

第六章 微生物的生长及其控制

个体生长：一个微生物细胞，如果同化作用的速度超过了异化作用，则其原生质的总量(重量、体积、大小)就不断增加，称此为个体生长。

个体繁殖：对单细胞微生物来说，就是个体数目的增加。

个体生长 ——> 个体繁殖 ——> 群体生长

(群体生长=个体生长+个体繁殖)

第一节 测定生长繁殖的方法

一、测生长量：

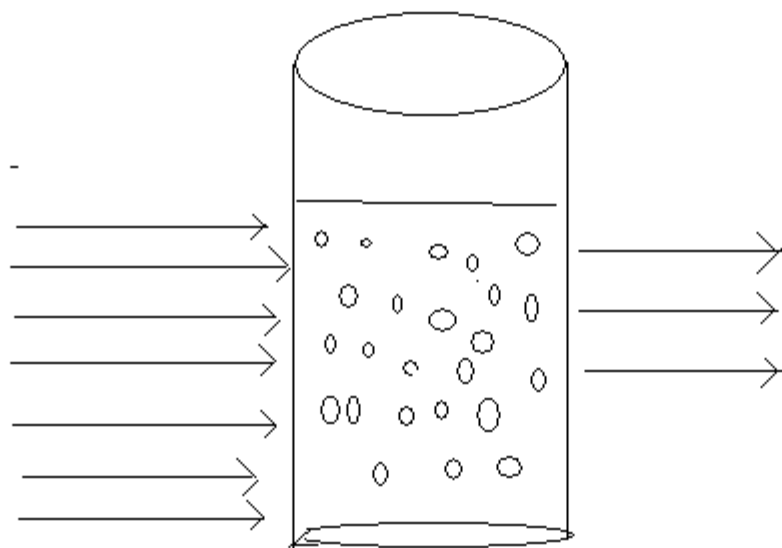
(一)、直接法：粗放——测体积法；
精确——称干重法

(二)、间接法：

1、比浊法：分光光度法测微生物悬液 

2、生理指标法：与微生物生长量相平行的生理指标很多

1)、测物质含量：含氮量、含碳量、磷含量、DNA、RNA、ATP、DAP、几丁质等 



细胞浓度与透光度成反比



氮为干重的百分比

细菌——12.5%

酵母菌——7.5%

霉菌——6.5%

含N量*6.25=粗蛋白含量

2)、测产酸、产气、耗氧等

二、计算繁殖数：

单细胞微生物：细胞个数；

多细胞微生物：孢子数

(一)、直接法：(总数)

血球计数板---酵母菌

细菌计数板---细菌

(二)、间接法(活菌数)

平板菌落计数法：涂布平板法
浇注平板法

菌落形成单位 (cfu)：把稀释后的一定量菌样通过浇注或涂布的方法，让其内的微生物单细胞一一分散在琼脂平板上（内），待培养后，每一活细胞就形成一个单菌落，此即菌落形成单位。

第二节 微生物的生长规律

二、单细胞微生物的典型生长曲线

生长曲线：它是描述液体培养基中微生物群体生长规律的实验曲线。

典型生长曲线：它是描述液体培养基中单细胞微生物群体生长规律的实验曲线。

典型生长曲线分：I---延滞期；

II---指数期；

III---稳定期；

IV---衰亡期；

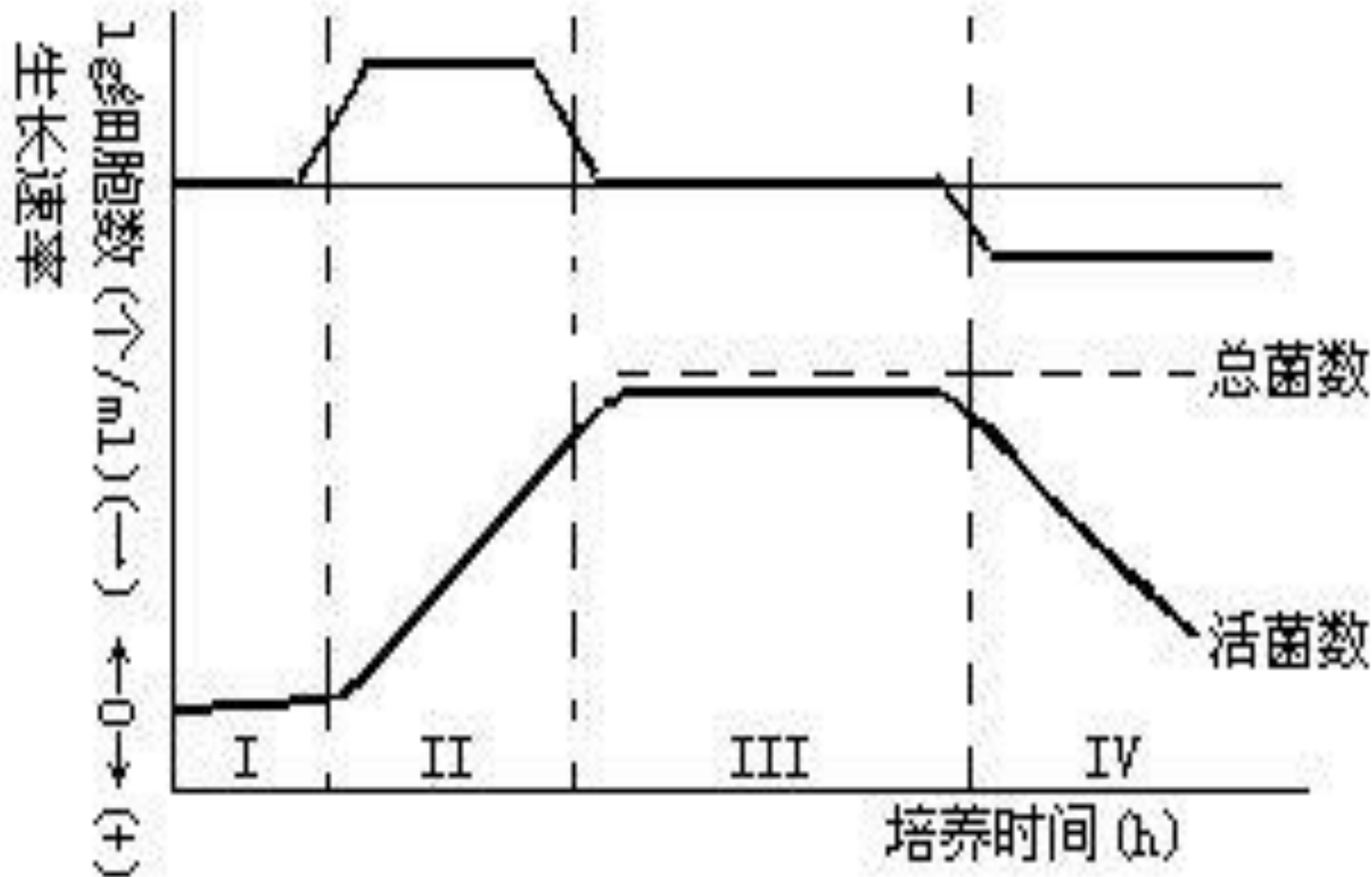


图 7-4 典型生长曲线

(I. 延滞期, II. 指数期, III. 稳定期, IV. 衰亡期)

(一)、延滞期：单细胞微生物接种到新鲜培养液后，有一段时间个数不增加的时期。

特点：

- 1、生长速率常数为零（每小时分裂的次数为生长速率常数）**
- 2、细胞变大或增长**
- 3、细胞内RNA增加**
- 4、合成代谢活跃**
- 5、对外界不良环境敏感（易变异）**

影响延滞期长短的因素

1、菌种

2、接种龄：(对数期<稳定期<延滞期、衰亡期)

3、接种量：接种量越大，延滞期越短(种子：发酵培养基=1：10)

4、培养基的成分：营养越丰富，延滞期越短。

延滞期产生的原因：

1、缺乏诱导酶

2、缺乏代谢中间产物

(二)、指数期：在生长曲线中，紧接着延滞期的一段细胞个数以几何级数增长的时期。

特点： 1、 生长速率常数(R)最大；代时最小。

2、 $G(\text{代时})=1/R$ (细胞每分裂一次所需的时间为代时)

3、 细胞进行平衡生长

4、 酶系活跃

影响代时长短的因素：

- 1、菌种：
 - 大肠杆菌---12.5-17分钟；
 - 枯草芽孢杆菌---26-32分钟；
 - 结核分枝杆菌---792-932分钟
- 2、营养成分：营养越丰富，代时越短。
 - 大肠杆菌：牛奶—12.5分钟
 - 肉汤—17分钟

3、营养物浓度：

0.1—2.0mg/ml：生长速率和生长总量均受影响。

2.0—8.0mg/ml：生长速率不受影响，生长总量受影响。

>8.0mg/ml：生长速率和生长总量均不受影响。

**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。**

**4、培养温度：发酵时采用最适温度
防腐、防霉采用不适温度**

对数期微生物的优点：生理特性一致；

细胞各成分平衡生长；

生长速率恒定；

应用：用于生理、生化研究；

噬菌体最适宿主；

发酵工业中用作种子；

(三)、稳定期：处于新繁殖的细胞数与衰亡的细胞数相等，或正生长与负生长相等的动态平衡之中。

特点：1、R为零

2、生长产量常数最大（生长得率）

$$Y=X-X_0/C_0-C=X-X_0/C_0$$

(产黄青霉，以葡萄糖为限制因子 $Y=1/2.56$)

3、积累内含物：糖原、异染颗粒、脂肪

4、形成芽孢

5、合成次生代谢产物

稳定期到来的原因：

营养物尤其是生长限制因子耗尽；

营养物比例失调；

有害代谢产物的积累；

理化条件不适。

对生产实践的指导意义：

- 1、某些产物的最佳收获期：生产菌体或与菌体生长相平行的代谢产物。
- 2、某些物质进行生物测定的最佳时期：氨基酸、维生素等。
- 3、促使连续培养原理、工艺、技术的创建。

(四)、衰亡期：微生物的个体死亡速度超过新生速度，整个群体呈负生长状态。

特点：R为负值

细胞形态多形性

有的自溶

产生抗生素等次生代谢产物

释放芽孢(产芽孢的菌)

衰亡期产生的原因：外界环境对微生物继续生长越来越不利。



第三节 影响微生物生长的主要因素

一、温度

生长温度三基点：最低；最适；最高；

最适生长温度：某菌分裂代时最短或生长速率最高时的培养温度。

最适生长温度 \neq 一切生理过程最适温度

二、氧气

- 1、专性好氧菌：必须在有氧条件下生存。
- 2、兼性厌氧菌：有氧——有氧呼吸；无氧——无氧呼吸、发酵
- 3、微好氧菌：在较低氧分压下才能生长的微生物。（有氧呼吸产能）
- 4、耐氧菌：不需氧，但能在有氧条件下生存（发酵产能）
- 5、厌氧菌：一般厌氧菌；专性厌氧菌

厌氧菌的特点：

分子氧对其有毒（厌氧机制）

细胞内缺乏SOD(超氧化物歧化酶)和过氧化氢酶



性质不稳定

化学反应力极强

破坏生物大分子物质

破坏细胞膜



三、PH: 表示水溶液中氢离子浓度的负对数值。

PH-----

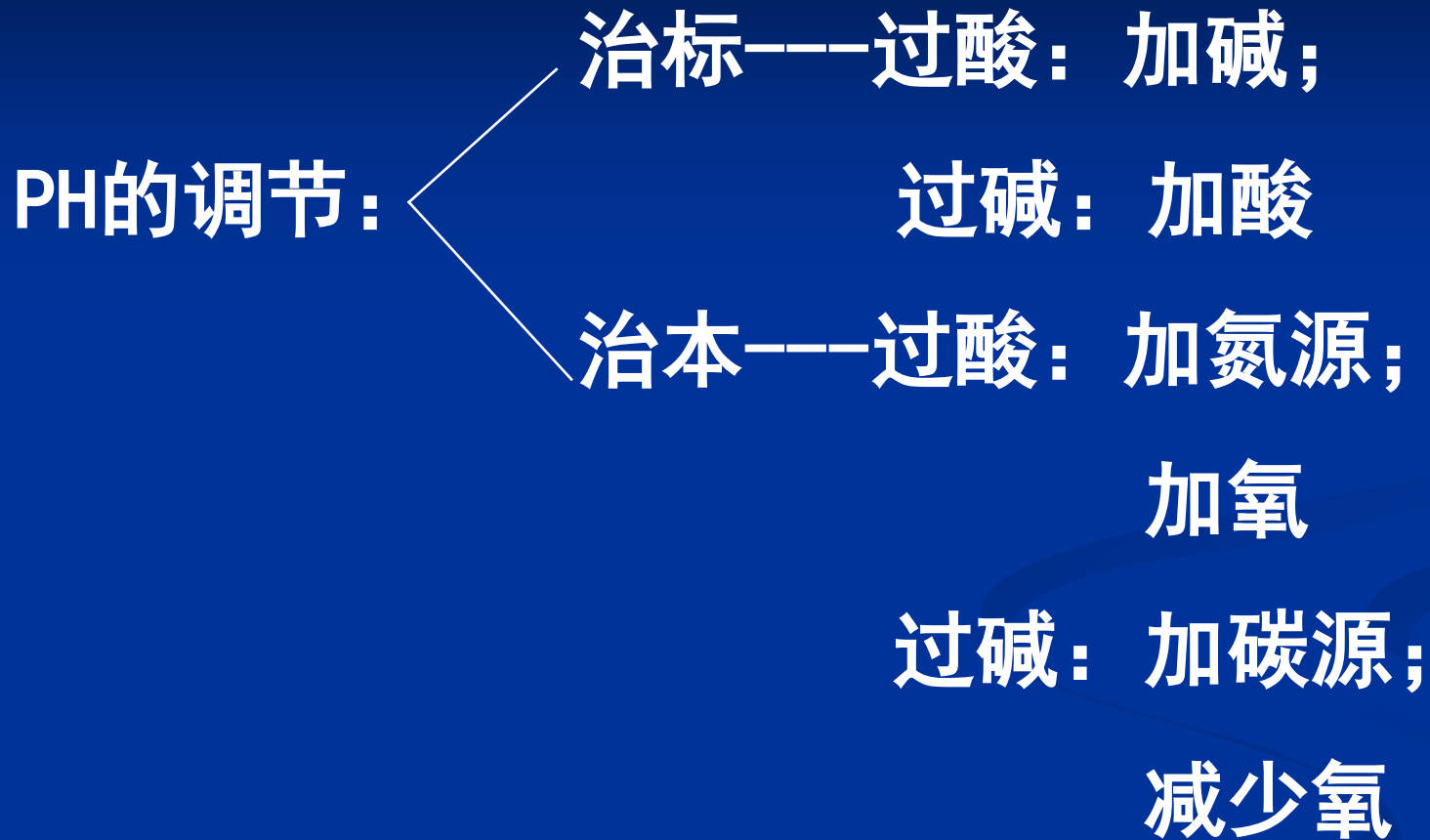
最低

最适: 细菌(7.2—7.6); 放线菌
(7.0—8.0); 酵母菌(4.0—
5.8); 霉菌(3.8—6.0)

最高

(黑曲霉: 生长—2.5-6.5; 合成柠檬酸—
2.0-2.5; 合成草酸---7)

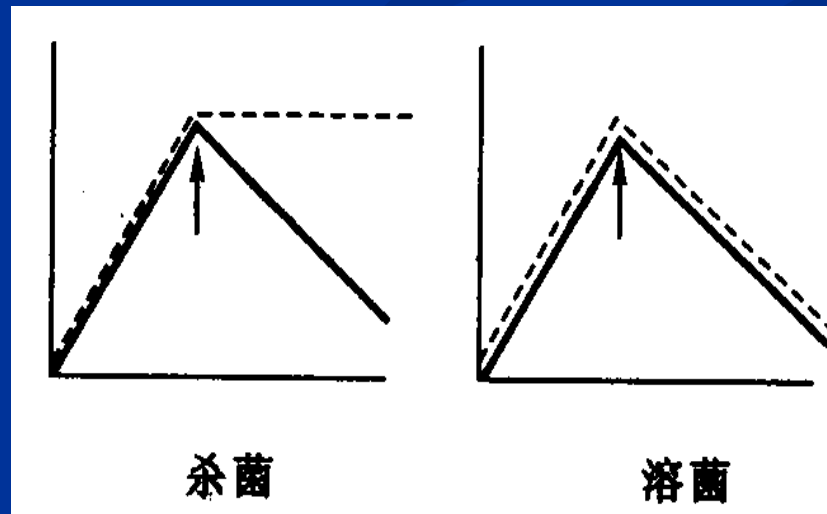
微生物在代谢过程中，会改变培养基的PH



第五节 有害微生物的控制

一、几个基本概念

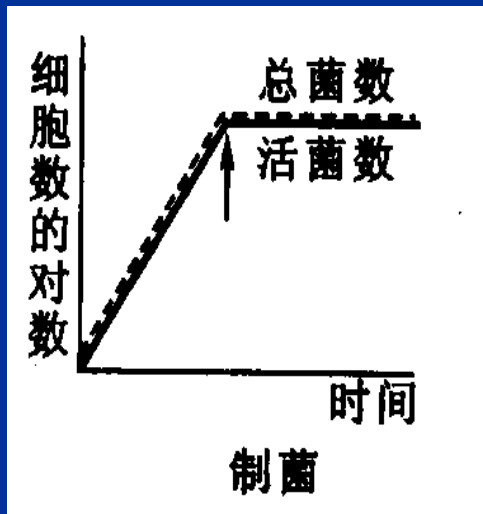
1、灭菌：采用强烈的理化因素使任何物体内外部的所有微生物永远丧失其生长繁殖能力的措施，称为灭菌。（杀菌；溶菌）



2、消毒：是一种采用较温和的理化因素，仅杀死物体表面或内部一部分对人体或动、植物有害的病原微生物，而对被消毒的对象基本无害的措施。

3、防腐：就是采用某种理化因素完全抑制霉腐微生物生长繁殖，即通过制菌作用防止食品、生物制品等对象发生霉腐的措施。

(低温、缺氧、干燥、高渗、高酸度、高醇度、防腐剂)



4、化疗(化学治疗)：是指利用具有高选择毒力即对病原微生物具有高度毒力而对其宿主基本无毒的化学物质来抑制宿主内的病原微生物的生长、繁殖，借以达到治疗该宿主传染病的一种措施。

化学治疗剂：用于化学治疗目的的化学物质。

(化学合成药、抗生素、生物药物素、中草药)

二、物理灭菌因素的代表-----高温

(一)、高温灭菌的种类

1、干热灭菌法：

干烤法：电热烘箱(150—170⁰C、1-2小时)

灼烧法：

灭菌原理：破坏细胞膜

蛋白质变性

原生质干燥

细胞成分氧化变质

2、湿热灭菌法：

同等温度、时间湿热灭菌效果更好的原因：

湿热穿透力强；

破坏蛋白质的氢键。

1)、常压法：巴氏消毒法

I、巴氏消毒法：是一种专用于牛奶、啤酒、果酒或酱油等不宜进行高温灭菌的液态风味食品或调料的低温消毒方法，以其发明者巴斯德命名。

低温维持法 (LTH) : 60°C 30分钟;

高温瞬时法 (HTST) : 72°C 15秒;

II、煮沸法(100⁰C 5—10分钟)

III、间歇灭菌法(80—100⁰C 15-60分

37⁰C过夜 重复三次)

2)、加压法:

I、加压(高压)蒸汽灭菌法

(0.1013Mpa、121⁰C、15—30分钟)

II、连续蒸汽灭菌法

(135—140⁰C 5—15秒)

(二)、影响加压蒸汽灭菌效果的因素

1、灭菌物体含菌量

2、灭菌锅内空气排除程度

3、灭菌对象PH(<6.0 易死

>6.0—8.0 不易死)

4、灭菌对象的体积

5、加热、散热的速度

三、化学杀菌剂、消毒剂和治疗剂

(一) 表面消毒剂：是指对一切活细胞都有毒性，不能用作活细胞或机体内治疗用的化学药剂。

特性：对一切活细胞都有毒性。(外用)

种类、作用机制和应用范围： p179表6-10

(三)、抗生素

1、定义：是一类由微生物或其它生物生命活动过程中合成的次生代谢产物或其它人工衍生物，它们在很低浓度时就能抑制或干扰它种生物的生命活动。

2、种类、制菌谱

制菌谱(抗菌谱): 抗生素的抗(制)菌范围。

窄谱抗生素---青霉素、红霉素(G^+ 菌)

链霉素、新霉素(G^- 菌)

庆大霉素、万古霉素(G^+ 菌、 G^- 菌)

广谱抗生素---氯霉素、四环素(G^+ 菌、 G^- 菌、立克次氏体、衣原体)

- 1、典型生长曲线各期的特点及生产上的意义。
- 2、影响微生物生长的主要因素。
- 3、概念：灭菌、消毒、防腐、化疗；巴氏消毒法。
- 4、下列曲线代表的意义。

