

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

- 细胞从外界环境中摄取营养物质，使其在生长过程中获取生命活动所需的能量及其结构物质的生理过程称为营养或营养作用。
- 或者说微生物的营养是微生物从环境中吸收营养物质并加以利用的过程。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.1 微生物细胞的化学组成

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

- 营养物质是微生物构成菌体细胞的基本原料；
- 也是获得能量及维持其他代谢机能物质基础；
- 微生物的吸收何种营养物质取决于细胞的化学组成；

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.1 微生物细胞的化学组成

1.1.1 微生物细胞的化学组成

- 从微生物细胞的组成:主要是水分、蛋白质、碳水化合物、脂肪、核酸和无机盐。
- 微生物细胞中元素组成来看:
干物质中碳、氮、氢、氧四种元素约占90%—97%,
还有矿质元素P、S、K、Ca、Mg、Fe、Mo、Zn、Mn、B、Co、I等。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.1微生物细胞的化学组成

微生物细胞中几种主要元素的含量（干重%）

| 元素 | 细菌 | 酵母菌 | 真菌 |
|----|-----|-----|-----|
| C | ~50 | ~50 | ~48 |
| N | ~15 | ~12 | ~5 |
| H | ~8 | ~7 | ~7 |
| O | ~20 | ~31 | ~40 |
| P | ~3 | — | — |
| S | ~1 | — | — |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.1微生物细胞的化学组成

微生物细胞的化学组成

微生物细胞中各种有机物和元素的含量(干重%)

| 成分 | 细菌 | 酵母 | 真菌 |
|-------|--------------|-------------|------------|
| 碳 | 48 (46-52) | 48 (46-52) | 48 (45-55) |
| 氮 | 12.5 (10-14) | 7.5 (6-8.5) | 6 (4-7) |
| 蛋白质 | 55 (50-60) | 40 (35-45) | 32 (25-40) |
| 糖类 | 9 (6-15) | 38 (30-45) | 49 (40-55) |
| 脂类 | 7 (5-10) | 8 (5-10) | 8 (5-10) |
| 核酸 | 23 (15-25) | 8 (5-10) | 5 (2-8) |
| 灰分 | 6 (4-10) | 6 (4-10) | 6 (4-10) |
| 磷 | 1.0-2.5 | | |
| 硫、镁 | 0.3-1.0 | | |
| 钾、钙 | 0.1-0.5 | | |
| 钠、铁 | 0.01-0.1 | | |
| 锌、铜、锰 | 0.001-0.01 | | |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能

1.1.2 营养物质及其功能

- 营养物质主要功用：

- ①供给微生物合成细胞物质的原料；

- ②用以产生能量；

- ③有的营养物如维生素主要用于调节新陈代谢。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:碳源

(1) 碳源

- 凡是构成微生物细胞和代谢产物中碳素来源的营养物称为碳源。
- 碳源既是微生物的组成成分，又是微生物的能量来源。
- 碳源：有机碳源和无机碳源两大类，糖类是最广泛利用的碳源。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:碳源

- 碳源物质在细胞内经过一系列复杂的化学变化后成为微生物自身的细胞物质(如碳水化合物、脂、蛋白质等)和代谢产物，碳可占一般细菌细胞干重的50%。
- 另外有些有毒的含碳物质如氰化物、酚等也能被某些细菌分解与利用，因而可以利用这类细菌来处理它们，以消除这些物质的毒害作用。

微生物利用的碳源物质

| 种类 | 碳源物质 | 备注 |
|-----------------|---|--|
| 糖 | 葡萄糖、果糖、麦芽糖、蔗糖、淀粉、半乳糖、甘露糖、纤维二糖、纤维素 | 单糖优于双糖，己糖优于戊糖，淀粉优于纤维素，纯多糖优于杂多糖 |
| 有机酸 | 糖酸、乳酸、柠檬酸、延胡索酸、低级脂肪酸、高级脂肪酸、氨基酸等 | 与糖类比效果较差，有机酸较难进入细胞，进入细胞后会导致pH下降。当环境中缺乏碳源物质时，氨基酸可被微生物作为碳源 |
| 醇 | 乙醇 | 低浓度条件下被某些酵母菌和醋酸菌利用 |
| 脂 | 脂肪、磷脂 | 主要利用脂肪，在特定条件下将磷脂分解为甘油和脂肪酸而加以利用 |
| 烃 | 天然气、石油、石油溜分、石蜡油等 | 微生物表面有一种由脂类组成的特殊吸收系统，可将难溶的烃充分乳化后吸收利用 |
| CO ₂ | CO ₂ | 为自养微生物所利用 |
| 碳酸盐 | NaHCO ₃ 、CaCO ₃ 、白垩 | 为自养微生物所利用 |
| 其它 | 芳香簇化合物、氰化物、蛋白质、肽、核酸等 | 微生物在环境保护方面有重要作用，当环境中缺乏碳源时，可被作为碳源降解利用 |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:氮源

(2) 氮源

- 凡是能提供微生物生长繁殖所需**氮元素**的营养源，称为氮源。占细胞干重12%。
- 氮是组成微生物**蛋白质**、**酶**和**核酸**的成分。
- 能利用的氮源种类十分广泛。空气中**分子态的氮**、**无机**和**有机氮**。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:氮源

- 无机氮源这类物质主要用来合成细胞中的含氮物质，一般不作为能源；
- 只有少数自养微生物能利用铵盐、硝酸盐同时作为氮源与能源。
- 不同种类的微生物对氮源的需要也不尽相同。
- 微生物培养时最常用的有机氮源是牛肉膏、酵母膏等，蛋白胨（部分水解蛋白质）是许多微生物良好的氮源。

表2 微生物利用的氮源物质

| 种类 | 氮源物质 | 备注 |
|--|--|---|
| 蛋白质类 | 蛋白质及其降解产物（胨、肽、氨基酸等） | 大分子蛋白质难进入细胞，一些真菌和少数细菌能分泌胞外蛋白酶，将蛋白质降解利用，而多数细菌只能利用分子质量较小的降解产物 |
| 硝酸盐 | KNO_3 等 | 容易被微生物吸收利用 |
| 氨及铵盐 | NH_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 等 | 容易被微生物吸收利用 |
| 分子氮 | N_2 | 固氮微生物可利用；当环境中存在化合态氮源，固氮微生物就失去固氮能力 |
| 其它 | 嘌呤、嘧啶、脲、胍、酰胺、氰化物 | 大肠杆菌不能以嘧啶作为唯一氮源，在氮限量的葡萄糖培养基上生长时，可通过诱导作用先合成分解嘧啶的酶，然后再分解并利用 |
| 实验室里常用的有机氮源有牛肉膏、蛋白胨、酵母膏、鱼粉、蚕蛹粉、黄豆饼粉、花生饼粉、玉米浆等。 | | |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能：氮源

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

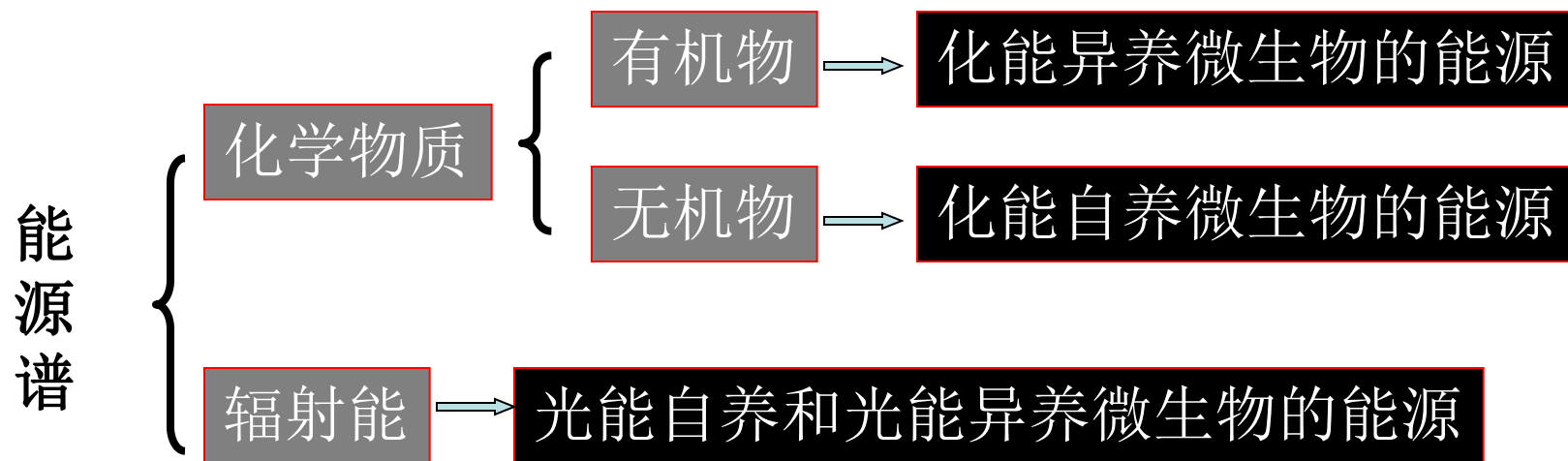
1.1.2 营养物质及其功能:能源

(3) 能 源

- 能为微生物生命活动提供能量来源的营养物或辐射能称为能源 (energy source)。

一是化学能:有机物、无机物

二是辐射能:光能



第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:无机盐

(4) 无机盐

- 占细胞干重3%-10%;
- 是微生物生长必不可少的一类营养物质;
- 生理功能:
 - 是作为酶活性中心的组成部分;
 - 维持生物大分子和细胞结构的稳定性;
 - 调节并维持细胞的渗透压平衡;
 - 控制细胞的氧化还原电位和作为某些微生物生长的能源物质等。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:无机盐

常量矿物元素($10^{-3}\sim 10^{-4}\text{mol/L}$): 包括P、S、K、Mg、Ca、Na等。

微量元素($10^{-6}\sim 10^{-8}\text{mol/L}$): 包括锌、锰、氯、钼、硒、钴、铜、钨、镍、硼等。

- 在配制培养基时，首选加入 K_2HPO_4 和 MgSO_4 ，基本时可以同时提供4种需要量最大的元素。

无机盐及其生理功能

| 元素 | 化合物形式(常用) | 生理功能 |
|----|---|---|
| 磷 | KH_2PO_4 , K_2HPO_4 | 核酸、核蛋白、磷脂、辅酶及ATP等高能分子的成分, 作为缓冲系统调节培养基pH |
| 硫 | $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Mg | 含硫氨基酸(半胱氨酸、甲硫氨酸等)、维生素的成分, 谷胱甘肽可调节胞内氧化还原电位 |
| 镁 | MgSO_4 | 己糖磷酸化酶、异柠檬酸脱氢酶、核酸聚合酶等活性中心组分, 叶绿素和细菌叶绿素成分 |
| 钙 | CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 某些酶的辅因子, 维持酶(如蛋白酶)的稳定性, 芽孢和某些孢子形成所需 |
| 钠 | NaCl | 细胞运输系统组分, 维持细胞渗透压, 维持某些酶的稳定性 |
| 钾 | KH_2PO_4 , K_2HPO_4 | 某些酶的辅因子, 维持细胞渗透压, 某些嗜盐细菌核糖体的稳定因子 |
| 铁 | Fe SO_4 | 细胞色素及某些酶的组分, 某些铁细菌的能量物质, 合成叶绿素、白喉毒素所需。 |

微量元素与生理功能

| 元素 | 生理功能 |
|----|--------------------------------------|
| 锌 | 存在于乙醇脱氢酶、乳酸脱氢酶、碱性磷酸酶、醛缩酶、RNA与DNA聚合酶中 |
| 锰 | 存在于过氧化物歧化酶、柠檬酸合成酶中 |
| 钼 | 存在于硝酸盐还原酶、固氮酶、甲酸脱氢酶中 |
| 硒 | 存在于甘氨酸还原酶、甲酸脱氢酶中 |
| 钴 | 存在于谷氨酸变位酶中 |
| 铜 | 存在于细胞色素氧化酶中 |
| 钨 | 存在于甲酸脱氢酶中 |
| 镍 | 存在于脲酶中，为氢细菌生长所必需 |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能：生长因子

(5) 生长因子

- 生长因子通常指那些微生物生长所必需且需要量很小,而且微生物自身不能合成或合成量不足以满足机体生长需要的有机化合物。
- 据生长因子的化学结构和它们在机体中的生理功能的不同,可将生长因子分为维生素(vitamin)、氨基酸与嘌呤及嘧啶三大类。
- 生长因子可以从酵母膏、玉米浆、麦芽汁、血液或血清中获得。

| |
|---------------------|
| 第3章 微生物的营养与生长 |
| 1 微生物的营养 |
| 1.1微生物细胞的化学组成与营养要素 |
| 1.1.2 营养物质及其功能:生长因子 |

若干细菌所需要的维生素

| 维生素 | 微生物的种 |
|-----------------------|-------------------------------------|
| 硫胺素(B ₁) | Bacillus anthracis(炭疽芽孢杆菌) |
| 核黄素 | Clostridium tetani(破伤风梭菌) |
| 烟酸 | Brucella abortus(流产布鲁氏杆菌) |
| 吡哆酸(B ₆) | Lactobacillus spp.(各种乳酸杆菌) |
| 生物素 | Leuconostoc mesenteroides(肠膜状明串珠菌) |
| 泛酸 | Proteus morganii(摩氏变形杆菌) |
| 叶酸 | Leuconostoc dextranicum(葡聚糖明串珠菌) |
| 钴胺酸(B ₁₂) | Lactobacillus spp. |
| 维生素K | Bacteroides melaninogenicus(产黑素拟杆菌) |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:生长因子

维生素的生理功能

| 维生素 | 转移的对象 | 代谢功能 |
|----------------------|--------|---|
| 硫胺素(B ₁) | 乙醛基 | 焦磷酸硫胺素是脱羧酶、转醛酶、转酮酶的辅基，与α-酮酸的氧化脱羧和酮基转移有关 |
| 吡哆醇(B ₆) | 氨基 | 磷酸吡哆醛是氨基酸消旋酶、转氨酶与脱羧酶的辅基，参与氨基酸的消旋、脱羧和转氨 |
| 叶酸 | 甲基 | 即辅酶F(四氢叶酸)，参与一碳基的转移，与合成嘌呤、嘧啶、核苷酸、丝氨酸和甲硫氨酸有关 |
| 维生素B ₁₂ | 羧基， 甲基 | 钴酰胺辅酶，参与一碳基的转移，与甲硫氨酸和胸苷酸有关 |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:水

(6) 水

- 水是细胞维持正常生命活动所必不可少的，一般可占细胞重量的70—90%；
- 在微生物各种各样的生理活动中必须有水参加才能进行；
- 不同微生物含水量不同。
- 不同生长阶段或不同环境含量也不同；

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:水

- 水是一种最优良的溶剂，可保证几乎一切生物化学反应的进行；
- 水可维持各种生物大分子结构的稳定性，并参与某些重要的生物化学反应；
- 水还有许多优良的物理性质，诸如高比热、高汽化热、高沸点以及固态时密度小于液态等，都是保证生命活动十分重要的特性。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 微生物细胞的化学组成与营养要素

1.1.2 营养物质及其功能:水

水生理功能主要有:

- ①起到溶剂与运输介质的作用;
- ②参与细胞内一系列化学反应;
- ③维持蛋白质、核酸等生物大分子稳定的天然构象;
- ④热的良好导体;
- ⑤通过水合作用与脱水作用控制由多亚基组成的结构

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.2 微生物的营养类型

微生物营养类型的分类

| 分 类 标 准 | 营 养 类 型 |
|---------------|---------------------------------|
| 1. 以能源分 | 光能营养型 (phototroph) |
| | 化能营养型 (chemotroph) |
| 2. 以供氢体分 | 无机营养型 (lithotroph) |
| | 有机营养型 (organotroph) |
| 3. 以碳源分 | 自养型 (autotroph) |
| | 异养型 (heterotroph) |
| 4. 以合成氨基酸能力分 | 氨基酸自养型 (amino acid autotroph) |
| | 氨基酸异养型 (amino acid hetetotroph) |
| 5. 以生长因子分 | 原养型 (prototroph) (wild type) |
| | 营养缺陷型 (auxotroph) |
| 6. 以摄食方式分 | 渗透营养型 (osmotroph) |
| | 吞噬营养型 (phagocytosis) |
| 7. 以摄取死或活有机物分 | 腐生 (saprophytism) |
| | 寄生 (parasitism) |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.2 微生物的营养类型

- 根据微生物对**碳源**的要求：

自养菌：凡能利用**无机碳**合成菌体内**有机碳**化物；

异养菌：不能利用**无机碳**而需要**有机碳**才能合成菌体内有机碳化物。

- 根据其生命活动所需**能量**的来源不同，可分为**光能营养菌**和**化能营养菌**。
- 因此，根据微生物所需的碳源和能源不同，可将微生物分为**光能自养菌、光能异养菌、化能自养菌、化能异养菌**等四类。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

根据**碳源、能源及电子供体**性质的不同可分为：

- 光能自养型：以光为能源，以**CO₂为唯一或主要碳源**，以无机物（H₂O、H₂S）氢供体，不依赖任何有机物即可正常生长。

如**蓝细菌、红硫细菌、绿硫细菌**。

- 光能异养型：以**光为能源**，生长需要**一定的有机营养**，利用**有机物作为氢供体**，还原CO₂合成细胞的有机物质。

如**红螺菌**。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

- 化能自养型:以无机物的氧化获得能量, 还原 CO_2 或碳酸盐合成有机物质, 生长不依赖有机营养物。氢供体如 H_2S 、 NH_3 等。
如硝化细菌、铁细菌、硫细菌、氢细菌等。
- 化能异养型:以有机物的氧化获得能量, 生长依赖于有机营养物质。
如大多数细菌、全部真菌和放线菌。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

微生物的四种营养类型比较

| 营养类型 | 唯一或主要碳源 | 氢供体 | 能源 | 代表菌 |
|-------|---------|--|-----|--------------------|
| 光能自养型 | 二氧化碳 | 无机物（H ₂ O、H ₂ S） | 光能 | 蓝细菌、红硫细菌、绿硫细菌 |
| 光能异养型 | 小分子有机物 | 小分子有机物 | 光能 | 红螺细菌 |
| 化能自养型 | 二氧化碳 | 无机物（H ₂ S、NH ₃ ） | 无机物 | 硝化细菌、铁细菌、硫细菌、氢细菌 |
| 化能异养型 | 有机物 | 有机物 | 有机物 | 大多数细菌、全部真菌和放线菌大肠杆菌 |

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

不同营养类型之间的界限并非绝对

异养型微生物并非绝对不能利用 CO_2 ；

自养型微生物也并非不能利用有机物进行生长；

有些微生物在不同生长条件下生长时,其营养类型也会发生改变；

例如紫色非硫细菌(**purple nonsulphur bacteria**):

没有有机物时, 同化 CO_2 , 为自养型微生物；

有机物存在时, 利用有机物进行生长, 为异养型微生物；

光照和厌氧条件下, 利用光能生长, 为光能营养型微生物；

黑暗与好氧条件下, 依靠有机物氧化产生的化学能生长, 为化能营养型微生物

微生物营养类型的可变性无疑有利于提高其对环境条件变化的适应能力

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3 微生物对营养物质的吸收

营养物质能否进入细胞取决于三个方面的因素：

①营养物质本身的性质（相对分子量、质量、溶解性、电负性等

②微生物所处的环境（温度、PH等）；

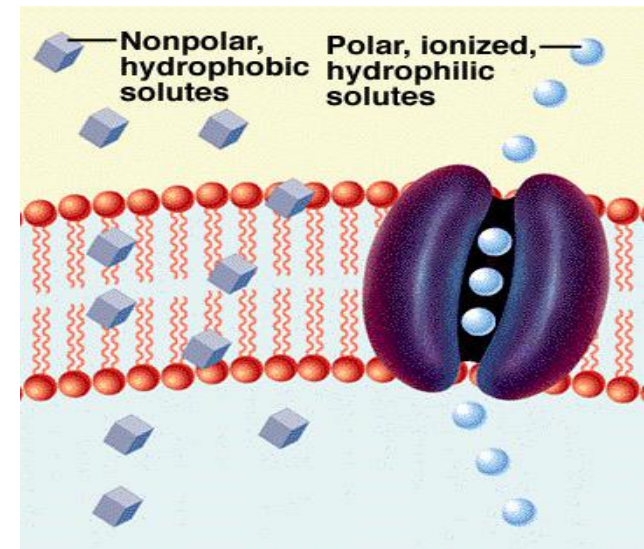
③微生物细胞的透过屏障（原生质膜、细胞壁、荚膜等）。

营养物质主要以**单纯扩散**、**促进扩散**、**主动运输**和**基团转位**四种方式通过微生物细胞膜。

| |
|-----------------|
| 第3章 微生物的营养与生长 |
| 1 微生物的营养 |
| 1.1 化学组成与营养要素 |
| 1.2 微生物的营养类型 |
| 1.3 微生物对营养物质的吸收 |

1.3.1 单纯扩散

- 指疏水性双分子层细胞膜在无载体蛋白参与下，**单纯依靠物理扩散方式**让许多小分子、非电离分子尤其是**亲水性分子被动**通过的一种物质运送方式。
- 主要有**氧、二氧化碳、乙醇和某些无机盐及某些氨基酸分子**。



特点

①物质在扩散过程中没有发生任何反应；

②不消耗能量；不能逆浓度运输；

③运输速率与膜内外物质的浓度差成正比

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3.1 单纯扩散

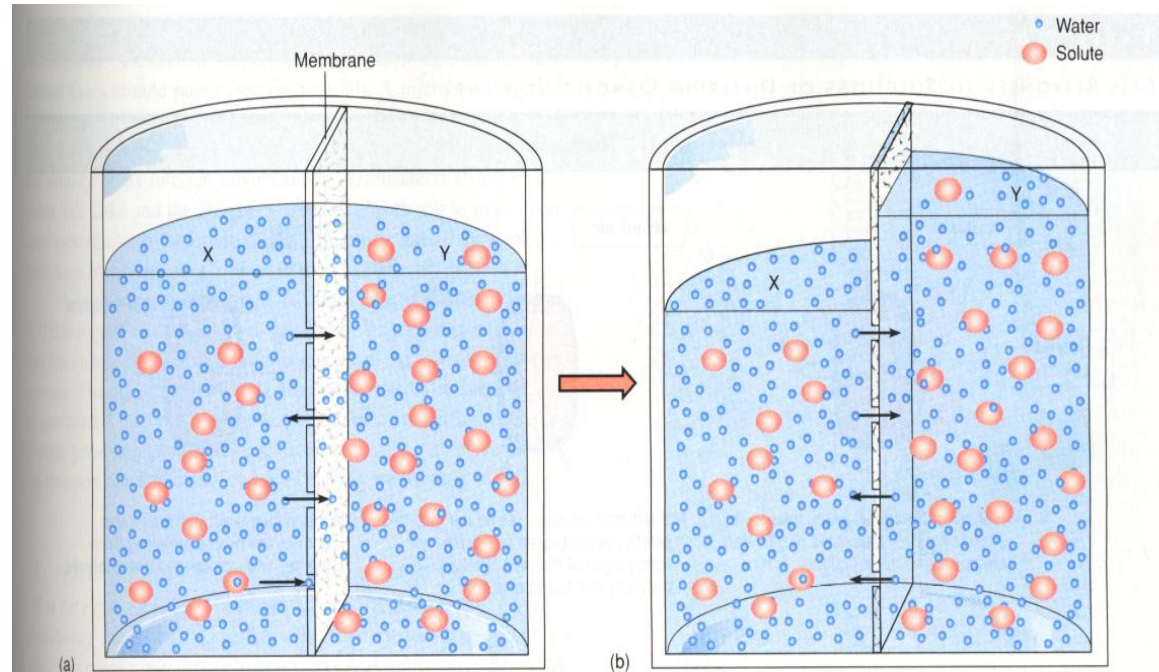


Figure 7.6

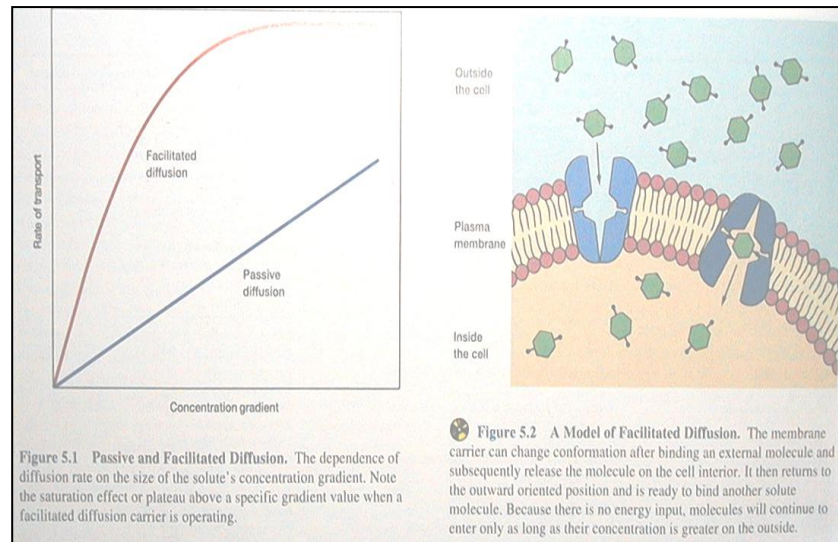
Osmosis, the diffusion of water through a selectively permeable membrane. (a) A membrane has pores that allow the ready passage of water but not large solute molecules from one side to another. Placement of this membrane between solutions of different solute concentrations (X = less concentrated and Y = more concentrated) results in a diffusion gradient for water. Water behaves according to the law of diffusion and moves across the membrane pores in both directions. Because there is more water in solution X, the opportunity for a water molecule to successfully hit and go through a pore is greater for X than for Y. The result will be a net movement of water from X to Y. (b) The level of solution on the Y side rises as water continues to diffuse in. This process will continue until equilibration occurs and the rate of diffusion of water is equal on both sides.

第3章 微生物的营养与生长

- 1.1 化学组成与营养要素
- 1.2 微生物的营养类型
- 1.3 微生物对营养物质的吸收
 - 1.3.1 单纯扩散
 - 1.3.2 促进扩散

1.3.2 促进扩散

- 指溶质在运送过程中，必须借助存在于**细胞膜上的底物特异载体蛋白（渗透酶）**的协助，但**不消耗能量**的一类扩散性运送方式。



第3章 微生物的营养与生长

- 1.1 化学组成与营养要素
- 1.2 微生物的营养类型
- 1.3 微生物对营养物质的吸收
 - 1.3.1 单纯扩散
 - 1.3.2 促进扩散

- 促进扩散与被动扩散的主要区别在于通过促进扩散进行跨膜运输的物质需要借助与**载体(carrier)的作用**才能进入细胞. 而且**每种载体只运输相应的物质**, 具有较高的**专一性**。

特点

①不消耗能量

②参与运输的物质本身的分子结构不发生变化

③不能进行逆浓度运输

④运输速率与膜内外物质的浓度差成正比

⑤需要载体参与

第3章 微生物的营养与生长

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3.1 单纯扩散

1.3.2 促进扩散

1.3.3 主动运输

1.3.3 主动运输

- 指一类须提供**能量**并通过细胞膜上**特异性载体蛋白构象**的变化，而使膜外环境中**低浓度**的溶质运入膜内的一种运送方式。

第3章 微生物的营养与生长

1.3 微生物对营养物质的吸收

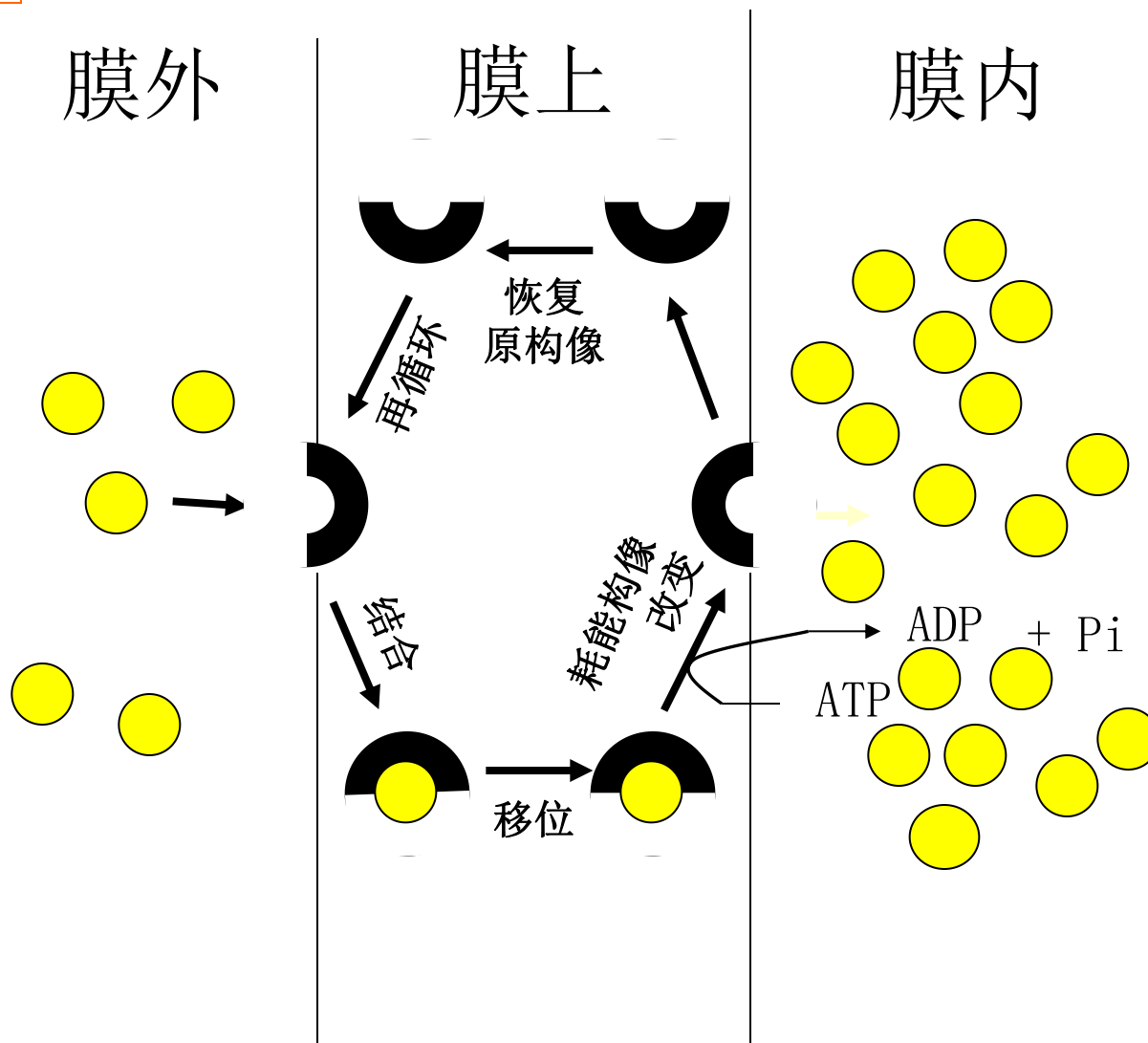
1.3.1 单纯扩散

1.3.2 促进扩散

1.3.3 主动运输

主动运输特点：

1. 被运送的物质可**逆浓度梯度**进入细胞内
2. 要**消耗能量**，必需有能量参加。
3. 有**膜载体**参加，膜载体发生**构型变化**。
4. 被运送物质不发生改变。



第3章 微生物的营养与生长

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3.1 单纯扩散

1.3.2 促进扩散

1.3.3 主动运输

- 运送对象举例：氨基酸、乳糖等糖类，**Na⁺**、**Ca²⁺**等无机离子。

第3章 微生物的营养与生长

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3.1 单纯扩散

1.3.2 促进扩散

1.3.3 主动运输

1.3.4 基团转位

1.3.4 基团转位 group translocation

- 指一类既需**特异性载体蛋白**的参与，又需**耗能**的一种物质运送方式，其特点使溶质在**运送前后还会发生分子结构的变化**，因此不同于一般的主动运送。

第3章 微生物的营养与生长

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3.1 单纯扩散

1.3.2 促进扩散

1.3.3 主动运输

1.3.4 基团转位

特点：

- ❖ 属主动运输类型
- ❖ 溶质分子发生化学修饰——定向磷酸化
- ❖ 需复杂的运输酶系参与
- ❖ 运输葡萄糖、果糖、甘露糖、嘌呤、核苷、脂肪酸等

膜对大多数磷酸化合物具有高度的不渗透性。

每输入一个葡萄糖分子，就要消耗一个ATP 的能量。

第3章 微生物的营养与生长

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3.1 单纯扩散

1.3.2 促进扩散

1.3.3 主动运输

1.3.4 基团转位

❖ 主要依赖磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)和磷酸转移酶系统(PTS)。

1. 热稳定性载体蛋白(heat stable carrier protein ,HPr) 的激活



2. 糖磷酸化后运入膜内



第3章 微生物的营养与生长

1.3 微生物对营养物质的吸收

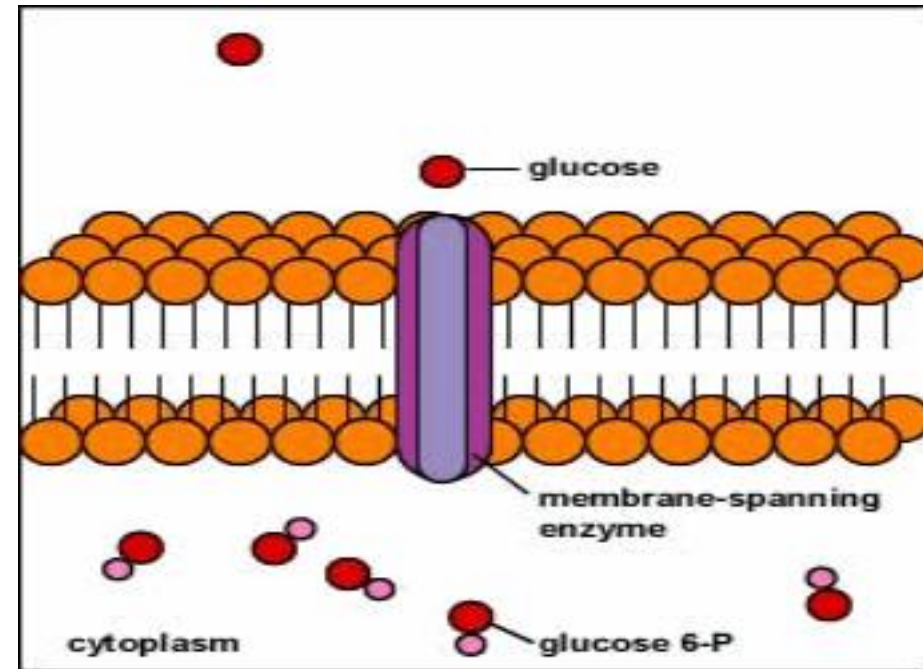
1.3.1 单纯扩散

1.3.2 促进扩散

1.3.3 主动运输

1.3.4 基团转位

- 运送对象举例：葡萄糖、果糖、甘露糖、嘌呤、核苷、脂肪酸等。
- 运送机制主要靠磷酸转移酶系统。



第3章 微生物的营养与生长

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.3.1单纯扩散

1.3.2促进扩散

1.3.3主动运输

1.3.4基团转位

四种不同运输方式的比较

| 运输方式 | 浓度 | 载体 | 耗能 | 运送分子发生变化 | 运输对象 |
|------|-----|-----|-----|----------|--|
| 单纯扩散 | 高→低 | 不需要 | 不耗能 | 不变化 | H ₂ O、CO ₂ 、O ₂ 、甘油、乙醇、少数氨基酸、盐类等 |
| 促进扩散 | 高→低 | 需要 | 不耗能 | 不变化 | SO ₄ ²⁻ 、PO ₄ ³⁻ ，糖（真核微生物） |
| 主动运输 | 低→高 | 需要 | 耗能 | 不变化 | 氨基酸、乳糖等糖类，Na ⁺ ，Ca ²⁺ 等无机因子 |
| 基团转位 | 低→高 | 需要 | 耗能 | 变化 | 葡萄糖、果糖、甘露糖、嘌呤、核苷、脂肪酸等 |

第3章 微生物的营养与生长

1.1 化学组成与营养要素

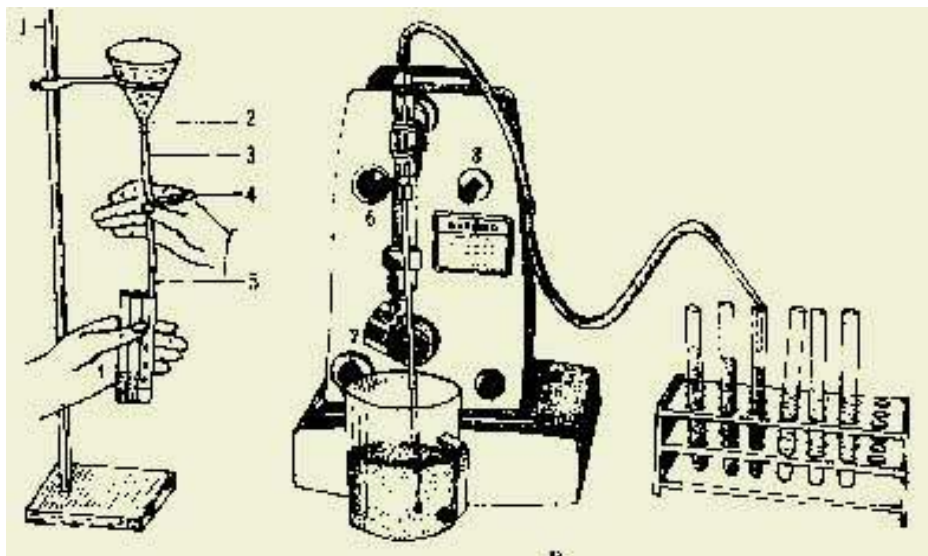
1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.4 培养基

1.4 培养基

- 培养基是人工配制的适合于微生物生长繁殖或积累代谢产物营养基质。



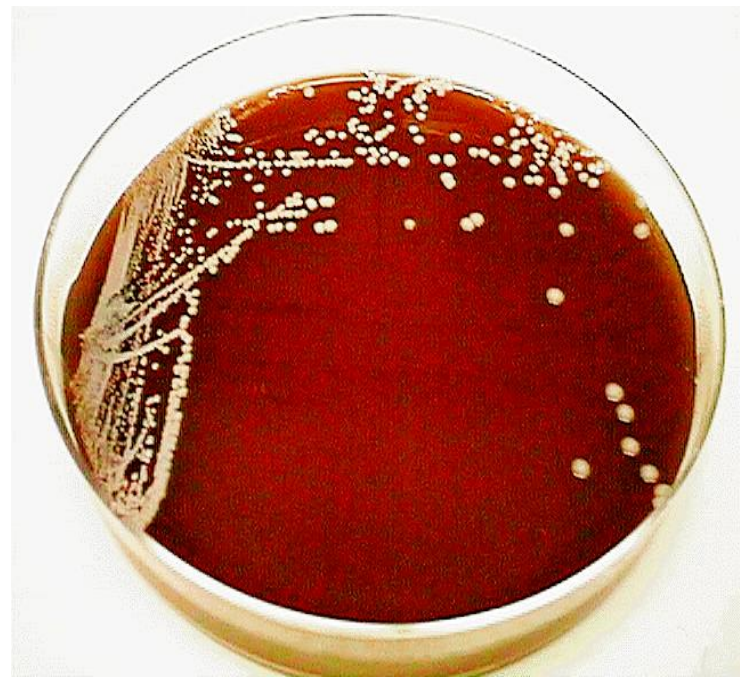
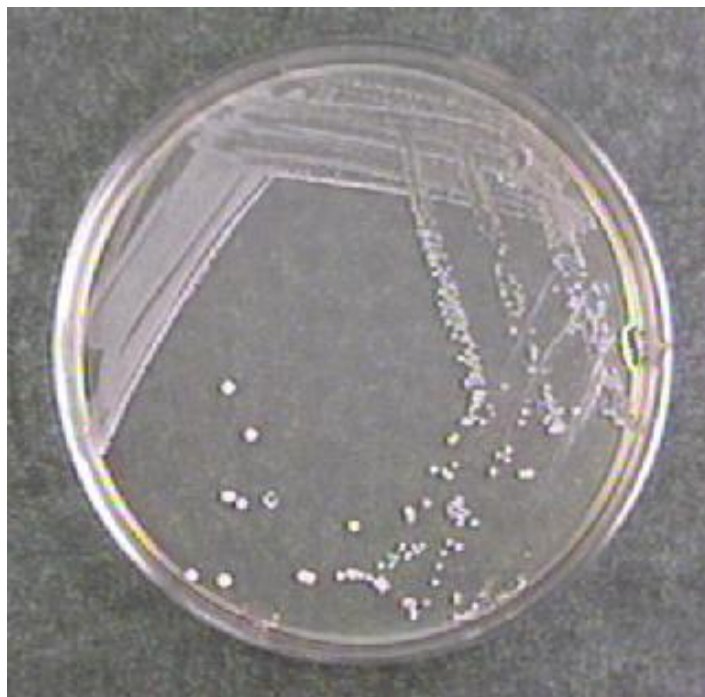
第3章 微生物的营养与生长

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.4 培养基



第3章 微生物的营养与生长

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

- 1. 目的明确：根据不同微生物的营养需要配制不同的培养基。
- 2. 营养协调：注意营养物质的浓度比和C/N比。

（C/N比是指在微生物培养基中所含的碳源中的碳原子摩尔数与氮源中的氮摩尔数之比。）

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

- 2. 营养协调：注意营养物质的浓度比和C/N比。

（C/N比是指在微生物培养基中所含的碳源中的碳原子摩尔数与氮源中的氮摩尔数之比。）

不同微生物要求不同的C/N比

为获得微生物细胞或制备“种子”培养基，C/N比低；

为积累大量生产代谢产物的发酵培养基，C/N比高；

所要代谢产物中含碳量较高，则C/N比高；

所要代谢产物中含氮量较高，则C/N比低。

例如，在利用微生物发酵生产谷氨酸的过程中，培养基碳氮比为4/1时，菌体量繁殖，谷氨酸积累少；当培养基碳氮比为3/1时，菌体繁殖受到抑制，谷氨酸产量则大量增加。

- 3. 理化适宜：调节适宜的pH值、水活度、氧化还原电位。
 - a. pH 的内源调节：借磷酸缓冲液进行调节；以碳酸钙作备用碱进行调节。

培养基的pH必须控制在一定的范围内，以满足不同类型微生物的生长繁殖或产生代谢产物。

通常培养条件：

细菌与放线菌：pH7~7.5

酵母菌和霉菌：pH4.5~6范围内生长

通常培养条件：

细菌： pH7.0~8.0

放线菌： pH7.5~8.5

酵母菌： pH3.8~6.0

霉菌： pH4.0~5.8

为了维持培养基pH的相对恒定，通常在培养基中加入pH缓冲剂，或在进行工业发酵时补加酸、碱。

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

b. 水分活度

在天然环境中，微生物可实际利用的自由水或游离水的含量，一般用在一定的温度和压力条件下，溶液的蒸汽压力与同样条件下纯水蒸汽压力之比表示，即：

$$\alpha_w = P_w / P_w^0$$

式中： P_w 代表溶液蒸汽压力，

P_w^0 代表纯水蒸汽压力。

纯水 α_w 为1.00，溶液中溶质越多， α_w 越小。

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

微生物一般在 a_w 为 0.60~0.99 的条件下生长, a_w 过低时, 微生物生长的迟缓期延长, 比生长速率和总生长量减少。微生物不同, 其生长的最适 a_w 不同。

| | | |
|----------------|-----|--|
| 微生物生长的最低 a_w | 细菌 | 一般: 0.90~0.98 |
| | | 嗜盐菌: 0.75 (约 5.5mol/L NaCl) |
| | 酵母菌 | 一般: 0.87~0.91 |
| | | 高渗酵母: 0.61~0.65 (低于饱和蔗糖液) |
| | | <i>Saccharomyces rouxii</i> (鲁氏酵母): 0.60 |
| | 霉菌 | 一般: 0.80~0.87 |
| | | 耐旱菌: 0.65~0.75 |
| | | <i>Xeromyces bisporus</i> (双孢旱霉): 0.60 |

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

c. 氧化还原电位

氧化还原电位又称氧化还原电势（redox potential），是度量某氧化还原系统中的还原剂释放电子或氧化剂接受电子趋势的一种指标，其单位是V（伏）或mV（毫伏）。

不同类型微生物生长对氧化还原电位的要求不同

好氧性微生物：+0.1伏以上时可正常生长，以+0.3~+0.4伏为宜；

厌氧性微生物：低于+0.1伏条件下生长；

兼性厌氧微生物：+0.1伏以上时进行好氧呼吸，
+0.1伏以下时进行发酵。

第3章 微生物的营养与生长

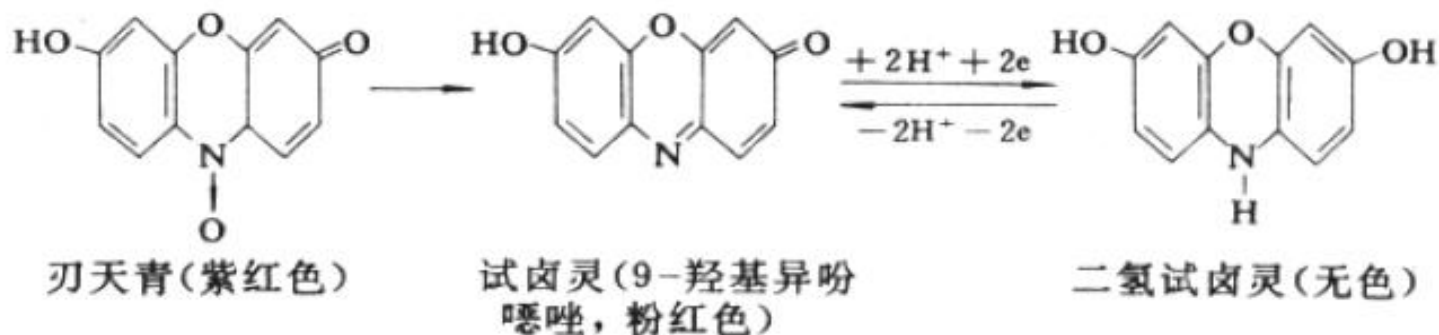
1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

氧化还原电位

增加通气量(如振荡培养、搅拌)提高培养基的氧分压,或加入氧化剂,从而增加Eh值;

在培养基中加入抗坏血酸(0.1%)、硫化氢(0.025%)、半胱氨酸(<0.05%)、谷胱甘肽、二硫苏糖醇、庖肉等还原性物质可降低Eh值。



培养基中加入氧化还原指示剂刃天青可对氧化还原电位进行间接测定

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

4. 经济节约：根据培养微生物的目的决定成分的量。以粗代精，以野代家，以废代好，以简代繁，以纤代糖，以国代进等等。

以粗代精

以野代家

以废代好

以简代繁

以氮代肼

以纤代糖

以烃代粮

以国代进

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

1.4.2 培养基的类型

合成培养基

1.4.2 培养基的类型

根据营养物质来源不同分为

- 1. 合成培养基： 由已知化学药品配成, 成分和浓度都已完全知道, 每一次配制也基本恒定。这种培养基成分精确, 重复性强, 多用于实验室, 费用较高。
- 如：高氏一号培养基（淀粉硝酸盐培养基）——放线菌
察氏培养基（蔗糖硝酸盐培养基）——真菌

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

1.4.2培养基的类型

合成培养基

高氏一号培养基：放线菌

| 组分 | 比例 | 组分 | 比例 |
|---------------------------------|-----|--------------------------------------|------|
| 可溶性淀粉 | 20 | MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.5 |
| KNO ₃ | 1 | FeSO ₄ | 0.01 |
| K ₂ HPO ₄ | 0.5 | KCl | 0.5 |
| pH 7.2-7.4 | | | |

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

1.4.2培养基的类型

合成培养基

察（查）氏培养基：真菌：霉菌

| 组分 | 比例 | 组分 | 比例 |
|---------------------------------|----|--------------------------------------|------|
| 蔗糖 | 30 | MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.5 |
| NaNO ₃ | 3 | FeSO ₄ | 0.01 |
| K ₂ HPO ₄ | 1 | KCl | 0.5 |
| pH自然 | | | |

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

1.4.2 培养基的类型

合成培养基

天然培养基

2. 天然培养基： 化学成分不完全了解或化学成分不恒定的天然有机物配制的培养基。如动植物汁液, 土壤浸出液, 等配制成培养基。配制方便, 经济。

如：牛肉膏蛋白胨培养基——细菌

麦芽汁培养基——酵母菌

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

1.4.2培养基的类型

合成培养基

天然培养基

牛肉膏蛋白胨培养基：细菌

| 组分 | 比例 | 组分 | 比例 |
|------------|----|-----|----|
| 牛肉膏 | 5 | 蛋白胨 | 10 |
| NaCl | 5 | | |
| pH 7.0-7.2 | | | |

酵母菌(麦芽汁培养基)

干麦芽粉加四倍水，在50℃-60℃保温糖化3-4小时，用碘液试验检查至糖化完全为止，调整糖液浓度为10%巴林，煮沸后，沙布过滤，调pH为6.0。

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.1 培养基配制原则

1.4.2培养基的类型

牛肉膏、蛋白胨、酵母膏的来源及主要成分

| 营养物质 | 来源 | 主要成分 |
|------|-----------------------------|--------------------------|
| 牛肉膏 | 瘦牛肉组织浸出汁浓缩而成的膏状物质 | 富含水溶性碳水化合物，有机氮化合物，维生素，盐等 |
| 蛋白胨 | 将肉，酪素或明胶用酸或蛋白酶水解后干燥而成的粉末状物质 | 富含有机氮化合物，也含有一些维生素和碳水化合物 |
| 酵母膏 | 酵母细胞的水溶性提取物浓缩而成的膏状物质 | 富含类维生素，也含有有机氮化合物和碳水化合物 |

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.2培养基的类型

合成培养基

天然培养基

半合成培养基

- 3. 半合成培养基:由成分已知的物质和成分未知的天然物质配制而成的培养基,如PDA培养基。

如: 马铃薯蔗糖培养基——真菌: 霉菌

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.2培养基的类型

根据培养基物理状态分

- A. 液体培养基:不加任何凝固剂;
- B. 半固体培养基:在液体培养基中如加0.5%琼脂,可以用来观察细胞运动的特征,鉴定菌种,测定抗菌素的效价等。
- C. 固体培养基:在液体培养基中加入凝固剂(如1.5-2.0%琼脂)。固体培养基为微生物的生长提供了一个营养表面,在这个表面生长微生物可形成单个菌落,用于微生物的分离,鉴定,计数,保管。
- D. 脱水培养基:指含有除水分以外的一切成分的商品培养基,使用时只要加入适量水分并加以灭菌即可,其成分精确且使用方便。

第3章 微生物的营养与生长

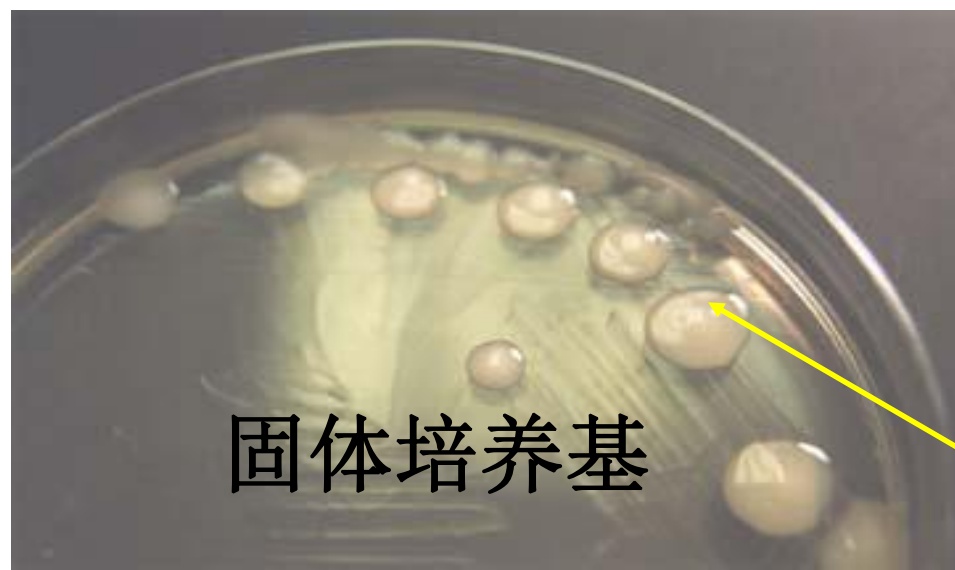
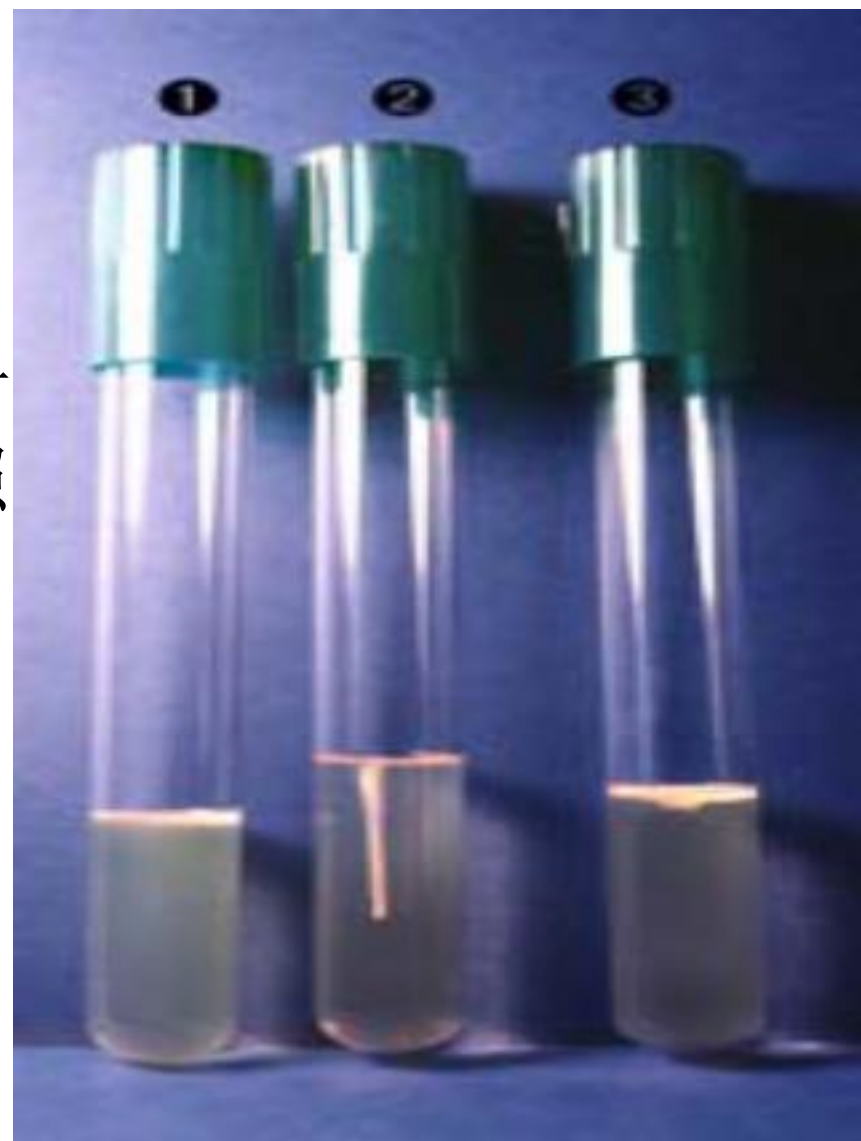
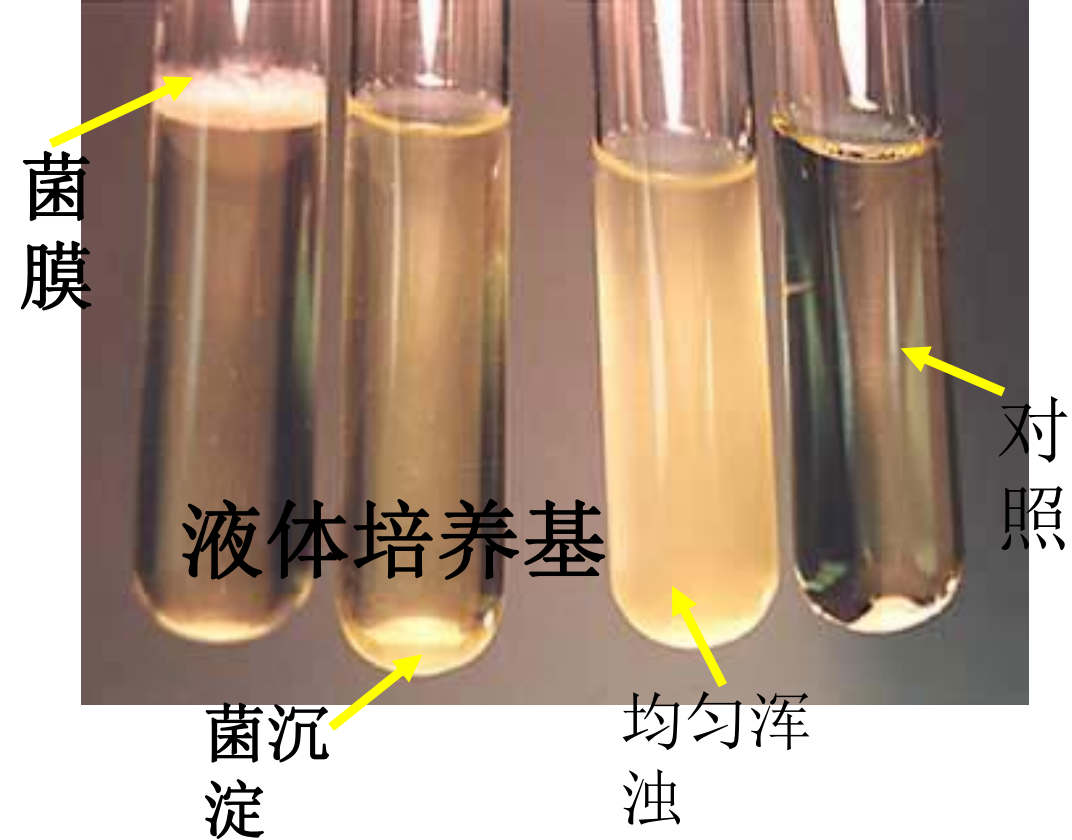
1.4 培养基

1.4.2培养基的类型

常用的凝固剂有琼脂(agar)、明胶(gelatin)和
硅胶(silica gel)

琼脂与明胶若干特性的比较

| 凝固剂 | 化学成分 | 营养价值 | 分解性 | 融化温度 | 凝固温度 | 常用浓度 | 透明度 | 黏着力 | 耐加压灭菌 |
|-----|----------|------|-----|------|------|---------|-----|-----|-------|
| 琼脂 | 聚半乳糖的硫酸酯 | 无 | 罕见 | 约96℃ | 约40℃ | 1.5%~2% | 高 | 强 | 强 |
| 明胶 | 蛋白质 | 作氮源 | 极易 | 约25℃ | 约20℃ | 5%~12% | 高 | 强 | 弱 |



半固体培养基

粘液型菌落

根据培养基的用途来分

- **基础培养基**：满足一般微生物生长繁殖所需要的营养物质。
如**牛肉膏蛋白胨培养基**
- **加富培养基**：在自然界中各种微生物通常是混杂在一起的，了解了某一些微生物的营养要求，**配制适合这种微生物生长而不适合其他微生物生长的培养基**，就达到了从自然界中分离这种微生物的目的，这种培养基就称为加富培养基。
一般常加入血、血清或动植物提取液等。

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.2培养基的类型

- 选择性培养基:根据不同的微生物对营养的特殊要求,或对物理化学条件的抗性而设计的培养基,利用这一类培养基可以把需要微生物从混杂的其他微生物分离和确定。
- 鉴别培养基:在培养基中加入某种特殊化学物质,某种微生物在培养基中生长后能产生某种代谢产物,而这种代谢产物可以与培养基中的特殊化学物质发生特定的化学反应,产生明显的特征性变化,根据这种特征性变化,可将该种微生物与其他微生物区分开来。

选择培养基(selective medium)

表 5-19 用于选择性培养基的若干抑制剂

| 选择对象 | 抑制剂及其用量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 抑 制 对 象 |
|----------|--|----------|
| 一般细菌 | 四环素 (200) | 黑曲霉, 酵母 |
| | 四环素 (100) | 酱油曲霉, 根霉 |
| | 放线菌酮 (20) | 酵母 |
| | 放线菌酮 (50) | 酱油曲霉 |
| | 放线菌酮 (100) | 根霉 |
| | 放线菌酮 (200) | 黑根霉 |
| | 真菌素 (Cubicidin) (100) | 酱油曲霉, 酵母 |
| G^+ 细菌 | 多粘菌素 B (5) | G^- 细菌 |
| G^- 细菌 | 青霉素 (1) | G^+ 细菌 |
| 乳酸菌 | 山梨酸 (0.2%, pH6) | 芽孢杆菌 |
| | 叠氮化钠 (Na_3N) (0.005%, pH7) | 曲霉 |
| | 真菌素 (20) | 酵母 |
| 肠道细菌 | 胆汁酸 (1.5~5mg/ml) | G^+ 细菌 |
| 微球菌 | 山梨酸 (0.2%) | 芽孢杆菌 |

用于选择性培养基的若干抑制剂

| | | |
|-----|--|--------------|
| 放线菌 | 放线菌酮 (50) | 霉菌 |
| | 制霉菌素 (50) | 霉菌 |
| | 丙酸钠 (4mg/ml) | 霉菌 |
| 酵母 | 丙酸钠 (0.2%) | 曲霉, 根霉, 杆菌 |
| | 丙酸钠 (0.1~0.15%) | 青霉, 微球菌, 醋酸菌 |
| | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.05%, pH3.8) | 乳酸菌, 乳链球菌 |
| | 四环素 (50) | 细菌 |
| | 氯霉素 (20) | 细菌 |
| | 链霉素 (20~100) | 细菌 |
| | 青霉素 (50) | 细菌 |
| | 金霉素 (100) | 细菌 |
| | 真菌素 (200) | 细菌 |
| 霉菌 | 氯霉素 (100) | 细菌 |
| | 青霉素 (20) | 细菌 |
| | 链霉素 (40) | 细菌 |
| | 青霉素 (100) | 细菌 |
| | 氯霉素 (50) + 放线菌酮 (10) | 细菌, 酵母 |

一些鉴别培养基

| 培养基名称 | 加入化学物质 | 微生物代谢产物 | 培养基特征性变化 | 主要用途 |
|-----------------------|---------------|------------------|------------|-----------------------|
| 伊红美蓝培养基 | 伊红、美蓝 | 酸 | 带金属光泽深紫色菌落 | 鉴别水中大肠菌群 |
| 淀粉培养基 | 可溶性淀粉 | 胞外淀粉酶 | 淀粉水解圈 | 鉴别产淀粉酶菌株 |
| 油脂培养基 | 食用油、土温、中性红指示剂 | 胞外脂肪酶 | 由淡红色变成深红色 | 鉴别产脂肪酶菌株 |
| 酪素培养基 | 酪素 | 胞外蛋白酶 | 蛋白水解圈 | 鉴别产蛋白酶菌株 |
| 明胶培养基 | 明胶 | 胞外蛋白酶 | 明胶液化 | 鉴别产蛋白酶菌株 |
| 糖发酵培养基 | 溴甲酚紫 | 乳酸、醋酸、丙酸等 | 由紫色变成黄色 | 鉴别肠道细菌 |
| 远藤氏培养基 | 碱性复红、亚硫酸钠 | 酸、乙醛 | 带金属光泽深红色菌落 | 鉴别水中大肠菌群 |
| H ₂ S试验培养基 | 醋酸铅 | H ₂ S | 产生黑色沉淀 | 鉴别产H ₂ S菌株 |

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.2培养基的类型

鉴别肠道细菌的伊红美蓝乳糖培养基

EMB(Eosin Methylene Blue)培养基中培养大肠杆菌，因其强烈分解乳糖而产生大量的混合酸，菌体带 H^+ ,故可染上酸性染料伊红，又因伊红与美蓝结合，使菌落呈深紫色。从菌落表面反光还可看到绿色金属闪光。而产酸弱的菌株的菌落呈棕色。不发酵乳酸的菌落无色透明。

第3章 微生物的营养与生长

1.4 培养基

1.4.2 培养基的类型



伊红美蓝(EMB,Eosin Methylene Blue)培养基

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.4 培养基

小 结

- 1、微生物需要大约10种大量元素，部分是用于构成碳水化合物、脂质、蛋白、核酸,几种其它元素，很少量地需要作为辅酶和辅基。
- 2、所有微生物根据它们对碳源、能量或氢原子或电子的要求都可以在营养上被归类。
- 3、营养分子不能通过被动扩散持续穿过细胞质膜，它们必须被三种主动运输机制中的一种进行运输。
- 4、培养基在实验室培养微生物是需要的，在微生物鉴定，水质鉴定，食品的分析中都需要分离特定的微生物，因此，为了不同的目的常需要不同的培养基。

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

1.1 化学组成与营养要素

1.2 微生物的营养类型

1.3 微生物对营养物质的吸收

1.4 培养基

复习思考题

- 1. 什么是碳源、氮源？什么是生长因子？
- 2. 什么是自养微生物？它们有几种主要生理类型？举例说明
- 3. 什么是基团转移？试述其分子机制。
- 4. 什么是选择性培养基？试举一例并分析其中的原理。
- 5. 什么是鉴别性培养基？
- 6. 何谓固体培养基？

2. 微生物的生长

第3章 微生物的营养与生长

1 微生物的营养

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

个体生长→个体繁殖→群体生长

群体生长=个体生长+个体繁殖

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

2.2 微生物生长量的测定

微生物生长的测定：

个体计数

群体重量测定

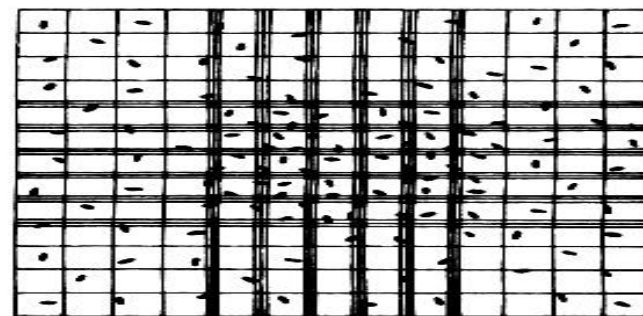
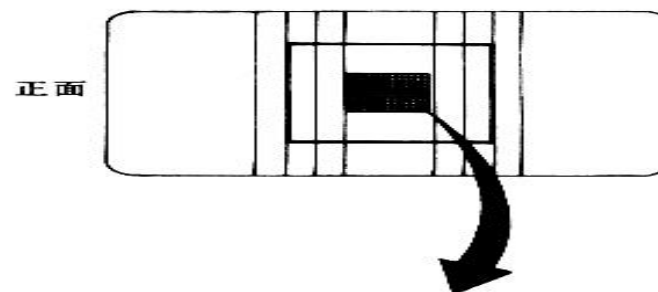
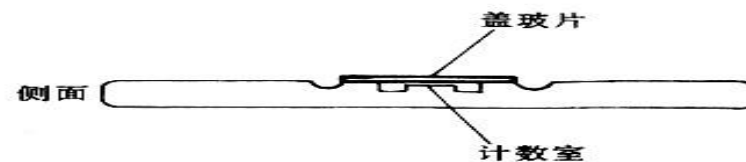
群体生理指标测定

- 2.2.1 血球计数板法测总菌数
- 2.2.2 稀释平板测数法
- 2.2.3 离心法和过滤法称干重
- 2.2.4 比浊法测浊度
- 2.2.5 其它方法
 - 含氮量测定法
 - DNA含量测定法
 - 其他生理指标法

各种型号的全自动血球计数仪



2.2.1 血球计数板



计数区的结构

一类:总细胞计数法

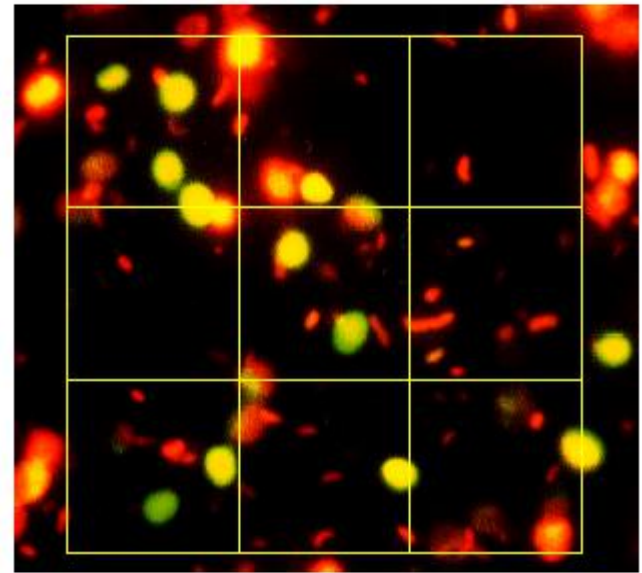
第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

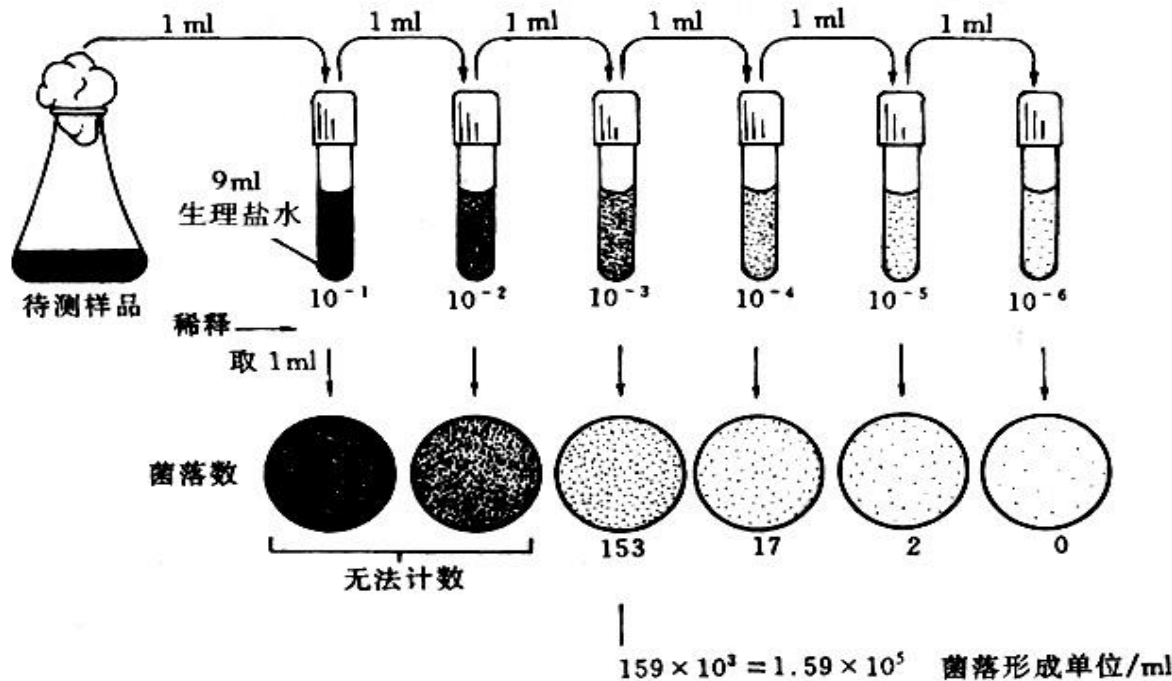
2.2 微生物生长量的测定

2) 薄膜过滤丫叮橙染色荧光镜检法



总细胞计数法

2.2.2 活菌计数的一般步骤



一个菌落可能是多个细胞一起形成，所以在科研中一般用菌落形成单位（colony forming units, CFU）来表示，而不是直接表示为细胞数。

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

培养平板计数法：广泛用于各种样品的检测

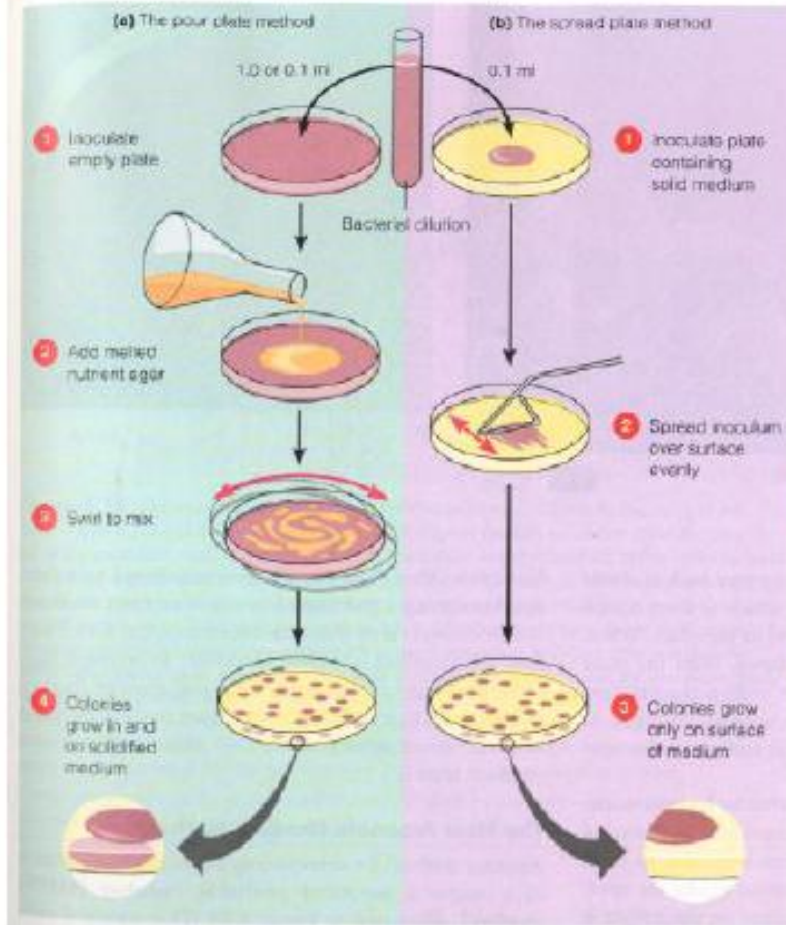


Figure 6.16 Methods of preparing plates for plate counts.

How do pour plates and spread plates differ?

方法：（1）涂布法（菌长在表面）
（2）倾注法（菌长在表面和基内）

优点：常用、较准确、可对不同种微生物做活菌计数。

缺点：时间长、人为误差大，有机械损伤。

膜过滤培养法

当样品中菌数很低时，可以将一定体积的湖水、海水或饮用水等样品通过膜过滤器，然后将膜转到相应的培养基上进行培养，对形成的菌落进行统计。

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.

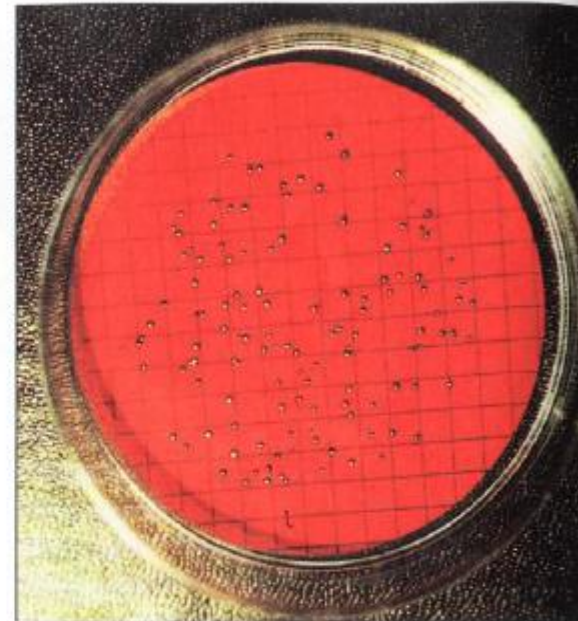
Bacteria can be counted by filtration when their quantity is very small.



(a)

SEM

2 μ m



(b)

液体法

将待测样品做系列稀释，培养后，根据没生长的最低稀释度和出现生长的最高稀释度，应用“或然率”理论，计算出样品单位体积中细胞的近似值。最高稀释度称为临界级数，从3~5次重复的临界级数求最大概率数(MPN)，就可得到较可靠的结果。

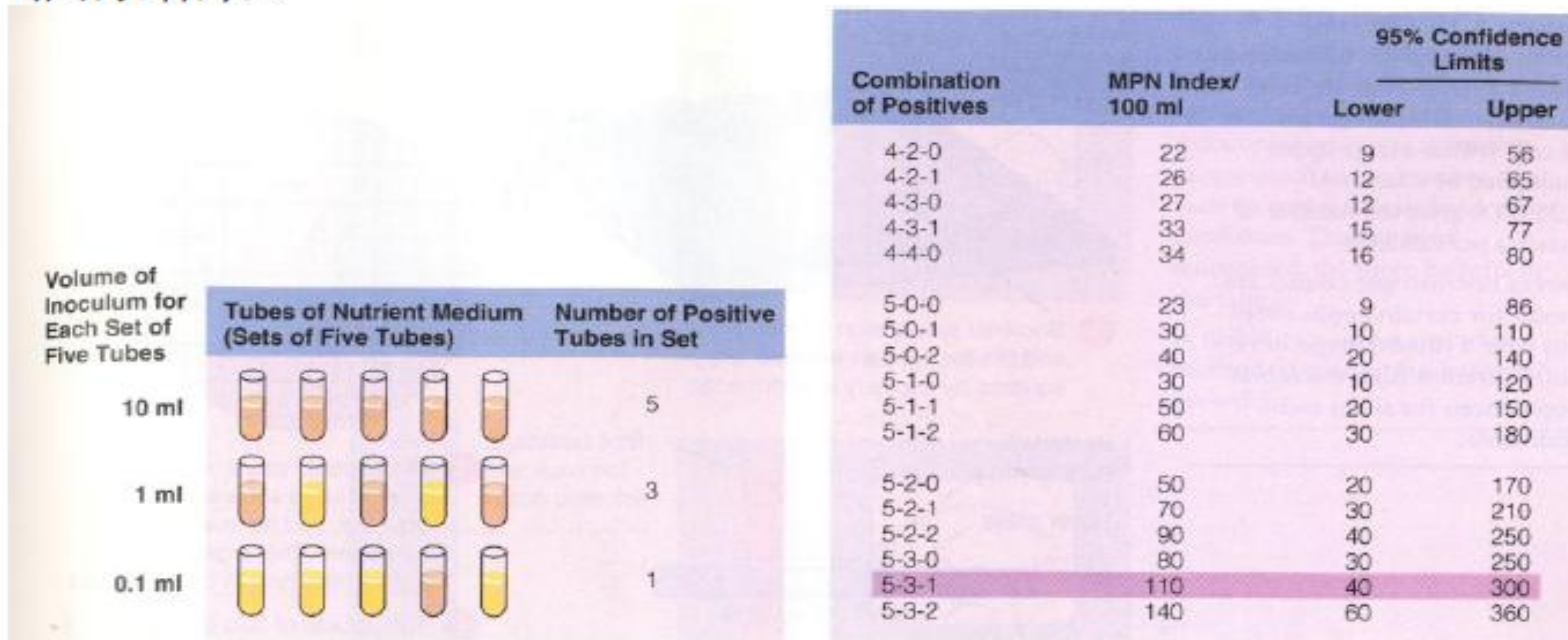


Figure 6.18 The most probable number (MPN) method. In this example, there are three sets of tubes and five tubes in each set. Each tube in the first set of five tubes receives 10 l

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

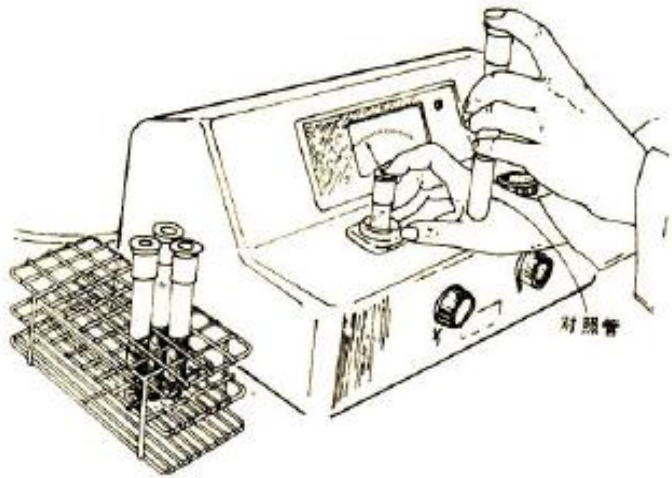
2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

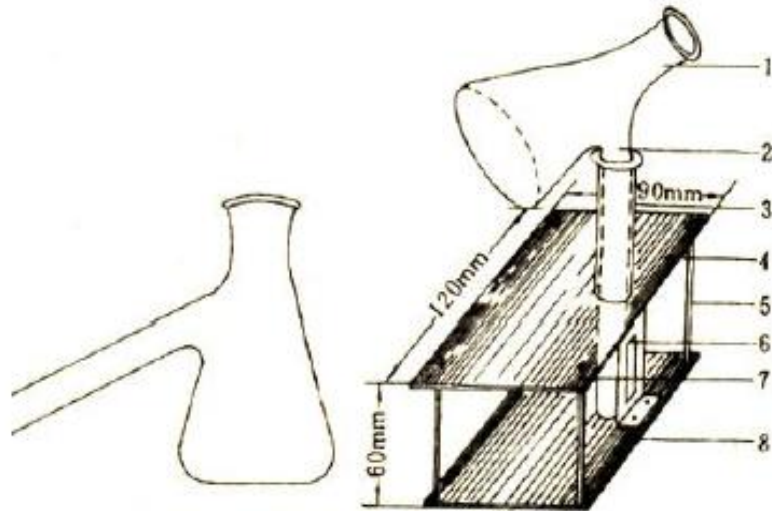
以生物量为指标测定微生物的生长

1、比浊法

根据在一定的浓度范围内，菌悬液的微生物细胞浓度与液体的光密度成正比，与透光度成反比。菌数越多，透光量越低。可使用光电比色计测定，通过测定菌悬液的光密度或透光率反映细胞的浓度。菌悬液浓度必须在 10^7 个/毫升以上。



图VIII-6 直接用试管测OD值



第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

以生物量为指标测定微生物的生长

2、重量法

- ✦ 以干重、湿重直接衡量微生物群体的生物量；
- ✦ 通过样品中蛋白质、核酸含量的测定间接推算微生物群体的生物量；

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

以生物量为指标测定微生物的生长

3、生理指标法

微生物的生理指标，如呼吸强度，耗氧量、酶活性、生物热等与其群体的规模成正相关。

常用于对微生物的快速鉴定与检测

- 2 微生物的生长
 - 2.1 微生物生长的概念
 - 2.2微生物生长量的测定

微生物生长测定方法比较

| 方法 | | 特点与应用 |
|--------|---------|--------------------------------------|
| 测定细胞数目 | 总细胞数 | |
| | 血球计数板法 | 较快速简便，但较费时 |
| | 薄膜过滤染色法 | 快速简便，适于含菌数很低的空气、水等中的总菌计数 |
| | 活细胞数 | |
| 测定物质质量 | 平皿菌落计数法 | 简易价廉，但花费时间较长，不能立刻知道结果 |
| | 薄膜过滤平皿法 | 灵敏度高,不用于高密度培养物，不能立刻知道结果 |
| | 细胞湿重法 | 较为简便，但含水量不定，准确度差 |
| | 细胞干重法 | 较为费时，易受颗粒杂质干扰，敏感度低 |
| 比浊法 | 细胞成分含量法 | 如测定蛋白质、核酸、还原糖的含量等 |
| | | 快速简便，敏感度低，适于不发酵液或液体中的快速总细胞数估计，但需事先标定 |

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

2.3 微生物的群体生长规律

2.3 微生物的群体生长规律

- 多数细菌的繁殖速度很快。大肠杆菌在适宜的条件下繁殖48h，其子代总重可达 $2.2 \times 10^{31} \text{g}$ ，这是一个巨大的数字。然而，实际情况是不可能的。
- 那么，细菌的群体生长规律到底怎样呢？

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

2.3 微生物的群体生长规律

2.3.1 微生物的典型生长曲线

- 生长曲线:以培养时间为横坐标,以细胞数目的对数或生长速度为纵坐标作图,可以得到一条曲线。

第3章 微生物的营养与生长

2 微生物的生长

2.1 微生物生长的概念

2.2 微生物生长量的测定

2.3 微生物的群体生长规律

微生物的典型生长曲线(growth curve)

- 根据微生物的生长速率常数的不同，可将生长曲线大致分为四个时期：

I. 延滞期

II. 指数期

III. 稳定期

IV. 衰亡期

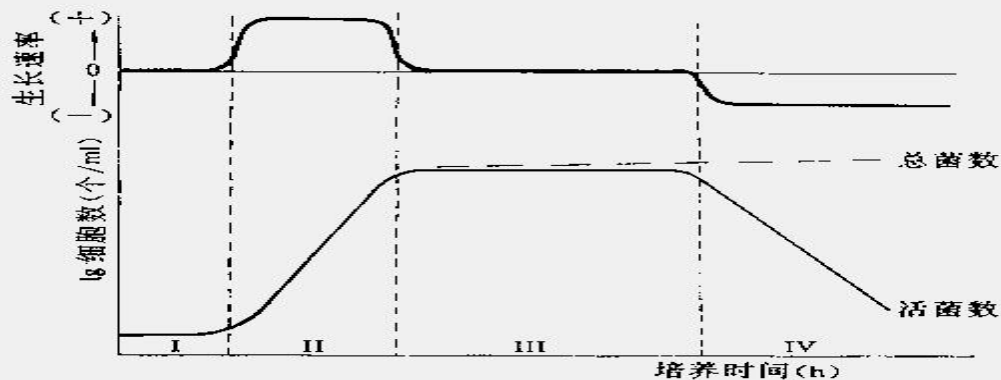


图 7-4 典型生长曲线

(I. 延滞期, II. 指数期, III. 稳定期, IV. 衰亡期)

延滞期

指数期

稳定期

衰亡期

(1) 延滞期(lag phase)

- 延滞期的特点:

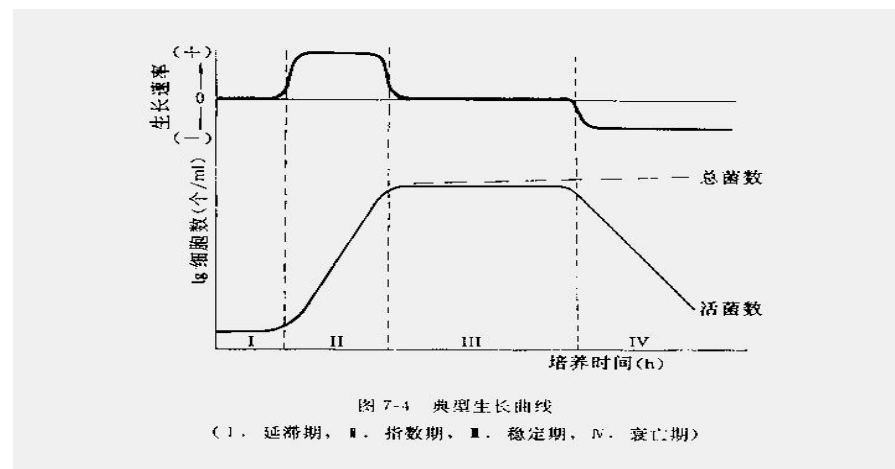
细胞分裂迟缓, 生长速率常数为零;

细胞形态变大或增长 (巨大芽孢杆菌长度由3.4 μm 增长到9.1-19.8 μm , 细胞质均匀, 贮藏物质消失;

细胞内的DNA含量增高;

合成代谢十分活跃, 核糖体、酶类和ATP合成加速, 易产诱导酶;

对外界不良环境反应 (高温、低温和高浓度盐溶液及抗生素) 敏感。



2.3 微生物的群体生长规律

延滞期

指数期

稳定期

衰亡期

- 延滞期出现的原因

细胞需要合成多种酶，辅酶和某些中间代谢产物，因此要经历一个调整和适应过程。

- 影响延滞期长短的因素

1. 菌种特性； 2. 接种龄； 3. 接种量； 4. 培养基成分

- 缩短延滞期的方法

1. 接种对数生长期的菌种，采用最适菌龄；

2. 加大接种量； **3%-8%**

3. 用营养丰富的天然培养基等。

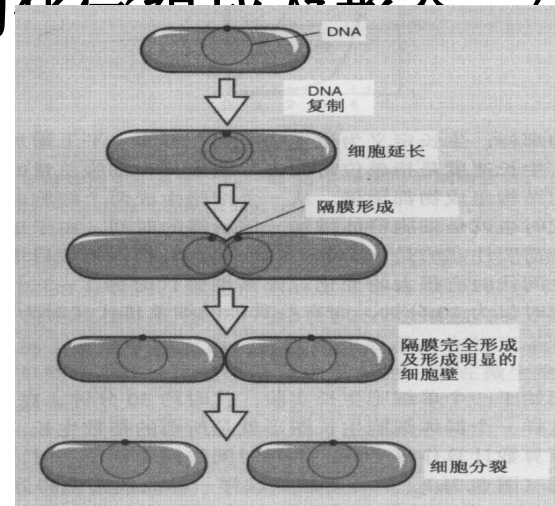
2.3 微生物的群体生长规律

- 延滞期
- 指数期
- 稳定期
- 衰亡期

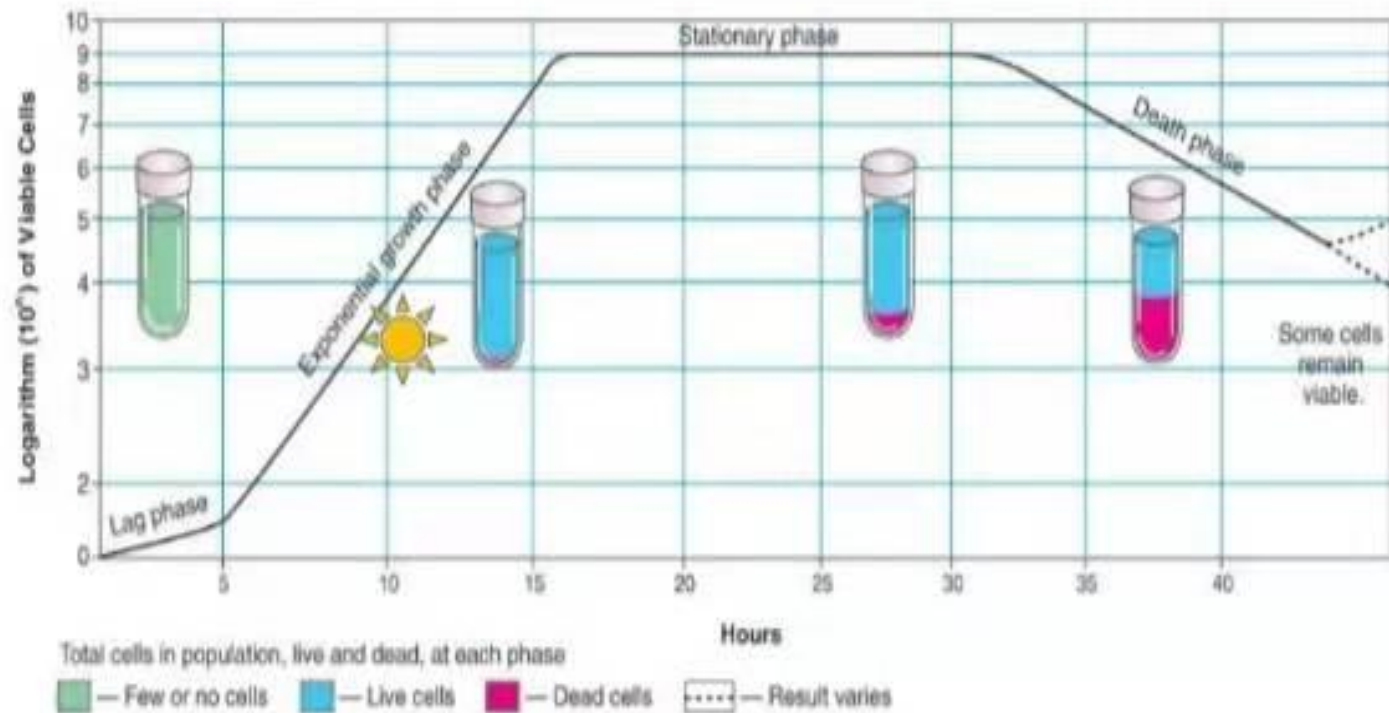
(2) 指数期 (logarithmic phase)

- 指数期的特点

1. 活菌数和总菌数接近
2. 生长速率常数最大，代时(**G**)最短
3. 细胞进行平衡生长，细胞的化学组成及形态、生理特性比较一致
4. 酶系活跃，代谢旺盛



②对数期 (logarithmic phase)：又称为指数期，紧接着延滞期的一段时期，细胞数以几何级数增长。



特点

- ◆ 细胞生长速率常数 R 最大，分裂最快，代时短，代谢旺盛，菌体数目以几何级数增加；
- ◆ 群体形态与生理特征最一致，抗不良环境的能力强。

n 如何计算，菌数增殖如何计算？

R 即生长速率常数= $n / (t_2 - t_1)$ ， n 为繁殖代数

细胞每分裂一次的时间 $G = (t_2 - t_1) / n = 1/R$ 。

应用：常用实验材料；发酵生产的良好种子；增殖噬菌体的最适宿主。

影响微生物对数期代时长短的主要因素

- 菌种：不同菌种差别极大；
- 营养成分：同一种菌，营养丰富，代时短；
- 培养温度：有明显的影响，对发酵实践、食品保藏和夏天防范食物变质和食物中毒等有重要的参考价值。

大肠杆菌在不同温度下的代时

| 温度℃ | 代时 (min) | 温度℃ | 代时 (min) |
|-----|----------|------|----------|
| 10 | 860 | 35 | 22 |
| 15 | 120 | 40 | 17.5 |
| 20 | 90 | 45 | 20 |
| 25 | 40 | 47.5 | 77 |
| 30 | 29 | | |

最简单的计算菌数方法

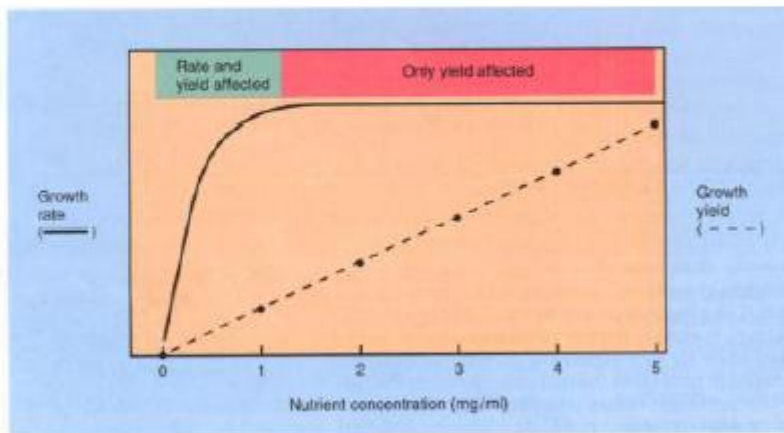
$$N_f = (N_i)2^n$$

- 例子：如果鸡蛋沙拉三明治中有金黄色葡萄球菌，那么放在保温车中4 h后，能生产多少个细胞 (N_f)？假设 $N_i=10$ ， $G=20$ min
- $n=4 \times 60/20=12$
- $N_f=10 \times 2^{12}=$

(计算过程必须有)

影响指数期微生物代时长短的因素

- 1) 菌种，不同的微生物及微生物的不同菌株代时不同；
- 2) 营养成分，在营养丰富的培养基中生长代时短；
- 3) 营养物浓度，在一定范围内，生长速率与营养物浓度呈正比；



凡是处于较低浓度范围内，可影响生长速率的营养物成分，就称为**生长限制因子**。

- 4) 温度，在一定范围，生长速率与培养温度呈正相关。

生长限制因子: 凡处于较低浓度范围内可影响生长速率和菌体产量的某营养物。

2.3 微生物的群体生长规律
延滞期
指数期
稳定期
衰亡期

(3) 稳定期 (stationary phase)

稳定期的特点:

- 生长速率常数 R 等于零, 活菌数达到最高峰, 并保持相对稳定;
- 细胞分裂速度降低, 代时逐渐延长, 细胞代谢活力减退, 开始出现形态和生理特征改变;
- 细胞内开始积累贮藏物质, 如肝糖粒、异染颗粒、脂肪粒等;
- 微生物细胞内代谢物积累达到最高峰, 这是产物 (菌体或与菌体生长相平行的代谢产物) 的最佳收获时期;
- 延长稳定期可以获得更多的菌体物质或代谢产物;
- 芽孢杆菌这时开始形成芽孢。

2.3 微生物的群体生长规律

延滞期

指数期

稳定期

衰亡期

稳定期到来的原因:

- 营养物尤其是生长限制因子的耗尽;
- 营养物的比例失调, 如C/N;
- 有害代谢产物的积累, 如酸、醇、毒素或 H_2O_2 等;
- pH值、 E_h 值等理化条件不适宜。

(4) 衰亡期 (decline phase)

- 衰亡期的特点

1. 微生物死亡数大于增殖数，活菌数大大减少，群体衰落；
2. 细胞出现多形态，大小不等的畸形，变成衰退型；
3. 因蛋白水解酶活力增强导致细胞菌体死亡，出现自溶现象；
4. 有的微生物在此期合成或释放次生代谢物；
5. 有此致G⁺细菌染色反应变为阴性；
6. 芽孢杆菌在此期释放芽孢。

2.3 微生物的群体生长规律

延滞期

指数期

稳定期

衰亡期

产生衰亡期的原因

- 主要是外界环境对细菌细胞继续生长越来越不利，从而引起细胞内的分解代谢明显超过合成代谢，继而导致大量菌体死亡。
- 发酵工业中，利用此期细胞积累或释放一些代谢产物的特点，可根据不同需要适时加以收集。

2.3 微生物的群体生长规律

延滞期

指数期

稳定期

衰亡期

研究生长曲线对研究工作和生产实践有何指导意义？

- 1、研究细菌的代谢和遗传，提供对数期的细胞；
- 2、对数期细菌作为种子用于发酵工业，几乎不出现迟缓期，控制延长对数数期，可在短时间内获得大量菌体和代谢产物，缩短发酵周期，提高生产效率。