

CHƯƠNG III- SINH LÝ HỌC VI KHUẨN

-Giảng viên: BSTY. Nguyễn Xuân Hòa – PGS.TS. Phạm Hồng Sơn

-Tóm tắt: Chương này thời lượng 10 tiết giảng với 32 trang lý thuyết xen kẽ hình ảnh minh họa. Nội dung chính của chương là nghiên cứu thành phần hóa học của tế bào vi khuẩn, các chất dinh dưỡng cần thiết cho tế bào vi khuẩn sinh trưởng và phát triển. Hiểu biết về chất dinh dưỡng chúng ta mới có thể thúc đẩy sự phát triển của những vi khuẩn có lợi đồng thời tìm cách ức chế sự phát triển của các vi sinh vật có hại. Tìm hiểu quá trình vận chuyển các chất vào ra tế bào vi khuẩn và giới thiệu các phương pháp xác định số lượng vi khuẩn.

- Mục tiêu: Sinh viên cần nắm được thành phần hóa học của tế bào vi khuẩn, một số quá trình lên men, các phản ứng sinh hóa xảy ra trong tế bào, phương thức vận chuyển chất dinh dưỡng và các phương pháp định lượng chính.

I. DINH DƯỠNG Ở VI KHUẨN [1]

1.1. Thành phần hóa học tế bào vi khuẩn

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 cho quá trình sinh tổng hợp và 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 thỏa 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 xem là chất dinh dưỡng. Một số chất rất cần thiết cho vi sinh vật nhưng chỉ làm nhiệm vụ bảo đảm các điều kiện về thế oxi hóa khử, pH, áp suất thẩm thấu, cân bằng ion,... Chất dinh dưỡng phải là các chất có tham gia vào các quá trình trao đổi chất nội bào.

Thành phần hóa học của tế bào vi sinh vật quyết định nhu cầu dinh dưỡng của chúng.

Thành phần hóa học của tế bào vi sinh vật gồm có nước (nước tự do và nước liên kết) và vật chất khô (muối khoáng và hợp chất hữu cơ). Lượng chứa của các nguyên tố trong vi sinh vật khác nhau là không giống nhau. Các điều kiện nuôi cấy vi sinh vật khác nhau, các giai đoạn khác nhau, lượng chứa các nguyên tố trong cùng một loài vi sinh vật cũng không giống nhau.

1.1.1. Nước

Nước là thành phần không thể thiếu được đối với cơ thể sống. Nước chiếm khoảng 70-90% khối lượng cơ thể vi sinh vật. Tất cả các phản ứng xảy ra trong tế bào vi sinh vật

đều đòi hỏi có sự tồn tại của nước. Trong vi khuẩn lượng chứa nước thường là 70-85%, nấm sợi 85-90%.

Từ thời cổ xưa người ta đã biết sấy khô các loại thực phẩm để đình chỉ sự phát triển của vi sinh vật. Việc dùng muối hoặc đường để bảo quản thực phẩm chẳng qua cũng tạo ra sự khô cạn về sinh lý không thích hợp cho sự phát triển của vi sinh vật.

Nước trong tế bào thường tồn tại ở hai trạng thái khác nhau: nước tự do và nước liên kết. Nước tự do là nước không tham gia vào cấu trúc các hợp chất hóa học của tế bào nên nó dễ bay hơi khi sấy khô. Nước liên kết là nước tham gia vào cấu tạo các hợp chất hữu cơ trong tế bào, nước liên kết khó tách ra khi sấy.

Yêu cầu của vi sinh vật đối với nước được biểu thị một cách định lượng bằng độ hoạt động của nước trong môi trường ký hiệu a_w . Độ hoạt động của nước hay độ hoạt động của thủy phân môi trường được xác định: $a_w =$

Ở đây P là áp lực hơi nước của dung dịch, còn P_0 là áp lực hơi của nước nguyên chất, dung dịch có nồng độ càng cao thì P càng nhỏ. Nước nguyên chất có $a_w=1$, nước biển có $a_w=0,98$, máu người $a_w=0,995$, cá muối có $a_w=0,75$.

Mỗi vi sinh vật thường có một a_w tối thích và một a_w tối thiểu, một số vi sinh vật có thể phát triển được trong môi trường có áp suất thẩm thấu cao người ta gọi chúng là các vi sinh vật chịu áp lực cao. Chẳng hạn a_w có thể chấp nhận được của *Saccharococcus rouxii* là 0,85, *Halococcus* là 0,75. Khả năng chịu khô hạn của nấm cao hơn so với các vi sinh vật khác.

Phần nước có thể tham gia vào các quá trình trao đổi chất của vi sinh vật được gọi là nước tự do. Phần lớn nước trong vi sinh vật tồn tại dưới dạng nước tự do. Nước kết hợp là nước liên kết với các hợp chất hữu cơ cao phân tử trong tế bào (L, P, hydrate carbon,...), nước liên kết mất khả năng hòa tan và lưu động.

1.1.2. Vật chất khô

- Muối khoáng

Muối khoáng là phần còn lại khi đốt cháy hoàn toàn chất hữu cơ chúng chiếm khoảng 2-5 % khối lượng khô của tế bào. Chúng thường tồn tại dưới dạng các muối sulphate, phosphate, carbonate, clorua,... trong tế bào chúng thường ở dạng các ion. Dạng cation như : Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Na^+ ,... Dạng anion như HPO_4^- , SO_4^{2-} , Cl^- ,... Các ion trong tế bào vi sinh vật luôn tồn tại ở những tỷ lệ nhất định nhằm duy trì pH và áp suất thẩm thấu cho từng loài vi sinh vật.

Thành phần hoá học của một tế bào vi khuẩn

Phân tử	% khối lượng khô
Protein	55
Polysaccharide	5
Lipid	9,1
ADN	3,1

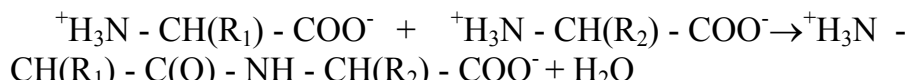
ARN	20,5
Tổng các đơn phân tử	3,5
Acid amine và tiền thể	0,5
Đường và tiền thể	2
Nucleotit và tiền thể	0,5
Các ion vô cơ	1

-Chất hữu cơ

Chất hữu cơ trong tế bào vi sinh vật chủ yếu cấu tạo từ các nguyên tố C, H, O, N, P, S,... Riêng 4 nguyên tố C, H, O, N chiếm tới 90-97% toàn bộ chất khô của tế bào. Đó là các nguyên tố chủ chốt cấu tạo nên protein, nucleic acid, lipid, hydrate carbon. Trong tế bào vi khuẩn các hợp chất đại phân tử thường chiếm tới 96% khối lượng khô, các chất đơn phân tử chiếm 3,5%, còn các ion vô cơ chỉ có 1%.

+Protein: Cấu tạo chủ yếu từ các nguyên tố: C, O, N, H, S ngoài ra còn có thể có một lượng rất nhỏ các nguyên tố khác nhau như P, Fe, Zn, Mn, Ca,...

Đơn phân cấu tạo nên các protein là các acid amine. Các acid amine trong phân tử protein được liên kết với nhau bằng liên kết peptide (liên kết cộng hoá trị -CO-NH-). Liên kết này được tạo thành do phản ứng kết hợp giữa nhóm carboxil (COO^-) của acid amine này và nhóm amine (NH_3^+) của một acid amine khác và loại đi một phân tử nước.



Tùy theo số lượng các acid amine liên kết với nhau mà ta có dipeptide, tripeptide, tetrapeptide,... phân tử có 15 liên kết peptide trở lên được gọi là polypeptide, protein được hình thành từ một vài chuỗi polypeptide.

Có 20 loại acid amine tham gia vào cấu trúc của protein, số acid amine rất lớn nên có thể tạo ra được nhiều loại protein khác nhau. Các protein 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 + acid nucleic)

Glycoprotein (Protein +hydrate carbon)

Lipoprotein (Protein +lipid)

Mucoprotein (Protein + mucopolysaccharide)

Phosphorprotein (Protein + acidphosphoric)

+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, bảo vệ,...)

Trong tế bào vi sinh vật ngoài những acid amine tham gia cấu trúc protein còn có những acid amine ở trạng thái tự do.

+**Acid nucleic:** Cấu tạo chủ yếu bởi các nguyên tố, C, H, O, N, P, căn cứ vào phân tử đường pentose trong phân tử mà acid nucleic chia làm hai loại: ADN (acid deoxiribonucleic, chứa deoxiribose) và ARN (acid ribonucleic, chứa ribose).

Các sản phẩm thủy phân của 2 loại acid nucleic này như sau:

+ARN → Polynucleotit → Nucleotit (acid phosphoric, nucleozit (D-Ribose, bazơ nito))

Bazơ nito (Adenin-A, Guanin-G, Uraxin-U, Cytozin-C)

+ADN → Polynucleotit → Nucleotit (Ax. phosphoric, nucleozit)

Nucleozit: (D-2-Deoxibose, bazơ nito)

Bazơ nito (Adenin-A, Guanin-G, Thymin-T, Cytozin-C)

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

Ví dụ:

Chi	G+C mol %
<i>Clostridium</i>	26-34
<i>Proteus</i>	38-42
<i>Staphylococcus</i>	30-40

+**Lipid:** gồm có hai loại, lipid phân cực và lipid trung tính

Lipid phân cực: nó ở trạng thái hoạt động, tham gia vào cấu trúc màng (lypoprotein, phospholipid, glycolipid)

Lipid trung tính nó ở dạng dự trữ (các hạt lipid dự trữ trong tế bào chất)

Mesosom là nơi chuyển hóa phospholipid từ dạng trung tính dự trữ sang dạng hoạt động, nó như mạng lưới nội chất ở vi sinh vật. Tế bào phát triển thì màng tế bào rộng ra khi đó lipid từ dạng dự trữ nó chuyển sang dạng hoạt động để tham gia cấu trúc.

+**Glucide:** (gluxit)

Tế bào vi khuẩn thường chứa một lượng glucide, khoảng 12-18 % trọng lượng chất khô. Các glucide thường gặp gồm các dạng đường đơn (ose), đường kép (osie) đường đa. Các loại đường đa thường gặp ở vi sinh vật là: glucan (glucarl), dextran (dextrane), amylose, chitin, cellulose ,...

Glucide tham gia cấu tạo acid nucleic, vào cấu trúc của thành tế bào, vỏ nhầy,... của vi sinh vật. Vỏ nhầy và việc hình thành vỏ nhầy liên quan đến độc lực và quá trình

bảo vệ vi khuẩn. Một số polysaccharide có thể phối hợp với protein để hình thành gluco-protein. Gluco-protein là kháng nguyên của cơ thể vi sinh vật, polysaccharide đóng vai trò bán kháng nguyên. Một số polysaccharide vi sinh vật cũng có khả năng kích thích cơ thể sản sinh kháng thể.

Glucide còn là nguồn dự trữ năng lượng và là sản phẩm trung gian của các quá trình trao đổi năng lượng trong tế bào vi sinh vật.

+Vitamine: đây là nhóm chất hữu cơ vi sinh vật cần nhưng không tự tổng hợp được và chỉ cần với lượng rất ít.

Nhu cầu về vitamine của các loại vi khuẩn khác nhau không giống nhau. Có những loại vi sinh vật tự dưỡng chất sinh trưởng, chúng có thể tự tổng hợp được các vitamine cần thiết. Nhưng cũng có những loại vi sinh vật dị dưỡng chất sinh trưởng, chúng đòi hỏi phải được cung cấp ít hay nhiều các loại vitamine khác nhau. vitamine có vai trò rất quan trọng trong quá trình phát triển của vi sinh vật. Với lượng rất nhỏ vitamine sẽ giúp cho vi sinh vật phát triển bình thường. vitamine có thể xem là những chất xúc tác sinh học và phần lớn các vitamine là nguyên liệu để cấu tạo men. Nhiều vitamine có vai trò quan trọng trong các quá trình chuyển hóa vật chất (như trong chu trình Crebs, trong các quá trình quang hợp,...). Trong tự nhiên có một số vi sinh vật muốn phát triển bình thường phải cần cung cấp một hoặc nhiều loại vitamine khác nhau. Có một số nòi có mức độ phát triển tỷ lệ thuận với nồng độ của những vitamine nhất định trong môi trường. Người ta sử dụng chúng để kiểm tra và định lượng các vitamine này.

Vitamine	Dạng coenzyme	Chức năng
B ₁ (Tiamine)	Tiamine pyrophosphate (TPP)	Oxi hoá và khử carboxil các ketoacid, chuyển nhóm aldehyd
B ₂ (Riboflavin)	Flavinmononucleotit (FMN), flavin adenin dinucleotit (FAD)	Chuyển hydro
B ₃ (Acid pantotenic)	CoenzymeA	Oxi hoá ketoacid và tham gia vào trao đổi chất của acid béo
B ₅ (Niaxin)	Nicotin adenin dinucleotit (NAD) và NADP	Khử và chuyển hydro
B ₆ (Pyridoxin)	Pyridoxin phosphate	Chuyển amine, khử amine
B ₇ (Biotin)	Biotin	Chuyển CO ₂ và nhóm cacboxilic
D ₂ Vitamine	1,25-dihydroxicole - canxiferol	Trao đổi canxi và phốt pho

Dưới đây là lượng chứa vitamine trong một vài loại vi sinh vật (γ/g trọng lượng khô)

Vitamine	<i>Enterobacter acrogenes</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Torulopin utilis</i>
Acid nicotinic	249	210	250	500
Riboflavin	44	67	55	49
Thiamine	11	26	9	6.2
Piridoxin	7	6	6	-
Acid pantotenic	140	91	93	130
Acid folic	14	9	3	2.8
Biotin	4	7	-	1.8

+Enzyme: Như những sinh vật khác ở vi sinh vật luôn luôn xảy ra quá trình trao đổi vật chất. Nói cách khác, quá trình sống, quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật bao gồm rất nhiều phản ứng của các quá trình phân giải và tổng hợp. Các phản ứng này tiến hành được trong điều kiện bình thường là do trong cơ thể của vi sinh vật có nhiều loại men. Men có nguồn gốc protein hay nói cách khác nó có bản chất protein.

Dựa vào bản chất hóa học có thể chia men ra làm hai loại

-Men đơn giản: tương ứng với lớp protein đơn giản, gồm những loại có thành phần thuần túy là acid amine và tính xúc tác sinh học của chúng được quy định bởi cấu trúc phân tử của protein.

- Men phức tạp: ngoài thành phần được gọi là protein (apoenzyme hay apofecment) còn có phần không phải protein (gọi là nhóm thêm hay coenzyme hay cofecment) như vitamine hay khoáng.

Men phải có phân tử lượng lớn mới có quá trình chuyển hóa cấu hình không gian từ đó mới có thể xúc tác phản ứng hóa học. Mỗi men đều có trung tâm hoạt động. Trung tâm hoạt động là nơi cơ chất tham gia phản ứng gắn kết vào dưới tác động của men.

Dựa vào vị trí tác dụng của men đối với cơ thể vi sinh vật người ta chia men làm hai loại

Men nội bào và men ngoại bào. Men nội bào (endoenzyme) ở trong tế bào vi khuẩn và phát huy tác dụng xúc tác chuyển hóa trong tế bào. Men ngoại bào (exoenzyme) phát huy tác dụng ở cả trong và ngoài cơ thể vi sinh vật.

Trong cơ thể vi khuẩn chúng có hàng trăm loại men và chúng hoạt động rất nhịp nhàng. Kết quả hoạt động của chúng giúp cho hoạt động sống của sinh vật diễn ra bình

thường. Ngược lại vì một lý do nào đó men không hoạt động xúc tác bình thường thì cơ thể sẽ bị ảnh hưởng, quá trình sống của vi sinh vật sẽ bị trì trệ hoặc đảo lộn, vi khuẩn có thể bị tê liệt hay bị chết.

+ **Sắc tố:** Khuẩn lạc của nhiều vi sinh vật có màu sắc rõ rệt. Màu sắc có khi chỉ xuất hiện trong khuẩn lạc, có khi hòa tan vào trong nước và khuếch tán ra môi trường xung quanh. Việc tạo thành các màu sắc này là một trong những đặc điểm thường được sử dụng khi phân loại vi sinh vật (nhất là nấm mốc và xạ khuẩn). Ngoài sắc tố quang hợp (được sinh ra từ các vi sinh vật dinh dưỡng quang năng) còn có nhiều sắc tố khác. Sắc tố của vi sinh vật thuộc nhiều nhóm các hợp chất rất khác nhau: carotenoid, phenazim, piaron, araquinon, antoxiamine,...

Khi có mặt của sắc tố carotenoid khuẩn lạc có màu đỏ da cam (*Sarcina*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*,...). Các sắc tố carotenoid phân bố trong màng nguyên sinh chất của tế bào. Loại sắc tố này giúp cho vi khuẩn tránh khỏi ảnh hưởng có hại của ánh sáng mặt trời và ánh sáng tử ngoại. Các sắc tố này cùng với bacteriochlorophyll có hoạt tính quang hợp.

Sắc tố puncherimin được tạo thành trong nấm men *Candida puncherima*. Sắc tố này nếu trên môi trường có chứa Fe nó sẽ tạo nên màu đỏ tối.

Sắc tố prodigiosin làm cho khuẩn lạc *Serratia marcescens* (*Bacterium prodigiosum*) có màu đỏ sáng.

Sắc tố indigoidin ở *Pseudomonas indigofera* và nhiều vi khuẩn khác làm cho vi khuẩn có màu lam.

Vi khuẩn mũ xanh *Pseudomonas aeruginosa* tạo thành sắc tố piocyanin và một số sắc tố khác.

Một số sắc tố có tính chất kháng sinh. Chính vì vậy nhiều vi sinh vật có màu sắc có khả năng sinh ra chất kháng sinh.

II. CÁC KIỂU DINH DƯỠNG Ở VI KHUẨN [2]

Khi nuôi cấy vi sinh vật người ta phải pha chế môi trường có thể ở dạng lỏng hoặc đặc. Trong môi trường có thể có loại chất hữu cơ có loại là chất vô cơ vô cơ. Không phải mọi thành phần của môi trường đều có thể gọi là chất dinh dưỡng. Một số thành phần của môi trường chỉ có nhiệm vụ đảm bảo các điều kiện thích hợp về thế oxi hóa, về pH, áp suất thẩm thấu, cân bằng ion,...Chất dinh dưỡng phải là những chất có tham gia vào trao đổi chất của tế bào. Quá trình hấp thu các chất dinh dưỡng từ môi trường xung quanh vào cơ thể sinh vật được gọi là quá trình dinh dưỡng.

2.1. Nhu cầu về thức ăn của vi sinh vật

Các chất dinh dưỡng sau khi vào tế bào sẽ được chế biến lại để tạo thành các chất riêng của cơ thể. quá trình này được gọi là quá trình đồng hóa, quá trình này cần năng lượng. Ngược lại với quá trình đồng hóa là quá trình dị hóa. Các sản phẩm của quá trình dị hóa sẽ được thải ra môi trường xung quanh hoặc một phần được sử dụng lại cho quá trình đồng hóa.

Căn cứ vào nhu cầu của vi sinh vật người ta chia thức ăn làm ba loại:

-Thức ăn năng lượng: thức ăn sau khi hấp thụ sẽ cung cấp cho vi sinh vật một số năng lượng cần thiết cho hoạt động sống của tế bào. Các loại protein, glucid, lipid,...là những thức ăn năng lượng thường gặp.

-Thức ăn kiến tạo: thức ăn loại này sau khi hấp thụ sẽ tham gia xây dựng các cấu trúc của vi sinh vật. Trong thực tế thì một loại thức ăn nó vừa là nguồn năng lượng vừa là nguyên liệu để xây dựng các cấu trúc.

-Chất sinh trưởng: là những chất cần thiết cho hoạt động sống của một loại vi sinh vật nào đó mà nó không tự tổng hợp được.

Căn cứ vào, nguồn các bon, nguồn năng lượng, chất nhận điện tử cuối cùng, người ta phân chia vi sinh vật thành các kiểu dinh dưỡng sau.

Căn cứ vào nguồn carbon: người ta chia vi sinh vật ra làm hai nhóm, dị dưỡng carbon và tự dưỡng carbon.

+ Dị dưỡng carbon: vi sinh vật dị dưỡng carbon là loại vi sinh vật sử dụng nguồn carbon trong tự nhiên từ các hợp chất hữu cơ. Từ hợp chất hữu cơ này ngoài nguồn carbon vi sinh vật còn thu được nguồn năng lượng cần thiết cho hoạt động sống của mình. Số năng lượng trong quá trình chuyển hóa và hấp thụ sẽ khác nhau tùy loại vi sinh vật.

+Tự dưỡng carbon: là nhóm vi sinh vật sử dụng nguồn các bon từ các chất vô cơ như CO_2 hoặc các muối carbonate. Quá trình này cần năng lượng, vi sinh vật có thể sử dụng hai nguồn năng lượng như: sử dụng trực tiếp năng lượng của ánh sáng mặt trời, sử dụng năng lượng hóa học nhờ sự oxi hóa hợp chất vô cơ.

Căn cứ vào nguồn năng lượng: chia vi sinh vật thành dinh dưỡng quang năng và dinh dưỡng hóa năng.

+Dinh dưỡng quang năng: là những vi sinh vật nhờ có sắc tố quang hợp mà có khả năng hấp thụ năng lượng từ ánh sáng mặt trời và chuyển hóa thành năng lượng hóa học (tích lũy dưới dạng ATP)

+Dinh dưỡng hóa năng: là những vi sinh vật sử dụng năng lượng chứa trong các hợp chất hóa học.

Căn cứ vào nguồn carbon và nguồn năng lượng: người ta chia vi khuẩn thành các kiểu dinh dưỡng sau:

a- Tự dưỡng:

-Tự dưỡng quang năng: Nguồn C là CO_2 , nguồn năng lượng là ánh sáng.

-Tự dưỡng hoá năng: Nguồn C là CO_2 , nguồn năng lượng là một số hợp chất vô cơ đơn giản.

b- Dị dưỡng:

Vi khuẩn đòi hỏi một phần hoặc toàn bộ nguồn dinh dưỡng phải là chất hữu cơ có sẵn: hydrate carbon (đường, tinh bột, cellulose ...). Còn nguồn N là các acid amine, yếu tố phát triển hoặc sinh trưởng là các vitamine, hoặc các chất chuyển hóa.

-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.

-Dị dưỡng 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.

-Dị dưỡng kí 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 vi sinh vật gây bệnh cho con người, thực vật, động vật. Loại này chỉ phát triển được trên cơ thể sống.

Như vậy là tùy từng nhóm vi sinh vật mà nguồn carbon được cung cấp có thể là chất hữu cơ hoặc chất vô cơ. Giá trị dinh dưỡng và khả năng hấp thụ các nguồn thức ăn carbon khác nhau phụ thuộc vào hai 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 trái đất này không có một hợp chất hữu cơ nào mà không bị vi sinh vật này hay vi sinh vật khác phân giải, hay nói cách khác không có hợp chất hữu cơ nào bền vững tuyệt đối với vi sinh vật. Có những loại vi sinh vật có thể đồng hoá được các hợp chất rất bền như cao su, chất dẻo, dầu mỡ, parafin, khí thiên nhiên. Ngay focmon là chất diệt khuẩn cực mạnh nhưng có nhóm nấm sợi sử dụng chúng 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 hấp thụ vi sinh vật phải tiết ra enzyme thủy phân (amylase, cellulose, proteinase,...) để chuyển chúng thành các hợp chất dễ hấp thụ (đường, acid amine, acid béo,...).

Người ta thường sử dụng đường để làm thức ăn carbon cho vi sinh vật dị dưỡng. Chú ý rằng đường đơn khi ở nhiệt độ cao có thể chuyển hoá thành những hợp chất có màu tối gọi là đường cháy, khó hấp thụ. Trong môi trường kiềm, sau khi khử trùng đường còn dễ bị acid hoá làm thay đổi pH môi trường. Để tránh hiện tượng này khi hấp khử trùng môi trường đường người ta thường hấp ở áp lực 0,5atm (112,5⁰C) và duy trì trong 30 phút. Với các loại đường đơn, tốt nhất là nên sử dụng phương pháp hấp gián đoạn, hoặc dùng các nền lọc hay màng lọc vi khuẩn.

Khi chế tạo môi trường chứa tinh bột, trước hết phải hồ hoá tinh bột ở 60-70⁰C, sau đó đun sôi rồi mới đưa đi hấp cao áp.

cellulose được đưa vào các môi trường nuôi cấy vi sinh vật phân giải cellulose dưới dạng giấy lọc, bông hoặc các bột cellulose.

Khi sử dụng lipid, parafin, dầu mỡ,... để làm nguồn carbon 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 vi sinh vật.

Nồng độ đường để nuôi cấy các loại vi sinh vật khác nhau là không giống nhau, với vi khuẩn, xạ khuẩn thì dùng 0,05-0,2 % đường còn với nấm men thì dùng 3-10% đường.

Hầu hết vi sinh vật chỉ đồng hoá được đường ở dạng đồng phân D, và phần lớn đồng phân của đường đơn trong tự nhiên là dạng D chứ không phải dạng L.

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

Phạm vi đồng hoá các nguồn thức ăn carbon của từng loài vi sinh vật cụ thể rất khác nhau. Có thực nghiệm cho thấy vi khuẩn *Pseudomonas cepacia* có thể đồng hoá trên 90% loại nguồn thức ăn carbon, trong khi đó các loại vi khuẩn sinh mêtan chỉ có thể đồng hoá được CO₂ và vài hợp chất chứa 1 hoặc hai carbon mà thôi.

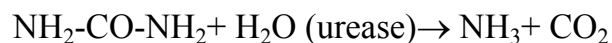
Với các vi sinh vật dị dưỡng nguồn thức ăn carbon làm cả hai chức năng: nguồn dinh dưỡng và nguồn năng lượng.

Một số vi khuẩn dị dưỡng, nhất là các vi khuẩn gây bệnh, sống trong máu, trong các tổ chức hoặc trong ruột người và động vật muốn sinh trưởng được, ngoài carbon hữu cơ cần phải được cung cấp một lượng nhỏ CO₂ thì mới phát triển được.

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

2.2. Nguồn thức ăn nitơ của vi khuẩn

Nitơ có ý nghĩa rất quan trọng đối với sự phát triển của vi sinh vật, nguồn Nitơ dễ hấp thụ nhất đối với vi sinh vật là NH₃ và NH₄⁺, chúng xâm nhập vào tế bào dễ dàng và ở đó tạo nên các nhóm amine. Trước đây có một số quan điểm cho rằng, một số vi khuẩn không sử dụng muối amon để đồng hoá được. 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. Urea là nguồn thức ăn nitơ trung tính về mặt sinh lý, khi bị phân giải bởi enzyme urease nó sẽ giải phóng thành NH₃ và CO₂. NH₃ được vi sinh vật sử dụng mà không làm chua môi trường như các muối amon.



Nhiều khi để nuôi cấy vi sinh vật bằng nguồn nitơ từ urê, người ta phải bổ sung thêm muối amon là vì phải có thức ăn nitơ dễ hấp thụ cho vi sinh vật phát triển đã khi đó mới có men urease để thủy phân urea.

Nguồn nitơ có trữ lượng nhiều nhất trong tự nhiên đó là nguồn khí nitơ tự do (N₂) trong khí quyển. Chúng chiếm tỷ lệ cao trong không khí (75,5% về khối lượng hoặc 78,16% theo thể tích). Số lượng nitơ trong khí quyển trên mỗi ha đất là 85000 tấn, trên trái đất có khoảng 4x10¹⁵ tấn. Trong phân tử khí nitơ hai nguyên tử N liên kết với nhau bằng ba liên kết rất bền vững vì vậy nó khó tách ra để liên kết với các chất khác và nitơ tuy có nhiều chung quanh ta mà cả người, động vật lẫn cây trồng đều thiếu thức ăn nitơ.

Đa số vi sinh vật không có khả năng đồng hoá N₂ trong không khí, tuy nhiên có những vi sinh vật có thể chuyển hoá N₂ thành NH₃ nhờ hoạt động xúc tác của một hệ thống enzyme có tên gọi là nitrogenase. Người ta gọi các vi sinh vật này là vi sinh vật cố định nitơ còn quá trình này được gọi là quá trình cố định nitơ (vi khuẩn cố định ở nốt sần cây họ đậu).

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 loại protein nào đó.