

# **第六章 微生物的生长与控制**

## **Microbial Growth and Control**

**主讲人：黄凤**

**生命科学技术学院**

**p145-p171, 3学时**

## 本章要回答的几个问题：

- 1、获得微生物纯培养的方法有哪些？
- 2、微生物总菌数与活菌数的测量方法有哪些？
- 3、细菌的生长曲线包括哪些阶段？分别有什么特点，如何加以利用？
- 4、环境条件对微生物生长与代谢的影响？

# 第一节 微生物生长的测定

## 一、微生物生长概述

什么是生长？什么是繁殖？生长与繁殖是什么关系？

### 生长(Growth)

是指细胞从环境吸取营养物质，经代谢作用合成新的细胞成分，导致**细胞体积增大和重量增加**。

### 繁殖(Reproduction)

是指产生新一代的过程，**细胞数目增加**。

# 生长与繁殖的关系

- 生长是一个逐渐发生的量变过程，它是繁殖的基础；
- 繁殖是一个质变的过程，它是生长的结果。
- 对于单细胞微生物，由于个体微小，难以测定单个细胞的生长，生长与繁殖难以区分，所以人们根据细胞数目的增加来衡量其生长。
- 而在多细胞微生物中，细胞数目增加的同时，不伴随个体数目的增加，这种情况只能称为生长，不能称为繁殖

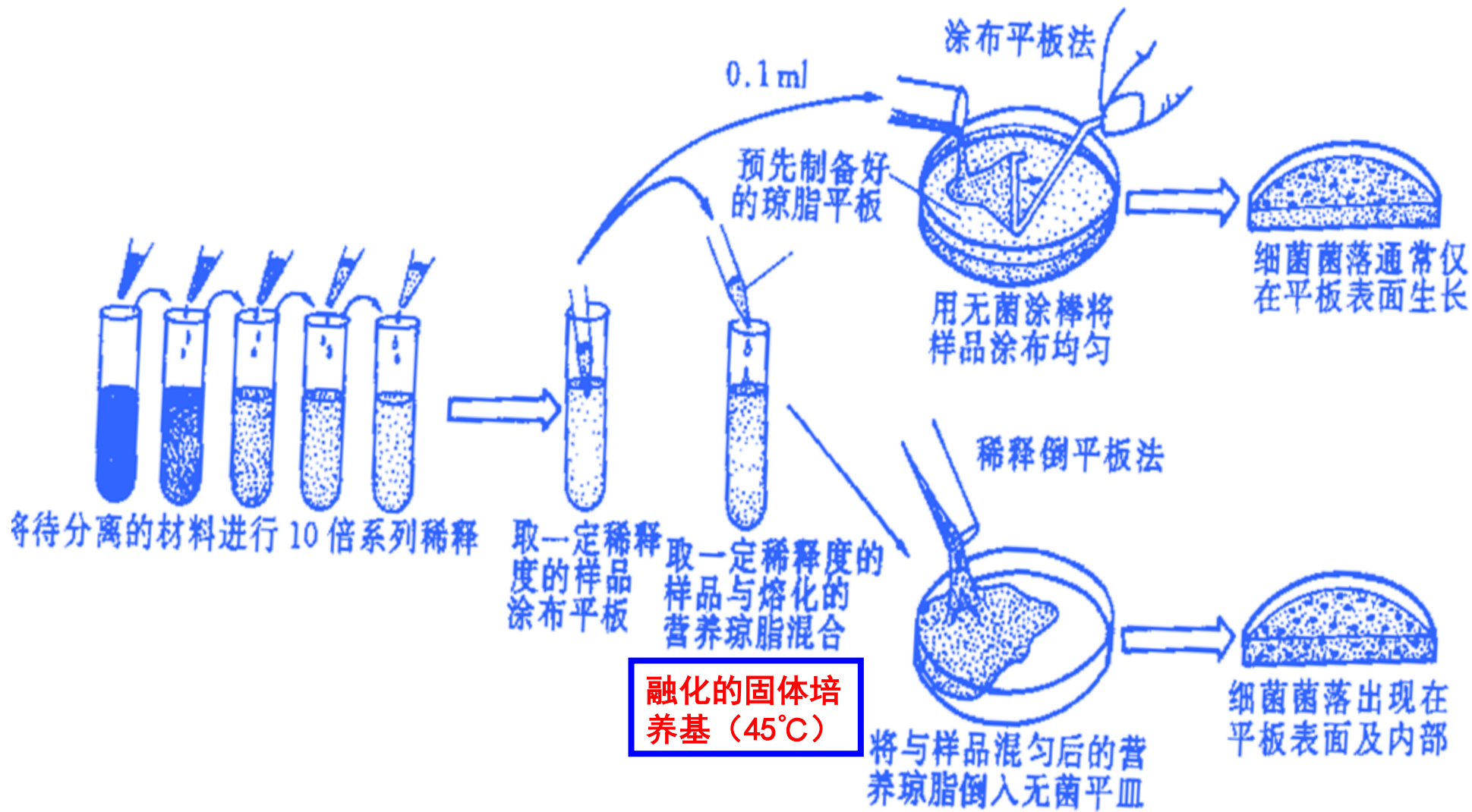
# **1、获得微生物纯培养的方法有哪些？**

## 二、微生物分离和纯培养

**纯培养** (pure culture) —— 只有一种微生物生长的培养物，或者严格地说是从一个细胞经过培养繁殖而得到的后代。

### 获得纯培养的方法

- ① **涂布平板法** spread plate method
- ② **稀释倒平板法** pour plate method
- ③ **平板划线分离法** streak plate method
- ④ **利用选择培养基分离**
- ⑤ **单细胞（单孢子）分离法**



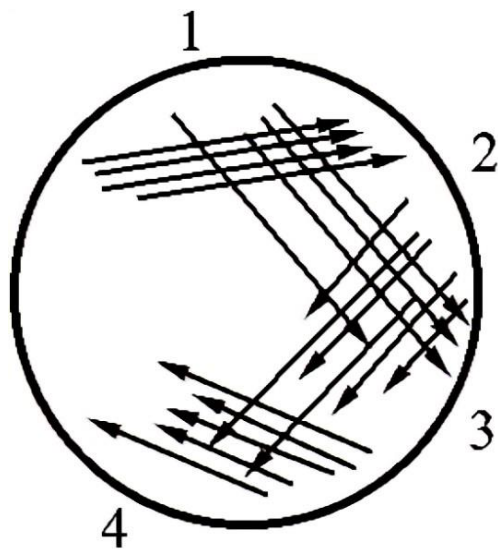
## 1、涂布平板法

使用较多的常规方法，但有时涂布不均匀！

## 2、稀释倒平板法

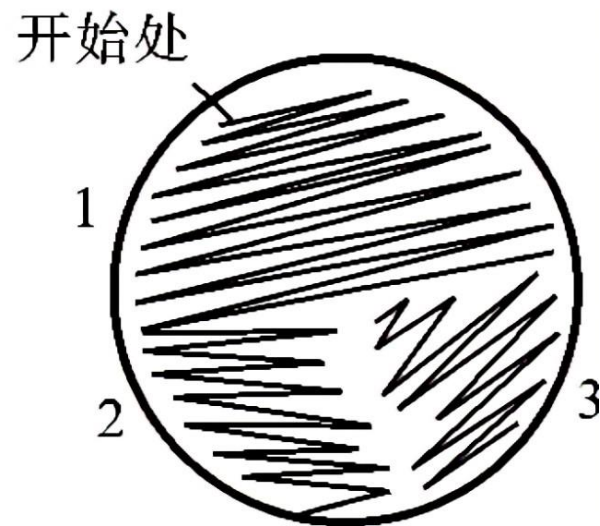
操作较麻烦，对好氧菌、热敏感菌效果不好！

### 3、平板划线分离法



(a)

分区划线



(b)

连续划线



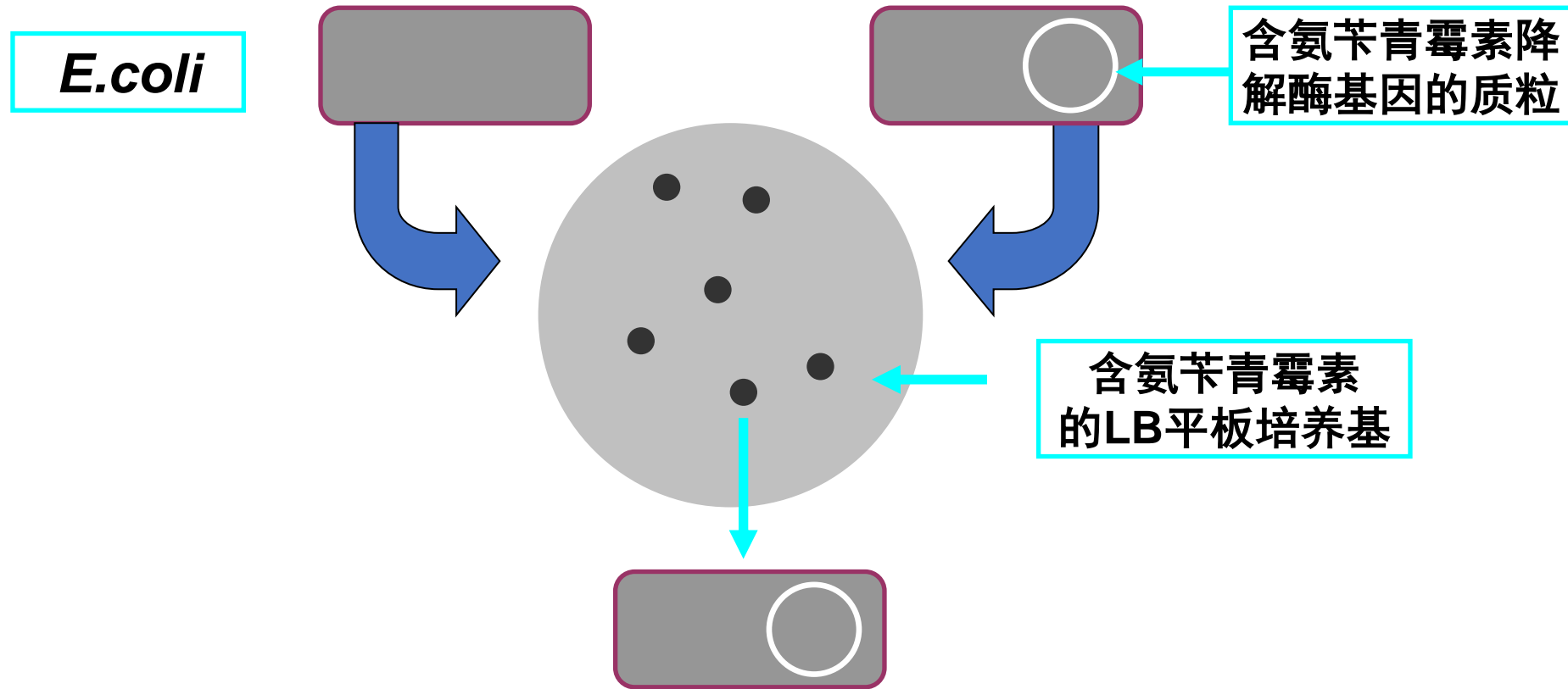
**特点：快速、方便。**

**(a) 分区划线 (适用于浓度较大的样品)**

**(b) 连续划线 (适用于浓度较小的样品)**



## 4、选择培养基分离法



没有一种培养基或一种培养条件能够满足自然界中一切生物生长的要求，在一定程度上所有的培养基都是选择性的。

# 利用选择培养基分离

1、分离真菌用马丁氏培养基，pH呈酸性，加入链霉素可抑制细菌的生长；

2、分离放线菌用高氏1号培养基，pH呈碱性，加入10%苯酚可抑制细菌和真菌的生长；

3、分离发酵纤维素的菌株，用以纤维素为唯一碳源的培养基；

4、分离固氮菌，用缺氮培养基；

根据所学知识设计合适培养基将土壤样品中的**大肠杆菌**、**苏云金芽胞杆菌**、**霉菌**和**自生固氮菌**分离，获得纯培养。

- 1、将土壤制备成土壤悬液，10倍稀释至 $10^{-6}$ ；
- 2、将稀释液依次涂布**伊红美蓝乳糖**培养基、**马丁孟加拉红**（含链霉素）培养基及**缺氮培养基**，可分别分离到大肠杆菌、霉菌和自生固氮菌；
- 3、将稀释液进行**加热**（ $100^{\circ}\text{C}$ 加热15分钟），静止5分钟，取稀释液涂布**牛肉膏蛋白胨培养基**，芽胞杆菌由于产芽胞耐热不会被杀死，而其他微生物因不耐热被杀死，因此可分离出芽胞杆菌。

## 5、单细胞挑取法

采用显微分离法**在显微镜下**从混杂群体中直接分离单个细胞或单个个体进行培养以获得纯培养。

**毛细管法：**用毛细管提取微生物个体，适于**较大微生物**

**显微操作仪：**用显微针、钩、环等挑**取单个细胞或孢子**

**小液滴法：**将经过适当稀释后的样品制成**小液滴**，在显微镜下选取只含一个细胞的液滴来进行纯培养物的分离。



## 2、微生物**总菌数**与**活菌数**的测量方法有哪些？

### 三、微生物生长的测定

#### ❖ 细胞总数测量

显微镜计数器直接计数法、比浊法

#### ❖ 活菌数测量

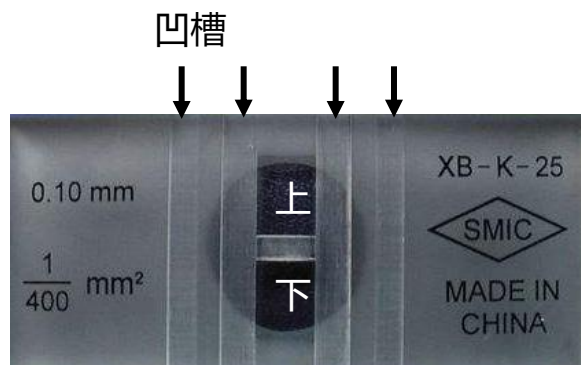
稀释平板计数法、最大概率数法，浓缩法

#### ❖ 细胞生物量测量

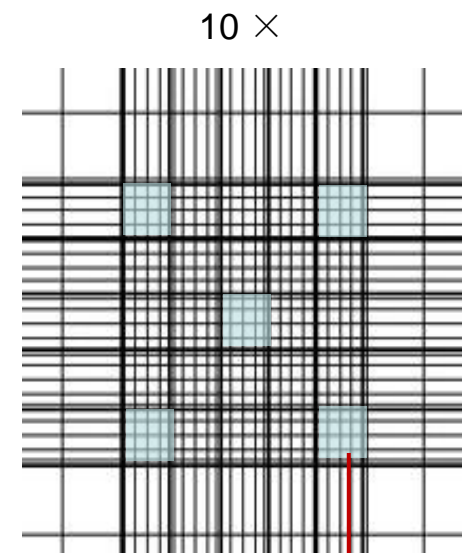
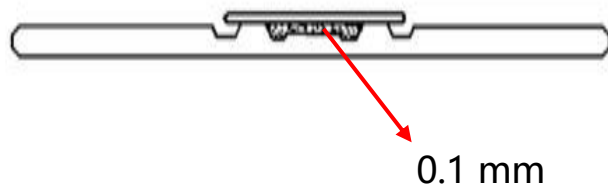
# 细胞总数测量

## 1、显微镜计数器直接计数

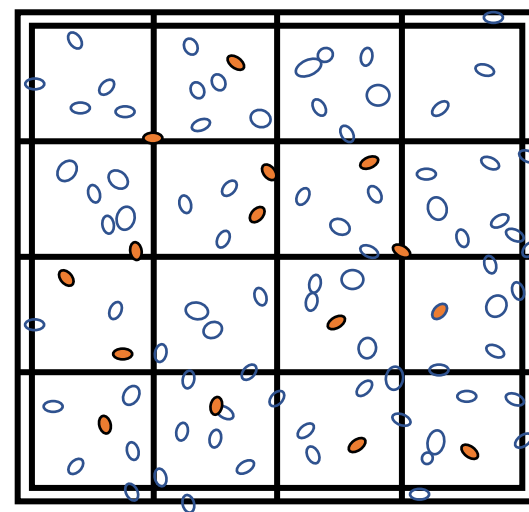
### 血球计数板和Petrof Hausser细菌计数板



血球计数板

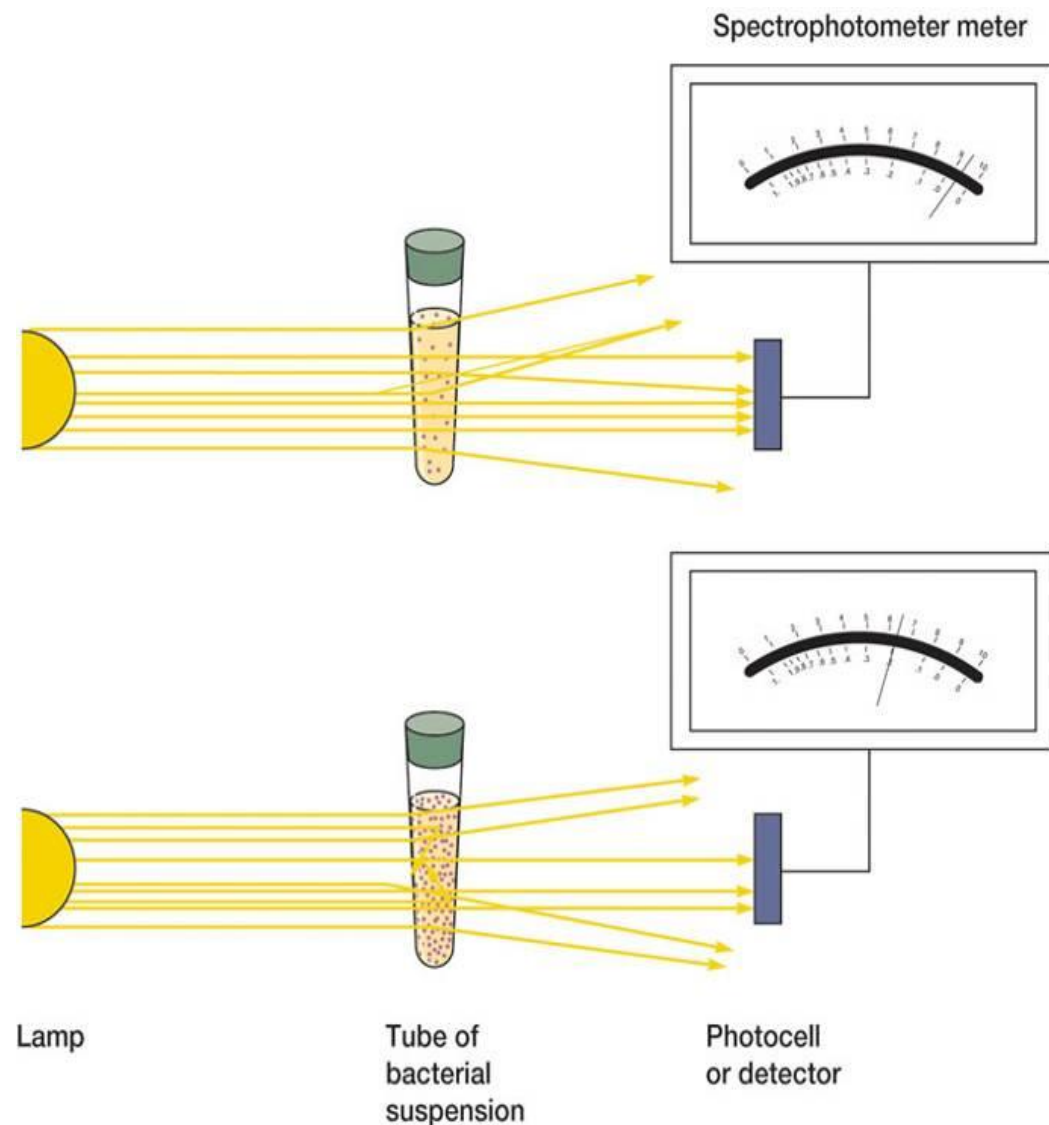


40 ×



## 2、比浊法

**原理：**在一定范围内，菌悬液中的细胞浓度与混浊度成正比，即与光密度（OD值）成正比，菌数越多，光密度越大，但与透光度成反比。

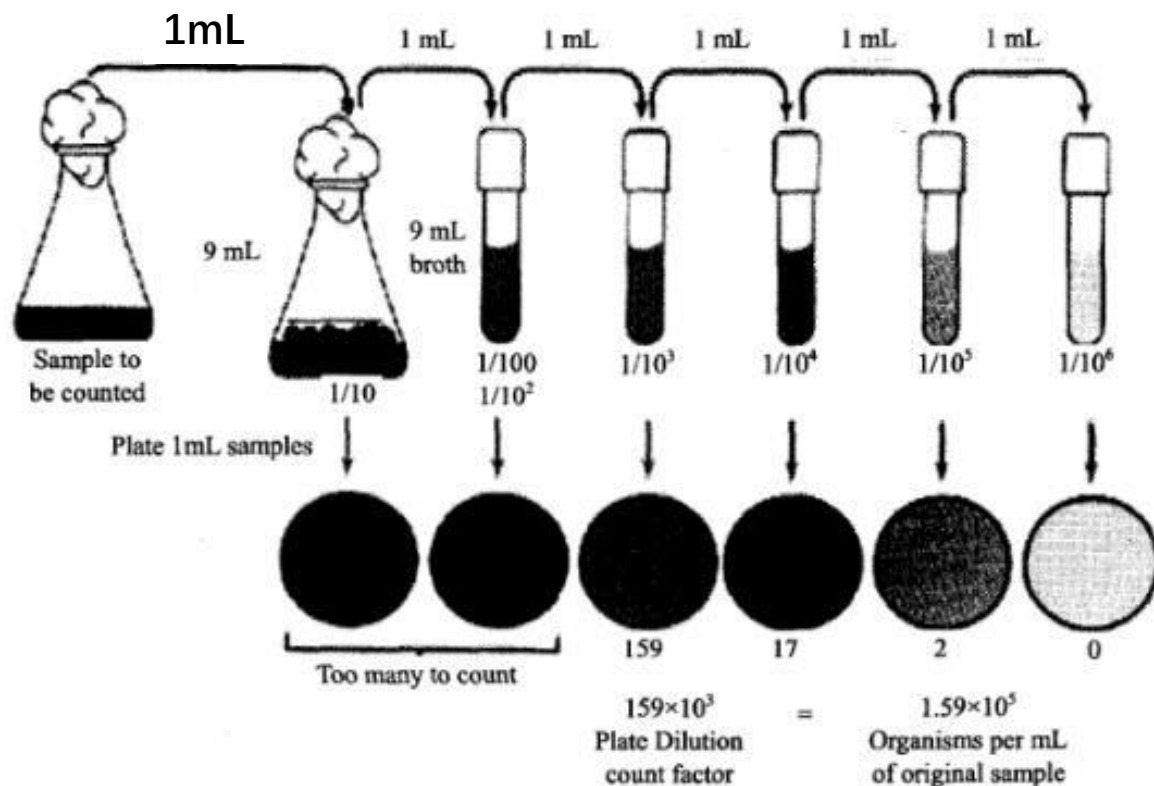




# 活菌数测量

## 1、稀释平板计数法

以菌落形成单位——CFU(colony forming units)表示。



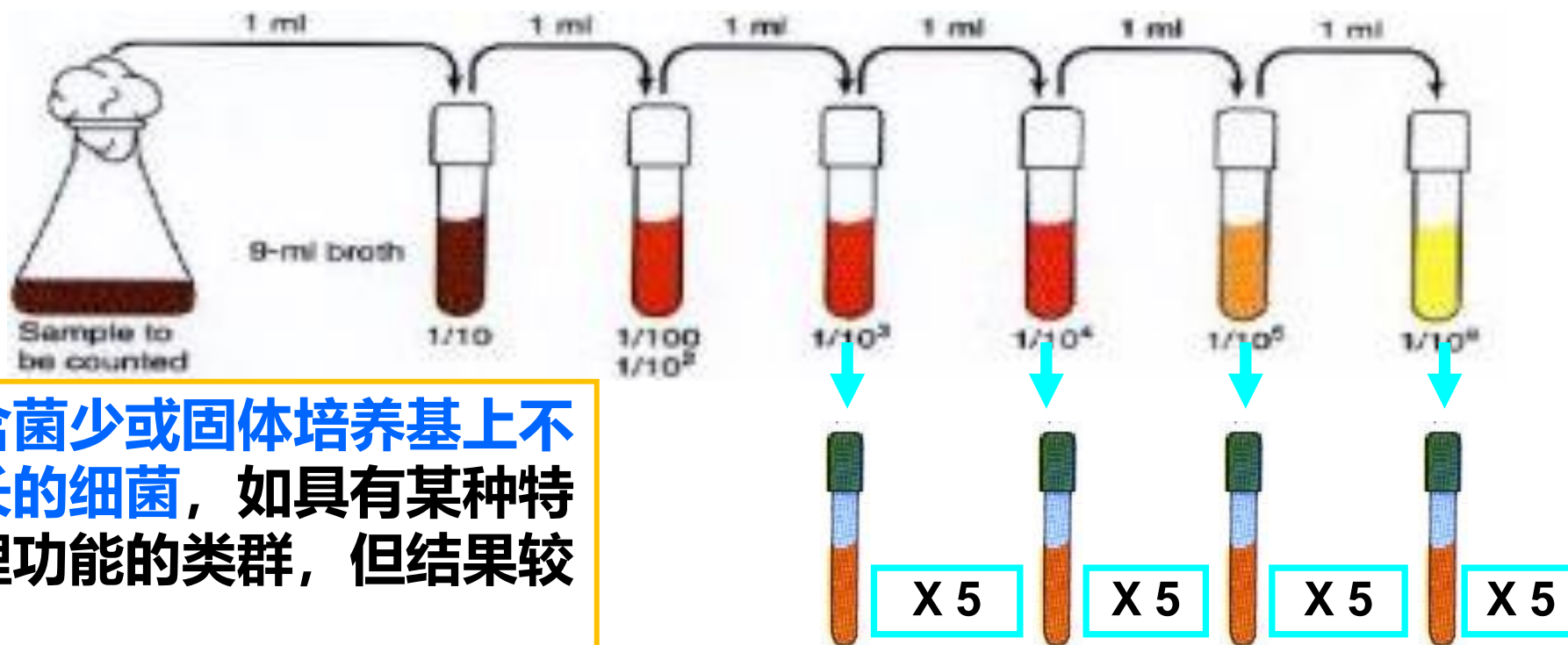
该方法有何优点和缺点？

**优点：**既能统计样品中的菌数，又能获得纯培养；

**缺点：**

- 1、并非所有细菌都能形成肉眼可见的菌落；
- 2、不能保证每个菌落都是由单个细菌分裂形成的。

## 2、最大概率数法(most probable number, MPN)



适合含菌少或固体培养基上不易生长的细菌，如具有某种特殊生理功能的类群，但结果较粗放。

稀释度	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
重复数	5	5	5	5	5	5
出现生长的管数	5	5	5	4	1	0

$$17 \times 10^5 = 1.7 \times 10^6$$

临界级数

教材P153

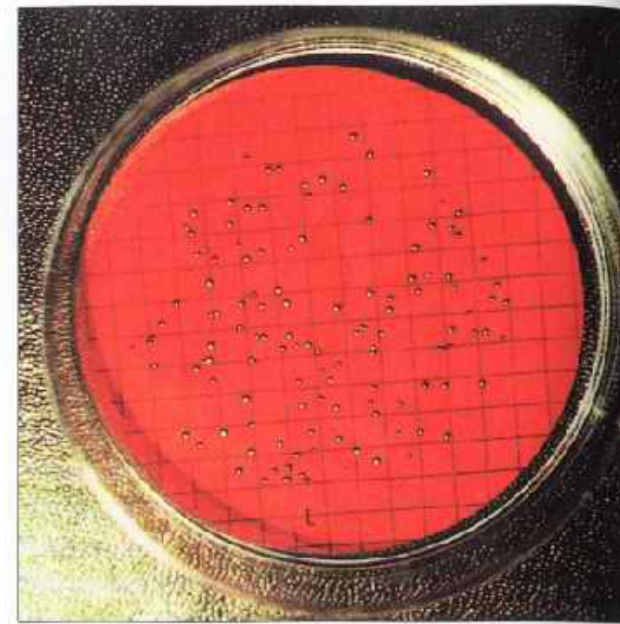
最后3级有菌生长的稀释度

### 3、浓缩法（滤膜法）

#### 测定空气、水等含菌量低的样品当中的活菌数

**Figure 6.17** Counting bacteria by filtration. (a) The bacteria in 100 ml of water were sieved out onto the surface of a membrane filter. (b) Such a filter, with the bacteria much more widely spaced, was placed on a pad saturated with liquid nutrient medium, and the individual bacteria grew into visible colonies. One hundred twenty four colonies are visible, so we would record 124 bacteria per 100 ml of water sample.

Bacteria can be counted by filtration when their quantity is very small.



(b) 硝酸纤维素膜



# 细胞生物量测量

**生物量**是指一种生物单位体积的重量，多以克为计量单位。

## 1、细胞干重法

适用于含菌量高，不含或少含颗粒性杂质的样品

## 2、DNA含量测定法

每个细菌细胞约含DNA  $8.4 \times 10^{-5}$  ng

## 3、ATP含量测定法

微生物细胞中的ATP含量恒定

## 4、代谢活性法

- ✓ 营养物的消耗
- ✓ 对氧的吸收
- ✓ 发酵糖产酸量
- ✓ 二氧化碳的释放量等

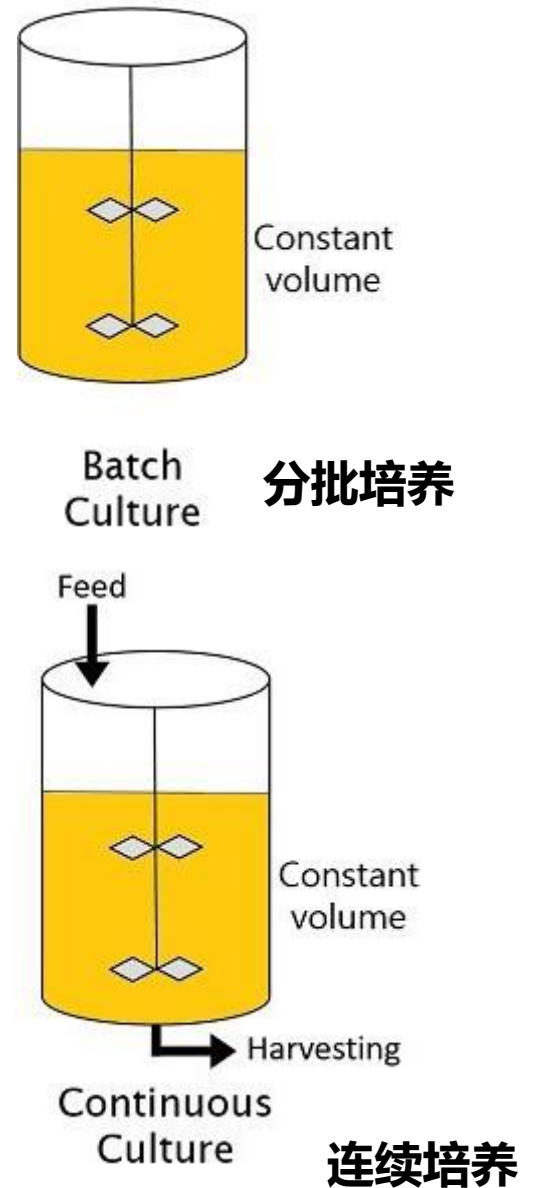
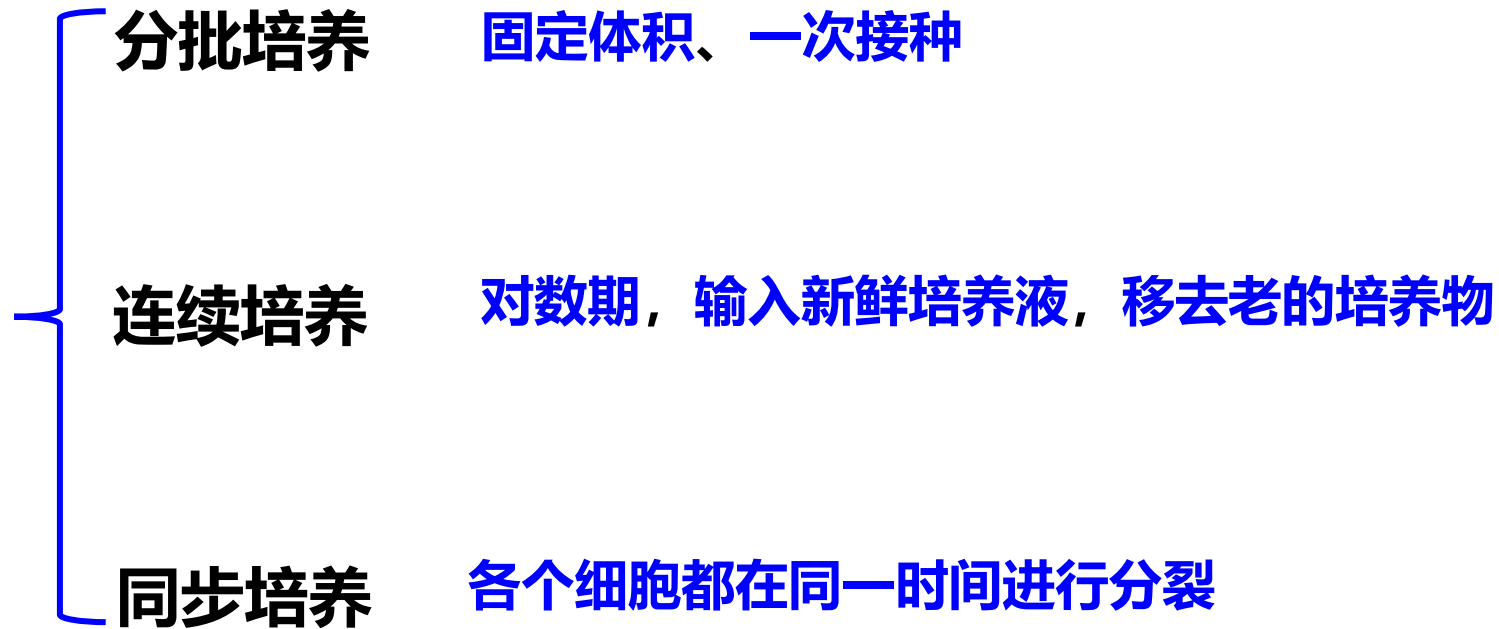
5.1 对活的微生物进行计数的最准确的方法是\_\_\_\_\_。

- ☐ A 比浊法
- ☐ B 显微镜直接计数法
- ☐ C 干细胞重量测量
- ☒ D 平板菌落计数

提交

**3、细菌的生长曲线包括哪些阶段？分别有什么特点，如何加以利用？**

## 第二节 微生物的群体生长



# 一、细菌的生长曲线

生长曲线的制作：

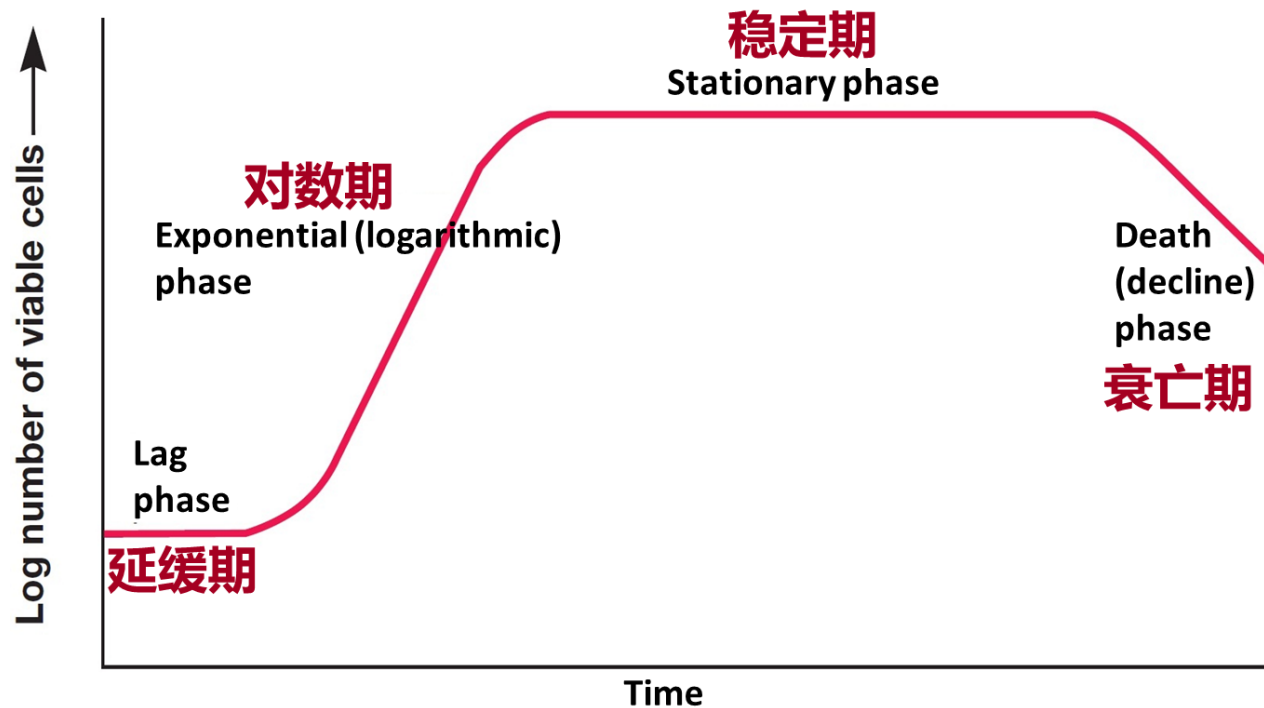


用于定量描述液体培养基中微生物群体生长规律的实验曲线。



# 生长曲线的概念：

将某种单细胞微生物少量接种到恒定容积的液体培养基中培养，定时取样分析。以菌数的对数为纵坐标，生长时间为横坐标作图而得到的生长曲线。



**请阅读教材P158-159，回答以下问题**

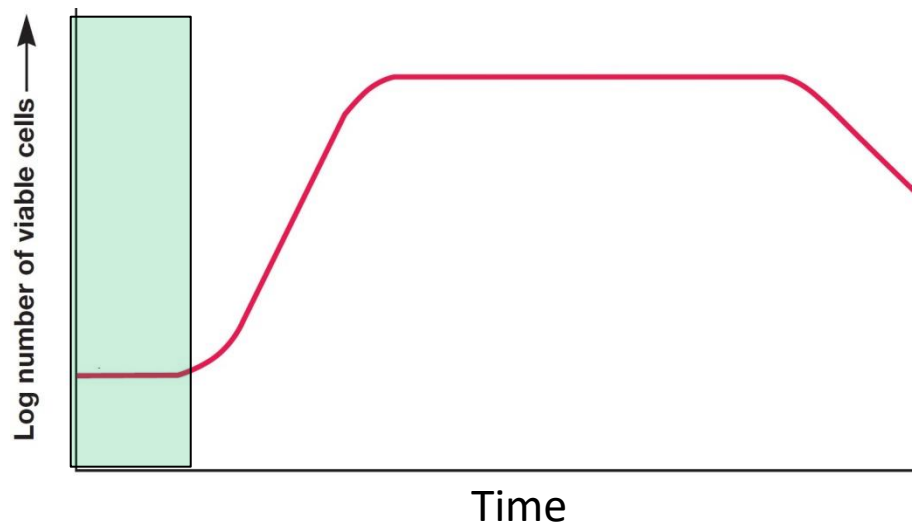
- 1、一条典型的细菌生长曲线，包含哪四个阶段？**
- 2、什么阶段是细菌的适应期，菌数增加很少？**
- 3、我们可以利用生长曲线的哪个阶段，计算细菌的代时和代数？**
- 4、在什么阶段收取菌体和代谢产物比较合适？**
- 5、芽胞开始大量释放是哪个阶段？**

**请将答案写在纸上，并投稿**

## (一) 延缓期 (lag phase)

少量微生物接种到新培养液后细胞数目不增加的时期

- ❖ 细菌数量不增加或增加很少；
- ❖ 合成代谢十分活跃，特别是合成一些必需的酶类；
- ❖ 细胞体积增大，原生质均匀一致；
- ❖ 对外界不良环境如NaCl浓度、温度和抗生素等敏感。



影响延缓期长短的因素

- 菌种
- 接种物菌龄
- 接种量
- 培养基成分

## 在发酵工业上需设法尽量缩短延缓期

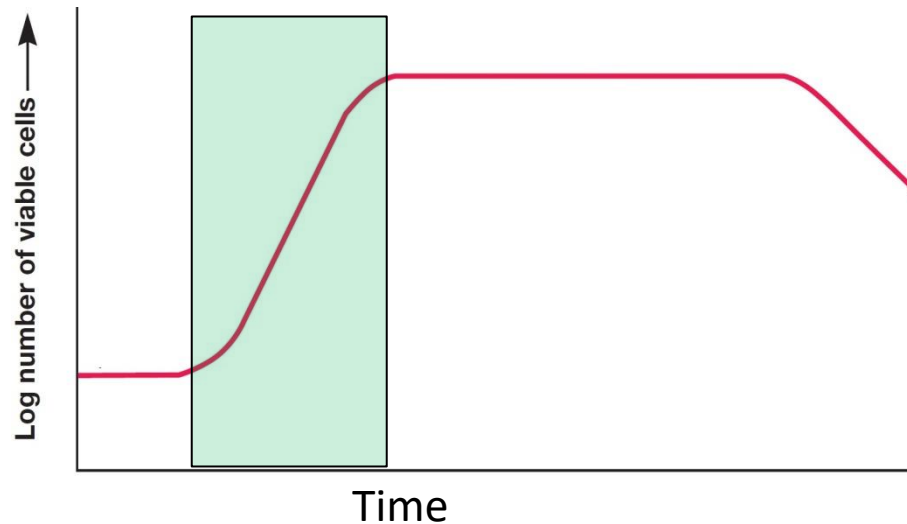
◆采取的缩短lag phase 的措施有：

- ① 增加接种量(群体优势——适应性增强)
- ② 采用对数生长期的健壮菌种
- ③ 调整培养基的成分，在种子菌中加入发酵培养基的某些成分
- ④ 选用繁殖快的菌种

## (二) 对数期 (log phase)

紧接着延缓期的一段细胞数以几何级数增长时期

- ❖ 代时最短，生长速度最快；
- ❖ 细胞进行平衡生长，故菌体各部分的成分十分均匀；
- ❖ 酶系活跃，代谢旺盛。



### 应用方面

- (1) 用作接种的最佳菌龄
- (2) 遗传研究的良好材料

## 影响对数期微生物代时的因素：

- **菌种：**不同菌种的代时差别极大；
- **营养成分：**同一种细菌在营养丰富的培养基中生长，代时较短；
- **营养物浓度：**影响微生物的生长速率和总生长量；
- **培养温度：**大肠杆菌10℃代时为14小时，40℃代时17.5分钟，两者相差50倍。

世代时间 (generation time) → 简称代时 ( G ) : 细菌在对数期每分裂1次所需时间

### 繁殖代数 (n)

对数期开始:  $N_0$  个细胞

繁殖n代后:  $N_t$  个细胞

$$N_t = N_0 \cdot 2^n \quad (\text{二分分裂})$$

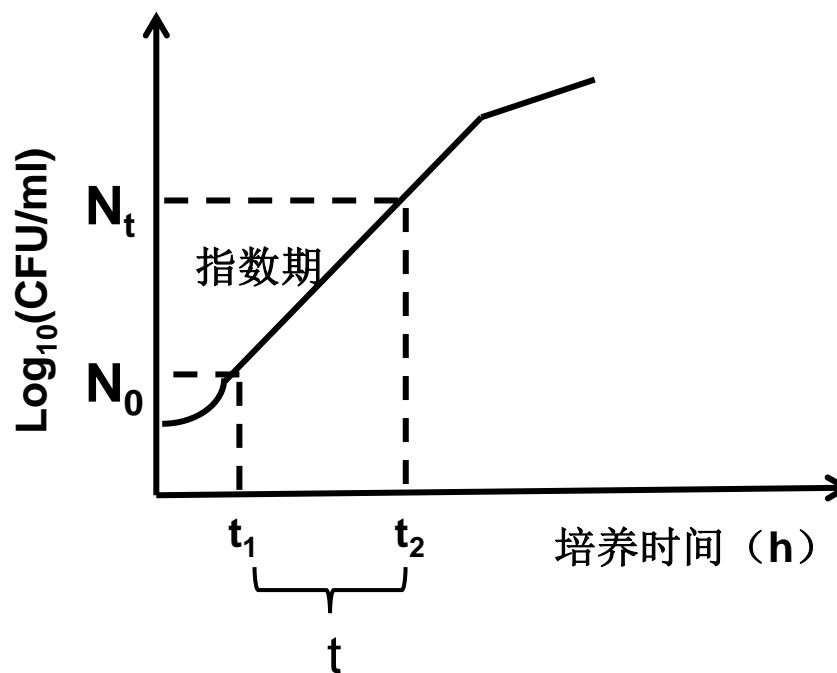
$$\lg N_t = \lg N_0 + n \lg 2$$

$$n = (\lg N_t - \lg N_0) / \lg 2$$

$$n = 3.3 \cdot \lg (N_t / N_0)$$

$$G = (t_2 - t_1) / n$$

$$G = t / [3.3 \cdot \lg (N_t / N_0)]$$



## 例题：

例如：在一细菌培养液中第一次测得的细菌数为  $10^4$  /ml，经过培养 4 h后，又测得菌液中的细菌数为  $10^8$  /ml，求此菌的世代时间和在此时间内繁殖的代数。

先列出已知条件  $t = 4\text{h}$     $N_t = 10^8$     $N_0 = 10^4$

$$\lg(N_t / N_0) = \lg 10^8 - \lg 10^4 = 8 - 4 = 4$$

代入上式  $G = t / [3.3 \cdot \lg (N_t / N_0)]$

$$4 / (3.3 \times 4) = 4 / 13.2 = 0.303 \text{ h} = 18 \text{ min}$$

即在上述培养液中，世代时间为 18 min。

细菌繁殖代数  $n = t / G = 4 / 0.303 = 13.2$  代。



5.2 代时为0.5 h的细菌由 $10^3$ 个增加到 $10^9$ 个需要多长时间?

- ☐ A 40 h
- ☐ B 20 h
- ☒ C 9.9 h
- ☐ D 3 h

提交

5.3 某细菌2h 中繁殖了5代，该菌的代时是\_\_\_。

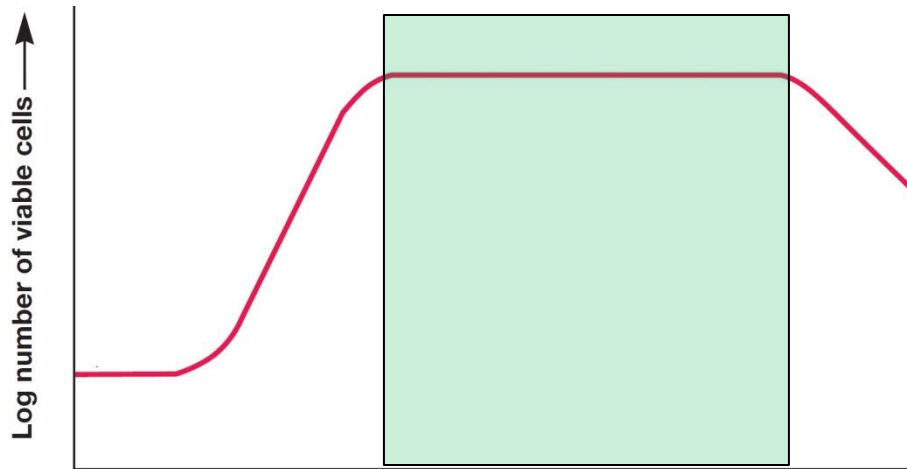
- ☐ A 15 min
- ☒ B 24 min
- ☐ C 30 min
- ☐ D 45 min

提交

### (三) 稳定期 ( stationary phase )

新繁殖的细胞数与衰亡的细胞数相等

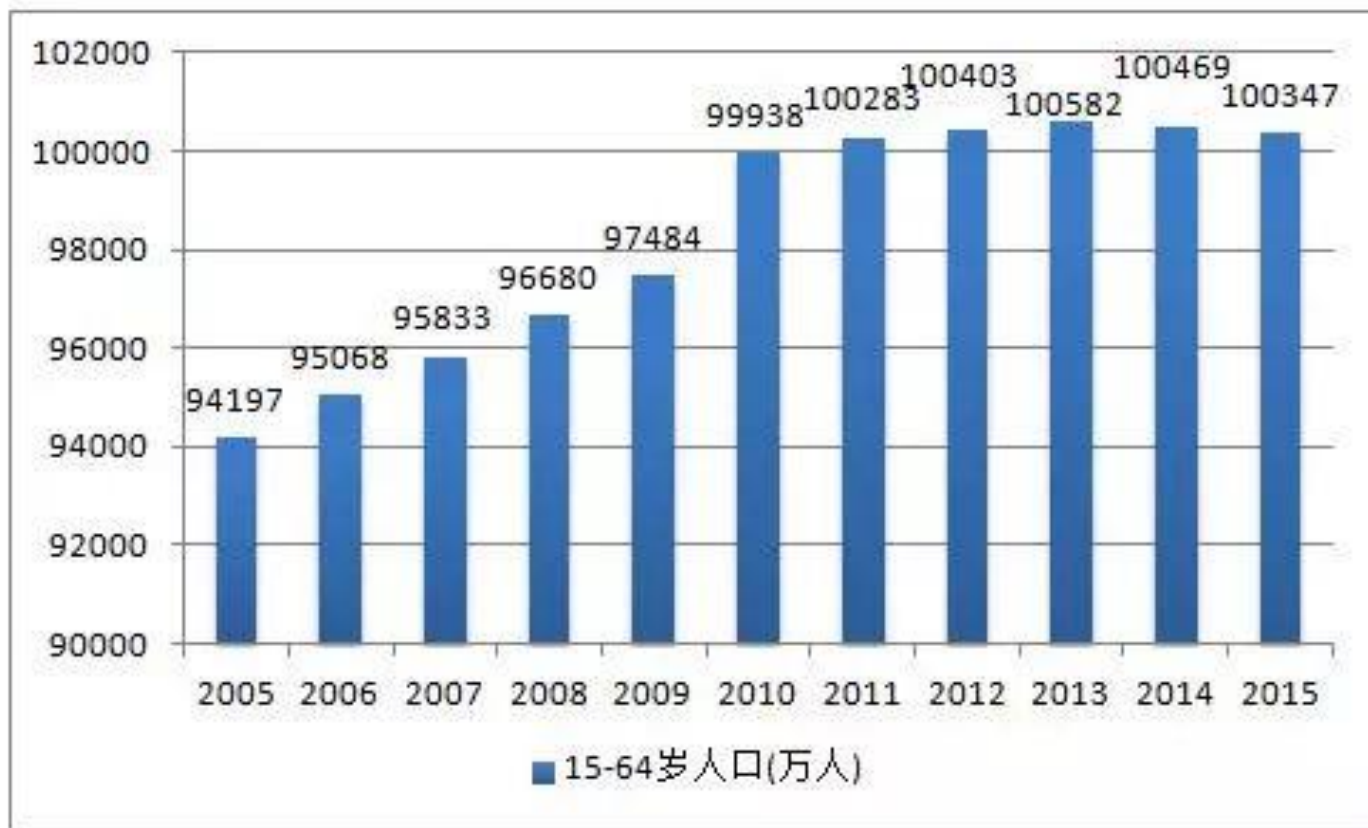
- ❖ 生长速度为零，新生=死亡，达到动态平衡；
- ❖ 活菌数总量达到最大值；胞内储藏物开始形成；多数产芽胞细菌形成芽胞；有些菌在稳定期内合成次生代谢产物，如抗生素、维生素等。



#### 应用方面

- ① 稳定期细胞数目及产物积累达到最高。
- ② 延长此期措施  
补料  
调pH  
调整温度

# 中国人口变化趋势图



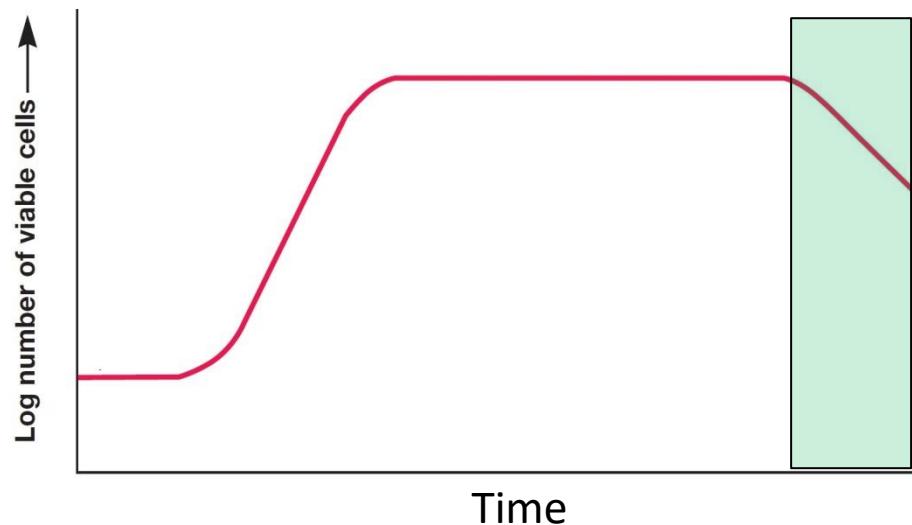
## 稳定期到来的主要原因：

- 营养物尤其是生长限制因子的消耗
- 营养物的比例失调，例如C/N的比值不合适
- 酸、醇、毒素或 $\text{H}_2\text{O}_2$ 等有害代谢产物的积累
- pH、氧化还原势等物化条件越来越不适宜

## (四) 衰亡期 (decline phase)

个体死亡速度超过新生速度，因此整个群体出现负生长

- ❖ 生长速率负增长；
- ❖ 细胞形态多样，出现畸形，形成衰退型； 蛋白水解酶活跃，出现细胞自溶现象；
- ❖ 芽胞细菌芽胞大量释放。



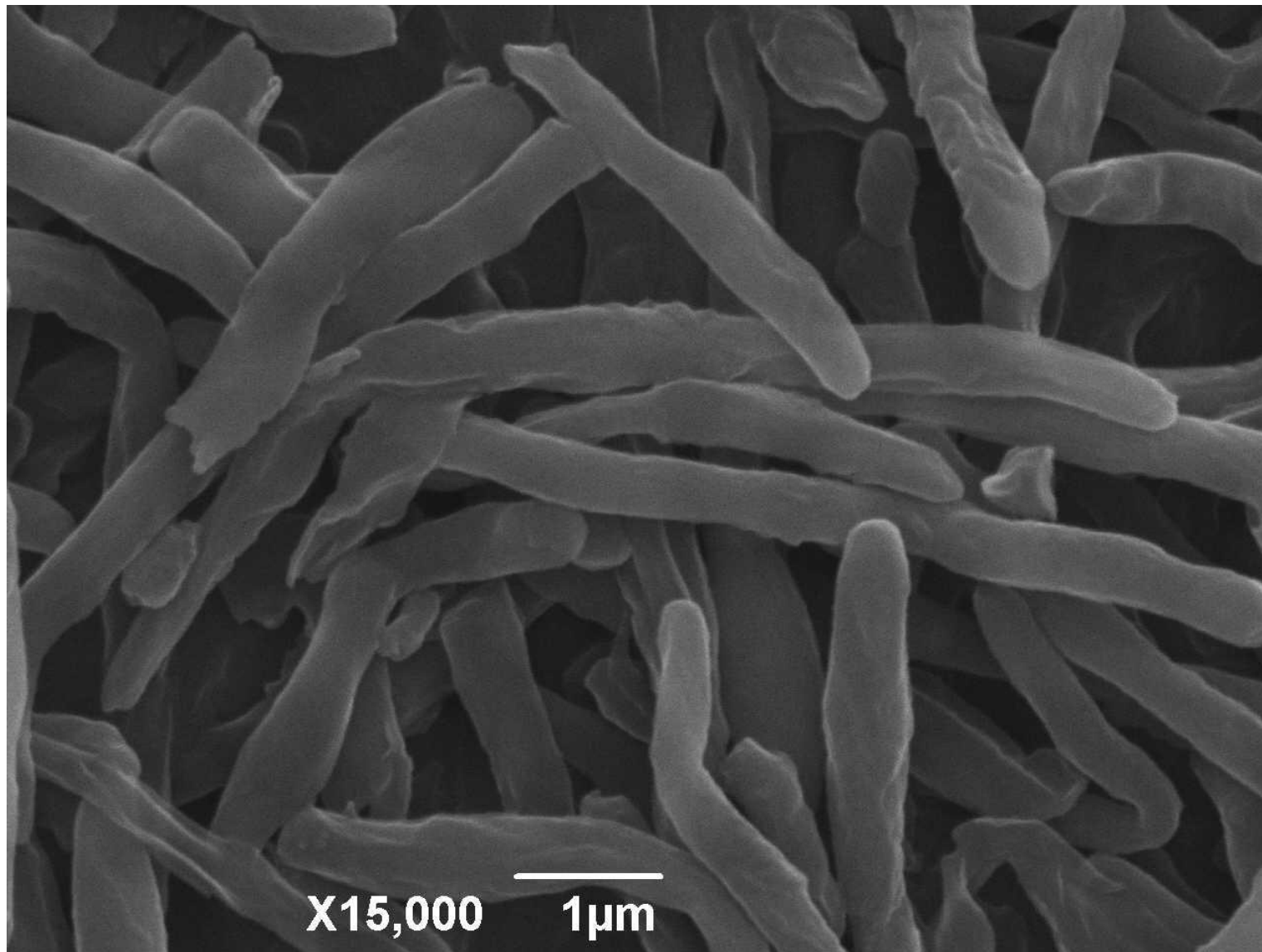
### 应用方面

- ① 细胞开始自溶，产生或释放内容物
- ② 菌体细胞也呈现多种形态，畸形，细胞大小悬殊，有的细胞内多液泡
- ③ 革兰氏染色阳性菌变成阴性

美国总人口年度环比增速

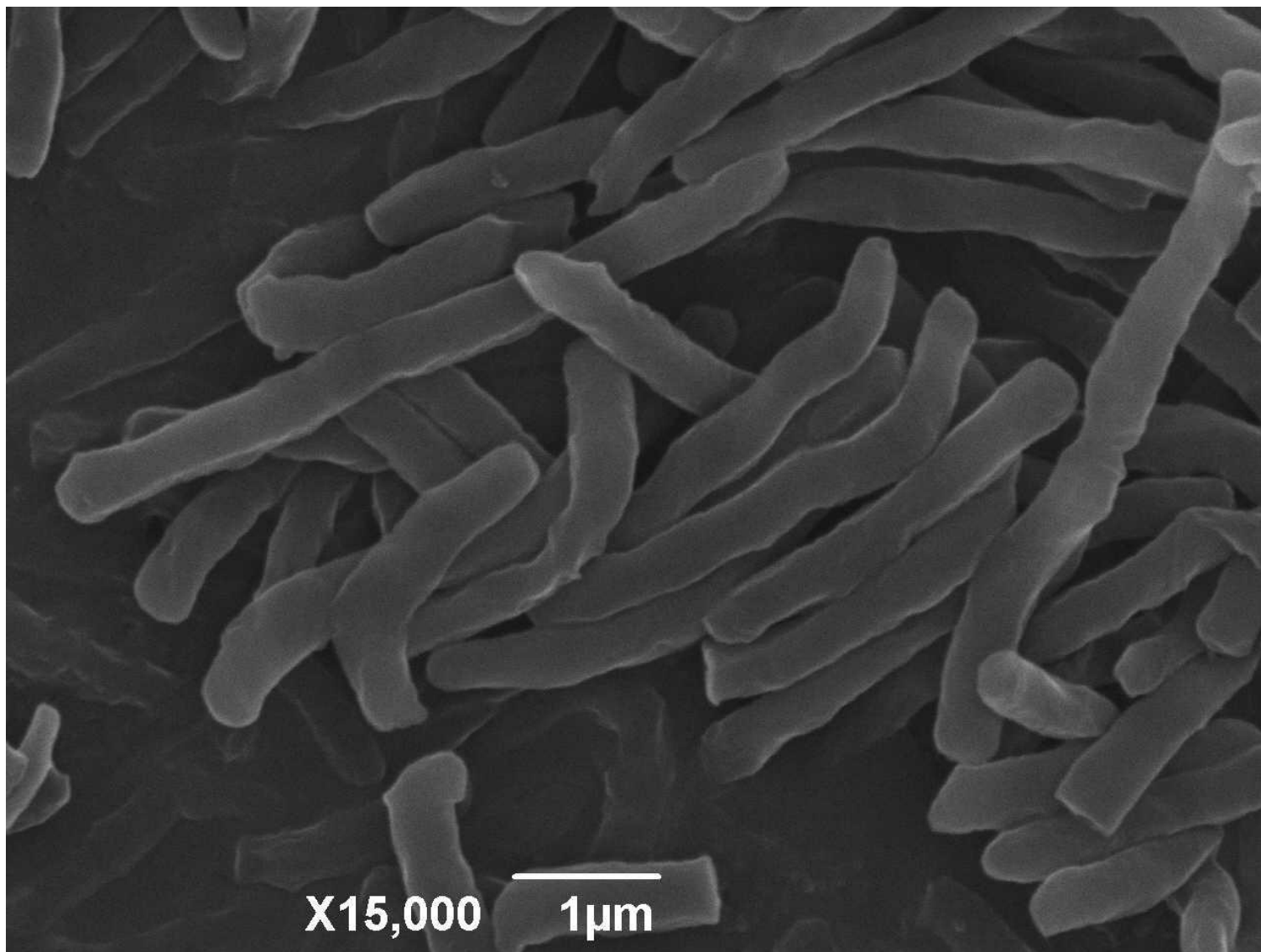


## 凋亡期细胞表面发生皱缩

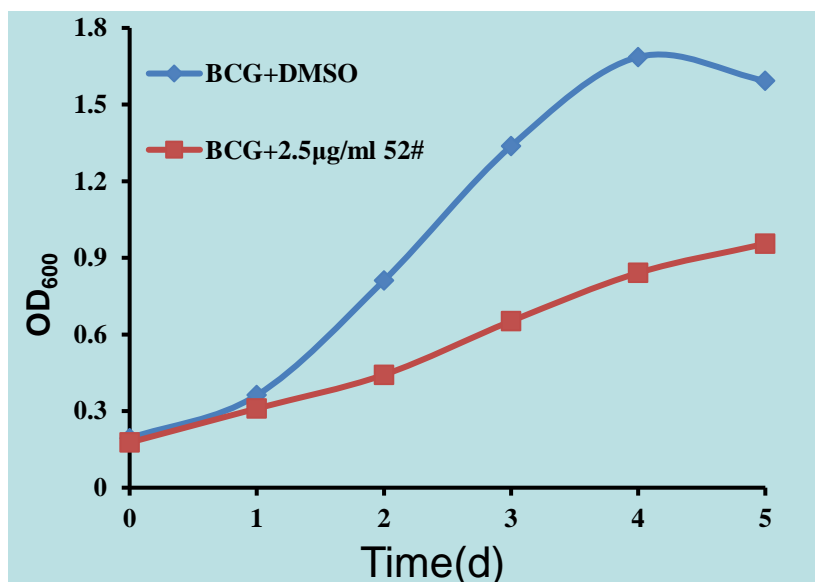




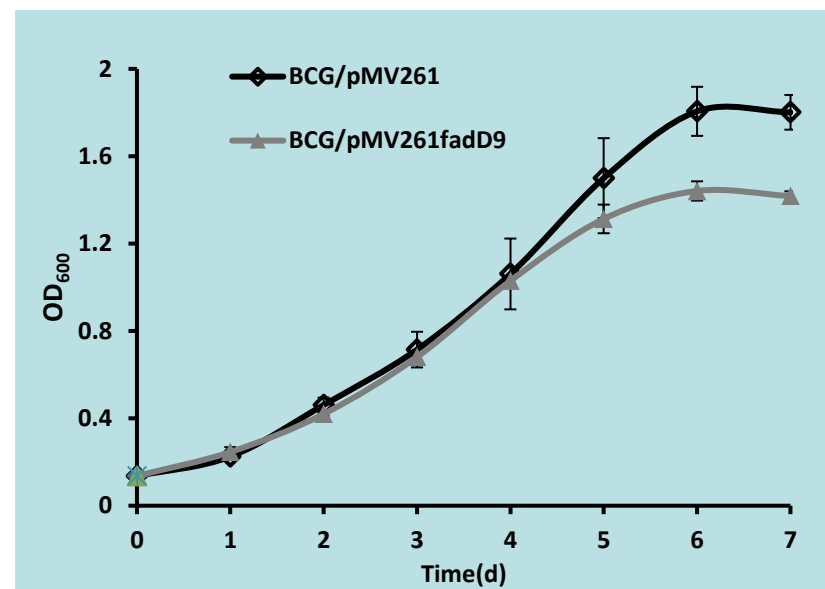
## 对数期正常细胞形态



# 科研中经常需要测定生长曲线



同一菌株对不同环境条件的反应



重组菌株和野生型菌株在同一环境条件下的生长差异，阐明相关基因对生长的影响。

5.4 一条典型的生长曲线至少可以分为延缓期、  
[填空1]、 [填空2]、 [填空3] 四个时期。

正常使用填空题需3.0以上版本雨课堂

作答

5.5 细菌在生长的 [填空1] 开始积累储存物质，芽胞杆菌在此时期形成芽胞。到了细菌的 [填空2]，细胞出现多形态，革兰氏染色也不稳定。

正常使用填空题需3.0以上版本雨课堂

作答

5.6 做细菌的遗传、生理等实验多选取细菌生长中的\_\_进行。

- ☐ A 稳定期
- ☐ B 溶源化
- ☐ C 延缓期
- ☒ D 对数期

提交

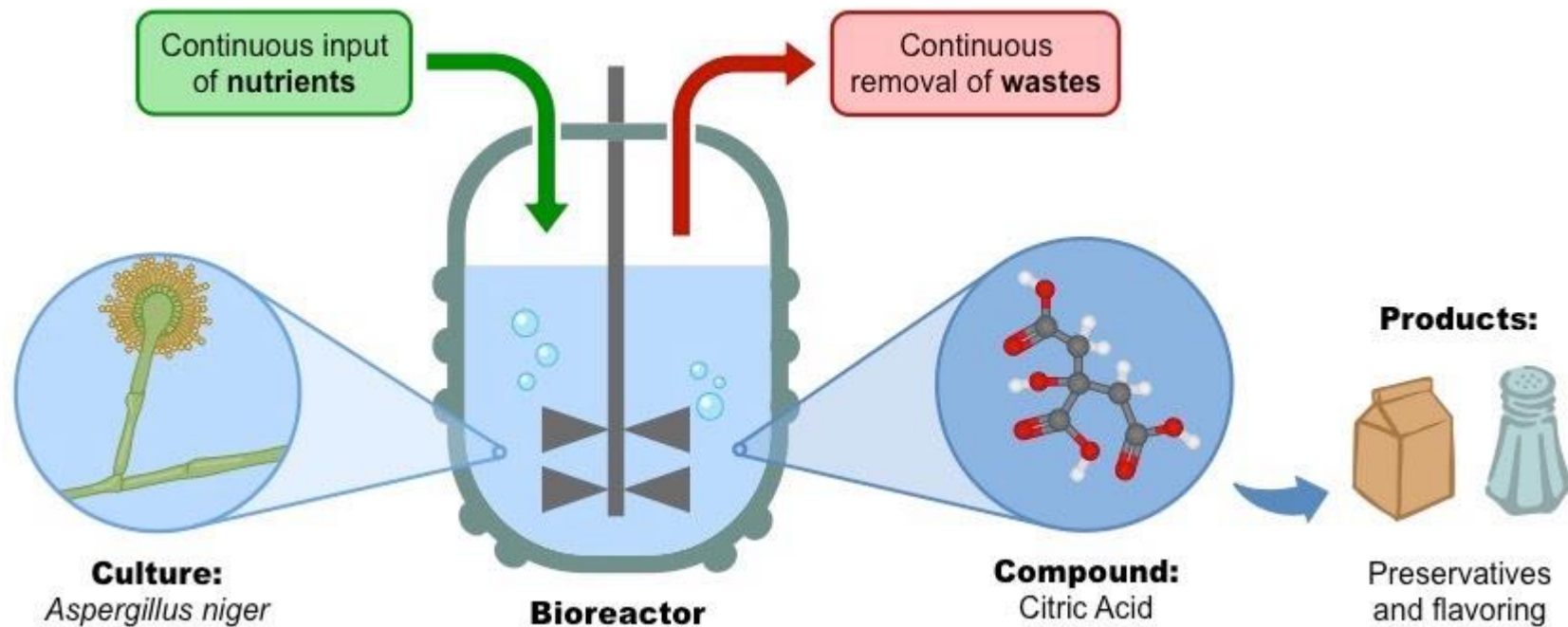
5.7 细菌细胞处于生长稳定期时\_\_\_\_\_。

- ☐ A 细胞分裂速度增加
- ☒ B 细胞分裂速度与死亡速度相同
- ☐ C 群体是在其最旺盛健壮的阶段
- ☐ D 细胞数量稳定，不分裂或死亡

提交

## 二、细菌的连续培养

- **连续培养法continuous culture**：是在细菌进入对数生长期时，以一定速度不断添加新鲜培养液，同时以同样速度移走培养物（包括菌体和代谢物），是细菌延长对数生长期的一种方法。



# 恒浊连续培养与恒化连续培养

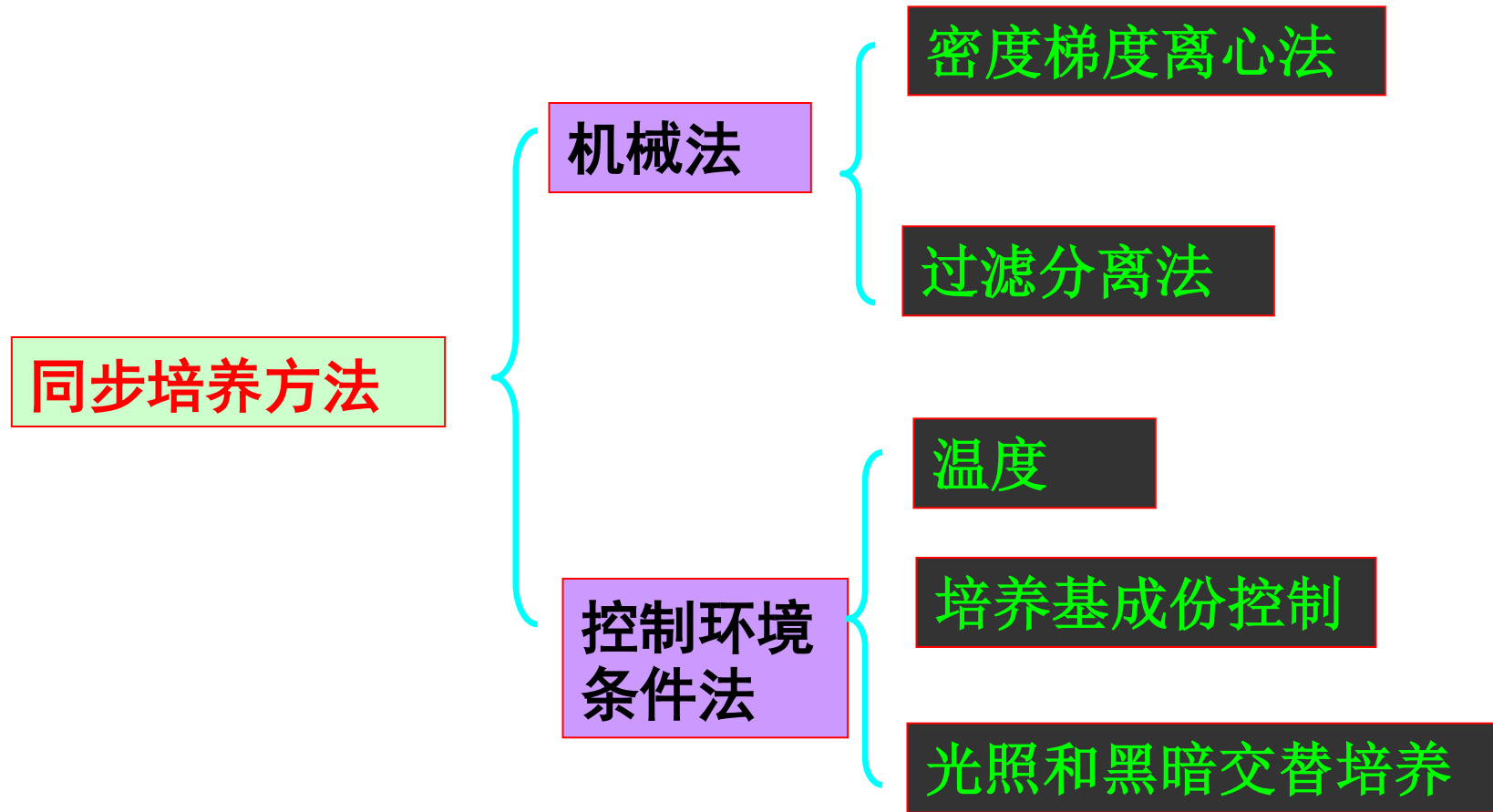
**恒浊连续培养：**利用光电系统来检测培养器内微生物的密度，并根据微生物的密度来控制培养液的流速，以此获取菌体密度高，生长速度恒定的微生物细胞。

**恒化连续培养：**在整个培养过程中，以恒定的速度控制培养基中某种重要营养物质的浓度保持不变以此获得生长速度恒定，使生长不断进行。



### 三、细菌的同步培养

- **同步生长 (synchronous growth)**：一个细胞群体中各个细胞都在同一时间进行分裂的状态，称为同步生长。
- 同步细胞群体在**任何一时刻**都处在细胞周期的同一相，**彼此间形态、生化特征都很一致**，因而是细胞学、生理学和生物化学等研究的良好材料。
- **同步培养法 synchronous culture**：设法使培养的微生物处于比较一致的生长发育阶段上的培养方法。



# 细菌的同步生长最多维持2-3代

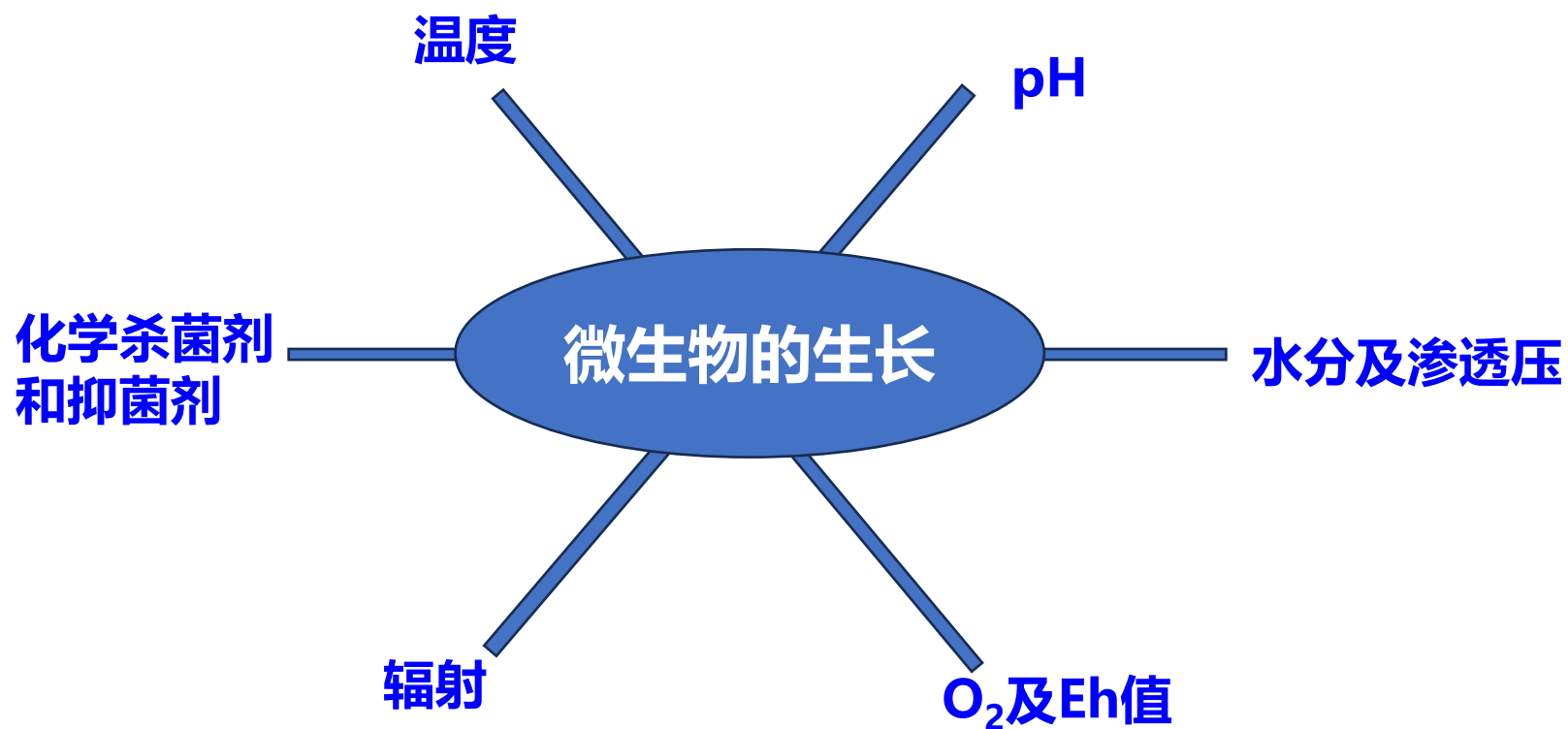


细菌的同步生长和非同步生长

## **4、环境条件对微生物生长与代谢的影响？**

## 第三节 环境条件对微生物生长和代谢的影响

你认为哪些因素会影响微生物的生长？



# 一、温度

不同微生物对温度的要求不同，这是由于不同微生物在长期进化过程中形成的对环境的适应机制决定。

## 生长温度三基点

**最低生长温度：**

指微生物能生长的温度下限

**最适生长温度：**

指最适合微生物生长的温度

**最高生长温度：**

指微生物能生长的温度上限

# 微生物生长的温度类型

类型		最低温度	最适温度	最高温度	分布
低温型	专性嗜冷	-12℃	5~15℃	15~20℃	两极地区
	兼性嗜冷	-5~0℃	10~20℃	25~30℃	河、海、湖及冷藏食品
中温型	嗜温	10~20℃	25~40℃	40~50℃	土壤、水、空气和动植物上，以及哺乳动物生活的各种环境中
高温型	嗜热	30℃	45~60℃	70℃	堆肥和沼气发酵池
	极端嗜热	30℃	70~90℃	100℃以上	温泉和洋底火山口

# 1、低温对微生物的影响

当环境温度低于微生物生长下限时，可造成胞内酶的活性降低，新陈代谢活动缓慢，呈休眠状态，但其活力仍在。当温度提高时，可以恢复正常的生命活动。

## 低温保藏菌种

低温保藏菌种就是利用这个原理。

- 1) 一些细菌、酵母菌和霉菌的琼脂斜面菌种通常可以临时保藏在4℃的冰箱中；
- 2) -20℃、-70℃和液氮保藏（-196℃）。



## 2、高温对微生物的影响

超过微生物生长上限可引起微生物**细胞内蛋白质凝固**，使酶变性失活，代谢停滞而死亡。

**高温灭菌原理：**高温可引起**蛋白质、核酸和脂类**等重要生物大分子发生降解或改变其空间结构等，从而变性或破坏。

## 二、水分及其可给性

### (一) 水的活度(Water activity)

**概念：**是指在一定的温度和压力下，溶液的蒸汽压力和纯水的蒸汽压力之比，即：

$$\alpha_w = (P_{\text{溶液}}) / (P_{\text{纯水}})$$

各种环境中水的活度为0~1，纯水的 $a_w=1$ ，**溶液中溶质越多， $a_w$ 值越小。**

微生物生长需要的水的活度在 0.63 ~ 0.99。当环境中的  $\alpha_w$  值低于微生物生长需要时，微生物的生长受阻，甚至停止生长。

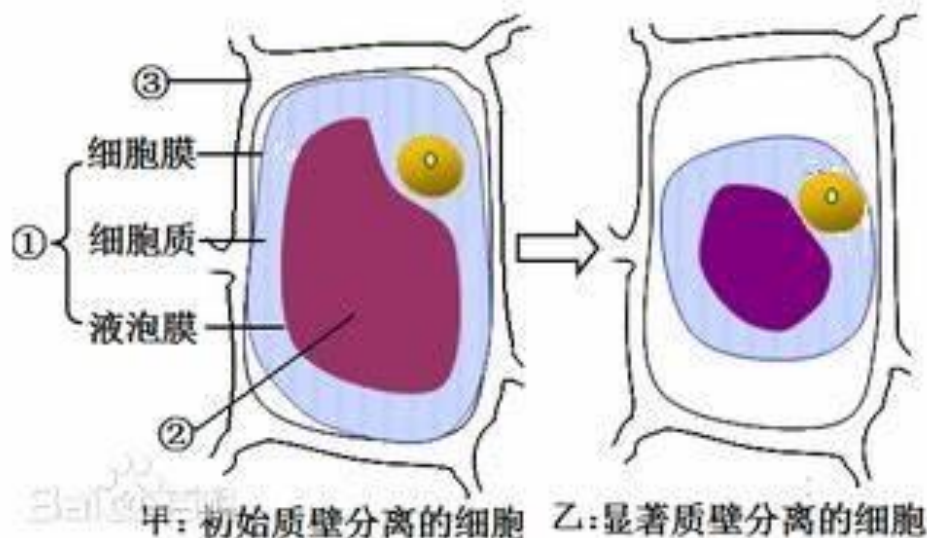
## (二) 渗透压

什么情况下会导致细胞失水，什么情况下细胞会吸水？

**高渗溶液：**溶液的溶质浓度高于胞内溶质浓度（**细胞失水**）

**低渗溶液：**溶液的溶质浓度低于胞内溶质浓度（**细胞吸水**）

**等渗溶液：**细胞内溶质浓度与胞外溶液的溶质浓度相等时



## 利用高渗透压保存食物

- 由于一般微生物不能耐受高渗透压，所以日常生活中常用高浓度的盐或糖保存食物，如腌渍蔬菜、肉类及蜜饯等。糖的浓度通常为50-70%，盐的浓度为10-15%。

## 耐高渗透压的机制

- 提高细胞内溶质的浓度而从外界获得水分：
  - 1、从外界泵入离子
  - 2、胞内合成某些溶质 } 协调溶质（谷氨酸盐、 $K^+$ 等）

# 几类微生物生长的最适 $a_w$

微生物类群	$a_w$
一般细菌	0.91
酵母菌	0.88
霉菌	0.80
嗜盐细菌	0.76
嗜盐真菌	0.65
嗜高渗酵母	0.60

一般来说，细菌生长需要的 $a_w$ 值 > 霉菌 > 盐细菌 > 耐旱真菌

### 三、酸碱度 (pH)

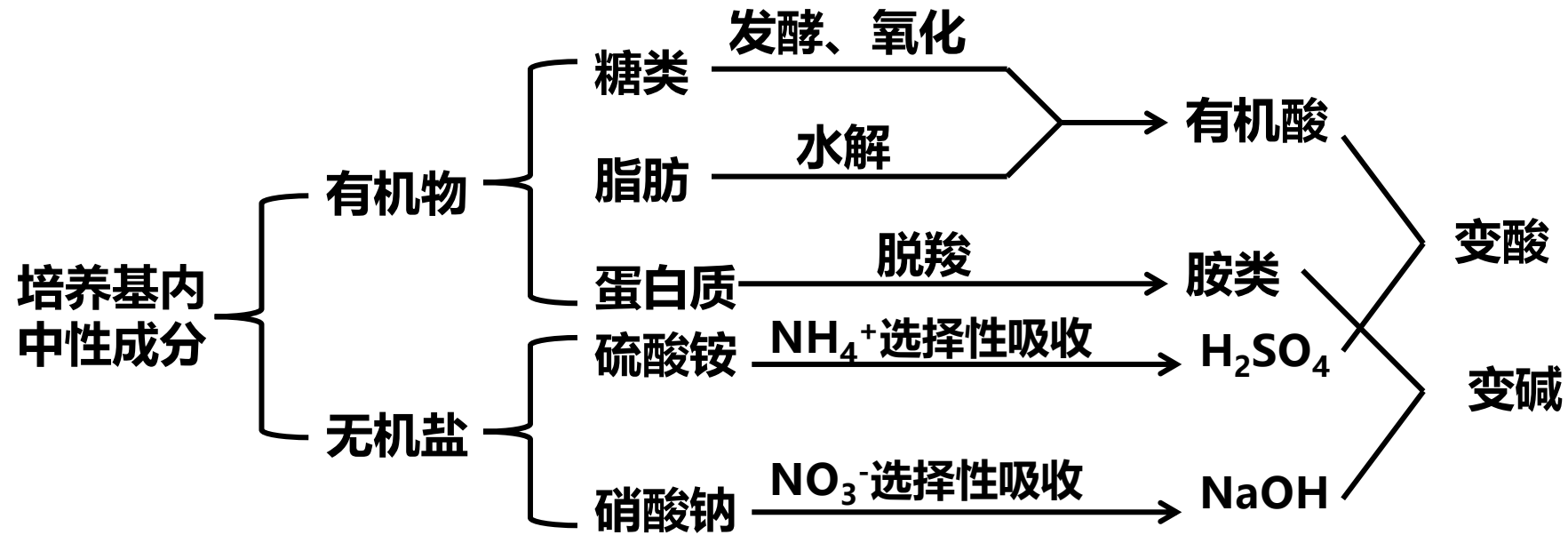
微生物	最低pH值	最适pH值	最高pH值
一般细菌	3.0-5.0	6.5-7.5	8.0-9.0
放线菌	5.0	7.0~8.0	10.0
酵母菌	3.0	5.0~6.0	8.0
一般霉菌	1.0-3.0	3.8-6.0	7.0-11.0
黑曲霉	1.5	5.0~6.0	9.0
大豆根瘤菌	4.2	6.8-7.0	11.0
氧化硫杆菌	1.0	2.0-2.8	4.0-6.0

各种微生物都有其生长的最低、最适和最高pH值。  
低于最低、或超过最高生长pH值时，微生物生长受抑制或导致死亡。

# pH对微生物的作用机制

- ✓影响细胞质膜电荷和养料吸收;
- ✓影响酶的活性;
- ✓改变环境中养料的可供态和有害物质的毒性;
- ✓影响代谢产物的积累（如黑曲霉在pH=2.0-2.5时产柠檬酸，在pH=7时产草酸。）。

**微生物在基质中生长，由于代谢产物的积累，也会改变pH值。**

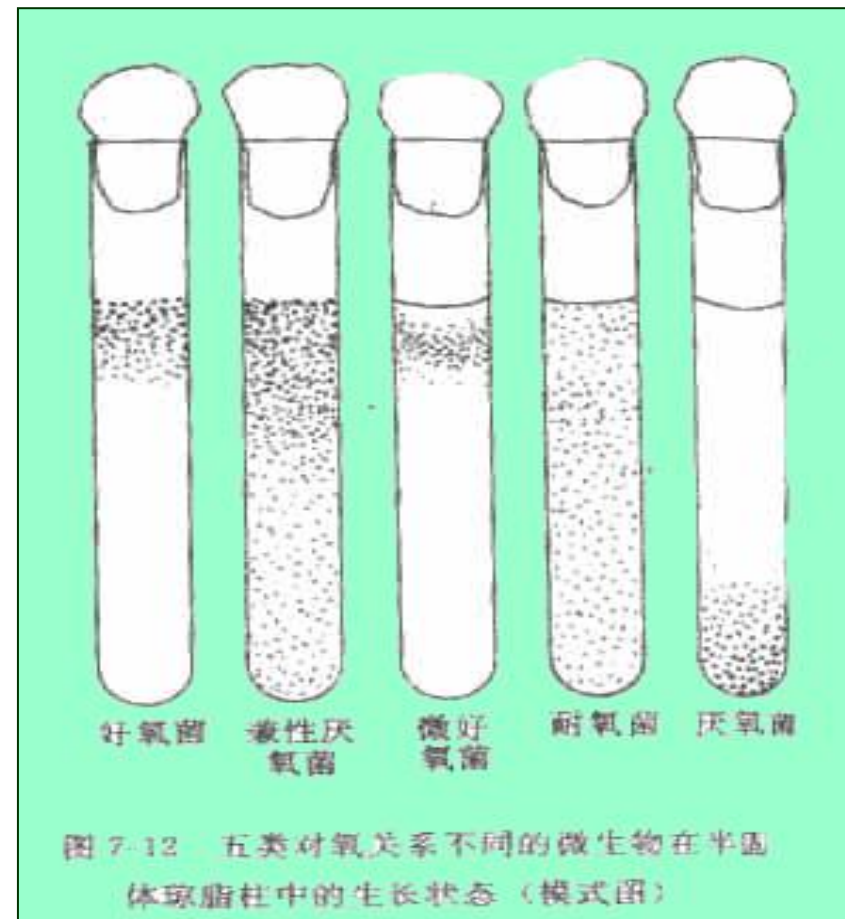
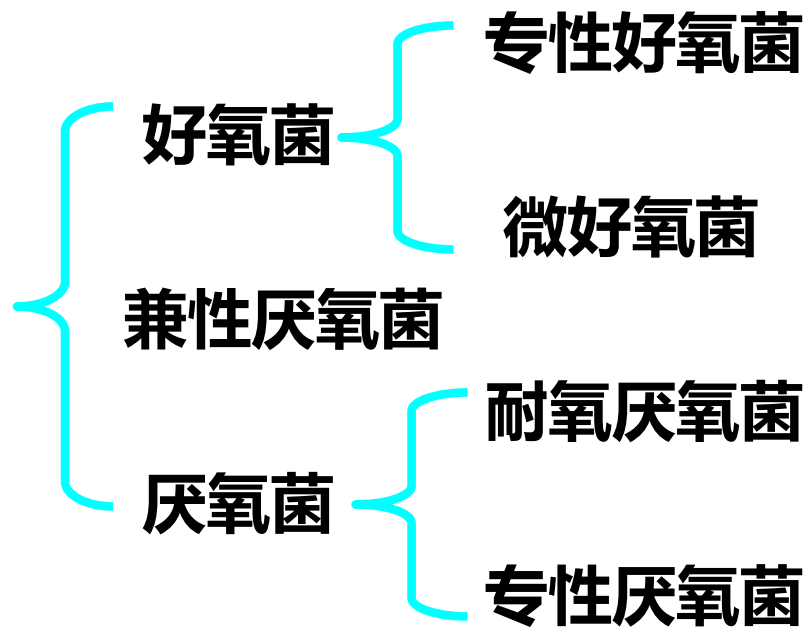


为了维持微生物生长过程中pH的稳定，在配制培养基时，不仅要注意调节培养基的pH使其适合微生物的生长，还应加入适当缓冲物质（如**磷酸盐**、**碳酸盐**等），以免培养基的pH发生较大变化。



## 四、氧气和氧化还原电位

微生物对氧的需要和耐受力在不同的类群中变化很大，根据微生物与氧的关系,可把它们分为几种类群:



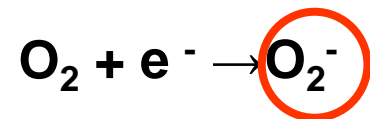
# 需氧微生物

必须在有分子氧的条件下才能生长，有完整的呼吸链，以分子氧作为最终氢受体。培养时需加棉塞。

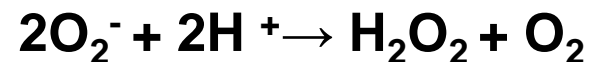
# 厌氧微生物

分子氧对它有毒害，短期接触空气，也会抑制其生长甚至致死；

✓ 产生超氧阴离子自由基



✓ SOD酶与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>酶



# 兼性需氧微生物

有氧时进行有氧呼吸，无氧时进行发酵产能。

# 氧化还原电位 (Eh)

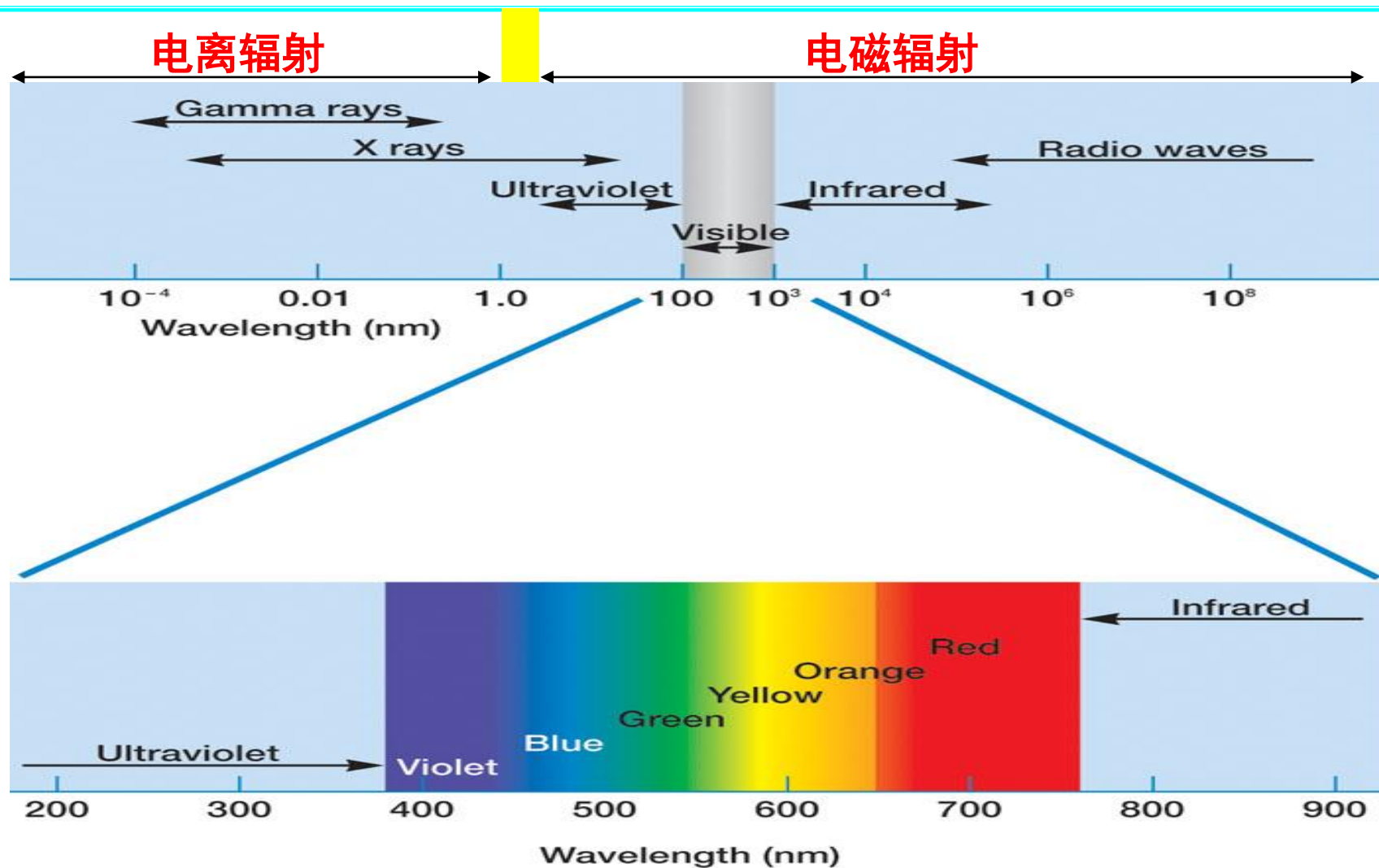
Eh综合反映环境的氧化还原状况。影响Eh的因素很多，**分子态氧**的影响尤为重要。其次是培养基中氧化和还原物质及pH值的影响

改善通气条件，降低培养基pH或加入氧化性物质均可以提高培养环境的Eh值

- ✓ 好氧微生物：  $> 0.3 \text{ V}$ ；最适  $+0.3 \sim +0.4 \text{ V}$ ；
- ✓ 厌氧微生物：  $< 0.1 \text{ V}$ ；
- ✓ 兼性好氧微生物Eh值在  $0.1 \text{ V}$  以上进行有氧呼吸，Eh 值在  $0.1 \text{ V}$  以下进行发酵作用。

## 五、辐射

辐射是能量以电磁波形式通过空间传播或传递的一种物理现象。分为电离辐射和电磁辐射。



## 1、可见光：波长在400—760nm的电磁辐射

- 大部分微生物不需要光，只有**光能营养型**的微生物才需要光作为能源。
- 有的微生物对光有**趋光性**，如闪光须霉。担子菌形成子实体也需要**散射光**的照射。

- 一般可见光对**大多数化能微生物没有影响**，
- 但是，太强或连续长时间照射也会导致微生物死亡。
- 因微生物细胞经照射后，在有氧情况下，产生光氧化反应，生成 $\text{H}_2\text{O}_2$ ，能发生强烈氧化作用，引起细胞死亡。

## 2、紫外线（UV）波长在100 — 400nm的电磁辐射。

波长在265-266nm处的紫外线杀菌力最强，因为核酸（DNA、RNA）的吸收峰为260nm。

### 紫外线杀菌或诱变原理：

- 紫外线作用于DNA，使其产生胸腺嘧啶二聚体（T<sup>T</sup>），引起DNA结构变形，阻碍正常的碱基配对，从而造成微生物变异或死亡。
- 紫外线会使空气中的分子氧变成臭氧，臭氧释放的原子氧有杀菌作用。

**光复活现象：**经紫外线照射的微生物，立即放在可见光下，光可以激活DNA修复酶，该酶能修复DNA上的损伤，使微生物的突变率或死亡率下降。

### 3、电离辐射：包括X、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 射线

**特点：**波长短，能量高，穿透力强，非专一性，对所有生物均有杀伤作用。

**作用原理：**使被照射物中的水分子发生电离，产生游离基，这些游离基使细胞中的敏感蛋白质分子失活，造成细胞损伤或死亡。

**应用：**1、用于不耐热食品，药品或塑料制品的灭菌；  
2、菌种诱变。

## 第四节 微生物生长的控制

根据物理化学因素对微生物的抑制或杀死的效应分为  
灭菌、消毒、防腐和化疗：

**灭菌**      彻底杀灭（一切微生物）

**消毒**      部分杀灭（仅杀灭病原体）

**防腐**      抑制霉腐微生物

**化疗**      抑制宿主体内的病原菌



## ■ 灭菌 (sterilization)

❖ 是指用物理或化学因子，杀灭物体中的所有活微生物，包括最耐热的细菌芽胞。

高压灭菌锅



紫外线  
灭菌器

# 高温灭菌的方法

## 干热灭菌

通过高温干燥的空气达到灭菌效果。

优点：保持物品干燥

## 湿热灭菌

更有效，因湿热蒸汽不但透射力强，还能破坏维持蛋白质空间结构和稳定性的氢键。

# 干热灭菌

## 烘箱热空气法

→ 160-180℃处理2 h，适用于玻璃器皿、金属用具等耐热物品的灭菌。

## 火焰灭菌法

分为灼烧和焚烧两种。

灼烧适用于耐烧物品（如接种针、金属器具、试管口和瓶口等）。

焚烧是直接点燃或在焚烧炉内焚烧。适用于传染病畜禽及实验感染动物的尸体及其他污染的废弃物等。

# 湿热灭菌

## 1、高压蒸汽灭菌法：

利用专门的高压蒸汽灭菌锅对物品进行灭菌的方法，是高温灭菌中使用最普遍，效果最可靠的一种方法。

**121°C处理15-30min**，可杀死细菌芽胞在内的所有微生物。

## 2、间隙灭菌法：

**100°C，30-60 min，间歇24 h**，再灭一次，重复三次，以杀死由芽胞萌发的营养体。

# 各种细菌的芽胞在湿热中的致死温度和致死时间

**致死温度**：指能在10分钟内杀死微生物的高温界限。

**致死时间**：在一定温度下杀死微生物所需要的最短时间。

菌 种	100℃	105℃	110℃	115℃	121℃
炭疽芽胞杆菌	5 ~ 10	—	—	—	—
枯草芽胞杆菌	6 ~ 17	—	—	—	—
嗜热脂肪芽胞杆菌	—	—	—	—	12
肉毒梭状芽胞杆菌	330	100	32	10	4
破伤风梭菌	5 ~ 15	5 ~ 10	—	—	—

# 消毒(disinfection)

消毒是指**杀死或消除所有的病原微生物**，可以起到防止感染或传播的作用。但不能杀死所有的芽胞。

**1、巴斯德消毒法：**用较低的温度处理牛奶、酒类等饮料，以杀死其中的病原菌如结核杆菌、伤寒杆菌等，同时又不损害营养与风味的方法，**62-63 °C保持30min。**

**2、煮沸消毒法：**100°C，15 min以上，适用于解剖用具、注射器及家庭餐具的消毒。

5.9 常用的高压灭菌的温度是\_\_\_。

- ☒ A 121°C
- ☐ B 200 °C
- ☐ C 100 °C
- ☐ D 63 °C

提交

5.10 巴斯德消毒法可用于\_\_\_\_的消毒。

- ☐ A 啤酒
- ☐ B 葡萄酒
- ☐ C 牛奶
- ☒ D 以上所有

提交



# 防腐(antisepsis)

在某些**化学物质或物理因子**作用下，能防止或抑制微生物生长的一种措施，它能**防止食品腐败或防止其它物质霉变**。



**防腐的方法：**低温、缺氧、干燥、高渗、高酸度、高醇度、加防腐剂等

# 常用的消毒防腐剂

## (一) 有机化合物

酚类、醛类、醇类、酸类和表面活性剂；

## (二) 无机化合物

卤素、重金属及其化合物、氧化剂

## (三) 染色剂

结晶紫、吖啶黄、孔雀绿等

## (一) 有机化合物

类型	名称及使用方法	作用原理	应用范围
醇类	70%—75%乙醇	破坏细胞膜、蛋白质变性	皮肤、器皿
醛类	2%戊二醛 (pH=8) 福尔马林 (37%~40%甲醛溶液)	蛋白质变性	房间、物品消毒 (不适合食品厂)
酚类	3%—5%石炭酸 (苯酚) 2%来苏儿 (酚的衍生物) 3%—5%来苏儿	破坏细胞壁和细胞膜、蛋白质变性	桌面、地面、器具
表面活性剂	0.05%—0.1% 新洁尔灭 0.05%—0.1% 杜灭芬	改变细胞的稳定性和通透性, 使胞内物质溢出膜外	皮肤、粘膜、器械 皮肤、金属、棉织品、塑料
酸类	0.1%苯甲酸 0.1%山梨酸	抑制微生物的酶和代谢活性	食品防腐 食品防腐

## (二) 无机化合物

类型	名称及使用方法	作用原理	应用范围
重金属盐类	0.05%—0.1% <b>升汞</b> 2% <b>红汞</b> 0.1%—1% <b>硝酸银</b> 0.1%—0.5% <b>硫酸铜</b>	蛋白质变性、酶失活	非金属器皿、皮肤、 粘膜、伤口
卤素及其化合物	0.2—0.5mg/L <b>氯气</b> <b>漂白粉</b> （次氯酸钙） 2.5% <b>碘酒</b>	破坏细胞膜、蛋白质	饮用水、游泳池水、 地面和厕所消毒 皮肤消毒
氧化剂	0.1% <b>高锰酸钾</b> 3% <b>过氧化氢</b> <b>臭氧</b> (O <sub>3</sub> )	氧化蛋白质活性基团， 酶失活	皮肤、实验室、 水果、蔬菜 口腔黏膜消毒 饮水消毒
染料	2%—4% <b>结晶紫</b> 1%~2% <b>龙胆紫</b> （紫药水）	与蛋白质的羧基结合 核酸上的磷酸基结合	皮肤、伤口

# 化疗(chemotherapy)

**化疗即化学治疗**，是指利用**具有高度选择毒力**而对其宿主基本无毒的化学物质来**抑制宿主体内病原微生物**的生长繁殖，借以达到治疗该宿主传染病的一种措施。

具有高度选择毒力、可用于化学治疗目的的化学物质，称为**化学治疗剂**，包括**磺胺类等化学合成药物、抗生素、和若干中草药中有效成分等**。

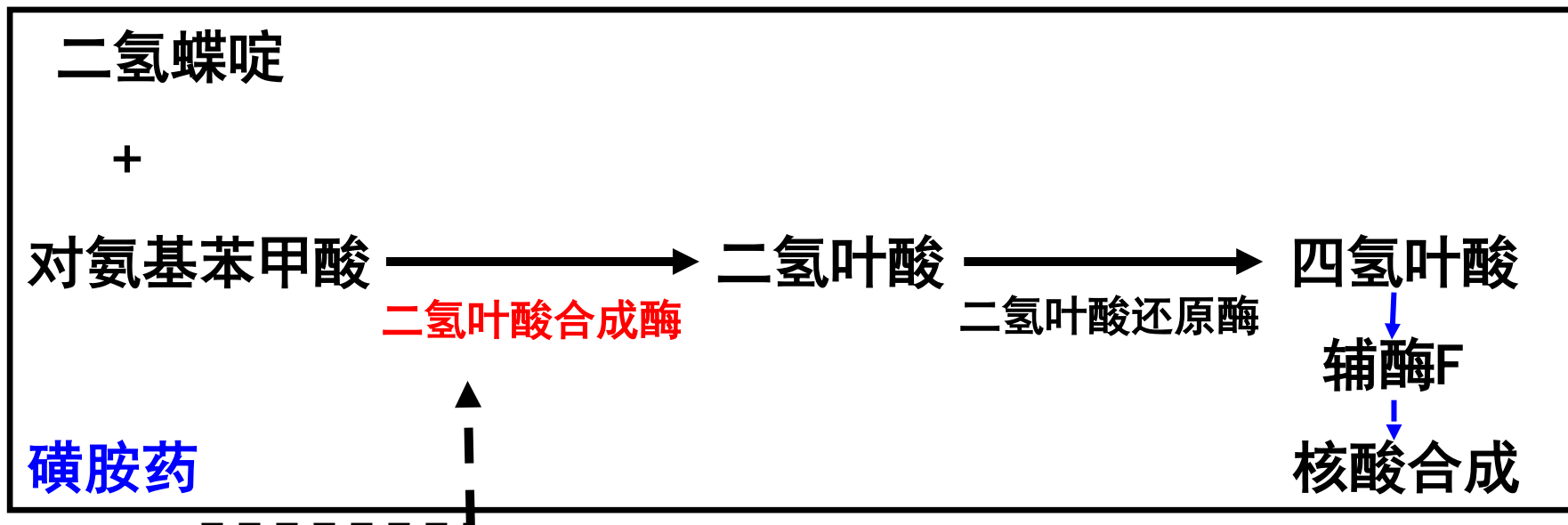
## 抗代谢类药物（生长因子类似物）

**概念：**在结构上与生物体所必需的代谢物很相似，并能以竞争的方式取代代谢物，以干扰病原菌正常代谢过程的化学药物。

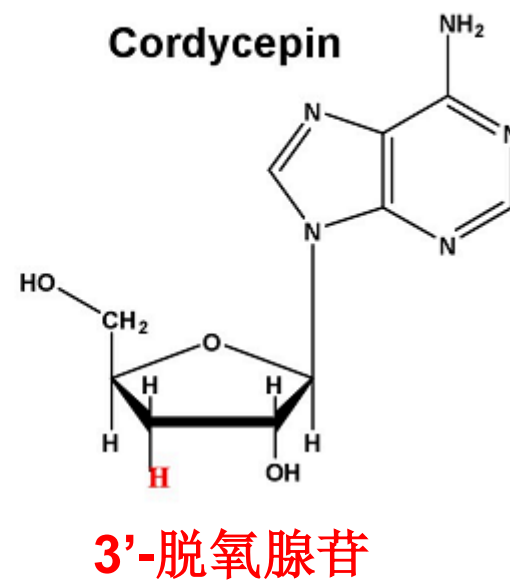
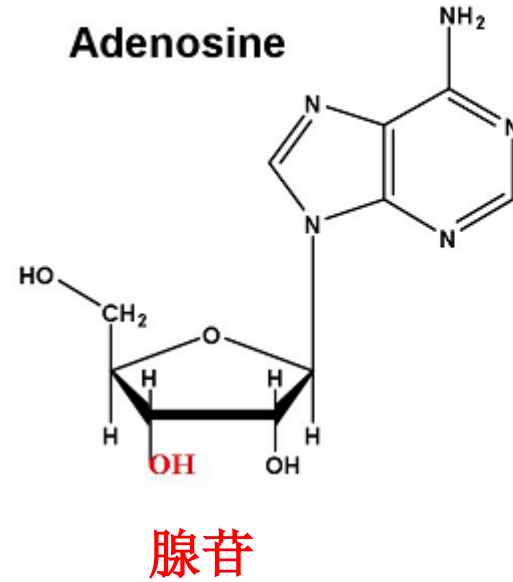
**种类：**

- 磺胺药（**抑菌**）——对氨基苯甲酸；
- 6 - 巯基嘌呤（**抗肿瘤**）——嘌呤；
- 5 - 甲基色氨酸（**抑菌**）——色氨酸；
- 异烟肼（**抗结核**）——吡哆醇（维生素B6）。

# 磺胺药的抗菌机制



# 虫草素是一种腺苷类似物



Huang F, Li W, Xu H, Qin H, He ZG. Cordycepin kills *Mycobacterium tuberculosis* through hijacking the bacterial adenosine kinase. PLoS One. 2019 Jun 14;14(6):e0218449



5.11 \_\_\_\_能通过抑制叶酸合成而抑制细菌的生长。

- ☐ A 青霉素
- ☒ B 磺胺类药物
- ☐ C 四环素
- ☐ D 以上所有

提交

# 思考题

- 1、绘制细菌生长曲线，注明每个阶段的名称，及各阶段细菌在数量、生理上的特点以及如何利用这些特定进行应用；
- 2、请绘制本章思维导图；
- 3、请针对本章内容，提出一个问题。

提交截止日期为：6月18日23:30



**Thank you for your attention!**