

第四章 微生物的营养

1. 微生物的营养需求

1.1 微生物细胞的化学组成

1.1.1 微生物细胞中的化学元素

1. 元素组成

- 构成微生物细胞的大量元素：**C、H、O、N**、P、S、K、Mg、Ca、Fe，其中前六种元素占细菌细胞干重的97%。
- 构成微生物细胞的微量元素：锌、锰、钠、氯、钼、硒、钴、铜、钨、镍、硼等。

2. 主要以**有机物、无机盐、水**的形式存在于细胞中。

- 有机物：蛋白质、糖类、脂质、核酸、维生素及其降解产物；
- 无机盐：
 - 参与有机物组成；
 - 单独以无机盐的形式存在于细胞质内。
- 水：约占细胞总重70%~90%；以**游离水**和**结合水**两种形式存在。
 - 游离水：可由干重法测得；
 - 结合水：不易蒸发、冻结，不能渗透，占水总量的17%~28%。

1.1.2 微生物细胞的化学成分

- 影响因素：与微生物**种类、菌龄、培养条件**有关。
- 与其他生物相比，微生物细胞内的共有成分和特殊成分
 - 共同成分：**水、无机盐、蛋白质、糖类、脂质、核酸**等；
 - 特殊成分：肽聚糖、胞壁酸、磷壁酸、D型氨基酸、二氨基庚二酸、吡啶二羧酸等。
- 微生物中的化学成分分析方法
 - 有机成分
 - 化学方法抽提后进行定性与定量分析；
 - 细胞破碎、获得亚显微结构进行分析。
 - 无机成分
 - 灰分测定无机成分；
 - 测定湿重、干重、细胞含水量。

1.2 营养物质及其功能

能源：能为微生物生命活动提供**能量来源**的营养物质或辐射能称为能源。

营养物质的分类：**碳源、氮源、无机盐、生长因子、水**等。一种物质可同时是多种营养物质。

1.2.1 碳源

种类和功能

- 1. 定义：所有可用来构成细胞物质或代谢产物中碳元素来源的营养物质。
- 2. 功能：
 - 1. 提供合成细胞物质的**原料**（构成代谢产物的**骨架**）；
 - 2. 为微生物的生理活动提供**能量来源**（异养微生物为主）。
- 3. 种类：
 - 1. **无机**含碳化合物，如CO₂、碳酸盐等；
 - 2. **有机**含碳化合物，如糖类及其衍生物、脂类、醇类、有机酸、烃类、芳香族化合物等。

微生物的碳源谱

种类	元素组成	化合物	培养基原料
有机碳	CHONX	复杂蛋白质、核酸等	牛肉膏、蛋白胨、花生饼粉等
	CHON	多数氨基酸、简单蛋白质等	一般氨基酸、明胶等
	CHO	糖类、有机酸、醇、脂类等	葡萄糖、蔗糖、淀粉等
	CH	烃类	天然气、石油及其他馏分、石蜡油等
无机碳	C	--	--
	CO	CO ₂	CO ₂
	COX	NaHCO ₃	NaHCO ₃ 、CaCO ₃ 等

1.2.2 氮源

氮源的种类和功能

- 1. 定义：凡用于构成微生物细胞物质或代谢产物中氮元素来源的营养物质。
- 2. 种类：
 - 1. **无机氮**：铵盐、硝酸盐（几乎所有微生物都能利用）、亚硝酸盐、氨等；N₂（固氮微生物）等；
 - 2. **有机氮**：蛋白质及其降解产物（胨、肽、氨基酸等）、尿素、牛肉膏、鱼粉、花生饼粉、黄豆饼粉、玉米浆等。
- 3. 功能：
 - 1. 提供细胞中含氮物（如蛋白质、核酸以及含氮代谢产物）的**合成原料**；
 - 2. 少数细菌可以铵盐、硝酸盐等作为**能源**。

微生物的氮源谱

种类	元素组成	化合物	培养基原料
有机氮	N C H O X	复杂蛋白质、核酸等	牛肉膏、酵母膏、饼粕粉、蚕蛹粉等
	N C H O	尿素、多数氨基酸、简单蛋白质等	尿素、蛋白胨、明胶等
无机氮	N H	铵盐、NH ₃ 等	(NH ₄) ₂ SO ₄ 等
	N O	硝酸盐等	KNO ₃ 等
	N	N ₂	

速效氮源与迟效氮源

- 迟效氮源**：蛋白氮必须**降解**为胨、肽、氨基酸后才能被菌体吸收利用，这种氮源称为迟效氮源。
迟效氮源通常有利于**代谢产物**的形成。
- 速效氮源**：无机氮源或有机氮源（如蛋白质降解产物）可以**直接**被菌体吸收利用，这种氮源称为速效氮源。
速效氮源通常有利于**机体的生长**。

1.2.3 无机盐

- 定义：为微生物细胞生长提供**碳、氮源以外的**多种重要元素（大量元素、微量元素）的物质，多以无机物的形式供给，称为无机盐。
- 一般微生物所需无机盐种类：硫酸盐、磷酸盐、氯化物，以及含有Na、K、Mg、Fe等金属离子的化合物。
- 功能：
 - 微生物细胞的**组成成分**；
 - 调节微生物细胞**渗透压、pH值和氧化还原电位**；
 - 有些无机盐可以作为**自养微生物的能源**；
 - 构成**酶活性基**的成分，维持酶的活性（Mg、Ca、K离子是多种酶的激活剂）。

1.2.4 生长因子

- 定义：对微生物正常生活**不可或缺、需要量不大**，且微生物自身无法用碳源或氮源合成或**合成量不足**以满足机体生长需要的有机营养物质。
- 包含：**维生素、氨基酸、碱基**等。
- 来源（了解）

- 微生物的维生素来源：部分微生物自身不能合成维生素，需要通过外界来提供，以B族维生素为主，包括**硫胺素、叶酸、泛酸、核黄素、生物素**等。
- 微生物的氨基酸来源：部分微生物自身无法合成某种氨基酸，必须从外界补充。例如，赖氨酸发酵所用黄色短杆菌不能合成环丝氨酸，需在培养基中额外添加环丝氨酸。

各类微生物合成氨基酸的能力差别很大，一般情况下，**革兰氏阴性菌（G⁻）强于革兰氏阳性菌（G⁺）**。例如，大肠杆菌能合成全部氨基酸，沙门氏菌能合成大部分；而肠道串珠菌自身合成氨基酸的能力极弱，需要从外界补充19种氨基酸。

- 微生物的碱基来源：部分微生物不仅无法合成嘌呤和嘧啶，还无法将外源碱基结合在核苷酸上，必须额外供给核苷酸。

碱基包含嘌呤和嘧啶，是核酸和辅酶的重要组成成分，是微生物的必要生长因素。

4. 部分微生物还需要补充卟啉或其衍生物、低碳脂肪酸、肌醇、胆碱等。

4. 微生物根据对生长因子的需要程度不同，可分为：

1. **野生型**：不需要生长因子就能在基础培养基上生长的菌株；
2. **营养缺陷型**：某些菌株发生突变后，失去合成某种或某些对该菌株生长不可缺少的物质（主要为生长因子）的能力，必须从外界摄取才能生长繁殖。

1.2.5 水

功能

1. 水是细胞中生化反应的**良好介质**：营养物质和代谢产物溶解在水里吸收或排出；
2. 水的**比热高**，有效吸收代谢过程产生的热量，**维持细胞温度的稳定**；
3. 水能维持细胞的膨压，控制**细胞形态**。

水活度 (α_w)

1. 定义：微生物**对水的需要程度**常用环境（或基质）中的水活度表示。水活度 α_w 是指在相同的温度和压力下，**溶液中水的蒸汽压和纯水蒸汽压之比**，即 $\alpha_w = \frac{P_{\text{溶液}}}{P_{\text{纯水}}}$ 。
2. 微生物生存与水活度：微生物的生长所需水活度通常在0.60~0.99之间；细菌水活度较高，约为0.9；酵母菌次之；耐旱微生物水活度在0.6左右。

表 几类微生物生长最适 α_w

微生物	α_w
一般细菌	0.91
酵母菌	0.88
霉菌	0.80
嗜盐细菌	0.70
嗜盐真菌	0.65
嗜高渗酵母	0.60

3. 溶质对水活度的影响：水中溶质浓度越高，水活度越低。
4. 相对湿度 $RH = \alpha_w \times 100$ ，通常使用测定蒸汽相中相对湿度的方法得到水的活度。

1.3 微生物的营养类型

1.3.1 微生物营养类型的划分依据

- 按照生长所需要的碳源物质：自养型生物（ CO_2 ）、异养型生物（有机物）；
- 按照生长过程中能量的来源：光能营养型（光能）、化能营养型（有/无机物的化学能）；
- 按照生长所需要的电子供体：无机营养型、有机营养型

前两个可自由组合，但电子供体为无机多是自养，有机是异养。

1.3.2 光能（无机）自养型

1. 特点：
 1. 能以 CO_2 作为主要或唯一碳源；
 2. 可以无机物（ H_2O 、 H_2S 、 S 、 H_2 等）作为电子供体，利用光能还原 CO_2 。
2. 实例：

1. 藻类植物、蓝细菌（蓝藻）等以水为电子供体，进行产氧性光合作用，合成细胞物质；
2. 红硫细菌以 H_2S 为电子供体，产生细胞物质，伴随S元素的产生。
3. 作用：在地球早期生态环境演化过程中起到重要作用。

1.3.3 光能（有机）异养型

1. 特点：
 1. 不能以 CO_2 作为主要或唯一碳源；
 2. **以有机物为供氢体，利用光能还原 CO_2 ；**
 3. 生长时大多需要**外源生长因子**。
2. 实例：部分红螺菌属细菌利用异丙醇作为供氢体，还原 CO_2 ，同时积累丙酮。
3. 作用：在地球早期生态环境演化过程中起到重要作用。
4. 区别：生长需要一定的有机营养物质。前者不用。

1.3.4 化能（无机）自养型

1. 特点：
 1. 生长不依赖有机营养物质，所需能量来自无机物氧化释放的化学能；
 2. 以 CO_2 或碳酸盐作为主要碳源时，**利用 H_2 、 H_2S 、 Fe^{2+} 、 NH_3 或 NO_2^- 等作为电子供体，还原 CO_2 。**
2. 实例：硫化细菌、硝化细菌、氢细菌、铁细菌等。
3. 作用：只存在于微生物中，可以在完全无机、无光环境中生长，**广泛分布于土壤及水环境中**，参与地球物质循环。

1.3.5 化能（有机）异养型

1. 特点：
 1. 所需能量均来自**有机物氧化所释放的化学能**；
 2. 生长所需碳源主要为有机化合物，例如淀粉、糖类、纤维素、有机酸等。
2. 实例：大多数细菌、真菌、原生动物，所有致病微生物均为化能有机异养型。
3. 分类：
 1. 腐生型：可利用无生命有机物（如动植物尸体）作为碳源；
 2. 寄生型：寄生在活的寄主体内摄取营养，离开宿主无法存活；
 3. 中间类型：兼性腐生型、兼性寄生型。

1.3.6 总结：微生物营养类型表

营养类型	电子供体	电子受体	碳源	能源	实例
光能无机自养型	H ₂ S、S、H ₂ 或H ₂ O	CO ₂	CO ₂	光能	着色细菌、蓝细菌、藻类
光能有机异养型	有机物	CO ₂	有机物, CO ₂	光能	红螺细菌
化能无机自养型	H ₂ 、H ₂ S、Fe ²⁺ 、NH ₃ 或NO ₂ ⁻	CO ₂	CO ₂	化学能(无机物氧化)	氢细菌、硫杆菌、亚硝化单胞菌属、甲烷杆菌属、醋酸杆菌属
化能有机异养型	有机物	O ₂	有机物	化学能(有机物氧化)	假单胞菌属、芽孢杆菌属、乳酸菌属、真菌、原生动物

1.3.7 不同营养型之间的界限并非绝对

- 异养型微生物并非绝对不能利用CO₂;
- 自养型微生物并非不能利用有机物生长;
- 部分微生物在不同条件下生长时, 营养类型会发生改变, 有利于提高对环境条件变化的适应能力。

2. 培养基

2.1 基本概念

1. 培养基概念:

人工配制, 适合微生物生长繁殖或产生代谢产物的营养基质。

2. 培养基应当具备的六大营养要素:

碳源、氮源、生长因子、无机盐、能源、水。

3. 培养基的用途

促使微生物生长; 积累代谢产物; 分离微生物菌种; 鉴定微生物种类; 微生物细胞计数; 菌种保藏; 制备微生物制品。

2.2 选用和设计培养基的原则和方法

小提示: 可能需要根据试题给出的情境选择合适的培养基, 要会应用哦~

目的明确、营养协调、条件适宜、经济节约

2.2.1 培养基组分应适合微生物的营养特点（目的明确）

1. 培养不同的微生物，必须采用不同的培养条件：

细菌：牛肉膏蛋白胨培养基、LB培养基；

放线菌：高氏一号培养基；

真菌：查氏合成培养基、PDA；

酵母菌：麦芽汁。

2. 根据培养目的不同，选择不同的原料及其配比：

- 实验室一般培养：普通常用培养基；
- 遗传研究：成分清楚的合成培养基；
- 生理代谢研究：选用相应的培养基配方。

例：枯草芽孢杆菌

一般培养：肉汤培养基或LB培养基；

自然转化：基础培养基；

观察芽孢：生孢子培养基；

产蛋白酶：以玉米饼粉、黄豆饼粉为主的产酶培养基。

3. 当对试验菌的营养需求不清楚时，可以采用生长谱法检测，即在同一平皿上测定一种缺陷型菌株对多种生长因子的需求情况。

2.2.2 营养物的浓度和比例应适当（营养协调）

1. 控制营养物的浓度适宜，营养物浓度过高或过低都不利于微生物的生长：

- 过高：抑制微生物的生长；
- 过低：无法满足微生物生长需要。

2. C/N比（碳源中C原子的摩尔数/氮源中N原子的摩尔数）

直接影响微生物生长、繁殖与代谢物积累，常作为考察培养基组成的重要指标之一；

3. 控制速效性碳（氮）源与迟效性碳（氮）源的比例；

4. 控制各种金属离子之间的比例。

2.2.3 物理化学条件适宜（条件适宜）

1. pH值

1. 各类微生物的最适生长pH值不同

细菌：7.0~8.0；放线菌：7.5~8.5；酵母菌：3.8~6.0；霉菌：4.0~5.8

2. 维持培养基pH值的相对恒定：内源调节、外源调节。

内源调节：培养基中加入一定量缓冲液或不溶性碳酸盐；调节培养基碳氮比；

外源调节：按实际需要不断向发酵液中加入酸液或碱液。

2. 水活度

1. 微生物的生长所需水活度通常在0.60~0.998之间；不同的微生物 α_w 不同。

水活度 α_w 过低，微生物生长的迟缓期延长，比生长速率和总生长量减少。

2. α_w 与渗透压：

- 等渗溶液：适合微生物生长；
- 高渗溶液：细胞质壁分离；

- 低渗溶液：细胞吸水膨胀，直至破裂。

3. 氧化还原电势

1. 微生物对氧化还原电势的要求：**越好氧，需要更多氧，电位越高**

1. 好氧微生物：+0.3~+0.4V，在>+0.1V的环境中均能生长；
2. 厌氧微生物：只能在+0.1V以下生长；
3. 兼性厌氧微生物：+0.1V以上呼吸，+0.1V以下发酵。

2. 氧化还原电势与氧分压和pH值有关，也受某些**代谢产物**的影响。

3. 培养基中常用的还原剂：巯基乙酸、抗坏血酸（维生素C）、硫化氢、半胱氨酸、谷胱氨肽、二硫苏糖醇等。

2.2.4 根据培养基的应用目的选择原料及其来源（经济节约）

1. 用于培养**菌体种子**的培养基：营养应丰富（有利于快速生长），**氮源含量应高**（即碳氮比低）；

2. 用于大量**生产代谢产物**的培养基：

1. 氮源含量应比种子培养基**稍低**（若产物为含氮化合物，则**提高氮源含量**）；
2. 若产物为次级代谢产物，考虑是否加入特殊元素或**特定代谢物**。

3. 用于**大规模发酵**的培养基：应重视培养基各成分的来源和价格，选择来源广泛、价格低廉的原料，**降低成本**。

2.3 培养基的类型及应用

2.3.1 按成分不同划分：

- 天然培养基：由化学成分不清楚或不恒定的天然有机成分配制的培养基；
- 合成培养基（化学限定培养基）：由对化学成分完全了解的物质配制的培养基。

2.3.2 按物理状态划分：

固体培养基、半固体培养基、液体培养基。

2.3.3 按用途划分：

1. **基础培养基/基本培养基**：含有一定条件下某种微生物生长繁殖**所需基本**营养物质；

2. **完全培养基**：一定条件下含有某种微生物生长繁殖**所需所有**营养物质；

3. **富集培养基/加富培养基**：从环境中富集、**分离某种微生物**；

在普通培养基中加入某些**特殊营养物质**（如血液、血清、动植物组织液、酵母浸膏等），使目标微生物生长快、占优势。

4. **鉴别培养基**：通过特定反应的特征性变化，**鉴别**不同微生物；

5. **选择培养基**：将某种/某类微生物从微生物群体中分离；

在培养基中加入相应特殊营养物质，**抑制**不需要微生物的生长（注意和富集的区别），促进所需微生物的生长。

3. 微生物吸收营养物质的方式

3.1 单纯扩散（简单扩散，被动扩散）

- 1. 定义：物质从**高浓度**一侧通过质膜扩散到**低浓度**一侧，不需要载体、不需要能量的运输方式。
- 2. 影响因素：扩散速率与该物质的性质有关，分子量小、脂溶性、极性小的物质更易通过扩散进出细胞。

3.2 促进扩散（协助扩散、协同运输）

- 1. 定义：物质借助细胞膜上的**膜蛋白**，**顺浓度梯度**、**不消耗能量**进入膜内的一种运输方式。
- 2. 分布：多见于**真核微生物**中。

3.3 主动运输

- 1. 定义：物质沿着**逆浓度梯度**（从低浓度区移向高浓度区）的运输方式。
- 2. 能量来源：
 - 1. 协同运输中的离子梯度动力（ Na^+ -葡萄糖泵，前者驱动后者）；
 - 2. ATP驱动的泵通过ATP水解获得能量（ Na^+ - K^+ 泵）；
 - 3. 光驱动的泵利用光能运输物质（见于细菌视紫红质）。
- 3. 分类：
 - 1. **初级**主动运输：直接利用**ATP水解**的能量；
 - 2. **次级**主动运输：其能量不是来自于ATP分解，而是由**主动转运其他物质时造成的高势能**提供。

意义：是微生物细胞吸收营养物质的**主要方式**。

三者对比

吸收方式	单纯扩散	促进扩散	主动运输
顺/逆浓度梯度	顺	顺	逆
运输速率取决于	胞内外该物质浓度差 该物质的性质	胞内外该物质浓度差 载体浓度	ATP浓度 （、光、另一种物质的运输）
需要能量	否	否	是
需要载体蛋白（透过酶）	否	是	是
运输特异性	否	高度特异	高度立体专一
过程中营养物质结构发生变化	否	否	是
其他	可运送的养料 有限 （水、水溶性气体，小分子、脂溶性物质等）	养料浓度过高时，载体蛋白出现 饱和效应	相同：被运输物质不发生化学变化

3.4 基团转位

1. 定义：营养物质在运输过程中发生**化学变化**的运输方式。
2. 特点：运输过程中物质发生**化学变化**；其余特点与**主动运输**相同。
3. 分布：主要存在于厌氧和兼性厌氧菌中，主要用于单/双糖、糖的衍生物、核苷、脂肪酸的运输。
4. 机制举例：**磷酸转移酶系统**（磷酸烯醇式丙酮酸-己糖磷酸转移酶系统）

步骤：

1. 膜上热稳载体蛋白（HPr）的激活：
$$\text{PEP} + \text{HPr} \xrightarrow{\text{enzyme 1}} \text{pyruvate} + \text{P-HPr};$$
2. 糖转运入内膜表面后被磷酸化：
$$\text{saccharide} + \text{P-HPr} \xrightarrow{\text{enzyme 2}} \text{P-saccharide} + \text{HPr}.$$

3.5 膜泡运输

1. 定义：大分子颗粒物质运输时并不**直接穿过细胞膜**，而是由膜包围形成**膜泡**，通过一系列膜囊泡的形成和融合来完成转运的过程。
2. 分布：主要存在于原生动物中，特别是变形虫。

3.6 影响营养物质进入细胞的因素

- **营养物质本身性质**：相对分子质量、溶解性、电负性、极性等；
- 微生物所处的**环境**：温度、pH、离子强度、诱导物质、抑制剂等；
- 微生物细胞透过的**屏障**：原生质膜、细胞壁、荚膜、黏液层等。

4. 思考题

试比较营养物质进入微生物细胞的几种方式的特点。