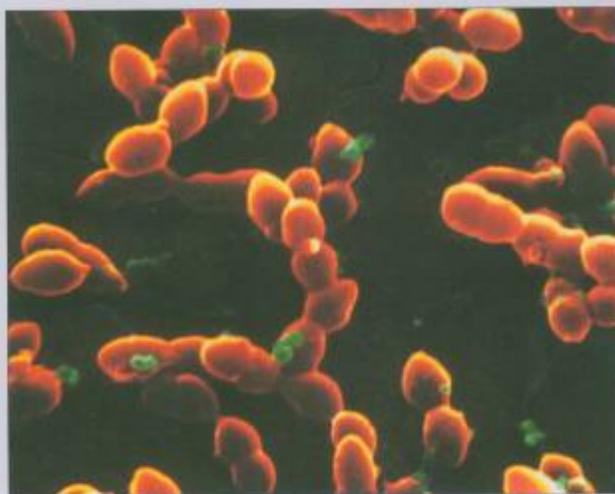




# 山东农业大学微生物学课程



# 微生物学教程

(第二版)

周德庆

 高等教育出版社  
HIGHER EDUCATION PRESS

# 山东农业大学生命科学学院



# 第六章

# 微生物的生长及其控制





# 第一节 测定生长繁殖的方法





## 生长 (growth):

微生物在适宜的条件下，不断从周围环境中吸收营养物质转化为构成细胞物质的组分和结构，使个体细胞质量增加和体积增加，称为生长。

## 繁殖 (reproduction):

细胞个体数目的增加称为繁殖。





# 个体和群体的关系

个体生长:

个体繁殖:

群体生长:

群体生长 = 个体生长 + 个体繁殖

微生物学中提到的生长，一般指群体生长。





# 一、测生长量

➤ 以**数量**变化对微生物生长情况进行测定

1. 培养平板计数法
2. 膜过滤培养法
3. 显微镜直接计数法

➤ 以**生物量**为指标测定微生物的生长

1. 比浊法
2. 重量法
3. 生理指标法





# 1. 平板菌落计数法

最常用的一种方法。常用来测定牛奶、食品、水及其它材料中的含菌数。

有些细菌如无法在固体培养基中生长或其他原因，可用液体稀释法，借助统计学来判断其活菌数。通过查 **MPN (Most Probable Number)** 来测知样品中活菌的可能数目。



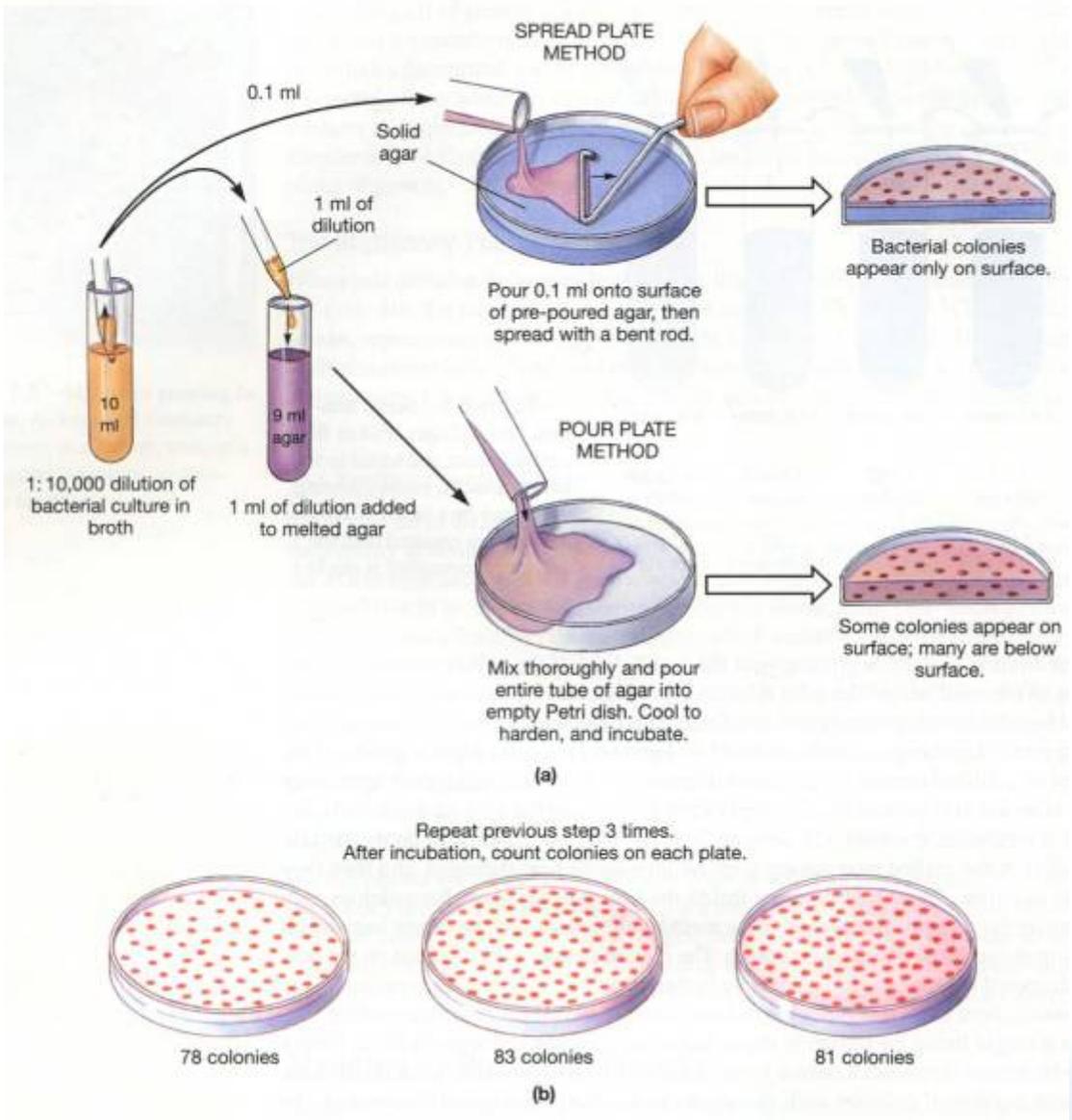


# 涂布平板法

使用较多的常规方法，但有时涂布不均匀！

# 稀释倒平板法

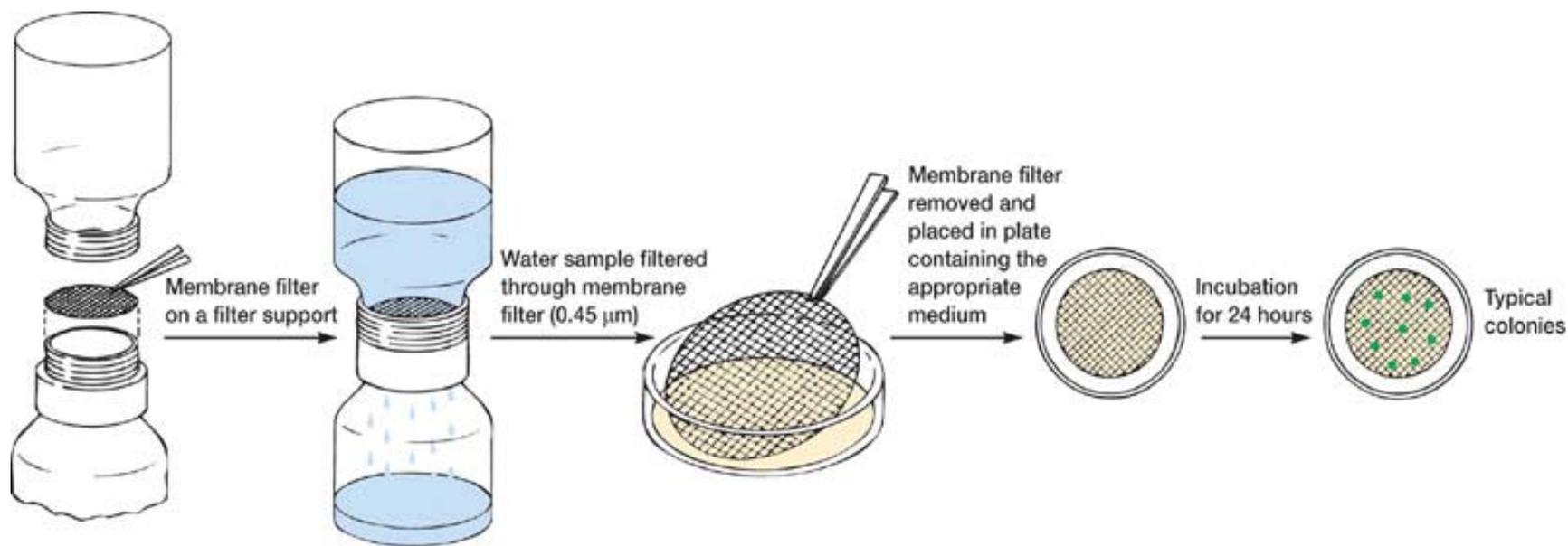
操作较麻烦，对好氧菌、热敏感菌效果不好！





## 2. 膜过滤培养法

菌数低的样品（如水） → 膜过滤 → 培养 → 菌落计数



### 3. 显微镜直接计数法

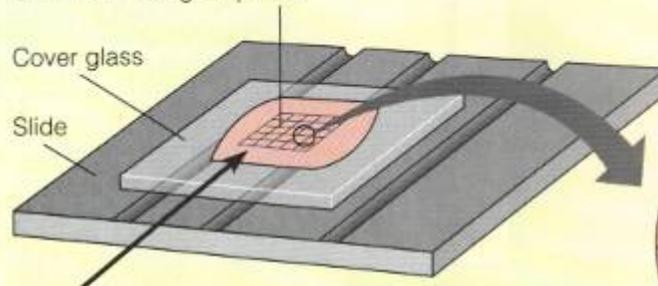
**Figure 6.19** Direct microscopic count of bacteria with a Petroff-Hausser cell counter. The average number of cells within a large square multiplied by a factor of 1,250,000 gives the number of bacteria per milliliter.

Direct microscopic counts are useful for certain applications but have a disadvantage of requiring rather high microbial populations for them to be countable.

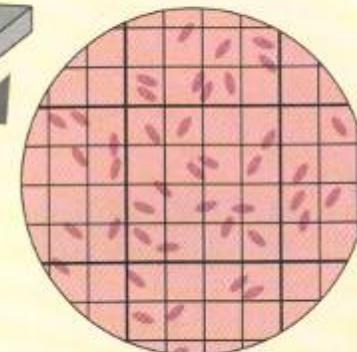
Grid with 25 large squares

Cover glass

Slide



- 1 Bacterial suspension is added here and fills the shallow well over the squares by capillary action.

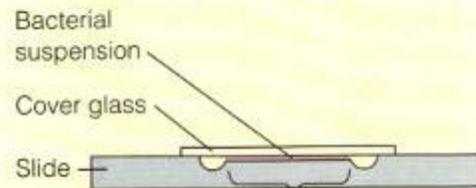


Bacterial suspension

Cover glass

Slide

Location of squares



- 2 Cross section of a cell counter. The depth under the cover glass is known, and the area of the squares is known, so the volume of the bacterial suspension over the squares can be calculated (depth x area).

- 3 Microscopic count: All cells in several large squares are counted, and the numbers are averaged. The large square shown here has 14 bacterial cells.

- 4 The volume of fluid over the large square is  $1/1,250,000$  of a milliliter. If it contains 14 cells, as shown here, then there are 14 times 1,250,000 (17,500,000) cells in a milliliter.

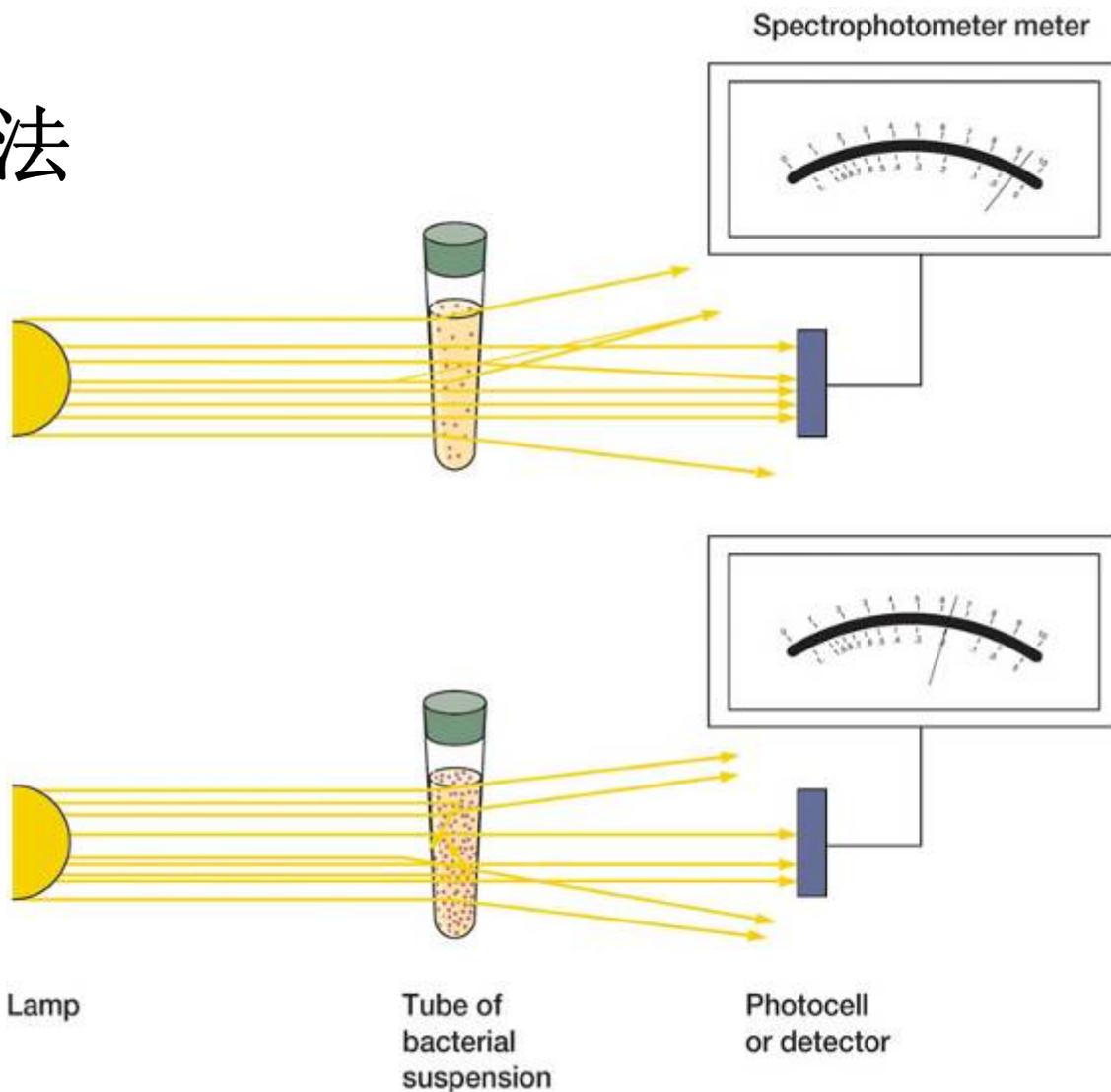


## 缺点：

- ① 不能区分死菌与活菌
- ② 不适于对运动细菌的计数
- ③ 需要相对高的细菌浓度
- ④ 个体小的细菌在显微镜下难以观察



# 4. 比浊法



Lamp

Tube of  
bacterial  
suspension

Photocell  
or detector

Spectrophotometer meter



## 5. 重量法

将单位体积培养液中的菌体，用清水洗净，然后放入干燥器内加热或减压干燥，最后测定其干重。一般来说，干重约为湿重的**10~20%**，即  
 $1\text{mg干菌} = 5\sim 10\text{mg湿菌} = 4\sim 5 \times 10^9$ 个菌体。





## 6.氮量法(生理指标法)

微生物细胞的含氮量一般比较稳定，所以常作为生长量的指标。如细菌含氮量约为菌体干重的14%。含氮量乘以6.25即可粗测出其蛋白质含量。

### 其他方法

测定耗氧量或其它代谢产物。





## 第二节 微生物的生长规律



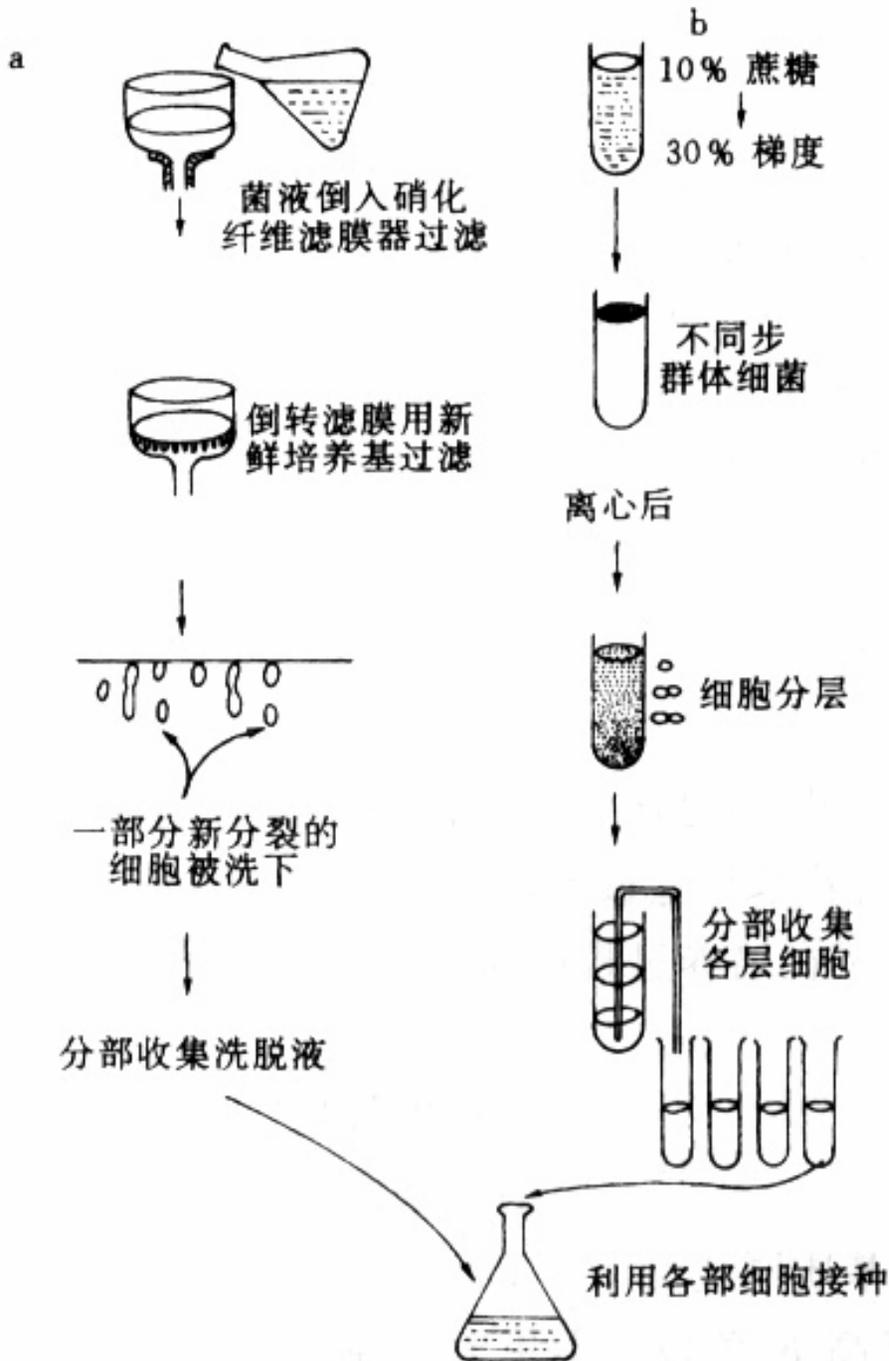


# 一、微生物的个体生长和同步生长

**同步培养：**设法使群体中的所有细胞尽可能都处于同样细胞生长和分裂周期，这种培养方法称为同步培养。利用同步培养技术而使细胞群体处于分裂步调一致的状态，称为同步生长。

① 筛选法：主要有过滤法、区带密度梯度离心法和膜洗脱法。

② 诱导法：主要是通过控制环境条件，如温度、光线、添加新培养基等进行诱导。



# 筛选法

同步培养方法

a. 膜洗脱法 b. 密度梯度离心法



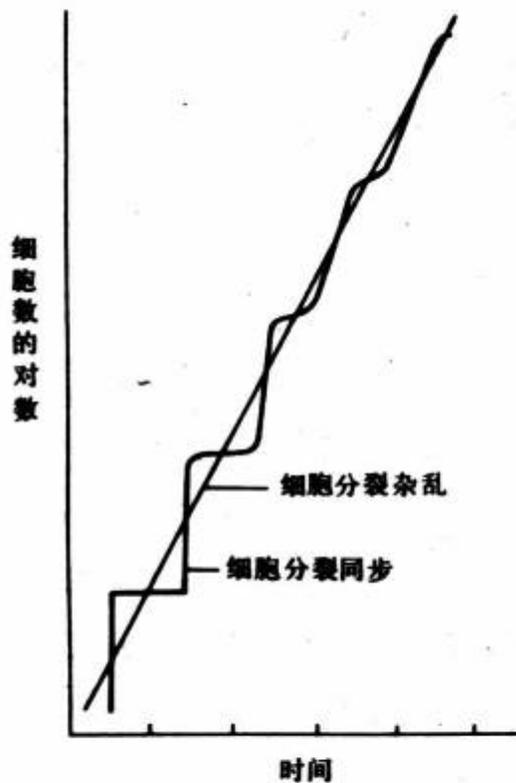


图 6-9 细菌的同步生长与非同步生长

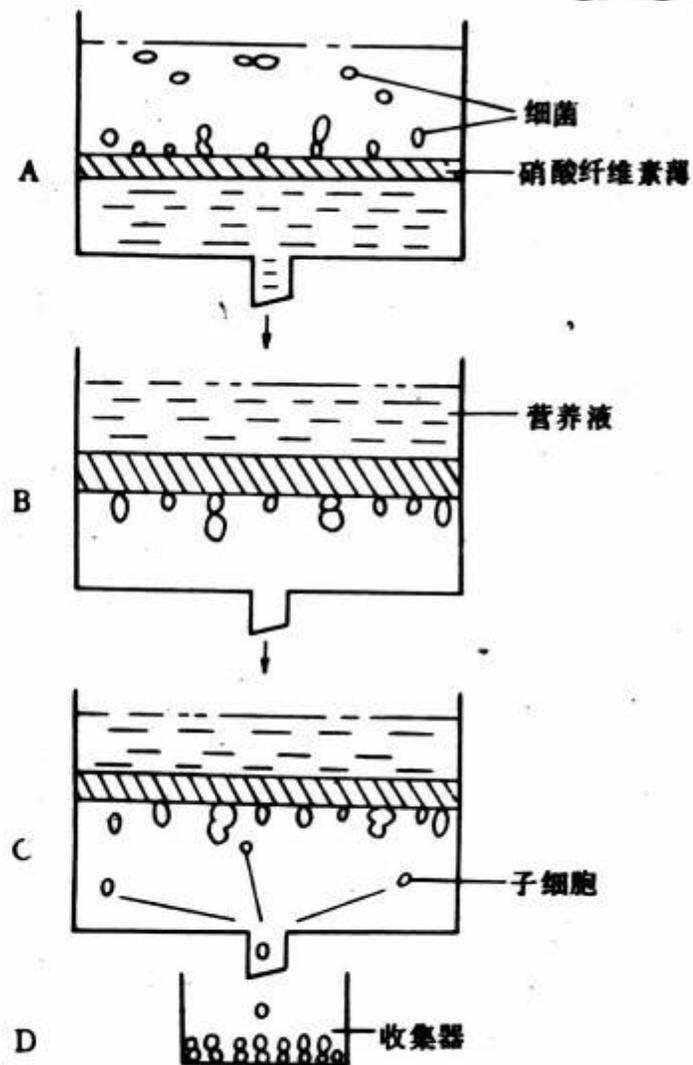


图 6-10 硝酸纤维素薄膜法



# 诱导法

**化学诱导法** 利用停止或限制供给微生物细胞分裂所必需的某种养料，使所有的细胞都处于临分裂状态（但不分裂），然后在某一时刻供给细胞分裂所必需的养分，就能诱导出同步细胞群体。

**物理诱导法** 是利用某些物理因子，使处于即将分裂的细胞的代谢活动受到抑制，从而使细胞在分裂阶段前停止，以求得以后分裂的同步。





## 二、单细胞微生物的典型生长曲线

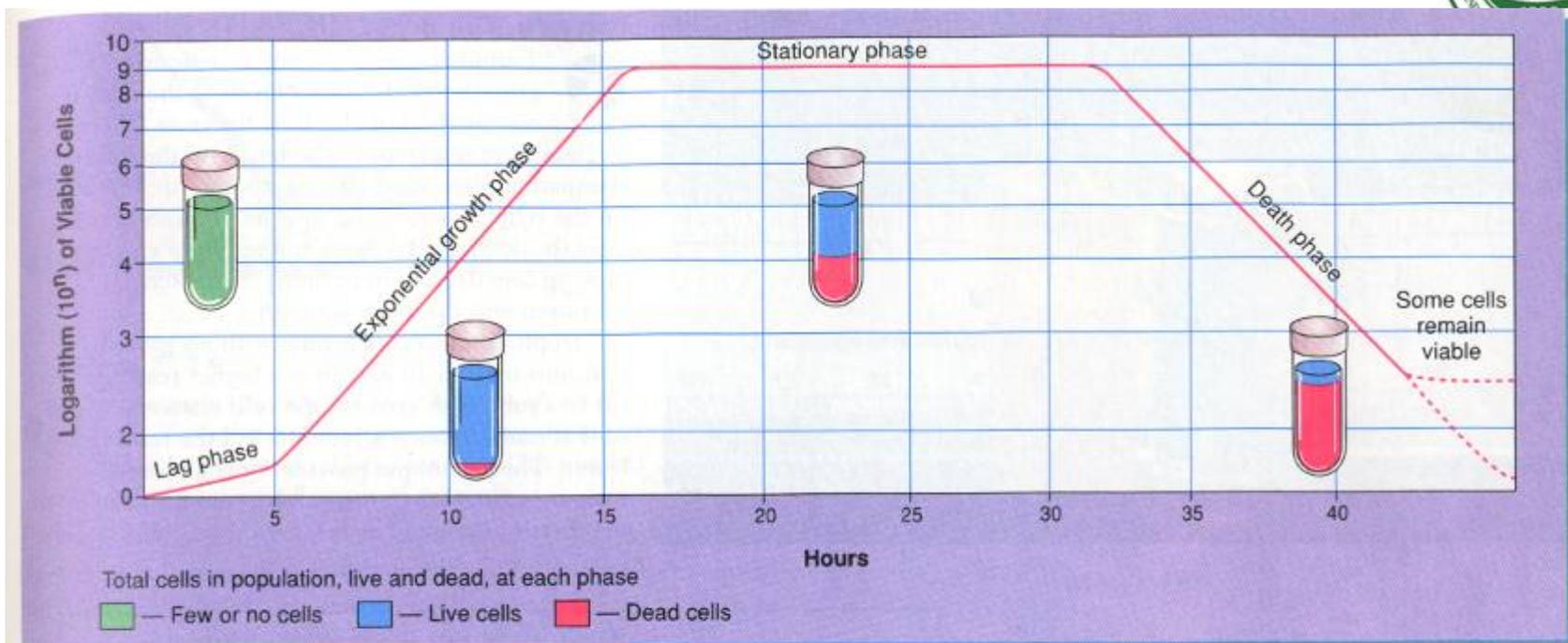


Figure 7.17



The growth curve in a bacterial culture. On this graph, the number of viable cells expressed as a logarithm (log) is plotted against time. See text for discussion of the various phases. Note that with a generation time of 30 minutes, the population has risen from 10 (10<sup>1</sup>) cells to 1,000,000,000 (10<sup>9</sup>) cells in only 16 hours. Cells are multiplying and dying all along the curve, but the relative rates of these events change as the curve proceeds.

典型的生长曲线可分为：迟缓期，对数期，稳定期和衰亡期

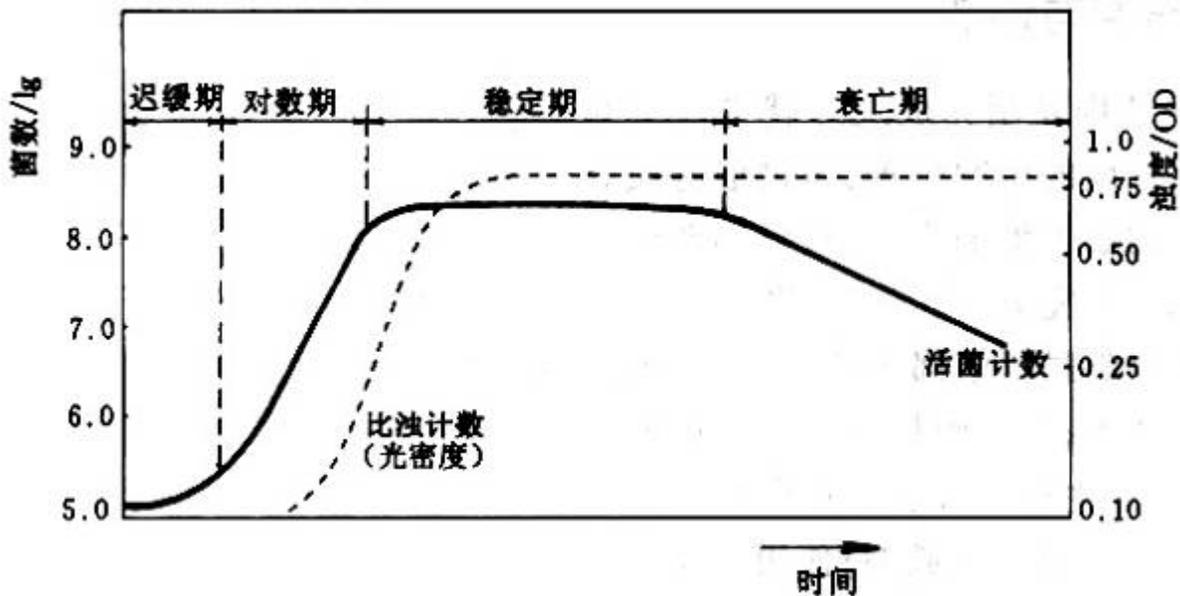


图 6-2 细菌生长曲线

## 典型生长曲线:

将少量单细胞微生物纯培养菌种接种到新鲜的液体培养基中，在最适条件下培养，培养过程中定时测定菌体的数量，以菌数的对数为纵坐标，时间为横坐标，所绘成的曲线称为典型生长曲线。



# 1. 延滞期（或称延迟期、滞留适应期）（lag phase）

指少量微生物接种到新培养基中，在开始培养的一段时间内细胞数目不增加的时期。

特点：① 群体生长速度近于零

② 细胞重量增加，体积增大，但不分裂繁殖

③ 细胞内RNA特别是rRNA含量增高，原生质嗜碱性

④ 代谢活动特别是合成代谢旺盛

⑤ 对外界不利条件反应敏感。

原因：合成新的代谢酶类，适应新环境。

影响延迟期长短因素：菌种、接种龄、接种量、培养基成分。

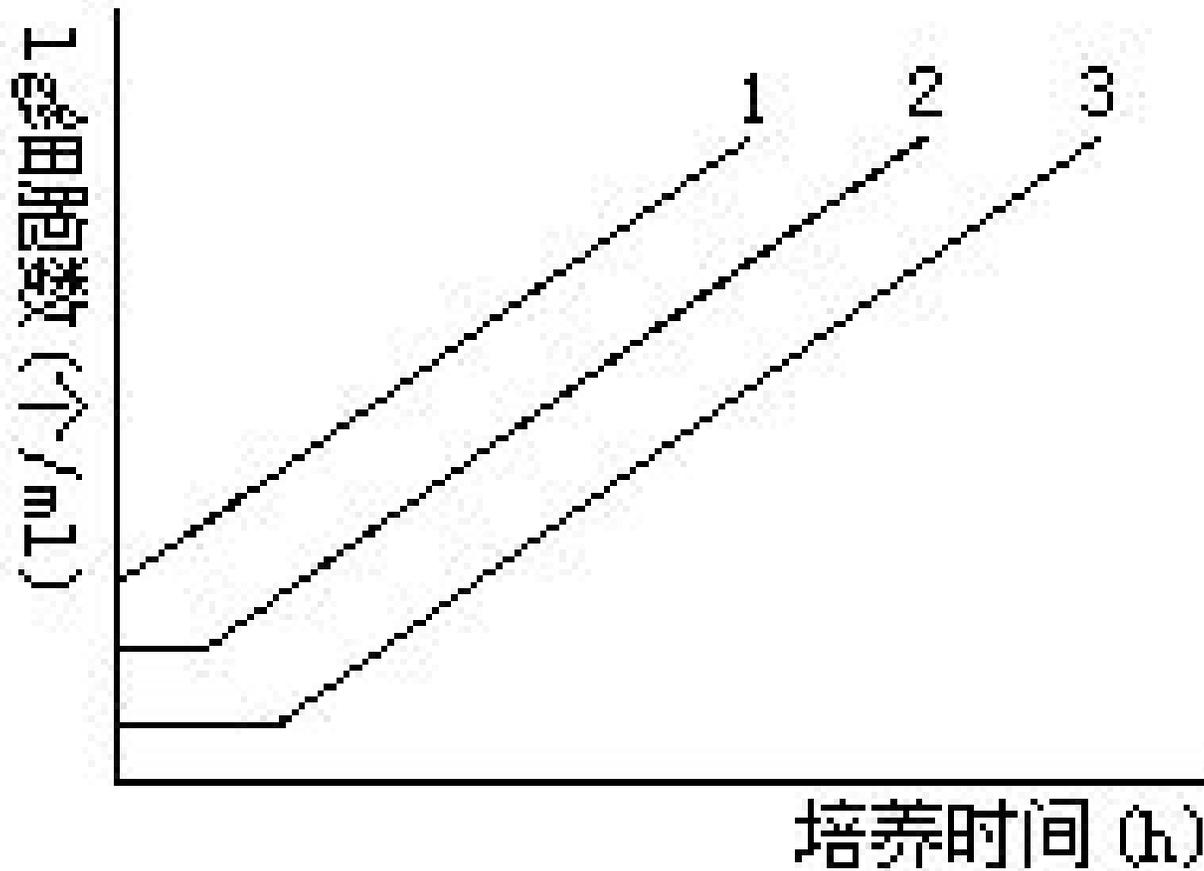


图 7-5 接种量对延滞期的影响

1. 大接种量；2. 中等接种量；3. 小接种量





## 2. 指数期（又称对数生长期）（log phase）

紧接延滞期的细胞数以几何级数增长的时期。

特点：①菌数以几何级数增加； 生长速率常数最大，代时最短而且稳定；

② 个体形态、化学组成、生理特性均较为一致；

③酶系活跃，代谢旺盛。

影响指数期微生物增代时间的因素：菌种、营养成分、营养物浓度、培养温度等。

对数生长期的微生物其个体形态，化学组成和生理特性等均较一致，代时稳定，代谢旺盛，生长迅速，是研究基本代谢的良好材料，也是发酵生产的良好种子。



在指数生长期中，有三个参数最为重要，这就是：

(1) 繁殖代数 ( $n$ ) 从图 7-6 可以得出：

$$x_2 = x_1 \cdot 2^n$$

以对数表示： $\lg x_2 = \lg x_1 + n \lg 2$

$$\therefore n = \frac{\lg x_2 - \lg x_1}{\lg 2} = 3.322 (\lg x_2 - \lg x_1)$$

(2) 生长速率常数 ( $R$ ) 按前述生长速率常数的定义可知：

$$R = \frac{n}{t_2 - t_1} = \frac{3.322 (\lg x_2 - \lg x_1)}{t_2 - t_1}$$

(3) 代时 ( $G$ ) 按前述平均代时的定义可知：

$$G = \frac{1}{R} = \frac{t_2 - t_1}{3.322 (\lg x_2 - \lg x_1)}$$

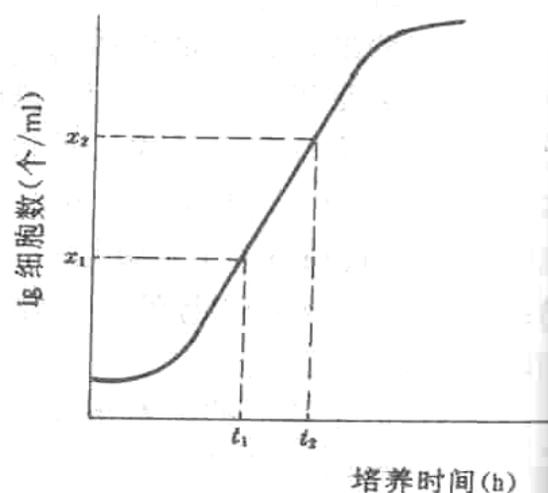


图 7-6 指数期



### 3. 稳定期(stationary phase)

又称最高生长期，此时期微生物群体中新繁殖的细胞数目与死亡的细胞数目基本上处于平衡稳定的状态。

特点：生长速率等于0；菌体产量达到最高点。

稳定期到来的原因：

- ①营养物尤其是生长限制因子的耗尽；
- ②营养物的比例失调；
- ③有害代谢产物的累积；
- ④ pH、氧化还原电位等物化条件越来越不适宜等。



## 4. 衰亡期(decline phase)

特点:

细胞生活力衰退，死亡率增加，细菌总数急剧下降。细胞出现多形态；有的微生物出现自溶现象；有的会进一步合成或释放对人类有益的抗生素等次生代谢物；芽孢杆菌在这一时期会产生芽孢；等等。

原因:

外界环境对继续生长越来越不利，引起细胞内的分解代谢大大超过合成代谢，继而导致菌体死亡。



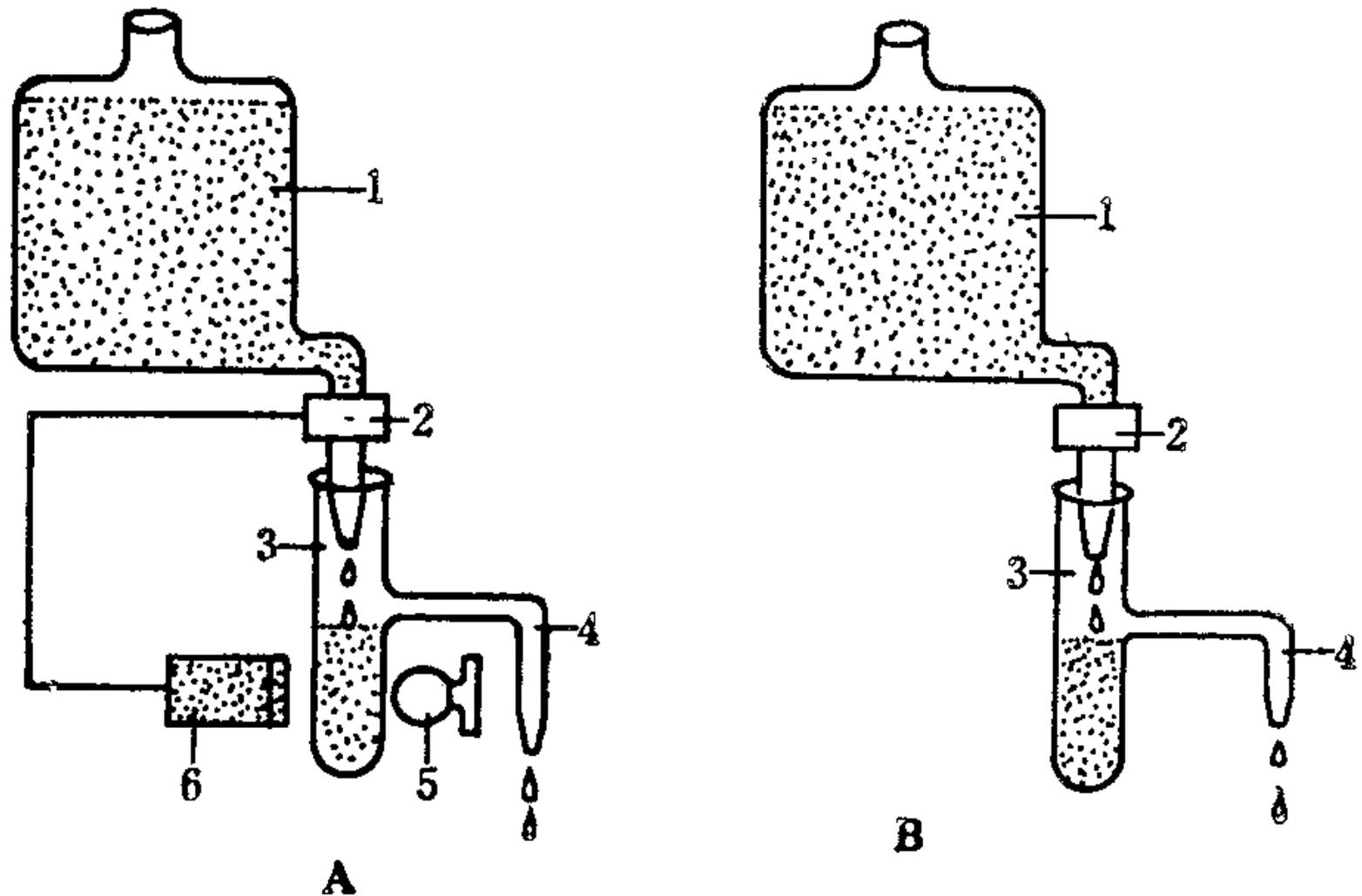
### 三、微生物的连续培养

**连续培养：**是指在培养过程中，不断补充新鲜的营养物质，同时又以相同的速率不断排出培养物，让培养系统内的微生物的细胞数量和营养状态保持恒定的培养方式。

进行连续培养的装置通常有两种：一种是**恒浊器**，另一种是**恒化器**。

连续培养如用于发酵工业，就称为**连续发酵**。如酵母单细胞蛋白的生产，乙醇、乳酸、丙酮和丁醇等的发酵，以及用假丝酵母进行石油的脱蜡或污水处理等。





连续培养装置示意图

A. 恒浊培养系统 B. 恒化培养系统

1. 盛无菌培养基的容器 2. 控制流速阀 3. 培养室 4. 排出管  
5. 光源 6. 光电池



装置	控制对象	培养基	培养基流速	生长速率	产物	应用范围
恒浊器	菌体密度 (内控制)	无限制 生长因子	不恒定	最高速率	大量菌体或 与菌体相平 行的代谢产 物	生产为主
恒化器	培养基流速 (外控制)	有限制 生长因子	恒定	低于最高 速率	不同生长速 率的菌体	实验室为 主





## 四、微生物的高密度培养

**高密度培养 (high cell-density culture, HCDC):** 指微生物在液体培养中细胞群体密度超过常规培养的**10倍**以上。

应用: 基因工程菌生产多肽类药物

高密度培养时应注意的问题:

选取最佳培养基成分和含量; 补料; 提高溶解氧浓度; 防止有害代谢产物生成。





## 第三节 影响微生物生长的主要因素





# 一、温度

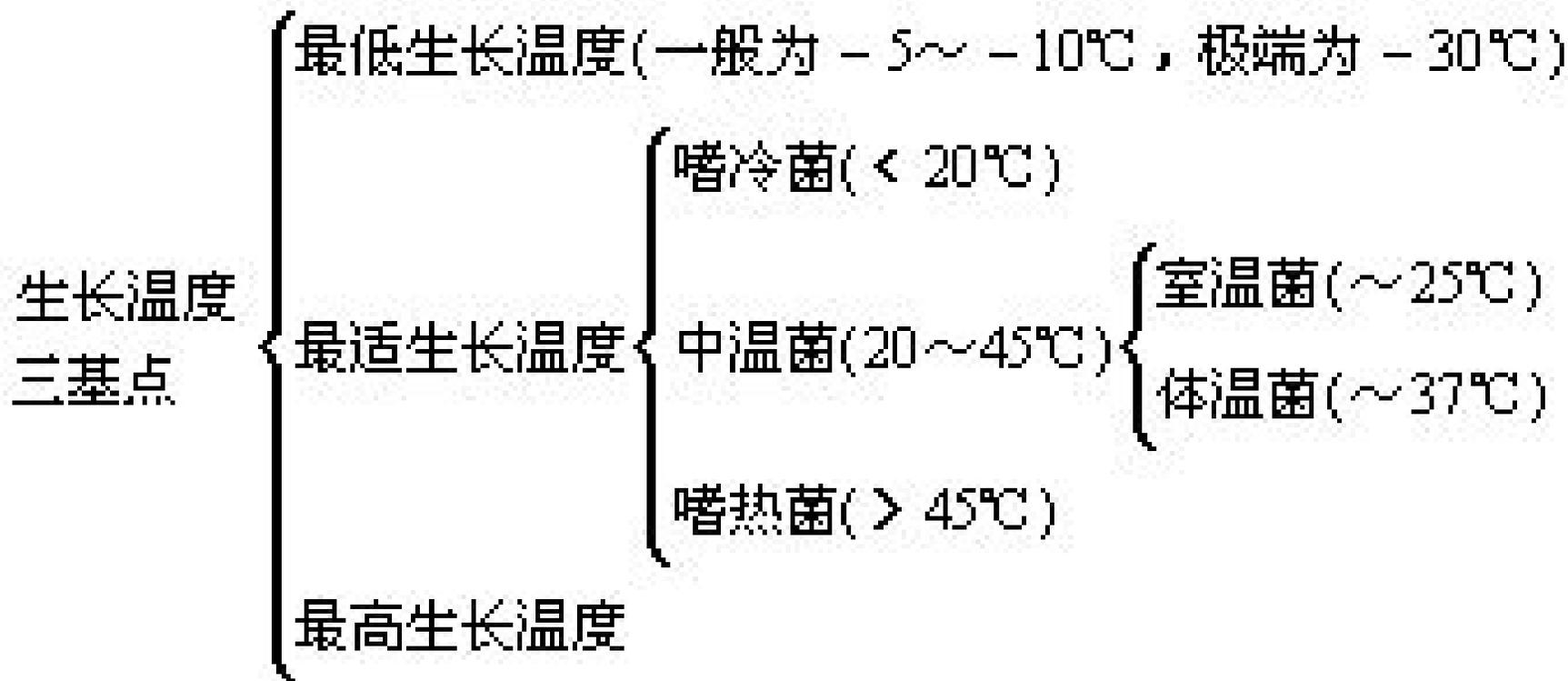
从整体来看，微生物可以在 $-10\sim 100^{\circ}\text{C}$ 范围内生长。但就具体微生物来讲，它只能在一定的温度范围内生长。根据微生物最适生长温度可将微生物分为嗜冷性、嗜温性和嗜热性微生物。





# 1. 生长温度三基点:

最低生长温度、最适生长温度和最高生长温度。





**最低生长温度：** 生长繁殖的温度下限。

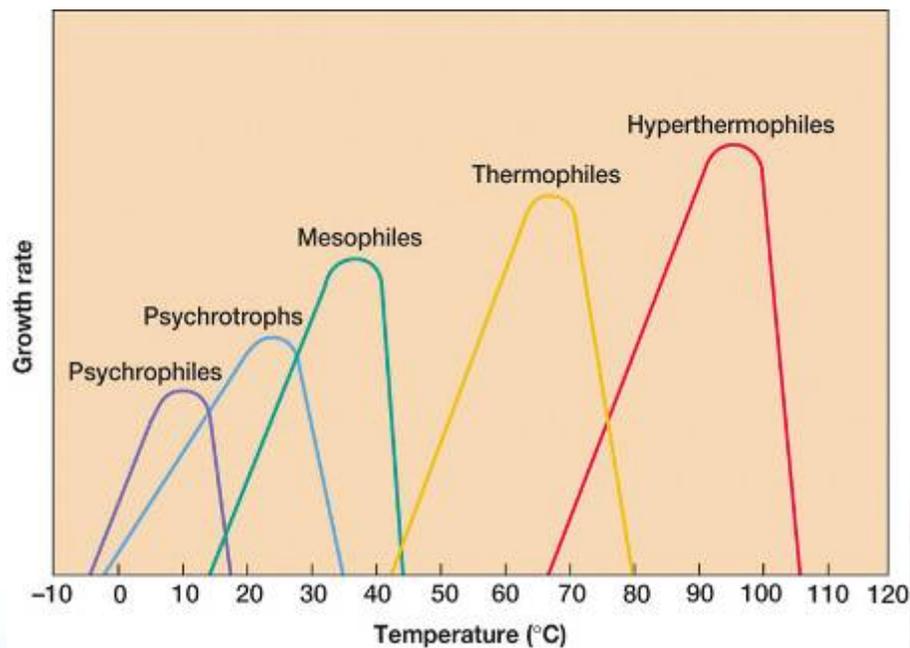
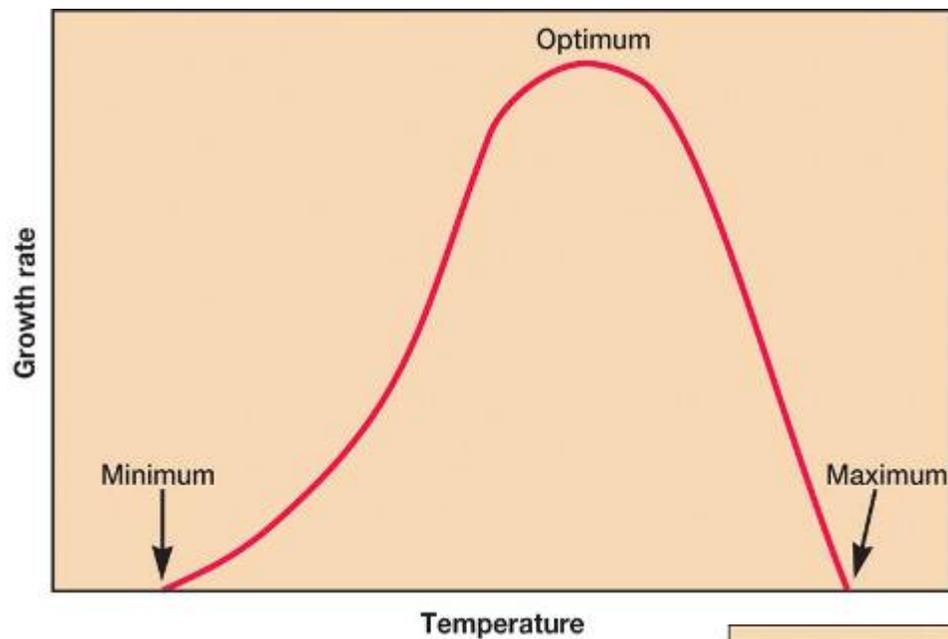
**最高生长温度：** 微生物生长繁殖的上限，在此条件下，细胞容易衰老死亡。与胞内酶活性有关。

**最适生长温度：** 生长繁殖速率最快，但不一定是一切代谢活动的最适温度，不等于最适发酵温度，也不等于积累某一代谢产物的最适温度。

乳酸链球菌：**25—30度**，细胞产量最高；**30度**，乳酸产量最多；**34度**，每小时分裂次数R最高；**40度**，发酵速率最大。

**致死温度：** 在**10分钟**内，杀死全部供试微生物的温度下限。基质：生理盐水；浓度：每毫升 **$10^8$** 个细胞。

指导意义：①变温控制； ②消毒、灭菌的标准。





## 2. 微生物生长速度与温度的关系

温度系数 $Q_{10}$ ：温度每升高 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 后的微生物的生长速度与微生物未升高温度前的生长速度的比值。

温度系数 $Q_{10}$  = 在  $(t + 10\text{ }^{\circ}\text{C})$  的生长速度 / 在  $t$  的生长速度

多数微生物的温度系数 $Q_{10}$ 为 $1.5\sim 2.5$ ，也就是在一定的温度范围内，温度每提高 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，微生物生长速率增快 $1.5\sim 2.5$ 倍。

如：大肠杆菌在不同的温度下的增代时间： $20\text{ }^{\circ}\text{C} - 60\text{min}$ ； $25\text{ }^{\circ}\text{C} - 40\text{min}$ ； $30\text{ }^{\circ}\text{C} - 29\text{min}$ ； $37\text{ }^{\circ}\text{C} - 17\text{min}$ ； $40\text{ }^{\circ}\text{C} - 19\text{min}$ ； $45\text{ }^{\circ}\text{C} - 32\text{min}$ ； $50\text{ }^{\circ}\text{C} -$  不生长。



温度对微生物的生长具有双重影响：

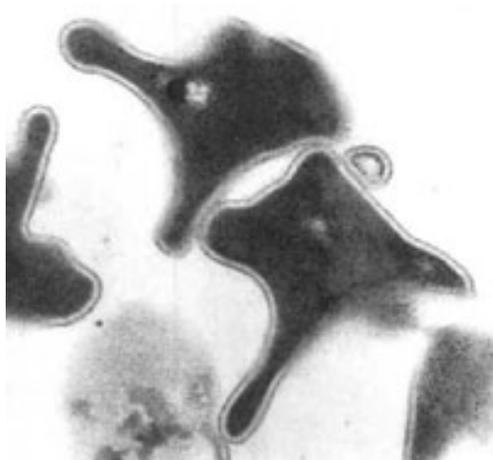
① 在一定的温度范围内，随着温度的上升，代谢活动逐渐旺盛，生长速度加快；

② 随着温度的上升，细胞内物质如蛋白质、酶、核酸等对温度比较敏感，逐渐变性失活。

微生物处于自己生长温度三基点之外是极为不利的。



耐热菌



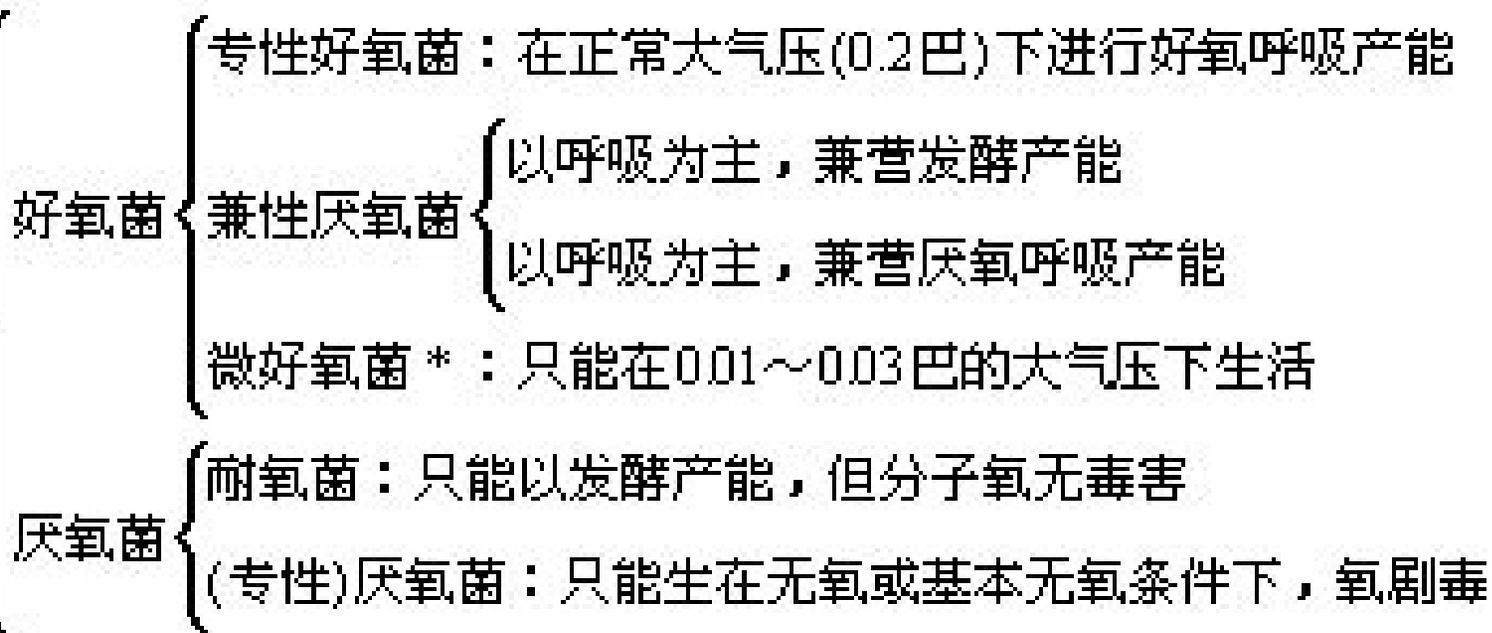
耐热的硫化叶菌





## 二、氧气

微生物  
与氧的关系





## 1. 专性好氧菌 (**aerobe**)

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，细胞含超氧化物歧化酶 (**SOD**) 和过氧化氢酶。

绝大多数真菌和许多细菌都是专性好氧菌。

## 2. 兼性好氧菌 (**facultative aerobe**)

在有氧或无氧条件下均能生长，但在有氧情况下长得更好；在有氧时靠呼吸产能，无氧时借发酵或无氧呼吸产能； 细胞含**SOD**和过氧化氢酶。

许多酵母菌和许多细菌都是兼性厌氧菌。



### 3. 微好氧菌（**microaerophilic bacteria**）

只能在较低的氧分压下才能正常生长的微生物。也通过呼吸链并以氧为最终受体而产能。

### 4. 耐氧菌（**aerotolerant anaerobe**）

可在分子氧存在下进行厌氧生活，生长不需要氧，分子氧对它也无毒害。不具有呼吸链，仅依靠专性发酵获得能量。细胞内存在SOD和过氧化物酶，但缺乏过氧化氢酶。一般的乳酸菌多数是耐氧菌。

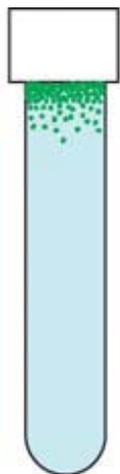




## 5. 厌氧菌 (anaerobe)

分子氧对它们有毒，即使短期接触空气，也会抑制其生长甚至致死；在固体或半固体培养基深层才能生长；生命活动所需能量通过发酵、无氧呼吸、循环光合磷酸化或甲烷发酵等提供；细胞内缺乏**SOD**和细胞色素氧化酶，大多数还缺乏过氧化氢酶。

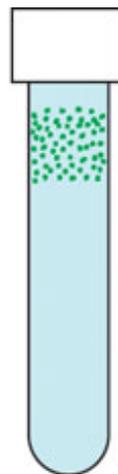




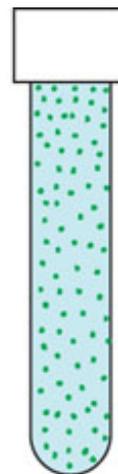
Obligate  
aerobe



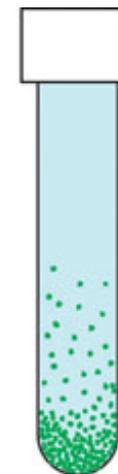
Facultative  
anaerobe



Microaerophile



Aerotolerant  
anaerobe



Strict  
anaerobe

### Enzyme content

+ SOD  
+ Catalase

+ SOD  
+ Catalase

+ SOD  
+/- Catalase  
(low levels)

+ SOD  
- Catalase

- SOD  
- Catalase





## 为什么氧气存在能够抑制甚至杀死厌氧菌？

氧气进入菌体后，能接受电子而产生不同还原性的氧离子，如过氧离子、过氧化物自由基。过氧化物自由基和过氧离子都是很强的氧化剂，对微生物有毒，能氧化微生物过程中所必需的酶。

好氧菌、兼性需氧菌以及微量需氧菌体内含有过氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶。这两种酶能将过氧化物自由基和过氧离子还原成没有毒性的水分子，所以它们不会被氧气所杀死。耐氧菌虽没有过氧化氢酶，但有过氧化物酶，能合成SOD，而不会被氧毒害。

厌氧菌体内都没有这些酶，所以不能忍受氧气。





## 三、pH

**pH**值对微生物的生长繁殖影响很大。

从微生物界整体来看，**pH**值在**5~9**范围内，较易生长。

对每种具体的微生物来讲，只能在一定的**pH**值范围内生长。生长**pH**三基点：最低**pH**值、最适**pH**值和最高**pH**值。





# 1. 微生物生长繁殖的pH值

大多数细菌、放线菌喜欢生活在中性偏碱的环境中，细菌最适的pH在7.0~8.0之间，放线菌的最适pH在7.5~8.5之间；

而酵母菌和霉菌刚好相反，适合在偏酸的环境下生长，霉菌的最适pH值在4.0~5.8之间，酵母菌在3.8~6.0之间。





## 2. pH值对微生物生长的影响

主要表现在两个方面：

能影响细胞膜的电荷，从而影响微生物对营养物质的吸收；

能影响代谢过程中酶的活性，从而影响微生物的生命活动。





微生物在不同的生理阶段有不同的最适pH值，因此  
在发酵工业中，常通过控制pH值来达到预期的目的。

如：黑曲霉进行发酵，pH值在2~3时，发酵产物主  
要是柠檬酸，只有极少量的草酸；而当pH值接近中性  
时，则产生大量草酸。





### 3. 微生物的生长对环境pH值的影响

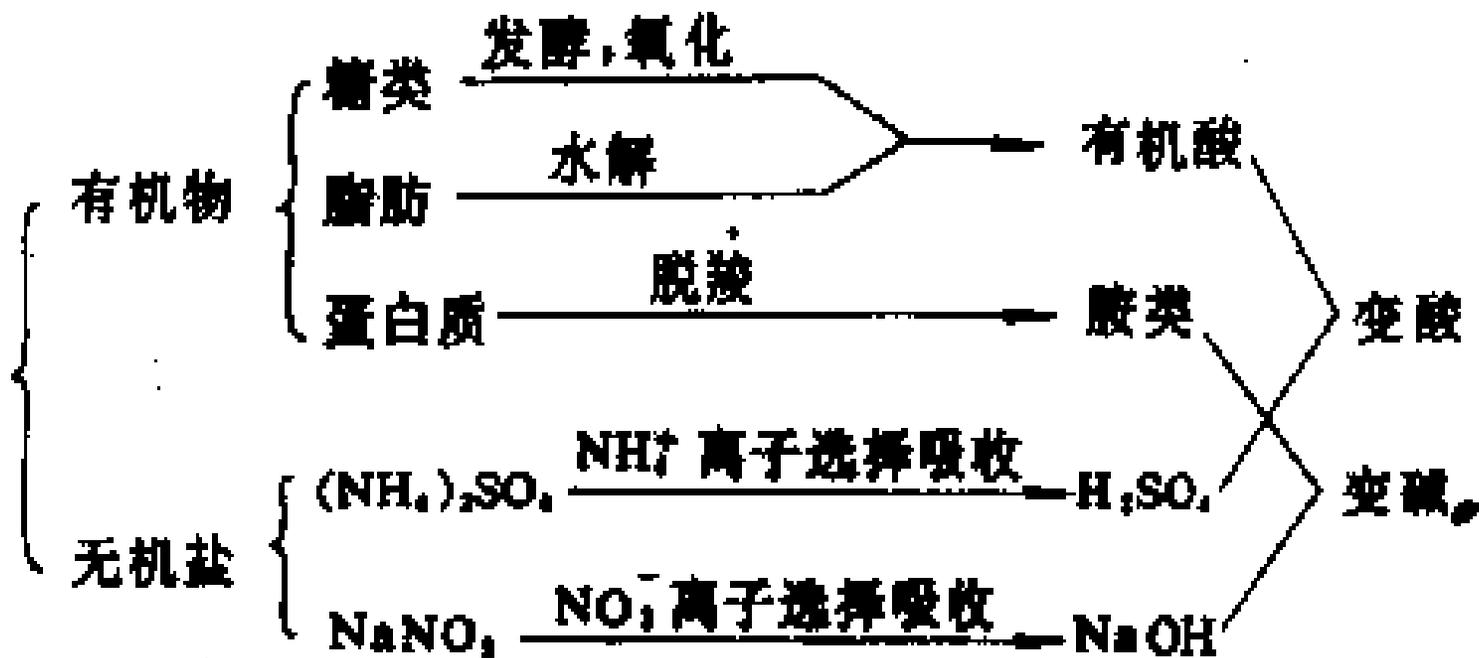
微生物在生长过程中，由于代谢作用，会产生酸性或碱性的代谢物，从而改变培养基或周围环境的pH值。

为避免pH值大幅度改变，影响微生物生命活动的正常进行，常采用添加缓冲剂或加入不溶解的碳酸盐的方法。

在中性培养基内常加入磷酸盐缓冲剂；当培养物中产生大量酸时，可在配制培养基时加入不溶性的碳酸盐。

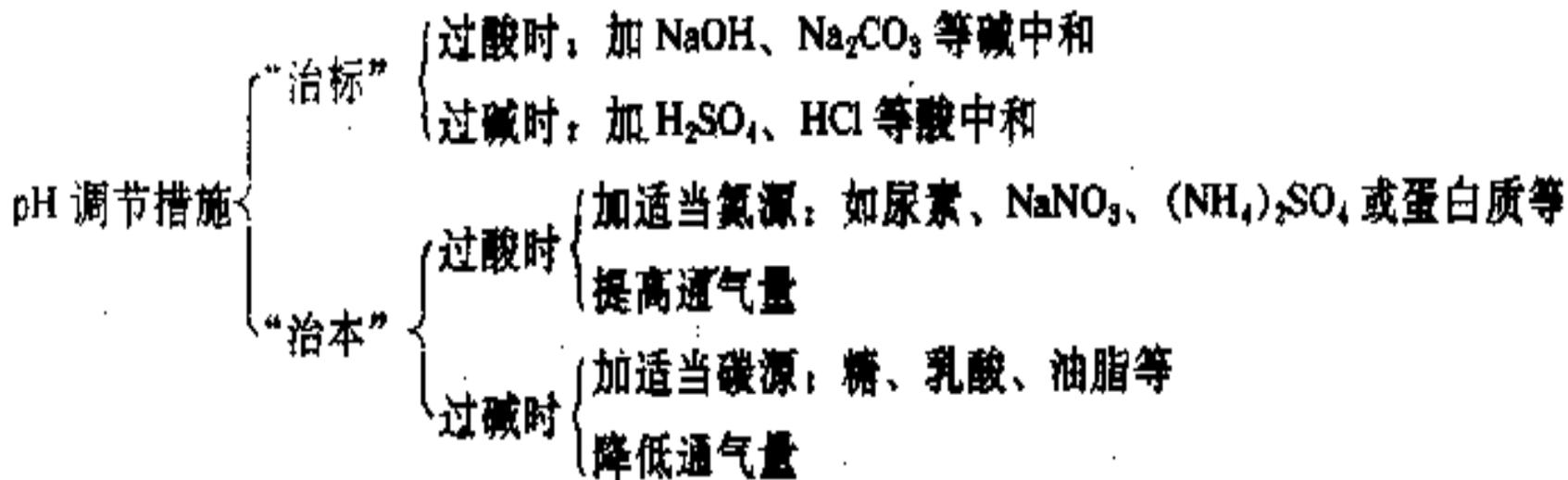


培养基内  
中性成分





# pH的调节措施：





# 第四节 微生物培养法概论





# 一、实验室培养法

## 1. 好氧培养和厌氧培养

### (1) 好氧培养:

实验室斜面培养是通过棉花塞从外界获得无菌的空气。实验室三角烧瓶液体培养多数是通过摇床振荡，使外界的空气源源不断地进入瓶中。

工厂液体发酵所需的氧气，是由空气压缩机将空气通过空气过滤器，然后进入发酵罐。

### (2) 厌氧培养: 实践中有一些方法可除去培养基中的氧:

- ①降低培养基中的氧化还原电位
- ②化合去氧
- ③隔绝阻氧
- ④替代驱氧



## 亨盖特滚管

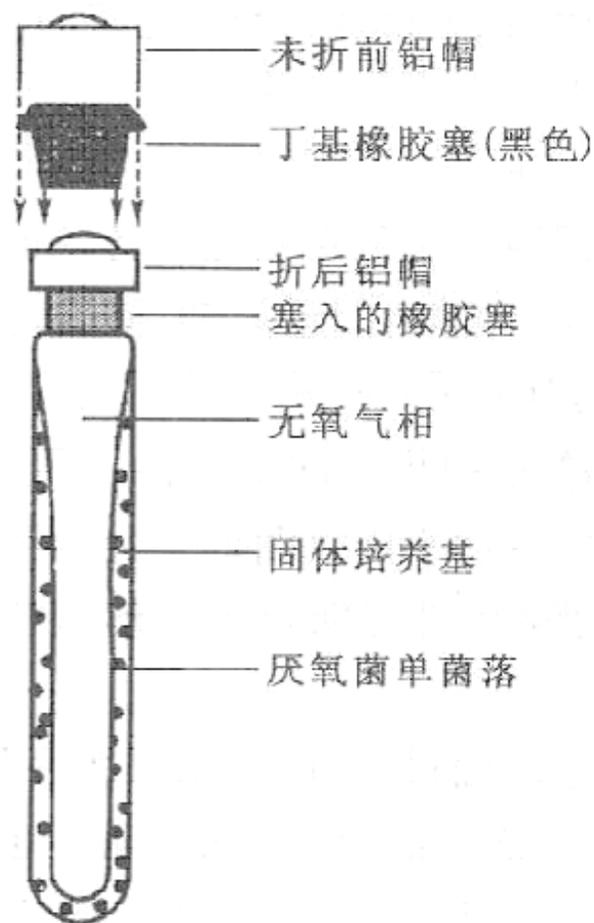
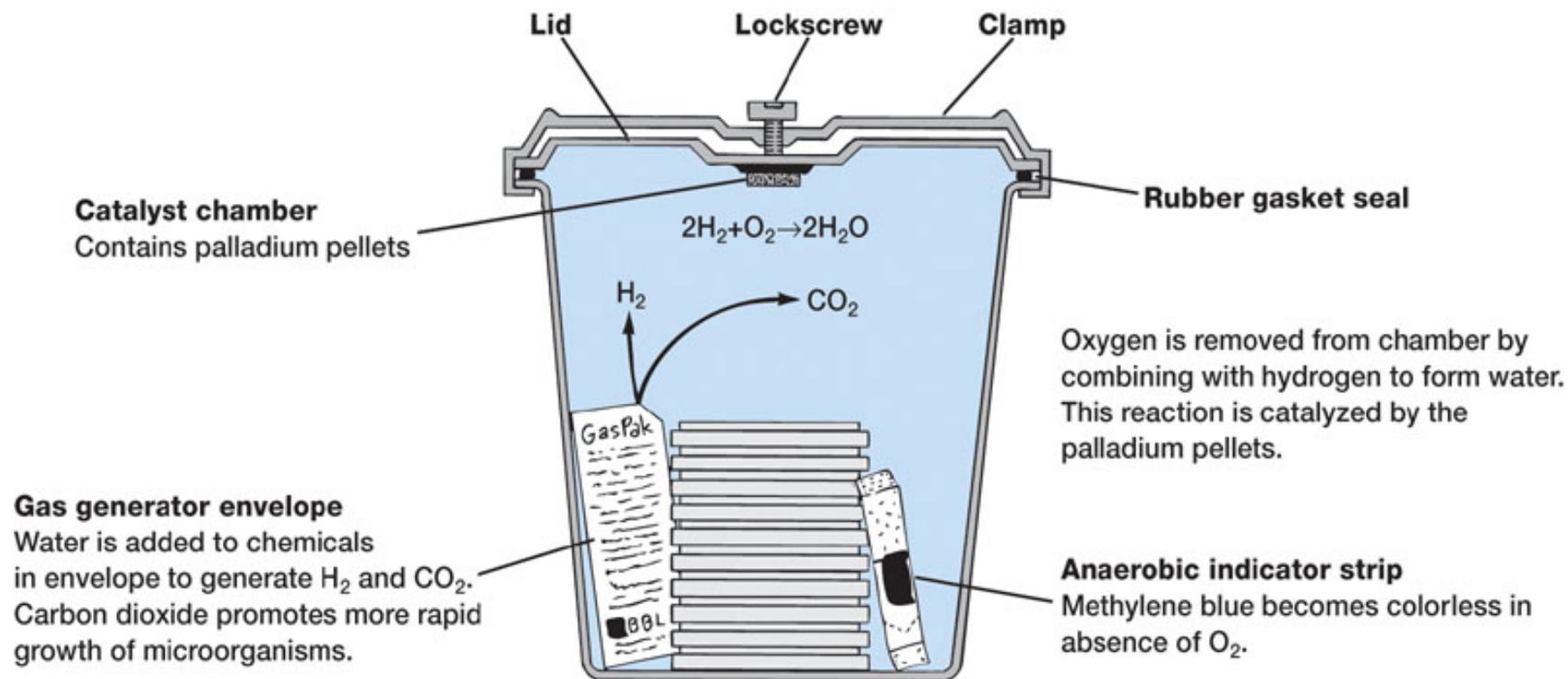


图 6-10 用于 Hungate 滚管技术中的厌氧试管剖面图



# 厌氧罐



# 厌氧手套箱





## 二、生产实践中培养微生物的装置

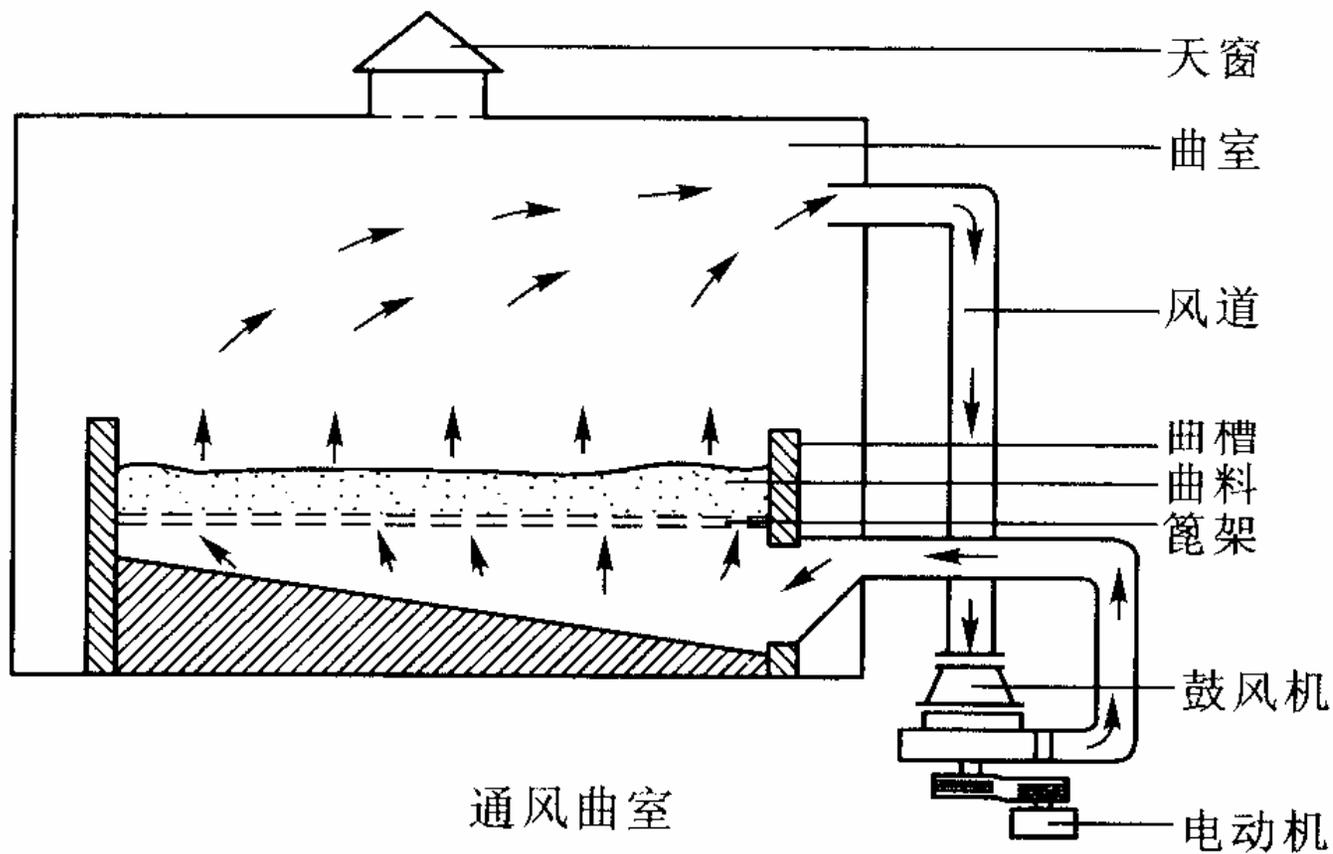
### (一) 固体培养:

将菌种接至疏松而富有营养的固体培养基中，在合适的条件下进行微生物培养的方法。

培养基的原料通常是麸皮、米糠、稻草粉、豆饼粉等。

培养工具有曲盘、瓶子、袋、帘子、缸、水泥槽等，近年来出现了通风曲室。





通风曲池结构示意图



## 固体培养的培养物称为曲

曲是指经培养后，培养基基质、活的微生物及其代谢产物如酶等，混合在一起的总称。

## 固体培养分好氧和厌氧两种

好氧固体培养的特点是进行薄层培养，以利通风和散热，如酱油酿造等；

厌氧固体培养属深层培养，如白酒及糖化饲料生产。





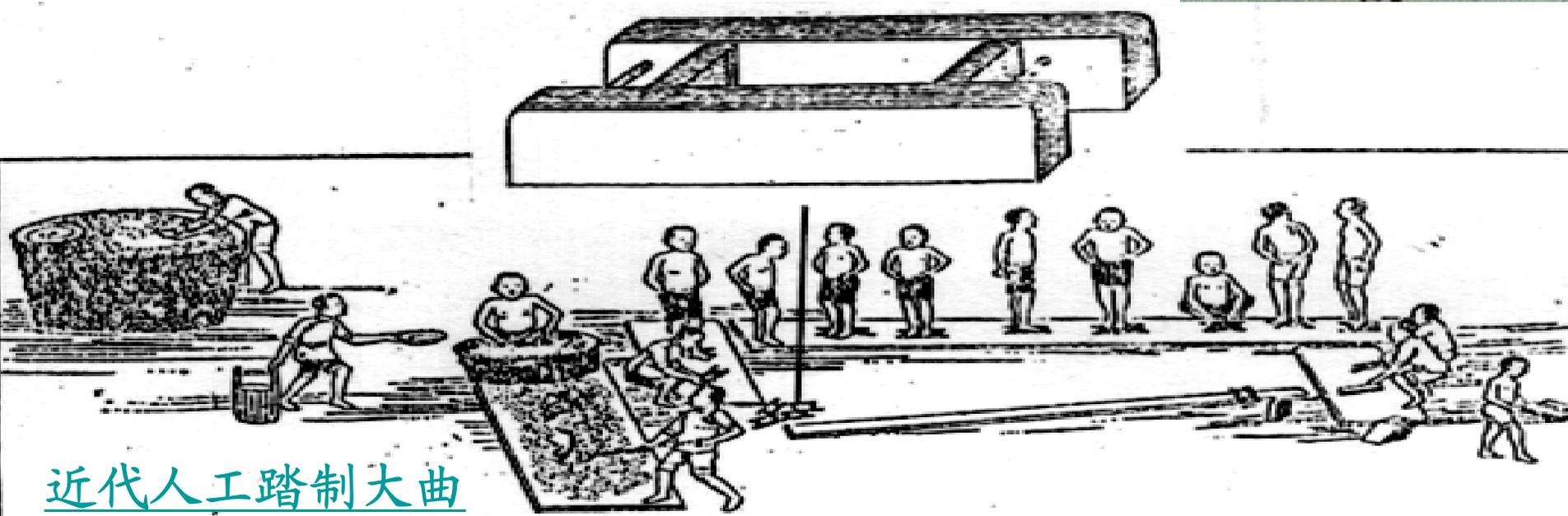
小曲



红曲



挂曲



近代人工踏制大曲



## (二) 液体培养

是当前发酵工业中培养微生物的最主要的方式，是固体培养法发展的必然趋势。

优点：生产率高，占地面积小，适宜机械化、管道化、自动化。

缺点：投资大，技术难，设备多，故一般只适合在城市中推广。





最原始的液体培养是浅盘培养。现在液体培养的基本设备是**发酵罐**。它的体积从10L到上百吨不等。

我国抗生素、柠檬酸、谷氨酸、丙酮丁醇等都是采用发酵罐进行液体发酵的。

与发酵罐相配套的是培养基灭菌系统和空气过滤系统。培养基经灭菌、冷却后进入发酵罐，再进行接种培养。空气过滤系统则是向发酵罐源源不断地提供无菌空气。



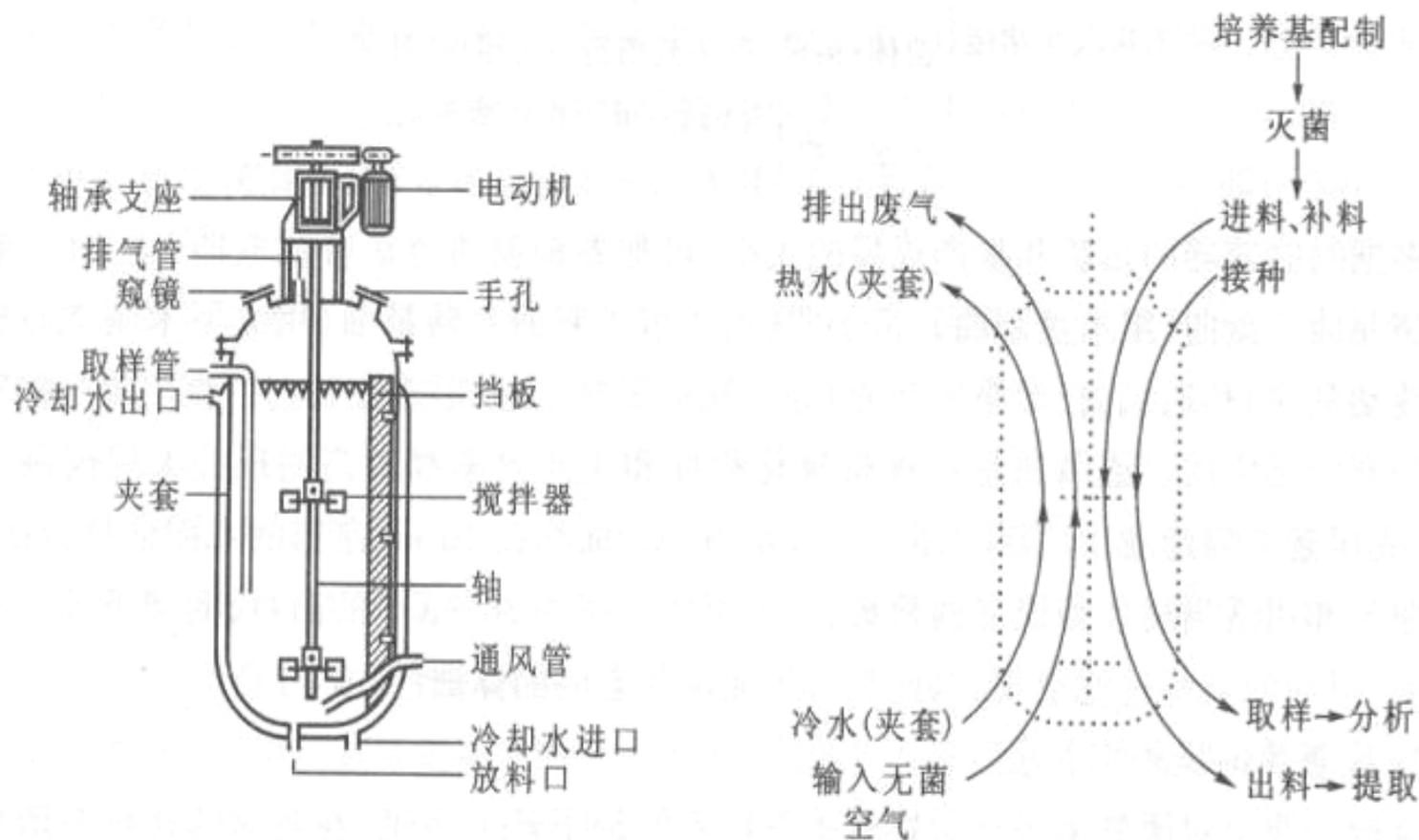
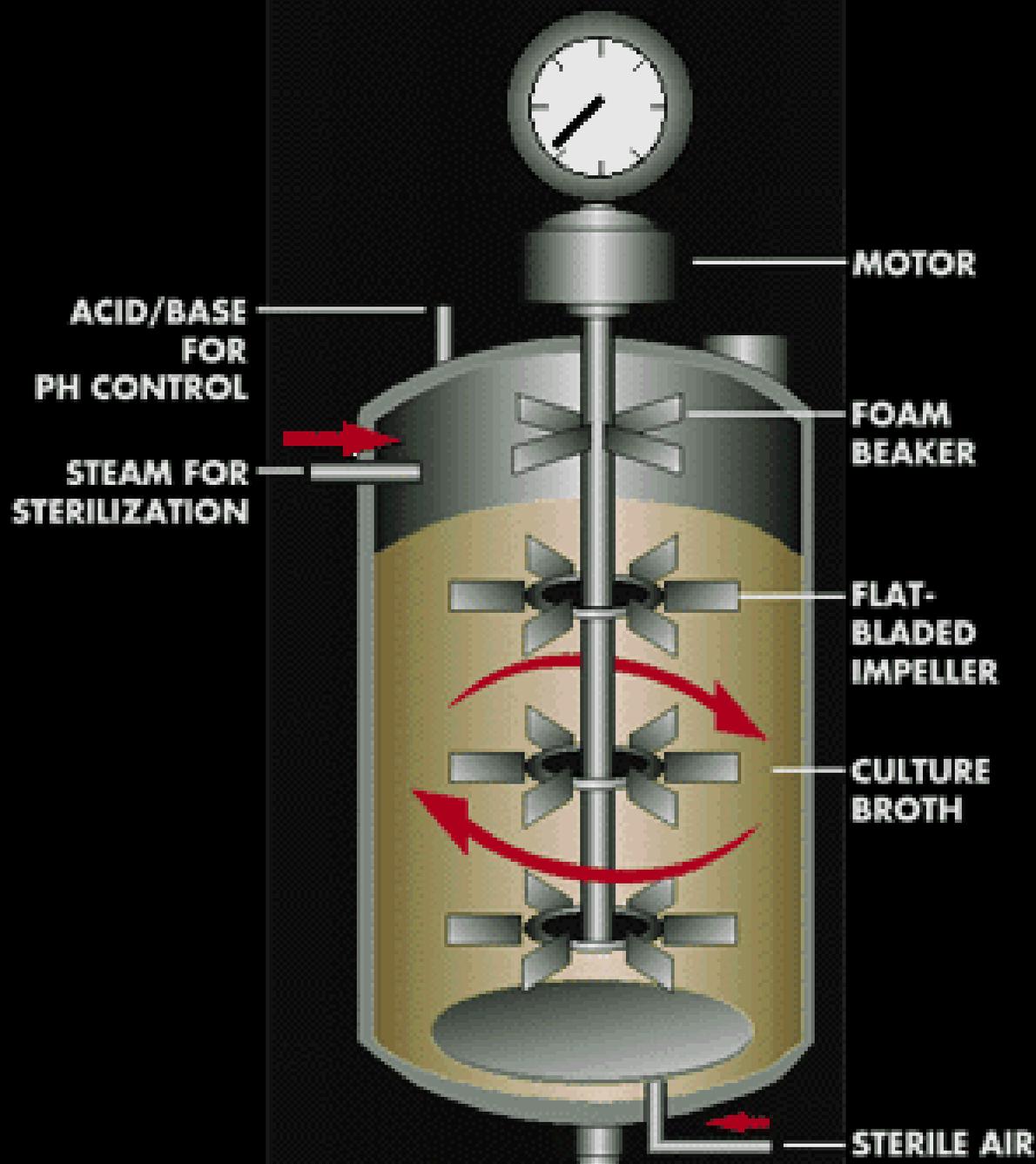


图 6-14 典型发酵罐的构造及其运转原理

# 发酵罐





# 第五节 有害微生物的控制





# 一、几个基本概念

- ① **灭菌**：灭菌是指采用任何一种方法，杀死物体上的所有微生物，包括病原微生物和非病原微生物。
- ② **消毒**：用物理、化学或生物学等方法杀死病原微生物称为消毒。消毒是不完全的灭菌。
- ③ **防腐**：用来防止和抑制微生物生长的方法称为防腐或抑菌。





## 二、物理灭菌因素——高温

通常利用温度进行灭菌、消毒或防腐。高温往往引起灭菌作用，低温则呈现抑菌作用。

高温引起微生物死亡，主要是由于高温使微生物细胞内的蛋白质和酶类变性而失活，代谢发生故障而死亡。





# 1. 干热灭菌方法

## (1) 火焰灼烧灭菌法

利用火焰灼烧把微生物直接烧死。此法彻底可靠，灭菌迅速，但易焚毁物品，所以使用范围有限，只适合于对接种针、环、试管口及不能用的污染物品或实验动物尸体等的灭菌。

## (2) 烘箱干热灭菌法

这是实验室常用的一种方法，即将待灭菌的物品均匀地放入烘箱中，升温至 $150\sim 170\text{ }^{\circ}\text{C}$ 维持1~2小时。此法适用于玻璃器皿、金属用具及其它干燥耐热物品的灭菌。



## 2. 湿热灭菌法

在同样的温度下，湿热灭菌的效果比干热灭菌好：

- ① 细胞内蛋白质含水量高，容易变性；
- ② 高温水蒸汽对蛋白质有高度的穿透力，从而加速蛋白质变性而迅速死亡。

### (1) 煮沸消毒法

将要消毒的物品放在沸水中煮沸15~20min，一般微生物的营养细胞即可死亡。但不能杀死抗热性强的芽孢，要杀死芽孢可煮沸1~2h或于水中添加0.5%石炭酸或碳酸钠。适用于食品、器材等小型日用品的消毒。





## (2) 巴氏消毒法

用较低的温度来杀死其中的病原微生物，这样既保持食品的营养和风味，又进行了消毒，保证了食品卫生。该法一般在 $60\sim 85^{\circ}\text{C}$ ，处理  $15\text{s} \sim 30\text{min}$ ，即可达到消毒的目的。

低温维持法 (LTH)：  $61\sim 65^{\circ}\text{C}$  加热 $30\text{min}$

高温瞬时法 (HTST)：  $71\sim 72^{\circ}\text{C}$  保持 $15\text{s}$

## (3) 超高温瞬时法 (UHT)

灭菌温度 $135\sim 150^{\circ}\text{C}$ ，处理 $2\sim 6\text{s}$ ，可杀死微生物的营养细胞和耐热性强的芽孢细菌。现在广泛应用于各种果汁、牛乳、酱油等液态食品的杀菌。



## (4) 高压蒸汽灭菌法

把待灭菌的物品放在一个可密闭的高压蒸汽灭菌锅中，一般采用 $121^{\circ}\text{C}$  蒸汽压达到 $0.103\text{Mpa}$ （表压 $1\text{kg}/\text{cm}^2$ 或15磅/英寸<sup>2</sup>）维持15~30min。

影响灭菌的因素有：不同菌种、同一菌种不同菌龄、微生物数量多少、培养基成分与组成。

## (5) 间歇灭菌法

利用流动蒸汽进行灭菌。

具体做法：将待灭菌的物品加热至 $100^{\circ}\text{C}$ ，处理15~30min，杀死其中的营养体，然后冷却，放入 $37^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中过夜，让残留的芽孢萌发成营养体。第二天重复上述步骤，三次左右，可达到彻底灭菌的目的。此法不需高压灭菌锅，适于在农村推广。





## (二) 影响加压蒸气灭菌的因素

- ① 菌体浓度； ② 排空程度：蒸汽（汽化热）；  
③ 体积； ④ PH值； ⑤ 加热散热速度。

### 干热、湿热空气穿透力比较

加热方式	温度 (°C)	加热时间 (小时)	透过布的层数及其温度 (°C)		
			20层	40层	100层
干 热	130-140	4	86	72	<70
湿 热	105	3	101	101	101



## 三、化学杀菌剂、消毒剂和治疗剂

一般化学药剂无法杀死所有的微生物，而只能杀死其中的病原微生物，所以是起消毒剂的作用，而不是灭菌剂。

### (一) 表面消毒剂

**消毒剂：**能迅速杀灭病原微生物的药物，对人体也可能产生有害作用的化学药剂。主要用于抑制或杀灭非生物体表面、器械、排泄物和环境中的微生物。





化学药物一般在低浓度下抑菌，高浓度下杀菌。  
理想的消毒剂和防腐剂应具有作用快、效力大、  
渗透强、易配制、价格低、毒性小、无怪味的  
特点。

## 常用的消毒防腐剂

重金属盐类、有机化合物、氧化剂、表面  
活性剂、染料等。



类型	名称及使用浓度	作用机制	应用范围
重金属盐类	0.05%~0.1%升汞 2%红汞 0.01%~0.1%硫柳汞 0.1%~1%AgNO <sub>3</sub> 0.1%~0.5%GuSO <sub>4</sub>	与蛋白质的巯基结合使失活 与蛋白质的巯基结合使失活 与蛋白质的巯基结合使失活 沉淀蛋白质, 使其变性 与蛋白质的巯基结合使失活	非金属物品, 器皿 皮肤, 粘膜, 小伤口 皮肤, 手术部位, 生物制品防腐 皮肤, 滴新生儿眼睛 杀植病真菌与藻类
酚类	3%~5%石炭酸 2%煤酚皂(来苏儿)	蛋白质变性, 损伤细胞膜 蛋白质变性, 损伤细胞膜	地面, 家具, 器皿 皮肤
醇类	70%~75%乙醇	蛋白质变性, 损伤细胞膜, 脱水, 溶解类脂	皮肤, 器械
酸类	5~10mL/m <sup>3</sup> 醋酸(熏蒸)	破坏细胞膜和蛋白质	房间消毒(放呼吸道传染)
醛类	0.5%~10%甲醛 2%戊二醛(pH8左右)	破坏蛋白质氢键或氨键 破坏蛋白质氢键或氨键	物品消毒, 接种箱、接种室熏蒸 精密仪器等的消毒
气体	600mg/L环氧乙烷	有机物烷化, 酶失活	手术器械, 毛皮, 食品, 药物
氧化剂	0.1%KmnO <sub>4</sub> 3%H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0.2%0.5%过氧乙酸 ~1mg/L臭氧	氧化蛋白质活性基因 氧化蛋白质活性基因 氧化蛋白质活性基因 氧化蛋白质活性基因	皮肤, 尿道, 水果, 蔬菜 污染物件的表面 皮肤, 塑料, 玻璃, 人造纤维 食品
卤素及化合物	0.2~0.5mg/L氯气 10%~20%漂白粉 0.5%~1%漂白粉 0.2%~0.5%氯胺 4mg/L二氯异氰尿酸钠 3%二氯异氰尿酸钠 2.5%碘酒	破坏细胞膜、酶、蛋白质 破坏细胞膜、酶、蛋白质 破坏细胞膜、酶、蛋白质 破坏细胞膜、酶、蛋白质 破坏细胞膜、酶、蛋白质 破坏细胞膜、酶、蛋白质 酪氨酸卤化, 酶失活	饮水, 游泳池水 地面, 厕所 饮水, 空气(喷雾), 体表 室内空气(喷雾), 表面消毒 饮水 空气(喷雾), 排泄物, 分泌物 皮肤
表面活性剂	0.05%~0.1%“新洁而灭” 0.05%~0.1%“杜灭芬”	蛋白质变性, 破坏膜 蛋白质变性, 破坏膜	皮肤, 粘膜, 手术器械 皮肤, 金属, 棉织品, 塑料
染料	2%~4%龙胆紫	与蛋白质的羧基结合	皮肤, 伤口



## (1) 醇类

机理：脱水剂、蛋白质变性剂，脂溶剂，可使蛋白质脱水、变性，损害细胞而具杀菌能力。

**70%~75%**的乙醇杀菌效果最好，常用于皮肤及器械的消毒。

醇类物质，随着分子量的增大，杀菌力增强（戊醇 > 丁醇 > 丙醇 > 乙醇 > 甲醇）。高级醇虽杀菌力强于乙醇，由于丙醇以上的醇不易与水相混，故一般不用作消毒剂。



## (2) 醛类

机理：使蛋白质烷基化，改变酶或蛋白质的活性，使微生物的生长受到抑制或死亡。

常用的醛类是甲醛，37%~40%甲醛溶液称**福尔马林**，因有刺激性和腐蚀性，不宜在人体使用，常以2%甲醛溶液浸泡器械，10%甲醛溶液进行熏蒸以消毒厂房、无菌室或者传染病患者的家具、房屋等。



### (3) 酚类

机理：低浓度的酚可破坏细胞膜组分，高浓度的酚可凝固菌体蛋白。酚还能破坏结合在膜上的氧化酶与脱氢酶，引起细胞的迅速死亡。

石炭酸：0.5%可消毒皮肤，2%~5%可消毒痰、粪便与器皿，5%可喷雾消毒空气。

甲酚：酚的衍生物，杀菌效果比苯酚强，但水溶解度低，在皂液或碱性溶液中形成乳浊液。市售的消毒剂来苏尔就是甲酚与肥皂的混合液，常用3%~5%的溶液消毒皮肤、桌面及用具。



## (4) 表面活性剂

机理：破坏菌体细胞膜的结构，造成胞内物质泄漏、蛋白质变性、菌体死亡。

肥皂：一种阴离子表面活性剂，对肺炎链球菌或链球菌有效，但对葡萄球菌、结核分枝杆菌无效。一般认为肥皂的作用主要是机械地移去微生物，微生物附着于肥皂泡沫中被水冲洗掉。

新洁尔灭：人工合成的季铵盐阳离子表面活性剂，0.05%~0.1%新洁尔灭溶液用于皮肤、黏膜和器械消毒。



## (5) 染料

机理：一些碱性染料如结晶紫的阳离子，可与菌体的羧基或磷酸基作用，形成弱电离的化合物，妨碍菌体的正常代谢，抑制生长。

## (6) 氧化剂类

机理：作用于蛋白质的巯基，使蛋白质和酶失活，强氧化剂还可破坏蛋白质的氨基和酚羟基。

常用的氧化剂有卤素（碘酒、氯气等）、过氧化氢、高锰酸钾。



## (7) 重金属

高浓度的重金属及其化合物都是有效的杀菌剂或防腐剂，其作用最强的是Hg、Ag和Cu。

升汞：1: (500~2000)液可杀灭大多数细菌，腐蚀金属，对动物有剧毒，常用于组织分离时外表消毒和器皿消毒。

红汞：2%红汞水溶液即红药水常消毒皮肤、黏膜及小创伤，不可与碘酒共用。

银：温和的消毒剂，0.1%~1%硝酸银可消毒皮肤，1%硝酸银可防治新生儿传染性眼炎。

硫酸铜对真菌和藻类有强杀伤力，与石灰配制的波尔多液可防治某些植物病害。



## (8) 酸碱类

强酸与强碱具有杀菌力。

无机酸如硫酸、盐酸等杀菌力虽强，但腐蚀性大，实际上不宜作消毒剂。某些有机酸如苯甲酸可用作防腐剂。酸菜、饲料青贮则是利用乳酸菌发酵产生的乳酸抑制腐败性微生物的生长，使之得以长久贮存。

强碱可用作杀菌剂，但由于它们的毒性大，其用途局限于对排泄物及仓库、棚舍等环境的消毒。





为比较各种消毒防腐剂的相对杀菌强度，提出了石炭酸系数这一指标。

**石炭酸系数：**在一定时间内被试药剂能杀死全部供试菌的最高稀释度与达到同效的石炭酸的最高稀释度的比率。一般规定处理时间为10分钟，而供试菌为伤寒沙门氏菌。

例如，某药剂以1: 300的稀释度在10分钟内杀死所有供试菌，而达到同效的石炭酸的最高稀释度为1: 100，则该药剂的石炭酸系数为3。



## (二) 抗代谢药物——磺胺类药物

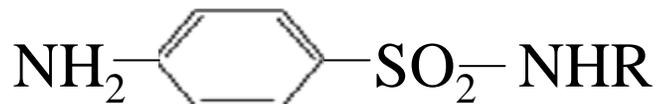
磺胺的结构与细菌的一种生长因子对氨基苯甲酸（PABA）高度相似，PABA是细菌代谢中不可缺少的重要辅酶——四氢叶酸（THFA或CoF）结构的一个组分，因此，磺胺与PABA两者发生竞争性拮抗作用，从而使细菌的生长受到抑制。

另外磺胺增效剂三甲基苄二氨嘧啶（TMP）能抑制四氢叶酸合成代谢中的二氢叶酸还原酶，这就增强了磺胺的抑制作用。

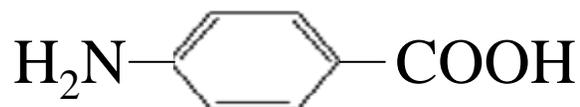


# 磺胺药抑菌机理

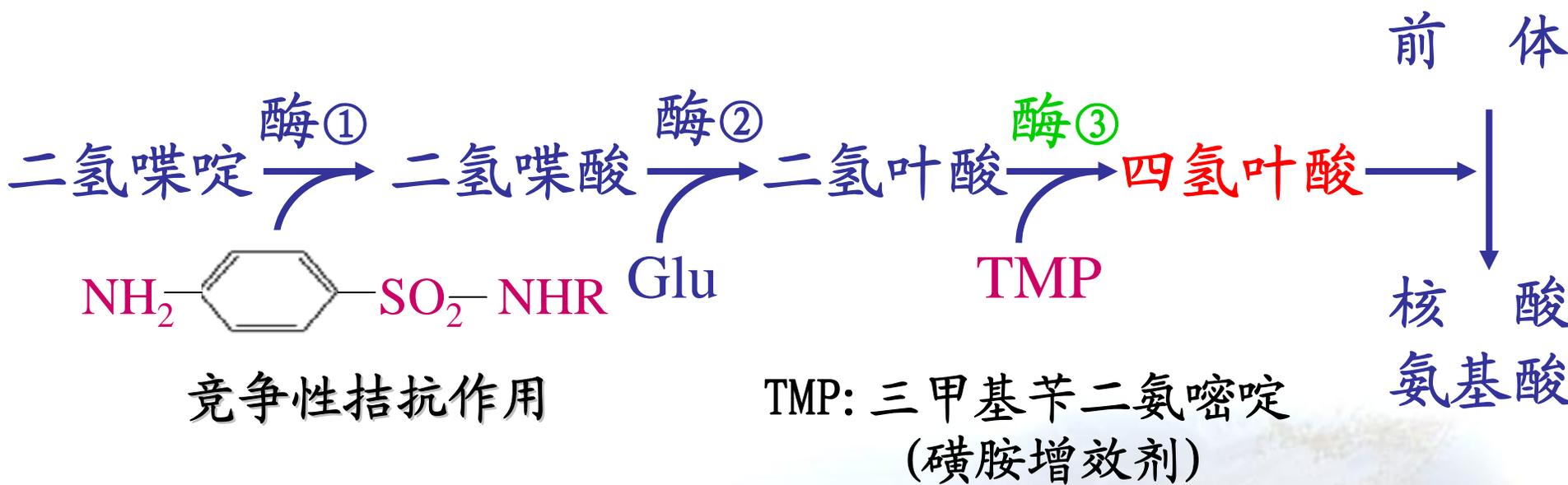
磺胺



PABA



酶①:二氢喋酸合成酶;  
酶②: 二氢叶酸合成酶;  
酶③: 二氢叶酸还原酶





# G. Domagk因发明第一种治疗微生物疾病的“神药” 获得了1939年的诺贝尔生理和医学奖

## Gerhard Domagk – Biography



**Gerhard Johannes Paul Domagk** was born on October 30, 1895, at Lagow, a beautiful, small town in the Brandenburg Marches. Until he was fourteen he went to school in Sommerfeld, where his father was assistant headmaster. His mother, Martha Reimer, came from farming stock in the Marches, where she lived in Sommerfeld until 1945 when she was expelled from her home; she died from starvation in a refugee camp.

Domagk himself was, from the age of 14, at school in Silesia until he reached the upper sixth form. He then became a medical student at Kiel and, when the 1914-1918 War broke out, he served in the Army, and in December 1914 was wounded. Later he was sent to join the Sanitary Service and served in, among other places, the

**The Nobel Prize in  
Physiology or Medicine  
1939**  
Presentation Speech

**Gerhard Domagk**  
[Biography](#)  
[Nobel Lecture](#)

1938 1940

The 1939 Prize in:  
Physics  
Chemistry  
Physiology or Medicine  
Literature  
Peace

Find a Laureate:

**GO**



### (三) 抗生素

抗生素可作为优良的化学治疗剂。

在食品工业上，抗生素被用作防腐剂来保藏食品。

如金霉素、土霉素、四环素来保藏鲜鱼，可使保藏期延长1倍以上；

乳链球菌素用于干酪、酸乳，防止梭状芽孢杆菌的破坏；他乐素和枯草杆菌素用以制备罐头食品，减低灭菌温度。

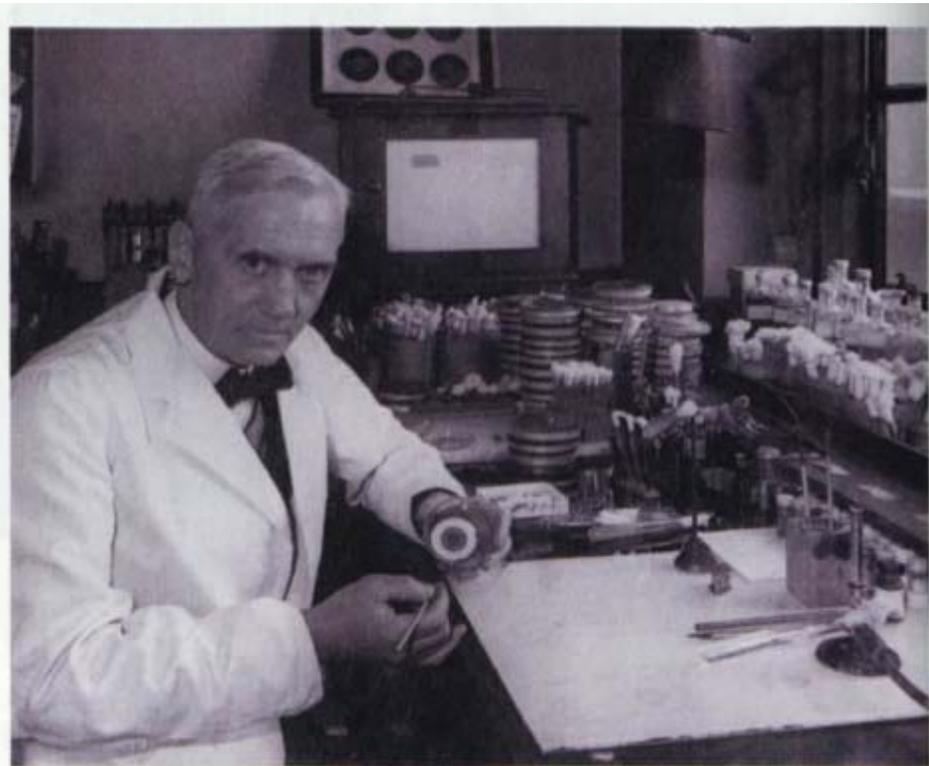
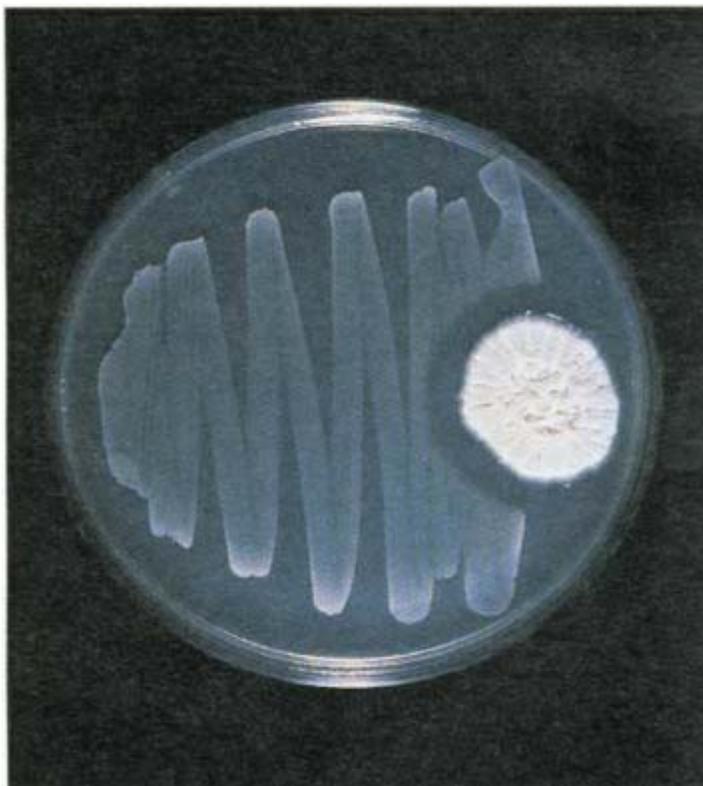




## 若干重要抗生素及其作用机制

名称及种类	作用机制	作用后果
<b>抑制细胞壁合成</b> D-环丝氨酸 万古霉素 瑞斯托菌素 杆菌肽 青霉素 氨苄青霉素 头孢霉素	抑制L-Ala变为D-Ala的消旋酶 抑制糖肽聚合物的伸长 抑制糖肽聚合物的伸长 抑制糖肽聚合物的伸长 抑制肽尾与肽桥间的转肽作用 抑制肽尾与肽桥间的转肽作用 抑制肽尾与肽桥间的转肽作用	阻止细胞壁上肽尾的合成 阻止肽聚糖的合成 阻止肽聚糖的合成 阻止肽聚糖的合成 阻止糖肽链之间的交联 阻止糖肽链之间的交联 阻止糖肽链之间的交联
<b>引起细胞壁降解</b> 溶葡萄球菌素	水解肽尾和分解胞壁酸-葡糖胺链	溶解葡萄球菌
<b>干扰细胞膜</b> 短杆菌酪肽 短杆菌肽 多粘菌素	损害细胞膜,降低呼吸作用 使氧化磷酸化解偶联,与膜结合 使细胞膜上的蛋白质释放	细胞内含物外露 细胞内含物外露 细胞内含物外露







## 复习思考题:

1. 名词解释: 生长曲线 连续培养 同步培养 灭菌 消毒
2. 生物生长曲线分几个时期? 并说明其各自特点和实践意义。
3. 微生物生长的影响因素有哪些?
4. 说明灭菌与消毒的方法有哪些?
5. 简单介绍常用的高温灭菌方法。
6. 为什么氧气的存在能够抑制甚至杀死厌氧菌?
7. 简单介绍常用的化学杀菌剂和消毒剂。

