkyl mạch thẳng dễ bị phân hủy sinh học. Trước hết chúng bị phân hủy bởi phản ứng oxy hóa nhóm  $-CH_3$  đầu cuối. Mạch thẳng còn lại sau đó sẽ bị oxy hóa tiếp và kết thúc bằng phản ứng oxy hóa nhân của phân tử. Toàn bộ quá trình trên xảy ra ở điều kiện hiếu khí vì cần oxy cho phản ứng oxy hóa. Alkyl mạch nhánh cũng bị phân hủy sinh học, nhưng chậm hơn và cơ chế của quá trình vẫn chưa bị biết nhiều. Hiện chỉ biết là liên kết C-S của các chất tẩy rửa nói chung là bền với tác động phân hủy sinh học. Liên kết này bị phá gãy và tạo ra gốc sulphonate bởi enzyme hydroxylase và monooxygenase do vi sinh vật tổng hợp.

Hiện các chất tẩy rửa trung tính vẫn được sử dụng để tạo nhũ phục vụ cho các mục đích sử dụng trong nông nghiệp và công nghiệp mỹ phẩm. Các chất này bị phân hủy sinh học chủ yếu thông qua quá trình oxy hóa và thủy phân do enzyme xúc tác.

Các chất tẩy rửa ở dạng thương phẩm chỉ chứa khoảng 30% chất hoạt hóa bề mặt, còn lại là các chất tẩy trắng, tạo bọt, enzyme và chủ yếu là các chất phụ gia. Ban đầu người ta sử dụng trisodiumphosphate làm chất phụ gia, nhưng nó lại là nguồn cung cấp P và do đó góp phần làm ô nhiễm nguồn nước rất mạnh. Nên sau này người ta phải chuyển sang sử dụng các chất phụ gia không chứa P và N như CMS (carboxymethyl succinate), ODA (oxydiacetate) và EGDA (ethylene glycol diacetate):

- $HOOCH_2OCH(COOH)CH_2COOH$	CMS
- $HOOCH_2OCH_2COOH$	ODA
- $HOOCH_2OCH_2CH_2OCH_2COOH$	EGDA
- $N(CH_2COOH)_3$	NTA

Các chất này bị phân hủy khá nhanh bởi enzyme liase do nhiều loại vi sinh vật tổng hợp. Ngoài ra hiện nay người ta còn sử dụng rộng rãi NTA (nitriltriacetate), là phụ gia tuy có chứa N, nhưng lại dễ dàng bị phân hủy sinh học ngay cả trong nước sông ngòi ở điều kiện tự nhiên, hoặc bởi hệ thống xử lý bằng bùn hoạt tính.

#### 8.3.4. Xử lý sinh học phế thải nông nghiệp:

Hàng năm, ngành nông nghiệp nói chung (kể cả trồng trọt và đặc biệt là chăn nuôi) thải ra một số lượng lớn phế thải. Do đó vấn đề xử lý phế thải nông nghiệp (đặc biệt là phế thải chăn nuôi) trở thành một vấn đề lớn cần giải quyết. Do vậy cần phải có các quá trình công nghệ thích hợp để xử lý phế thải nông nghiệp thành những sản phẩm có ích và góp phần bảo vệ môi trường sống.

##### 8.3.4.1. Xử lý hiếu khí phế thải trong nông nghiệp:

Đặc điểm nổi bật của phương pháp xử lý hiếu khí phế thải là vi khuẩn tham gia vào việc xử lý hiếu khí phế thải được cung cấp oxy đầy đủ. Do vậy sản phẩm xử lý

khá ổn định. Yêu cầu đối với các hệ xử lý hiếu khí hoạt động ổn định lâu dài, thao tác đơn giản và dễ dàng tự động hóa. Hiện nay ở các nước phát triển đang hoạt động một số hệ thống xử lý hiếu khí sau:

1) *Hồ chứa để oxy hóa*: Là mô hình xử lý đơn giản nhất, là nơi chứa nước thải chăn nuôi thường không sâu quá 1,5m và yêu cầu phải có bề mặt rộng để quá trình thông khí được dễ dàng. Trên bề mặt của hệ xử lý thường có nhiều loại tảo quang hợp, chúng giúp tăng hiệu quả hoạt động của hệ xử lý. Đối với hệ xử lý này tốc độ nạp phế thải không lớn. Hệ xử lý này có một nhược điểm sau: tốc độ xử lý chậm, yêu cầu diện tích lớn, cần bã tích lũy ở đáy hồ và bị phân giải ở điều kiện hiếu khí, tạo điều kiện cho nhiều loại côn trùng không mong muốn phát triển. Nhưng hệ xử lý này có ưu điểm là chi phí thấp và không cần phải trông coi. Trong thực tế người ta gia tăng hiệu quả hoạt động của hệ thống xử lý này bằng cách gia tăng độ thông khí (bằng những biện pháp thích hợp). Nhờ đó có thể giảm kích thước của hệ thống và thời gian xử lý.

2) *Hệ thống xử lý bể bậc thang*: Hệ thống này được sử dụng ở Anh. Khác với hồ chứa để oxy hóa, phế thải được nạp vào hệ này một cách đều đặn và được lưu giữ không lâu. Nhờ dòng chảy từ từ theo bậc thang, phế thải được oxy hóa khá mạnh và cần được giữ lại ở đáy bể. Nói chung quá trình xử lý phế thải trong hệ xử lý này mạnh hơn so với hồ chứa để oxy hóa.

3) *Xử lý trong rãnh Pasveer (Pasveer Ditch)*: Là hệ thống xử lý cải tiến có sử dụng bùn hoạt tính (bùn non). Lớp dịch phế thải trong rãnh sâu khoảng 0,3-0,6m, được khuấy trộn bằng động cơ do vậy tốc độ xử lý cao thông qua quá trình oxy hóa cường bức. Hiệu lực xử lý gia tăng nhờ có sự hiện diện của tập đoàn vi sinh vật trong lớp bùn non.

#### **8.3.4.2. Xử lý phế thải nông nghiệp ở điều kiện yếm khí:**

Bản chất của xử lý này chính là quá trình lên men ở điều kiện yếm khí tạo ra khí sinh học (biogas), chứa chủ yếu khí methane, CO<sub>2</sub> và một số khí khác. Xử lý này một mặt cung cấp một phân năng lượng cho các hoạt động nông nghiệp, mặt khác không kém phần quan trọng là hạn chế phế thải nông nghiệp gây ô nhiễm môi trường. Quá trình lên men yếm khí được thực hiện chủ yếu bởi nhóm vi khuẩn kỵ khí sinh methane.

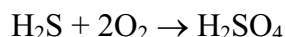
## CHƯƠNG IX

### TÁC NHÂN VI SINH VẬT TRONG XỬ LÝ KHÍ THẢI

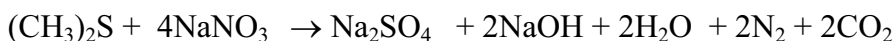
#### 9.1 NGUYÊN LÝ CỦA QUÁ TRÌNH XỬ LÝ SINH HỌC KHÍ THẢI:

Khí thải hoạt động sống của con người nói chung và khí thải công nghiệp nói riêng có mùi khó chịu và chứa nhiều các dẫn xuất lưu huỳnh ở dạng khí như: thiosulphate,  $H_2S$ , methyl mercaptan và dimethyl sulphite.

Phân rã hiếu khí:



Phân rã yếm khí:



Các chất này là nguồn cung cấp năng lượng cho hoạt động sống của nhiều loài vi sinh vật hiếu khí và yếm khí. Trong thực tế chúng bị phân huỷ như mô tả ở các phương trình trên.

#### 9.2 CÁC HỆ THỐNG LÀM SẠCH KHÔNG KHÍ BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC:

Công nghệ sinh học đã được đưa vào áp dụng rộng rãi trong các biện pháp nhằm bảo vệ môi trường sinh thái tránh khỏi các chất thải độc hại của các xí nghiệp công nghiệp. Trước kia đó là nước thải công nghiệp, còn trong những năm gần đây đó là loại khí thải công nghiệp. Trong cả hai trường hợp đó là những chất độc hại đối với con người và các loại động vật máu nóng khác. Trong thiên nhiên có một sự phân bố rộng rãi các vi sinh vật có vai trò to lớn trong vòng tuần hoàn của các chất hữu cơ nhờ chúng có các hệ enzyme có khả năng thủy giải các chất độc tố rất khác nhau về mặt cấu tạo hóa học và sau đó lại có khả năng đồng hóa các sản phẩm tạo ra trong quá trình thủy giải, sử dụng các sản phẩm này như là cơ chất của sự trao đổi kết cấu và năng lượng. Ngày nay người ta đã biết được phổ rất rộng các hợp chất hữu cơ thuộc các nhóm chất khác nhau mà cơ thể vi sinh vật có khả năng phân giải. Trong thực tế người ta đã sử dụng chủng vi sinh vật hay quần thể vi sinh vật để làm sạch môi trường xung quanh khỏi các chất hữu cơ độc hại.

Trong không khí của các thành phố công nghiệp lớn, người ta đã phát hiện tới khoảng 150 chất hữu cơ thuộc về các chất đồng đẳng của benzol, hydrocarbons, phenol...

Các xí nghiệp hóa học, chế tạo giấy cellulose, sản xuất sơn và công nghiệp thực phẩm, các xí nghiệp chế biến nông sản và các tổ hợp chăn nuôi, các bể lắng nước thải và các thiết bị xử lý chất thải đều là nguồn thải các chất độc hại có mùi hôi thối mà thậm chí ở nồng độ không lớn đã gây ra cho con người cảm giác khó chịu làm hại sức khỏe của cộng đồng xã hội.

Phương pháp vi sinh vật làm sạch không khí khác với các phương pháp làm sạch hoá học và lý học bởi khả năng tiến hành của quá trình này ở nhiệt độ bình thường và dưới áp suất khí quyển.

Có ba kiểu hệ thống làm sạch không khí bằng phương pháp sinh học:

1. Tấm lọc sinh học (Bio-filter);
2. Các thiết bị làm sạch sinh học (Bio-scrubber);
3. Các Bioreactor chứa các màng lọc polymer;

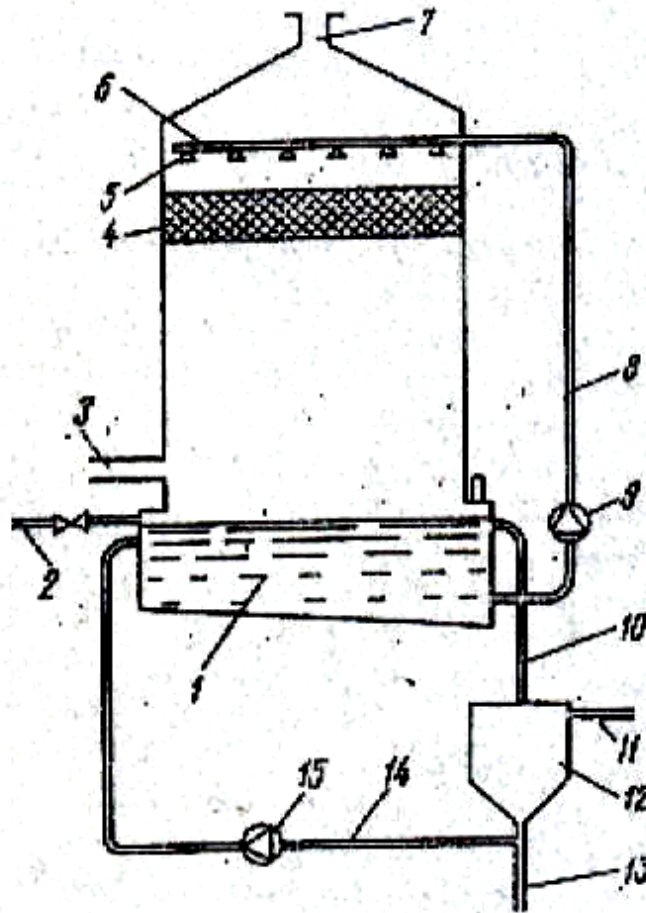
#### **9.2.1 Tấm lọc sinh học Biofilter:**

Thành phần chính của bio-filter là lớp lọc, trên đó xảy ra quá trình hấp thụ các chất độc từ không khí bị nhiễm bẩn và sau đó phân hủy chúng bằng các vi sinh vật. Không khí cần làm sạch được đưa vào bằng quạt gió. Người ta thường sử dụng phân ủ, than bùn và các chất có nguồn gốc tự nhiên tương tự để làm vật liệu cho lớp lọc. Bản thân các vật liệu nói trên có chứa những khoáng chất cần thiết để nuôi dưỡng vi khuẩn. Thường người ta sử dụng quần thể vi sinh hỗn hợp thí dụ như “bùn hoạt tính” chẳng hạn để làm sạch nước thải của các xí nghiệp hóa chất.

#### **9.2.2 Các thiết bị làm sạch sinh học Bio - Scrubber:**

Nguyên tắc hoạt động của các bio-scrubber khác với bio-filter ở chỗ là các chất độc được hấp thụ bằng nước và bị phân hủy lần lượt bởi vi sinh vật nằm trong các thiết bị khác nhau. Thành phần cấu tạo quan trọng nhất của bio-scrubber là thiết bị hấp thụ (absorber) là nơi diễn ra sự trao đổi khối lượng chất giữa khí thải nhiễm bẩn và chất

hấp thụ. Khi thiết kế bất kỳ kiểu absorber nào người ta cũng phải đặc biệt chú ý đến việc làm tăng diện tích bề mặt phân chia phase, là yếu tố quyết định hiệu quả của việc hấp thụ. Bên trong absorber các chất độc và oxy di chuyển vào nước, do đó khí thoát ra khỏi absorber sẽ ở dạng được làm sạch, còn nước thì ở trạng thái nhiễm bẩn. Sơ đồ thiết bị lọc ở mô tả ở hình 9.1, bao gồm bộ phận thu góp (aerotank) nằm ở phần đáy của absorber (1). Một đường ống được lắp vào bên trên aerotank để đưa khí nhiễm bẩn vào (2). Không khí đã được làm sạch thoát ra ngoài qua lỗ số (3). Ở phần trên của bio-scrubber lắp các màng lọc (4) và ống dẫn (5) nằm bên cạnh vòi phun (6). Nước tuần hoàn trong hệ thống có chứa bùn hoạt tính nằm trong aerotank (1), luôn có độ pH được duy trì ở mức cần thiết nhờ sự trợ giúp của thiết bị chuyên dụng. Hệ thống này cũng sử dụng cả than hoạt tính, khoảng 4g/l, trộn lẫn với bùn hoạt tính. Khi thiết bị hoạt động, không khí bẩn đi vào theo ống dẫn (2) qua các lớp màng lọc (4) tới lỗ thoát ra. Đồng thời từ aerotank (1) bằng máy bơm theo đường ống (8) dịch lỏng tẩy rửa được phun qua vòi phun. Khi xuất hiện dòng xoáy mạnh và đạt được các chỉ số trao đổi chất cao, thì quá trình làm sạch khí khỏi các tạp chất độc hại sẽ được coi là đạt yêu cầu. Sự có mặt của than hoạt tính sẽ làm tăng các chỉ số làm sạch, bởi vì một số chất độc có mặt trong không khí sẽ hấp thụ trên lớp than và quá trình phân huỷ chúng sẽ diễn ra trong aerotank. Các tế bào vi sinh vật tham gia vào thành phần của bùn hoạt tính và những enzyme ngoại bào do chúng tiết ra cũng được giữ lại trên than hoạt tính. Nước sạch được cung cấp vào aerotank theo đường ống (9) đồng thời theo đường ống thoát (10), một lượng tương ứng nước rửa cùng với bùn hoạt tính sẽ đổ vào bể lắng (12). Khi cần thiết có thể đưa chất kết tủa từ bể lắng trở lại aerotank theo (14), (15) hay đưa ra khỏi hệ thống theo các đường (11), (13).



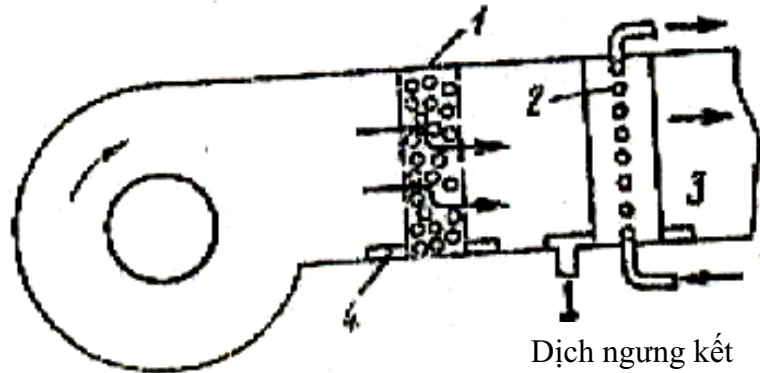
Hình 9.1. Thiết bị làm sạch sinh học Bio - Scrubber

### 9.2.3. Bioreactor:

Những bioreactor có chứa các màng polymer gắn tế bào vi sinh vật (người ta còn gọi chúng là bioreactor bọc lớp rửa) là những hệ thống làm sạch không khí tiên tiến nhất. Việc làm sạch khỏi chất độc diễn ra cũng nhờ vào hoạt tính enzyme của các tế bào vi sinh được cố định trên màng. Đôi khi thay thế vào chỗ các tế bào người ta cố định enzyme lên các màng polymer nói trên. Tuy nhiên để thực hiện các quy trình công nghệ người ta chủ yếu chỉ sử dụng các tế bào vi sinh vật cố định. Một trong những nguyên nhân chủ yếu là do khả năng dễ dàng thu nhận chúng với giá thành rẻ hơn so với các chế phẩm enzyme. Ngoài ra, trong số các ưu thế về mặt công nghệ khác phải kể tới mức độ ổn định cao của enzyme trong tế bào vi sinh vật so với enzyme được tách ra từ tế bào, cũng như khả năng tái sinh tự nhiên cofactor của nó trong quá trình hóa sinh xảy ra liên tục. Trong khi việc tái sinh cofactor trong trường hợp sử dụng các chế phẩm enzyme tinh khiết trong các quy trình sản xuất lớn sẽ đòi hỏi chi phí rất cao kèm theo các thiết bị công nghệ phức tạp.

Tuy nhiên việc sử dụng các tế bào cố định cũng có những nhược điểm cần phải lưu ý. Có thể xảy ra những phản ứng phụ do sự có mặt trong tế bào một số lượng lớn các enzyme khác nhau. So với chế phẩm enzyme không tan, hoạt động của enzyme trong tế bào vi sinh vật tính trên đơn vị diện tích bề mặt của bioreactor sẽ thấp hơn.

Protease có mặt trong tế bào có thể gây ra sự biến tính của enzyme, ngoài ra các tế bào cố định cũng tạo ra sự cản trở khuếch tán bổ sung.



Hình 9.2. Sơ đồ nguyên tắc hoạt động của Bioreactor

Hiện nay có một số giải pháp thiết kế đối với kiểu bioreactor đã nói ở trên, những giải pháp này có tính đến các yếu tố có liên quan tới chế độ khai thác liên tục của các xí nghiệp công nghiệp. Trên hình 9.2 là sơ đồ nguyên tắc mô tả phương pháp vi sinh vật làm sạch không khí đầu tiên đã được đề nghị sử dụng. Trong quy trình công nghệ này người ta sử dụng vi sinh vật đất, chúng được phân bố trên đất mang có chứa nước và các muối khoáng cần thiết cho dinh dưỡng của vi sinh vật. Khi các chất hữu cơ đi qua bioreactor, chúng bị đồng hoá bởi vi sinh vật và bị oxy hóa một phần tới  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$ . Hệ thống nói trên không yêu cầu tái sinh hay thay thế cho đến khi độ ẩm bên trong hệ thống vẫn còn và việc cung cấp các chất dinh dưỡng hữu cơ cần thiết cho vi sinh vật vẫn được duy trì. Như mô tả trên hình 9.2 hệ thống này là một kênh quạt gió, trong đó trên bề mặt của chất mang (có thể là bột xốp, bông thủy tinh hoặc bất kỳ vật liệu nào có diện tích bề mặt riêng lớn) người ta cố định các cơ thể vi sinh vật. Chất mang cùng với các vi sinh vật gắn trên đó được xếp trong container (1) có các lỗ để khí đi qua. Container lại được xếp vào trong thiết bị chứa (4) có chứa muối khoáng. Không khí bản đi qua container và sau đó đi qua thiết bị điều chỉnh không khí đến thành phần cũng như nhiệt độ và độ ẩm cần thiết. Bộ phận chuẩn bị không khí (3) có thể cải tiến để đốt nóng hoặc làm lạnh bằng cách cho đi qua thiết bị nhiệt ở dạng ống xoắn (2). Cuối cùng khí sau khi được làm sạch và được đưa về các thông số cần thiết sẽ đi vào hệ thống quạt để ra ngoài.

Trong các hệ thống hiện đại rất phổ biến các chất mang polymer ở dạng lỗ hoặc ở dạng sợi có gắn các tế bào vi sinh vật và được sắp xếp một cách đặc biệt trong container. Không loại trừ khả năng cố định các tế bào vi sinh vật trên chất mang vô cơ, thí dụ trên silicagel cải biến, khi đó các tế bào vi sinh vật cố định sẽ tạo ra một lớp ép không chặt.

Theo nguyên tắc, các tế bào vi sinh vật cố định trên chất mang được nhồi vào thiết bị chứa container nhỏ có hình viên đạn, nước cùng muối khoáng cần thiết cho tế bào vi sinh vật sẽ được đưa vào các container này. Các chất cần phân huỷ có mặt trong không khí bản khi đi qua lớp xúc tác sinh học sẽ phân bố giữa phase khí và màng



nước bọc các hạt xúc tác, chúng sẽ khuếch tán qua màng này và sau đó bị phân rã trong lớp xúc tác sinh học.

Tốc độ làm sạch khí có thể bị giới hạn hoặc bởi sự khuếch tán của cơ chất từ phase khí qua màng nước vào hạt xúc tác, hoặc bởi tốc độ phân rã của chúng do các tế bào vi sinh vật gây ra. Tốc độ khuếch tán phụ thuộc vào bản chất và nồng độ của chất khuếch tán ở ranh giới phía ngoài và phía trong màng nước. Còn tốc độ phân rã chúng lại phụ thuộc vào hoạt độ của hệ enzyme ở tế bào vi sinh vật thực hiện quá trình này. Nếu xảy ra sự phân rã toàn bộ các chất khuếch tán qua màng nước nhờ enzyme, thì điều đó có nghĩa là quá trình này hoạt động ở chế độ khuếch tán. Điều này có thể xét đoán theo ảnh hưởng của chất mang và nồng độ sinh khối lên khả năng phân hủy. Mức độ biến đổi cơ chất phản ánh quá trình làm sạch khí, sẽ bị giảm khi tốc độ của dòng khí gia tăng.

Bioreactor có lớp rửa như trên thường có chu kỳ hoạt động khoảng 5-10 ngày, nếu như người ta bổ sung vào nước tưới lên reactor sinh học khoảng 5% bùn hoạt tính lấy từ hồ động nước. Tuy nhiên việc sử dụng các vi sinh vật đã thích nghi với sự phát triển trên các chất độc tố có trong không khí cần làm sạch, có thể làm thời hạn trên giảm thậm chí còn vài giờ. Cùng với thời gian, độ cân khí động học của lớp xúc tác sinh học sẽ gia tăng do sự gia tăng hàm lượng sinh khối bị giữ lại trong nó, vì thế cứ vài tháng người ta lại phải làm sạch chất xúc tác sinh học nói trên.

Để phân hủy với hiệu suất cao một chất hữu cơ cụ thể nào đó, thì cần phải sử dụng bioreactor chứa các chủng chuyên biệt có hoạt tính phân hủy chất nói trên cao.

Thực tế cho thấy rằng, để thực hiện chức năng xúc tác phân hủy các hợp chất hữu cơ cần phải có chế độ nuôi cấy riêng biệt các chủng vi sinh vật trước khi cố định chúng. Cơ sở của chế độ nuôi cấy này là làm cho quần thể vi sinh vật thích nghi được với một cơ chất cụ thể nào đó, điều này cần thiết bởi vì quần thể vi sinh vật trong trường hợp này rất không đồng nhất. Có thể những khó khăn xuất hiện khi nuôi cấy vi sinh vật trên cơ chất cụ thể, khi cơ chất là chất bay hơi không tan trong nước. Đối với một số chất, có thể sử dụng các chất tương đồng về mặt cấu trúc để tạo ra sự thể hiện của gen chịu trách nhiệm tổng hợp enzyme tương ứng, có nghĩa là gây ra sự cảm ứng không đặc hiệu cho quá trình tổng hợp enzyme phân hủy. Đồng thời phải nghiên cứu đặc tính động học của quá trình phân hủy trong một số trường hợp cần thiết, để chắc chắn là không có các chất ức chế được tạo thành trong quá trình phân hủy chất nói trên, cũng như xác định ngưỡng nồng độ hoạt động của hệ thống.

Trong vấn đề này cần thiết phải có thông tin về các tế bào bị chết không còn khả năng tái tạo trong quá trình cố định, nếu quá trình này tiến hành đồng thời với quá trình polymer hóa các sợi mang. Cũng như cần phải biết được ảnh hưởng của các chất hữu cơ tham gia vào quá trình polymer hóa lên khả năng sống sót của tế bào vi sinh vật ở từng giai đoạn riêng biệt. Điều này cần bắt buộc khi vì lý do nào đó phải thay đổi chế độ cố định tế bào hoặc chế độ nuôi cấy chúng.

Vì container chứa các tế bào cố định được chuẩn bị trước, cho nên phải tính đến việc sấy khô, giữ hoạt độ của tế bào sau khi sấy, thời gian thích nghi của tế bào sau khi đưa container vào hệ thống và sự thay đổi cho phép của số lượng tế bào còn khả năng sống sót sau thời gian bảo quản ở các điều kiện quy định.

Phụ thuộc vào cơ chất, tế bào có thể thực hiện chức năng thủy giải, thí dụ như esterase là enzyme cắt liên kết ester của các ester phức (như ethylacetate, butylacetate) hoặc đồng hoá cơ chất và sử dụng chúng trong quá trình trao đổi cấu trúc hoặc năng lượng. Cơ sở của quá trình làm sạch khí bằng phương pháp vi sinh vật dựa trên sự phát triển của vi sinh vật khi được khuấy trộn mạnh mẽ, còn gọi là chemostate. Trong đó người ta không quan tâm nhiều đến vấn đề là chất cần phân huỷ ở dạng dung dịch hay dạng hơi trong phase khí có hòa tan hoặc khuếch tán vào phase nước của hệ thống khử hay không. Khác với các bài toán cổ điển được giải quyết theo kiểu chemostate, trong quá trình nói trên có cả các trường hợp có liên quan với nồng độ cơ chất thấp kèm theo các yếu tố giới hạn thay đổi cũng như tốc độ phát triển thấp. Trong các tính toán và chọn kiểu bioreactor có thể sử dụng phương trình không tuyến tính của Monod để tính tốc độ sử dụng cơ chất.

Cơ sở lý thuyết của phương thức giải quyết nhiệm vụ đề ra là sự hiểu biết sinh hóa và vi sinh vật về cơ chế đồng hóa các chất cần phân huỷ ở tế bào vi sinh vật. Vì các chất này được sử dụng trong quá trình trao đổi cấu trúc và năng lượng. Do đó cần phải biết được các thông số tính toán tối ưu cho biết phần nào của cơ chất bị oxy hóa đến sản phẩm cuối cùng và phần nào sẽ tham gia vào trao đổi cấu trúc, có nghĩa là tạo sinh khối. Cũng cần phải xác định bằng thực nghiệm giá trị ngưỡng của sinh khối mà ở đó hãy còn diễn tiến quá trình diễn tiến quá trình xúc tác ở những nồng độ đã cho của cơ chất. Hơn nữa phải chú ý là tác động xúc tác được thực hiện bởi các tế bào sống trong quá trình hoạt động của hệ thống bioreactor. Do đó phải tính toán sao cho sự gia tăng sinh khối luôn ở mức tối thiểu, bởi vì sự gia tăng sinh khối nói chung đều tạo nên một sự cản trở bổ sung ở màng. Người ta đưa ra phương pháp phổ biến nhất làm phương pháp khởi đầu để tối ưu hóa các thông số nói trên. Một trong hai phương pháp đó là phương pháp tính theo hiệu quả kinh tế, có nghĩa là phải tính được tương quan tối ưu giữa sự gia tăng sinh khối tối thiểu và sự tiêu tốn cao nhất cho trao đổi năng lượng. Phương pháp thứ hai dựa trên cơ sở tính toán hệ số biến đổi cơ chất cao nhất thành sản phẩm  $Y_p^{\max}$  theo lý thuyết oxy-hóa khử.

Những yêu cầu chủ yếu đối với các thiết bị sinh học làm sạch không khí là: đơn giản trong vận hành, hiệu quả làm sạch, cũng như năng suất hoạt động riêng (là tỷ lệ giữa không khí đi qua thiết bị trong một giờ và thể tích làm việc của hệ thống) cao và độ cản trở khí động học thấp.

Thiết bị làm sạch sinh học không khí phổ biến nhất là các biofilter có chi phí sản xuất không đáng kể (vật liệu của lớp lọc rẻ và phổ biến, tiêu tốn nước, điện thấp).

Năng suất hoạt động của bioreactor cao hơn nhiều so với các thiết bị sinh học làm sạch khí khác, vì nó có nồng độ sinh khí cao trong thể tích làm việc của reactor nhờ sự cố định vi sinh vật trên các chất mang polymer và vô cơ. Ngoài vai trò tập trung sinh khối, các chất mang này còn thực hiện một chức năng rất quan trọng khác là đảm bảo diện tích bề mặt phân cách lớn giữa hai phase nước-khí. Bởi vì hiệu suất làm sạch không khí của bioreactor ở thể tích và tốc độ dòng khí lớn sẽ bị giới hạn bởi tốc độ khuếch tán của các chất cần loại bỏ qua màng nước bao bọc lớp sinh học, do vậy nếu muốn gia tăng hơn nữa năng suất của bioreactor, thì có lẽ phải hoàn thiện hơn thiết kế của bioreactor và tìm kiếm các vật liệu mới để cố định vi sinh vật nhằm tạo diện tích bề mặt ngăn cách phase lớn.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Nguyễn Lâm Dũng , Nguyễn Đình Quyên, Phạm Văn Ty** 2002. Vi sinh vật học . NXB Giáo dục.
2. **Nguyễn Lâm Dũng** VSV đất và sự chuyển hoá các hợp chất cacbon, nito NXB KH và Kỹ thuật Hà Nội 1984
3. **Nguyễn Đức Lượng** - Công nghệ VSV tập I, II NXB Đa Quốc gia TP HCM
4. **Nguyễn Đức Lượng** - Công nghệ VSV tập I, II NXB Đa Quốc gia TP HCM
5. **Nguyễn Xuân Nguyên, Trần Quang Huy** - Công nghệ xử lý nước thải và chất thải rắn NXB KH & KT Hà Nội 2004
6. **Trần Hiếu Khuê (Chủ biên) Trần Đức Hạ - Lê Hiếu Thảo** - Giáo trình các quá trình vi sinh trong các công trình cấp thoát nước. Trường Đại học Xây dựng Hà Nội 1994
7. **Lê Xuân Phương** - Vi sinh vật công nghiệp - NXB Xây dựng Hà Nội
8. **Trần Thanh** - Công nghệ vi sinh NXB Giáo dục Hà Nội 2000
9. **Trịnh Thị Thanh** - Độc học môi trường và sức khoẻ con người - NXB Đại học Quốc gia Hà Nội 2003
10. **Trần Linh Thước**, Phương pháp phân tích vi sinh vật học trong nước thực phẩm và mỹ phẩm, 2002, NXB giáo dục
11. **Trần Cẩm Vân** - Giáo trình VSV học môi trường NXB ĐH Quốc gia Hà Nội 2003
12. **Trung tâm đào tạo ngành nước và môi trường** Sổ tay xử lý nước Tập I, II XNB Xây dựng Hà nội 1999

# MỤC LỤC

<b>PHẦN I : ĐẠI CƯƠNG VỀ VI SINH VẬT HỌC MÔI TRƯỜNG .....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1 : HÌNH THÁI, CẤU TẠO VÀ CÁC ĐẶC TÍNH CƠ BẢN CỦA VSV .....</b>	<b>1</b>
1.1 Đặc điểm chung của vi sinh vật .....	2
1.2 Các nhóm vi sinh vật chính .....	5
<b>CHƯƠNG 2 : SINH LÝ ĐẠI CƯƠNG VI SINH VẬT .....</b>	<b>59</b>
2.1 Dinh dưỡng của vi sinh vật .....	59
2.2 Trao đổi chất và trao đổi năng lượng của vi sinh vật .....	90
2.3 Ảnh hưởng các yếu tố bên ngoài đến hoạt động của vi sinh vật .....	94
<b>CHƯƠNG 3 : SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG MÔI TRƯỜNG ...</b>	<b>108</b>
3.1 Môi trường đất và sự phân bố của vi sinh vật trong đất .....	108
3.2 Môi trường nước và sự phân bố của vi sinh vật trong nước .....	119
3.3 Môi trường không khí và sự phân bố của vi sinh vật trong không khí .....	122
<b>CHƯƠNG 4 : KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ VẬT CHẤT CỦA VI SINH VẬT TRONG CÁC MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN .....</b>	<b>126</b>
4.1 Khả năng chuyển hoá các hợp chất cacbon trong môi trường tự nhiên .....	126
4.2 Khả năng chuyển hoá các hợp chất nitơ trong môi trường tự nhiên của VSV .....	135
4.3 K/năng chuyển hoá các hợp chất phốt pho trong môi trường tự nhiên của VSV .....	155
4.4 K/năng chuyển hoá các hợp chất lưu huỳnh trong môi trường tự nhiên của VSV .....	158
<b>CHƯƠNG 5 : Ô NHIỄM VI SINH VẬT .....</b>	<b>161</b>
5.1 Nguyên nhân của vấn đề ô nhiễm vi sinh .....	161
5.2 Nhiễm trùng và khả năng chống đỡ của cơ thể .....	162
5.3 Một số vi sinh vật gây bệnh chính .....	168
5.4 Một số vi khuẩn gây bệnh khác .....	180
5.5 Vi sinh vật chỉ thị ô nhiễm .....	192

<b>PHẦN II : VSV VÀ CÁC CHẤT VỚI QUÁ TRÌNH SINH HỌC TRONG CÔNG</b>	
<b>    NGHỆ MÔI TRƯỜNG .....</b>	<b>195</b>
<b>CHƯƠNG VI : CƠ SỞ SINH HỌC CỦA QUÁ TRÌNH XỬ LÝ Ô NHIỄM MÔI</b>	
<b>    TRƯỜNG .....</b>	<b>195</b>
6.1 Tình hình ô nhiễm môi trường hiện nay .....	195
6.2 Nguyên lý cơ bản của các quá trình .....	196
6.3 Một số loại vi sinh vật sử dụng trong xử lý ô nhiễm môi trường .....	199
<b>CHƯƠNG 7: TÁC NHÂN VI SINH VẬT TRONG QUÁ TRÌNH XỬ LÝ Ô</b>	
<b>    NHIỄM MÔI TRƯỜNG NƯỚC .....</b>	<b>211</b>
7.1 Vi sinh vật gây bệnh và chỉ tiêu vệ sinh về vi sinh vật trong nước cấp sinh hoạt .....	211
7.2 Sự nhiễm bẩn nguồn nước, quá trình tự làm sạch của nước nguồn (sông, hồ) .....	224
7.3 Các quá trình vi sinh vật trong các công trình xử lý nước thiên nhiên .....	238
7.4 Các hiện tượng bất lợi do sự phát triển vi sinh vật, sinh vật trong ống dẫn, công trình và thiết bị cấp nước, biện pháp khắc phục .....	244
7.5 Vi sinh vật với quá trình xử lý ô nhiễm môi trường nước .....	247
<b>CHƯƠNG 8: TÁC NHÂN VI SINH VẬT TRONG XỬ LÝ CHẤT THẢI .....</b>	<b>267</b>
8.1 Khái niệm về chất thải .....	267
8.2 Phân loại chất thải .....	268
8.3 Khái niệm về xử lý chất thải .....	268
<b>CHƯƠNG 9: TÁC NHÂN VI SINH VẬT TRONG XỬ LÝ KHÍ THẢI .....</b>	<b>293</b>
9.1 Nguyên lý của quá trình xử lý sinh học khí thải .....	294
9.2 Các hệ thống làm sạch không khí bằng phương pháp sinh học .....	293