# 第四章 微生物的营养

## 微生物的营养需求

### 微生物细胞的化学组成

#### 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。

#### 微生物细胞中元素的存在形式

主要以**水、无机盐、有机物**的形式存在于细胞中。

①有机物：蛋白质、糖类、脂质、核酸、维生素及其降解产物；

②无机盐：1）参与有机物组成；

2）单独以无机盐的形式存在于细胞质内。

③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%。

#### 微生物细胞化学组成的影响因素

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

①共同成分：**水、无机盐、蛋白质、糖类、脂质、核酸**等；

②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

①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。

②无机成分：

灰分测定无机成分；

测定湿重、干重、细胞含水量。

### 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。

#### 碳源的种类和功能

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：

提供合成细胞物质以及代谢产物的**原料**；

构成细胞及代谢产物的**骨架**；

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：

**无机含碳化合物**，如CO2、碳酸盐等；

**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 | C H O N X | 复杂蛋白质、核酸等 | 牛肉膏、蛋白胨、花生饼粉等 |
| C H O N | 多数氨基酸、简单蛋白质等 | 一般氨基酸、明胶等 |
| C H O | 糖类、有机酸、醇、脂类等 | 葡萄糖、蔗糖、淀粉等 |
| C H | 烃类 | 天然气、石油及其他馏分、石蜡油等 |
| 无机碳 | C | -- | -- |
| C O | CO2 | CO2 |
| C O X | NaHCO3 | NaHCO3、CaCO3等 |

#### 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：

**无机氮**：铵盐、硝酸盐、亚硝酸盐、氨等；N2（固氮微生物）等；

**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：

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**；

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、NH3等 | (NH4)2SO4等 |
| N O | 硝酸盐等 | KNO3等 |
| N | N2 |  |

#### 速效氮源与迟效氮源

①迟效氮源：蛋白氮必须水解后**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**。

②速效氮源：**无机氮源**或**蛋白质降解产物**的有机氮源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**。

#### 无机盐

①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。

②一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。

③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是多种酶的激活剂）。

#### 生长因子

①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。

②包含：**维生素、氨基酸、碱基等**。

#### 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

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。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。

#### 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。

#### 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。

#### 水的功能

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（αw）

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αw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。

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0.8；酵母菌次之；耐旱微生物水活度在0.6左右。

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=αw×100，通常使用测定蒸汽相中相对湿度的方法得到水的活度。

### 微生物的营养类型

#### 微生物营养类型的划分依据

按照生长所需要的营养物质：**自养型生物、异养型生物**；

按照生长过程中能量的来源：**光能营养型、化能营养型**。

#### 光能无机自养型（光能自养型）

①定义：以光为能源，不依赖任何有机物即可自己生长。

②特点：

能以CO2作为**主要或唯一碳源**；

进行**光合作用**获取所需的能量；

以**无机物**（H2S、S、H2等）作为供氢体或电子供体，利用光能还原CO2。

③实例：

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；

红硫细菌以H2S为电子供体，产生细胞物质，伴随S元素的产生。

④作用：在地球早期生态环境演化过程中起到重要作用。

#### 光能有机异养型（光能异养型）

①定义：以光为能源，但生长需要一定的有机营养物质。

②特点：

不能以CO2作为**主要或唯一碳源**；

以**有机物**为供氢体，利用光能还原CO2；

生长时大多需要**外源生长因子**。

③实例：部分红螺菌属细菌利用异丙醇作为供氢体，还原CO2，同时积累丙酮。

④作用：在地球早期生态环境演化过程中起到重要作用。

#### 化能无机自养型（化能自养型）

①定义：以无机物的氧化获得能量，生长不依赖有机营养物质。

②特点：

生长所需能量来自**无机物**氧化释放的**化学能**；

以**CO2或碳酸盐作为主要碳源**生长时，利用H2、H2S、Fe2+、NH3或NO2-等作为电子供体，还原CO2。

③实例：硫化细菌、硝化细菌、氢细菌、铁细菌等。

④作用：只存在于微生物中，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。**

#### 化能有机异养型（化能异养型）

①定义：以有机物的氧化获得能量，生长依赖于有机营养物质。

②特点：

生长所需能量均来自**有机物**氧化所释放的**化学能**；

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。

③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。

④分类：

**腐生型**：可利用无生命有机物（如动植物尸体）作为碳源；

**寄生型**：寄生在活的寄主体内摄取营养，离开宿主无法存活；

中间类型：**兼性腐生型、兼性寄生型**。

#### 微生物营养类型表

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 营养类型 | 电子供体 | 碳源 | 能源 | 实例 |
| 光能无机自养型 | H2S、S、H2或H2O | CO2 | 光能 | 着色细菌、蓝细菌、藻类 |
| 光能有机异养型 | 有机物 | 有机物 | 光能 | 红螺细菌 |
| 化能无机自养型 | H2、H2S、Fe2+、NH3或NO2- | CO2 | 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 | 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 |

#### 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。

## 培养基

### 基本概念

#### 培养基：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。

#### 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**。

#### 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。

### 选用和设计培养基的原则和方法

#### 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。

#### 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**，不利于微生物的生长：

营养物浓度过高：抑制微生物的生长；

营养物浓度过低：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。

#### 物理化学条件适宜（**条件适宜**）

①**pH值**

i. 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

ii. 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**

i. 微生物的生长所需水活度通常在0.60~0.99之间；

水活度αw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；

不同的微生物αw不同。

ii. αw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**

i. 微生物对氧化还原电势的要求：

好氧微生物：+0.3~+0.4V，在>+0.1V的环境中均能生长；

厌氧微生物：只能在+0.1V以下生长；

兼性厌氧微生物：+0.1V以上呼吸，+0.1V以下发酵。

ii. 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。

iii. 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。

#### 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，**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：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）；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产物；

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。

### 培养基的类型及应用

#### 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。

#### 按物理状态划分：

固体培养基、半固体培养基、液体培养基。

#### 按用途划分：

**①基础培养基/基本培养基**：一定条件下含有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加富培养基/富集培养基**：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）；

**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，促进所需微生物的生长。

## 微生物吸收营养物质的方式

### 单纯扩散（简单扩散）

#### 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。

#### 特点：

①**非特异性**营养吸收方式；

②营养物质**结构不发生变化**；

③运输**速率较慢**，速率与膜两侧营养物质**浓度差**有关；

④**不需要载体参与**，**不消耗能量**，不能进行**逆浓度**梯度运输；

⑤可运送的**养料有限**（水、水溶性气体，小分子、脂溶性物质等）。

#### 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。

### 促进扩散（协助扩散）

#### 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。

#### 特点：

①营养物质**分子结构不发生变化**；

②**不消耗能量，不能进行逆浓度梯度运输**；

③运输速率由胞内外**该物质浓度差**和**载体浓度**决定；

④需要膜上的**载体蛋白**（透过酶）协助完成；

⑤被运输物质与载体蛋白有**高度特异性**；

⑥养料浓度过高时，与载体蛋白出现**饱和效应**。

#### 分布：多见于**真核微生物**中。

### 主动运输

#### 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。

#### 特点：

①主动运输需要消耗**代谢能**；

②可以**逆浓度梯度**运输；

③需要**载体蛋白**参与；

④对被运输物质有**高度立体专一性**；

⑤被运输物质**不发生化学变化**。

#### 能量来源：

①协同运输中的**离子梯度**动力；

②**ATP驱动的泵**通过ATP水解获得能量；

③**光驱动的泵**利用光能运输物质（见于细菌）。

#### 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**。

### 基团转位

#### 定义：营养物质在运输过程中发生**化学变化**的运输方式。

#### 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。

#### 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。

#### 机制：**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热稳载体蛋白（hPr）的激活：；

②糖被磷酸化后转运入膜内：。

### 膜泡运输

#### 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。

#### 分布：主要存在于原生动物中，特别是变形虫。

### 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。