



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



第四章

微生物的营养和培养基





营养（或营养作用， nutrition）

是指生物体从外部环境摄取其生命活动所必需的能量和物质，以满足其生长和繁殖需要的一种生理功能。

营养物（或营养， nutrient）：

指具有营养功能的物质。在微生物学中，常包括光能这种非物质形式的能源。





第一节 微生物的六种营养要素





微生物细胞的构成

化学组成:

碳、氢、氧、氮、硫、磷、钙、镁、钾、氯及多种微量元素。

营养物质:

“营养上的统一性”





微生物细胞中主要元素含量(占干重%)

元素	细菌	酵母菌	真菌
碳	~ 50	~ 50	~ 48
氮	~ 15	~ 12	~ 5
氢	~ 8	~ 7	~ 7
氧	~ 20	~ 31	~ 40
磷	~ 3	——	——
硫	~ 1	——	——

采用高温（105℃）烘干、低温真空干燥和红外线烘干等方法将细胞干燥至恒重即为干重。



微生物细胞的化学元素组成也常随**菌龄**及**培养时间**的不同而在一定范围内发生变化，幼龄的比老龄的含氮量高，在氮源丰富的培养基上生长的细胞比氮源相对贫乏的培养基上生长的细胞含氮量高。





一、碳源

类型	元素水平	化合物水平	培养基原料水平
有机碳	$C \cdot H \cdot O \cdot N \cdot X$	复杂蛋白质、核酸等	牛肉膏、蛋白胨、花生饼粉等
	$C \cdot H \cdot O \cdot N$	多氨基酸，简单蛋白质	一般氨基酸、明胶等
	$C \cdot H \cdot O$	糖、有机酸、醇、脂等	葡萄糖、蔗糖、各种淀粉、糖蜜等
	$C \cdot H$	烃类	天然气、石油及其不同馏分、石蜡油
无机碳	$C (?)$	——	——
	$C \cdot O$	CO_2	CO_2
	$C \cdot O \cdot X$	$NaHCO_3$ 、 $CaCO_3$ 等	$NaHCO_3$ 、 $CaCO_3$ 、白垩等



碳源主要功能

- ① 细胞中的碳素来源；
- ② 提供微生物生长发育所需的能量。

对一切异养微生物来说，其碳源同时又兼作能源，因此，这种碳源又称**双功能营养物**。





种类	碳源物质	备注
糖	葡萄糖、果糖、麦芽糖、蔗糖、淀粉、半乳糖、乳糖、甘露糖、纤维二糖、纤维素、半纤维素、甲壳素、木质素等	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利用
醇	乙醇	在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、石油馏份、石蜡油等	利用烃的微生物细胞表面有一种由糖脂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 、白垩等其它芳香族化合物、氰化物、蛋白质、肽、核酸等	为自养微生物所利用。利用这些物质的微生物在环境保护方面有重要作用 当环境中缺乏碳源物质时, 可被微生物作为碳源而降解利用

微生物利用的碳源物质



发酵工业常用的碳源

山芋粉、玉米粉、麸皮、废糖蜜、野生植物淀粉等。





二、氮源 (nitrogen source)

微生物的氮源谱

类型	元素水平	化合物水平	培养基原料水平
有机氮	$N \cdot C \cdot H \cdot O \cdot X$	复杂蛋白质、核酸等	牛肉膏、酵母膏、饼粕粉、蚕蛹粉
	$N \cdot C \cdot H \cdot O$	尿素、氨基酸，简单蛋白质等	尿素、蛋白胨、明胶等
无机氮	$N \cdot H$	NH_3 、铵盐等	$(NH_4)_2SO_4$ 等
	$N \cdot O$	硝酸盐等	KNO_3 等
	N	N_2	空气



氮源的主要功能

提供合成原生质和细胞其他结构的氮素来源，一般不提供能量，但硝化细菌是利用铵盐或硝酸盐作为氮源和能源的。





对氮源的分析

能把非氨基酸类的简单氮源自行合成所需要的一切氨基酸，称为“**氨基酸自养型生物**”。

需要从外界吸收现成的氨基酸作氮源的微生物，则称为“**氨基酸异养型生物**”。

无机氮源：铵态氮、硝态氮、氮气等；

有机氮源：尿素、氨基酸、蛋白质等。



微生物利用的氮源物质

种类	氮源物质	备注
蛋白质类	蛋白质及其不同程度降解产物（脲、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，将大分子蛋白质降解利用，而多数细菌只能利用分子量较小其降解产物
氨及铵盐	NH_3 、 $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 等	容易被微生物吸收利用
硝酸盐	KNO_3 等	容易被微生物吸收利用
分子氮	N_2	固氮微生物可利用，但当环境中存在化合态氮源时，固氮微生物就失去固氮能力
其它	嘌呤、嘧啶、	大肠杆菌不能以嘧啶作为唯一氮源，在氮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，然后再分解并利用嘧啶
	脲、胺、酰胺、氰化物	可不同程度地被微生物作为氮源加以利用



发酵工业常用的氮源

铵盐、硝酸盐、牛肉膏、蛋白胨、酵母膏、鱼粉、蚕蛹粉、豆饼粉、花生饼粉等。





三、能源 (energy source)

能源： 能为微生物的生命活动提供最初能量来源的营养物或辐射能。





能源谱：

① 化学物质

有机物：化能异养微生物的能源（同碳源）

无机物：化能自养微生物的能源（不同于碳源）；化能自养型的微生物，其利用的能源物质是一些还原态的无机物质，如 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 S 、 H_2S 、 H_2 、 Fe^{2+} 等。

② 辐射能

光能自养和光能异养微生物的能源





四、生长因子 (growth factor)

生长因子：是一类对微生物正常代谢必不可少且不能用简单的碳源或氮源自行合成的有机物。

广义生长因子：除维生素外，还包括碱基、卟啉及其衍生物、甾醇、胺类、C4~C8的分枝或直链脂肪酸，以及需要量较大的氨基酸。

狭义生长因子：指维生素。

生长因子功能

构成细胞成分；调节代谢，维持生命的正常活动。

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
核黄素(B ₂)	氢、电子	黄素核苷酸FMN和FAD的前体，他们构成黄素蛋白的辅基，转移氢
烟酸(B ₅)	氢、电子	NAD和NADP前体，是脱氢酶的辅酶，参与递氢过程及氧化还原反应
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
泛酸	酰基	辅酶A的前体，乙酰载体的辅基，转移酰基，参与糖和脂肪酸的合成
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
生物素(H)	羧基	羧化酶辅基，在CO ₂ 固定、氨基酸和脂肪酸合成及糖代谢中起作用
维生素B ₁₂	羧基，甲基	钴酰胺辅酶，参与一碳基传递，与甲硫氨酸和胸苷酸的合成和异构化有关



按照微生物对生长因子的需要与否，将它们的关系分
以下几类：

① 生长因子自养型微生物：

不需要从外界吸收任何生长因子。多数真菌、放线菌和不少细菌、大肠杆菌。

② 生长因子异养型微生物：

需要从外界吸收多种生长因子才能维持正常生长。乳酸菌、动物致病菌等。营养缺陷型菌。

③ 生长因子过量合成微生物：

少数微生物在代谢活动中，能合成并大量分泌某些维生素等生长因子。维生素生产菌株。



不同微生物合成氨基酸的能力差异很大

有的细菌能自己合成所需的全部氨基酸，不需从外界补充；有的细菌合成能力极弱，如肠膜明串珠菌需要从外界补充17种氨基酸和维生素才能生长。

生长因子需要量一般很少。微生物需要的氨基酸量为20 ~ 50mg/L。



五、无机盐

大量元素：凡是生长所需浓度在 10^{-3} ~ 10^{-4} mol/L范围内的元素，可称为大量元素，如**K、Ca、Na、Mg、S、P、Fe**等；

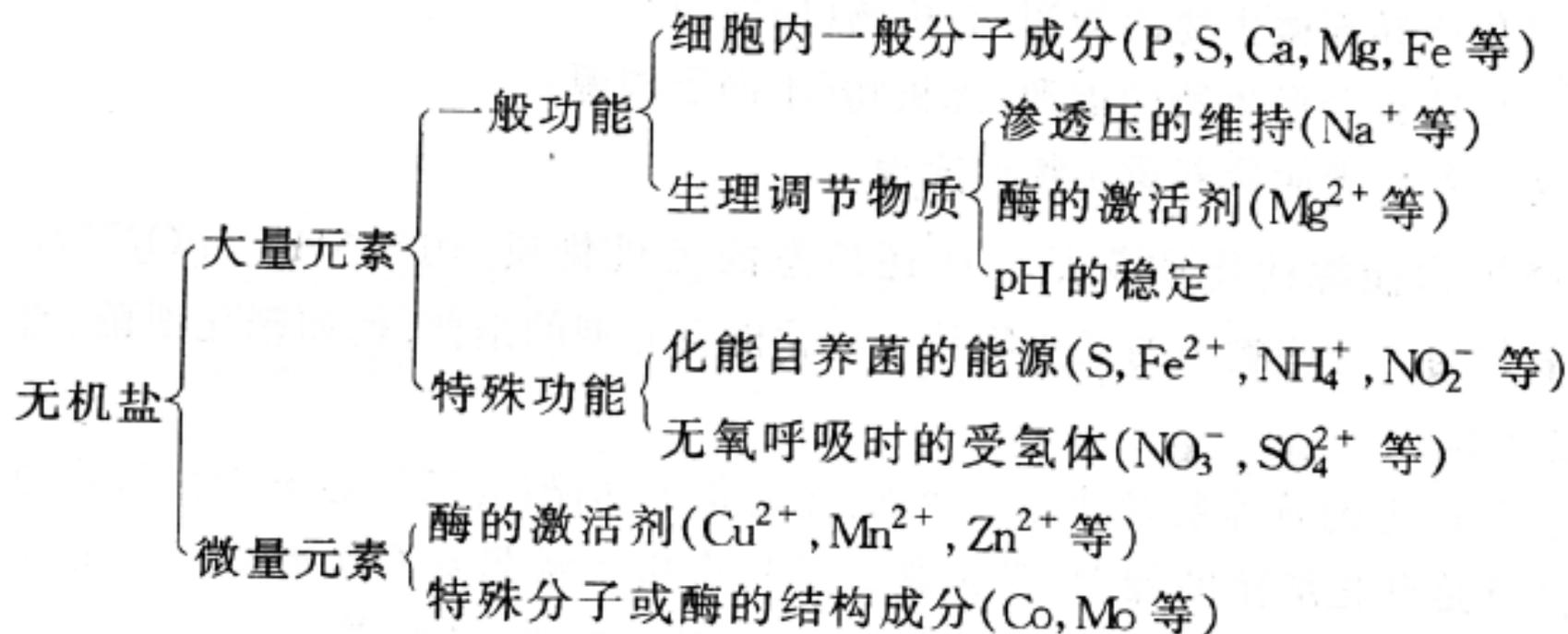
微量元素：凡所需浓度在 10^{-6} ~ 10^{-8} mol/L范围内的元素，称为微量元素，如**Mn、Cu、Zn、Co、Mo**等。

Fe介于大量元素和微量元素之间。

配制培养基适当添加大量和微量元素。



无机盐功能：





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等高能分子的成份，作为缓冲系统调节培养基pH
硫	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4	含硫氨基酸（半胱氨酸、甲硫氨酸等）、维生素的成份，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份，叶绿素和细菌叶绿素成份
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，建立细菌感受态所需
钠	NaCl	细胞运输系统组份，调节细胞渗透压，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	FeSO_4	细胞色素及某些酶的组份，某些铁细菌的能量物质，合成叶绿素、白喉毒素所需

无机盐及其生理功能



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
钼	存在于硝酸盐还原酶、固氮酶、甲酸脱氢酶中
铜	存在于细胞色素氧化酶中
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
钨	存在于甲酸脱氢酶中
锰	存在于过氧化物歧化酶、磷酸烯醇式脱羧酶、柠檬酸合成酶中
镍	存在于脲酶中, 为氢细菌生长所必需



六、水

水分是细胞中的主要组成成分，一般约为70~90%。

主要作用：

- ❑ 细胞物质的组成成分；
- ❑ 生物化学反应的介质；
- ❑ 细胞内各种物质的基本溶剂；
- ❑ 调节细胞内的温度，保持生活环境温度的恒定。





除了少数微生物如蓝细菌以水为代谢中间物外，其他微生物都不是利用水作为营养物质。

几种生物的游离水含量：人体：~60% 海蜇：~96%
微生物：75~85%。

细胞的含水量为： $(\text{湿重}-\text{干重})/\text{湿重} \times 100\%$

将细胞表面所吸附的水分除去后称量所得重量即为湿重。
一般以单位培养液中所含细胞重量表示（g/L或mg/ml）。

微生物和动物、植物营养要素的比较



生物类型 营养要素	动物 (异养)	微生物		绿色植物 (自养)
		异养	自养	
碳源	糖类、脂肪	糖、醇、有机酸等	二氧化碳、碳酸盐等	二氧化碳、碳酸盐等
氮源	蛋白质或其降解物	蛋白质、有机和无机氮化合物、氮	无机氮化合物、氮	无机氮化合物
能源	与碳源相同	与碳源相同	氧化无机物或利用日光能	利用日光能
生长因子	维生素	部分需要维生素	不需要	不需要
无机元素	无机盐	无机盐	无机盐	无机盐
水分	水	水	水	水





第二节 微生物的营养类型

营养类型是根据微生物生长所需的主要营养要素即能源和碳源的不同，而划分的微生物类型。





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	氨基酸营养型 (amino acid autotroph)
	氨基酸自养型 (amino acid heterotroph)
5.以生长因子分	原养型 (prototroph) 或野生型 (wild type)
	营养缺陷型 (auxotroph)
6.以取食方式分	渗透营养型 (osmotroph)
	吞噬营养型 (phagocytosis)
7.以取得死或活有机物分	腐生型 (saprophytism)
	寄生型 (parasitism)



通常依据微生物获取能源、碳源、氢或电子供体不同将微生物分为4种营养类型：光能无机营养型、光能有机营养型，化能无机营养型和化能有机营养型。

仅根据碳源可将微生物分为自养型和异养型两类。

自养微生物能在完全无机的环境中繁殖、生长，具有完备的酶系，能利用 CO_2 或以碳酸盐为碳源，以氨或硝酸盐为氮源，合成细胞有机物质。

异养型微生物合成能力较差，需要较为复杂的有机化合物才能生长，主要以有机碳化合物为碳源，氮源为有机或无机物。



微生物的营养类型

营养类型	能源	供氢体	基本碳源	实例
光能无机营养型 (光能自养型)	光	无机物	CO ₂	蓝细菌、紫硫细菌、绿硫细菌、藻类
光能有机营养型 (光能异养型)	光	有机物	CO ₂ 及简单有机物	红螺菌科的细菌(即紫色无硫细菌)
化能无机营养型 (化能自养型)	无机物	无机物	CO ₂	硝化细菌、硫化细菌、铁细菌、氢细菌、硫黄细菌等
化能有机营养型 (化能异养型)	有机物	有机物	有机物	绝大多数细菌和全部真核微生物





根据利用有机物的情况分为两大类：腐生和寄生。

腐生：是指只能利用无生命的有机物。以腐生方式取得营养的微生物称为腐生菌。

寄生：是指只能在活的有机体内，从寄主体内获得营养物质。以寄生方式吸取营养的微生物又称为寄生菌。

上述营养类型分法上在一定程度上是人为的，许多微生物的营养活动性之间并没有一条严格的界限。





第三节 营养物质进入细胞的方式

微生物个体微小，比表面大，能高效率地进行细胞内外的物质交换。微生物从外界摄取营养物质的方式随微生物类群和营养物质种类而异，可归纳为吞噬和渗透吸收两种类型。





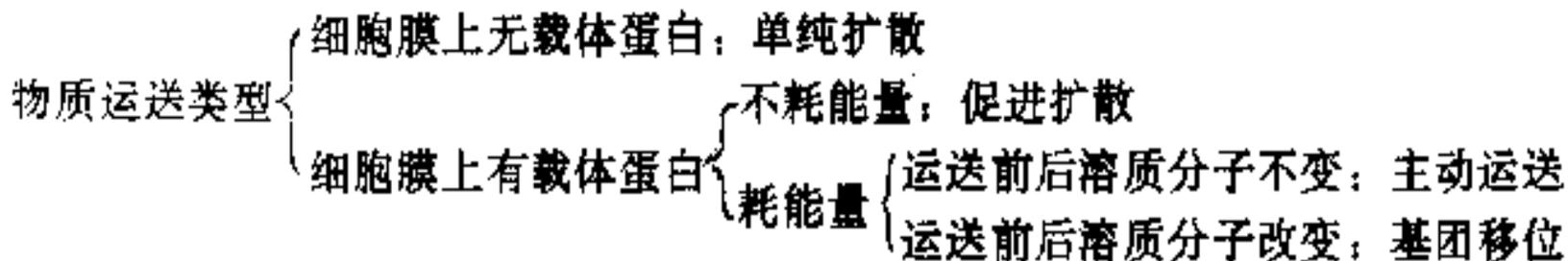
细胞壁是环境中营养物质进入细胞的屏障之一。普通细胞壁的网状结构允许分子量低于800道尔顿的小分子物质自由出入，但能阻挡高分子物质进入。所以复杂的高分子化合物如多糖、蛋白质、纤维素和果胶等在进入微生物细胞之前必须先经过胞外酶的初步分解后才能进入。常见的胞外酶主要有：淀粉酶、纤维素酶、果胶酶、几丁质酶、蛋白酶、核酸酶与脂酶等。

细胞质膜为半透膜，由磷脂双分子层和嵌合蛋白分子组成，是控制营养物质进入和代谢产物排泄出细胞的主要屏障，具有选择性吸收功能，是细胞内外物质交换的主要界面。



营养物质通过质膜的方式

单纯扩散、促进扩散、主动运输和基团转移，
其中主动运输最为重要。





一、单纯扩散 (simple diffusion)

特点:

- ① 从高浓度向低浓度扩散;
- ② 运输速率与浓度梯度差成正比;
- ③ 不消耗代谢能, 无选择性;
- ④ 非主要运输方式。

运输对象:

气体、水、某些水溶性物质 (乙醇等) 和脂溶性物质、大肠杆菌吸收钠离子。





二、促进扩散 (facilitated diffusion)

为被动扩散，除具有单纯扩散的特点之外，运输需要载体蛋白参与，具有专一性。

特点：

- ① 物质由高浓度区向低浓度区扩散；
- ② 不需要能量；
- ③ 扩散特异性载体蛋白（渗透酶）参与；
- ④ 扩散速度较快。

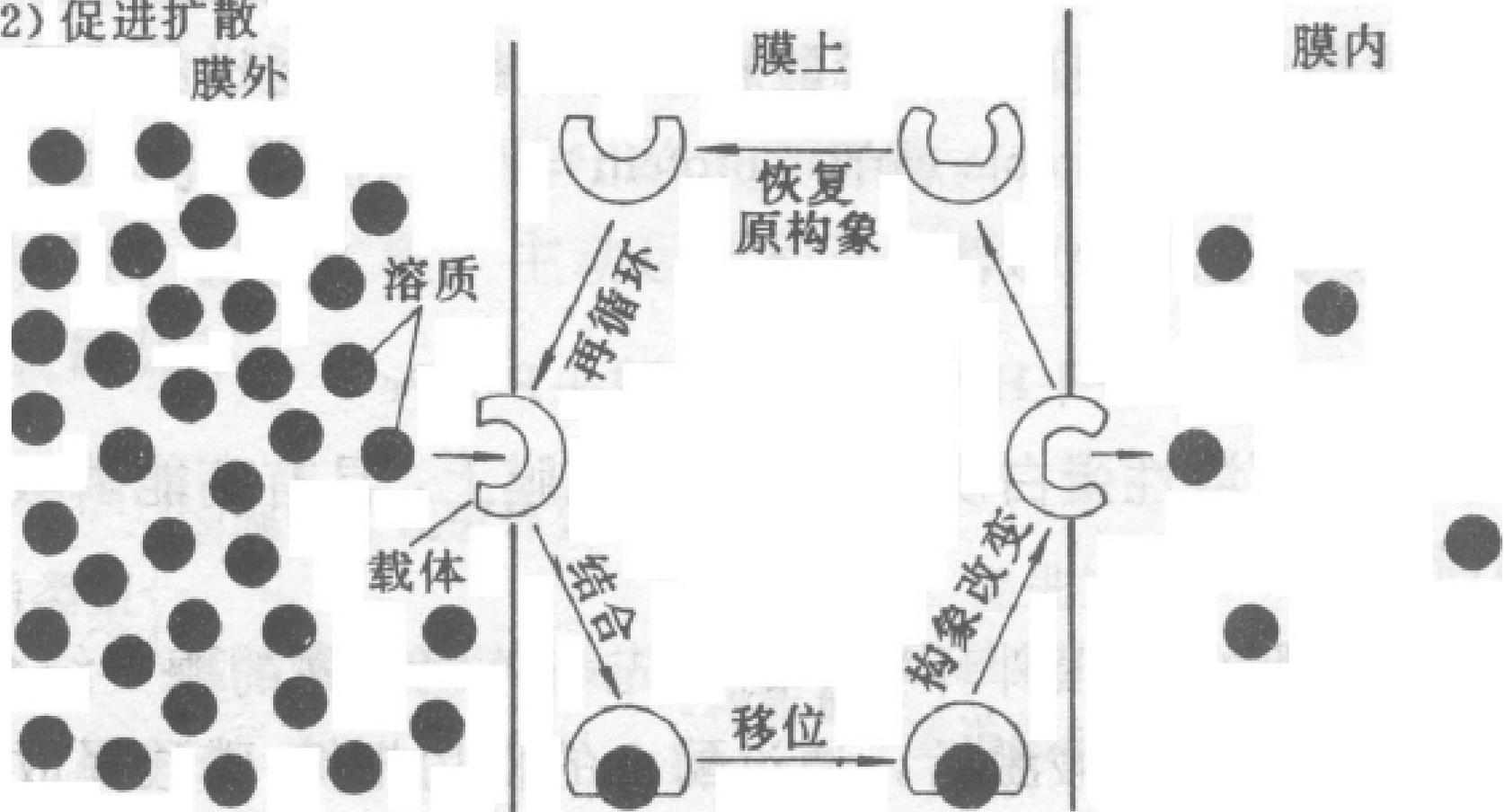
运送物质的种类：

无机离子和糖类等



(2) 促进扩散

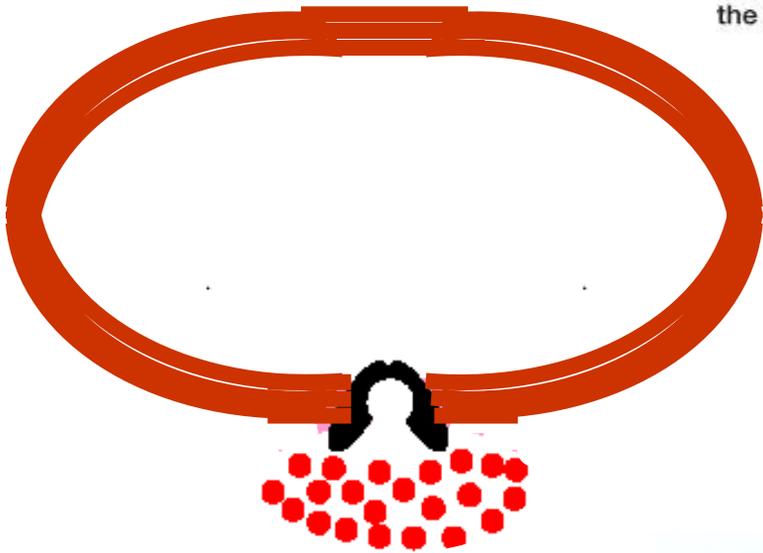
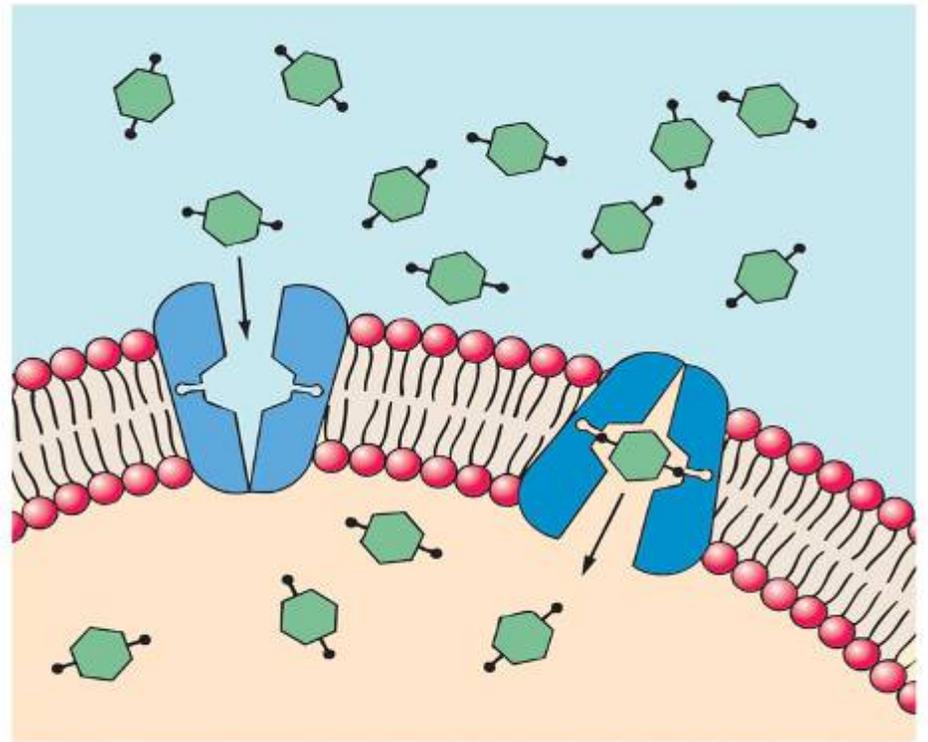
膜外



Outside
the cell

Plasma
membrane

Inside
the cell





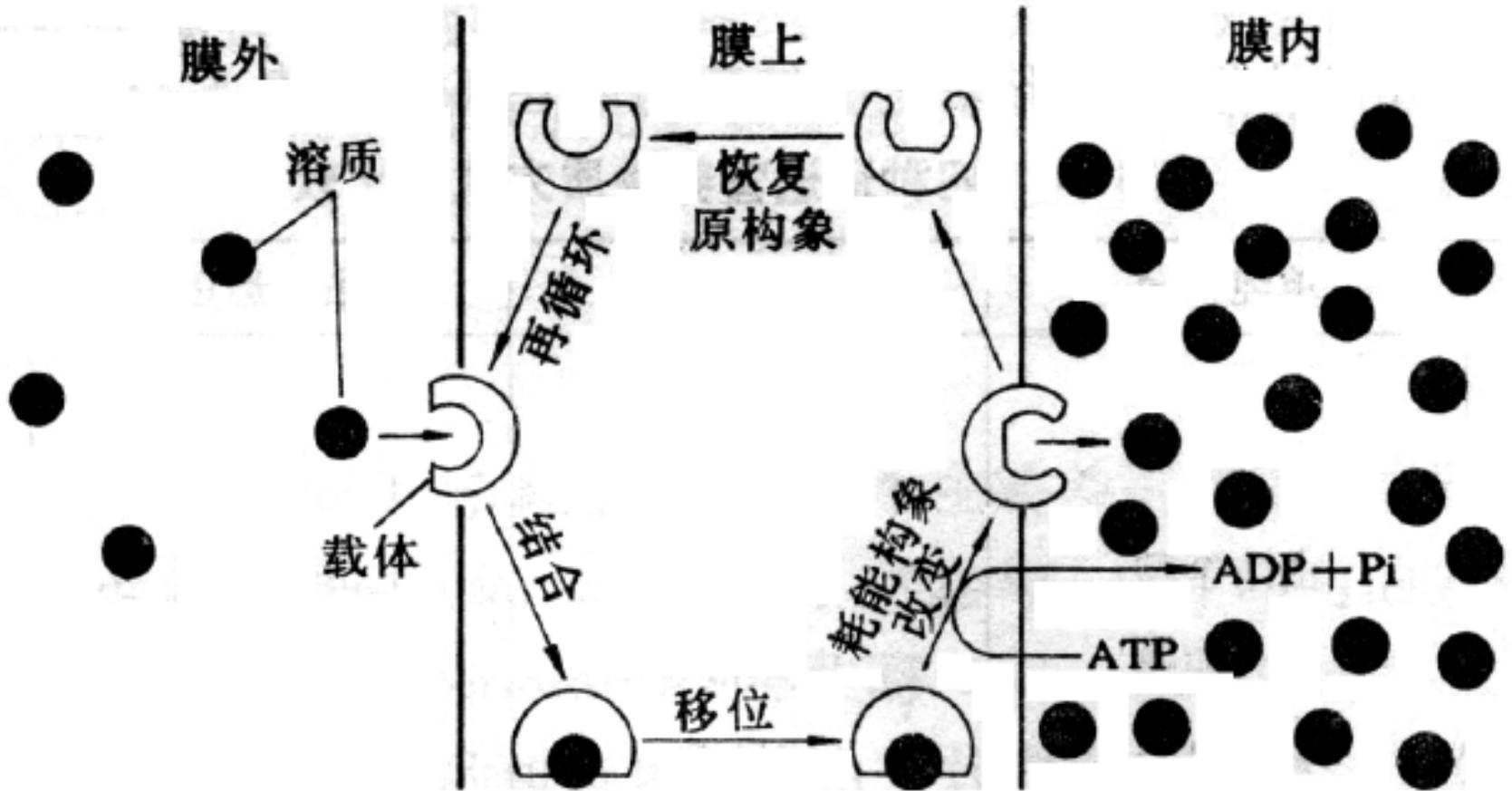
三、主动运输 (active transport)

特点:

- ① 逆浓度梯度运输;
- ② 需要提供能量;
- ③ 需要特异性载体蛋白参与;
- ④ 微生物吸收营养物质的主要机制。

运送物质的种类:

无机离子、有机离子和一些糖类等





四、基团移位：(group translocation)

特点：

- ① 逆浓度梯度运输；
- ② 需要能量；
- ③ 需要特异性载体蛋白；
- ④ 被转运的物质改变了化学结构。

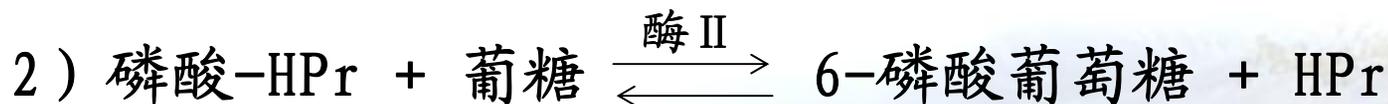
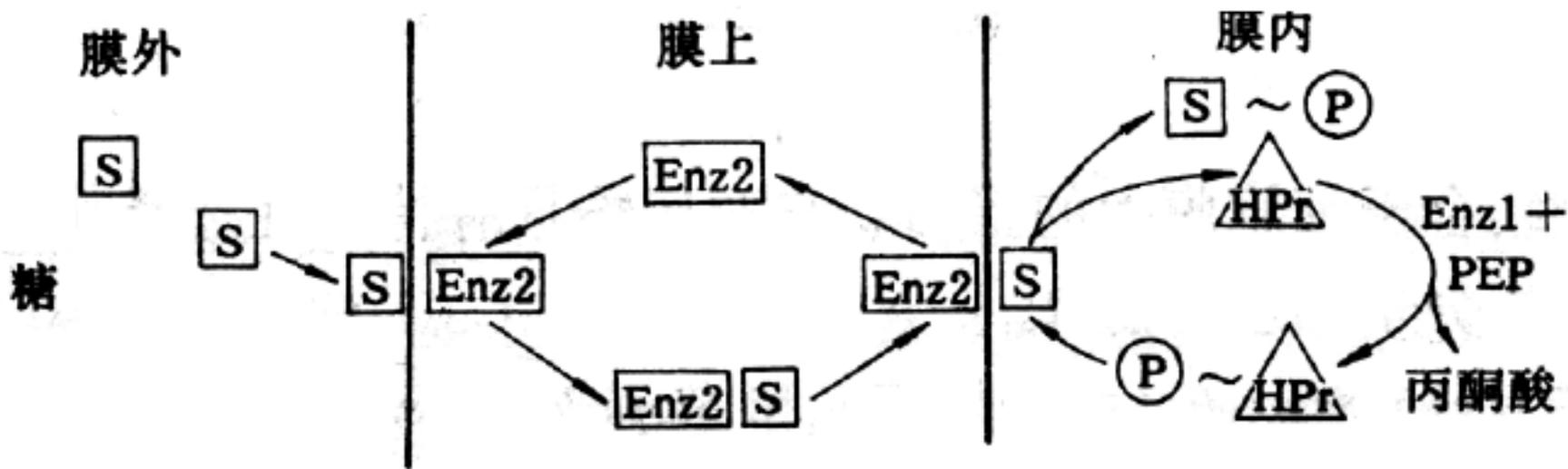
运送物质：

葡萄糖、果糖、甘露糖、核甘酸、丁酸和腺嘌呤等。



基团移位运输葡萄糖过程

(3) 基团移位

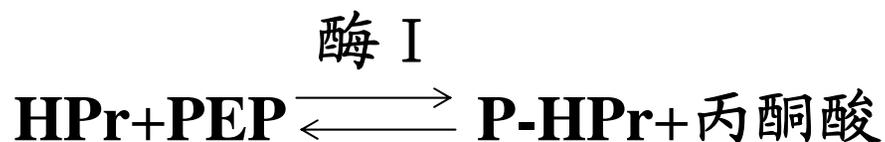




磷酸转移酶系统

① 热稳定载体蛋白(HPr)激活 (HPr被PEP磷酸化)

细胞内高能化合物磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)的磷酸基团把HPr激活:



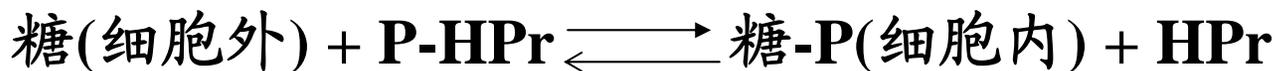
HPr是一种热稳定的低分子量可溶蛋白，结合在细胞质膜上，具有高能磷酸载体的作用。酶 I 是一种可溶性蛋白，分布于细胞质内。



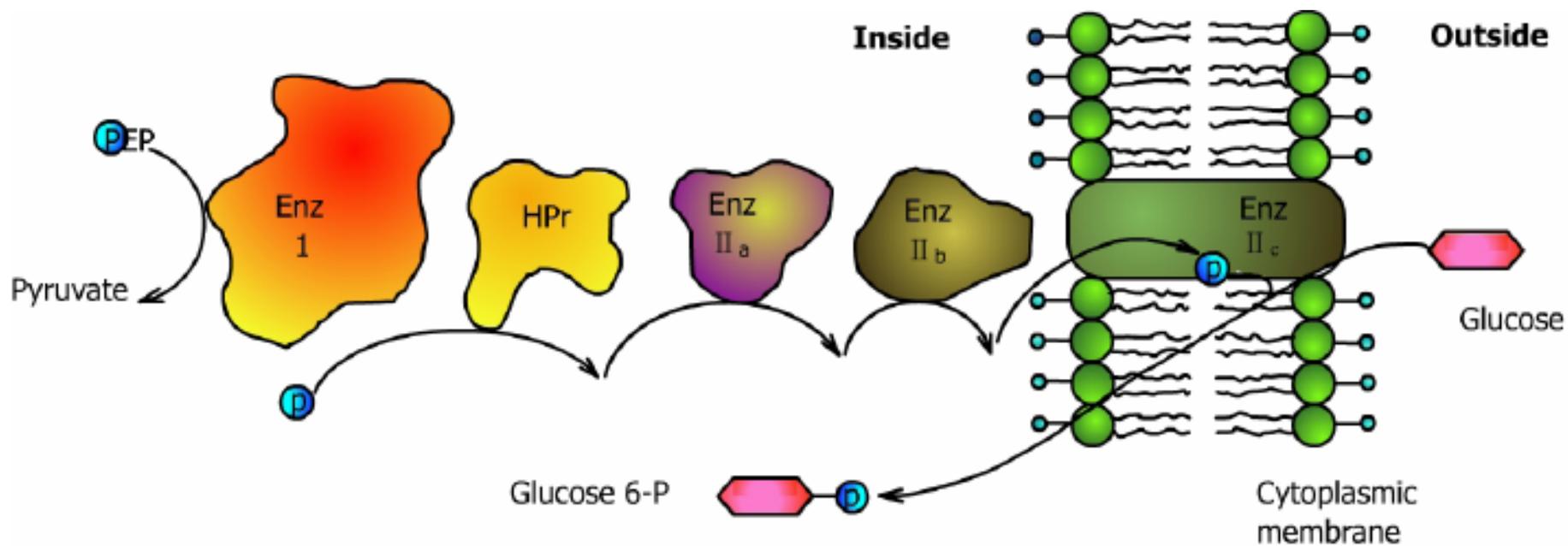
② 糖被磷酸化后进入质膜内

膜外环境中的糖先与外膜表面的酶 II_c 结合，再转运至内膜表面。这时，糖被P—HPr上的磷酸激活，依次通过酶 II_a 、 II_b 作用将磷酸—糖释放到细胞内。

酶 II



酶 II_a 为细胞质蛋白，无底物特异性。酶 II_b 、 II_c 是结合于细胞膜上的蛋白，它对底物有特异性选择作用。细胞膜上可诱导出一系列与底物分子相适应的酶 $\text{II}_{b、c}$



四种运送方式:

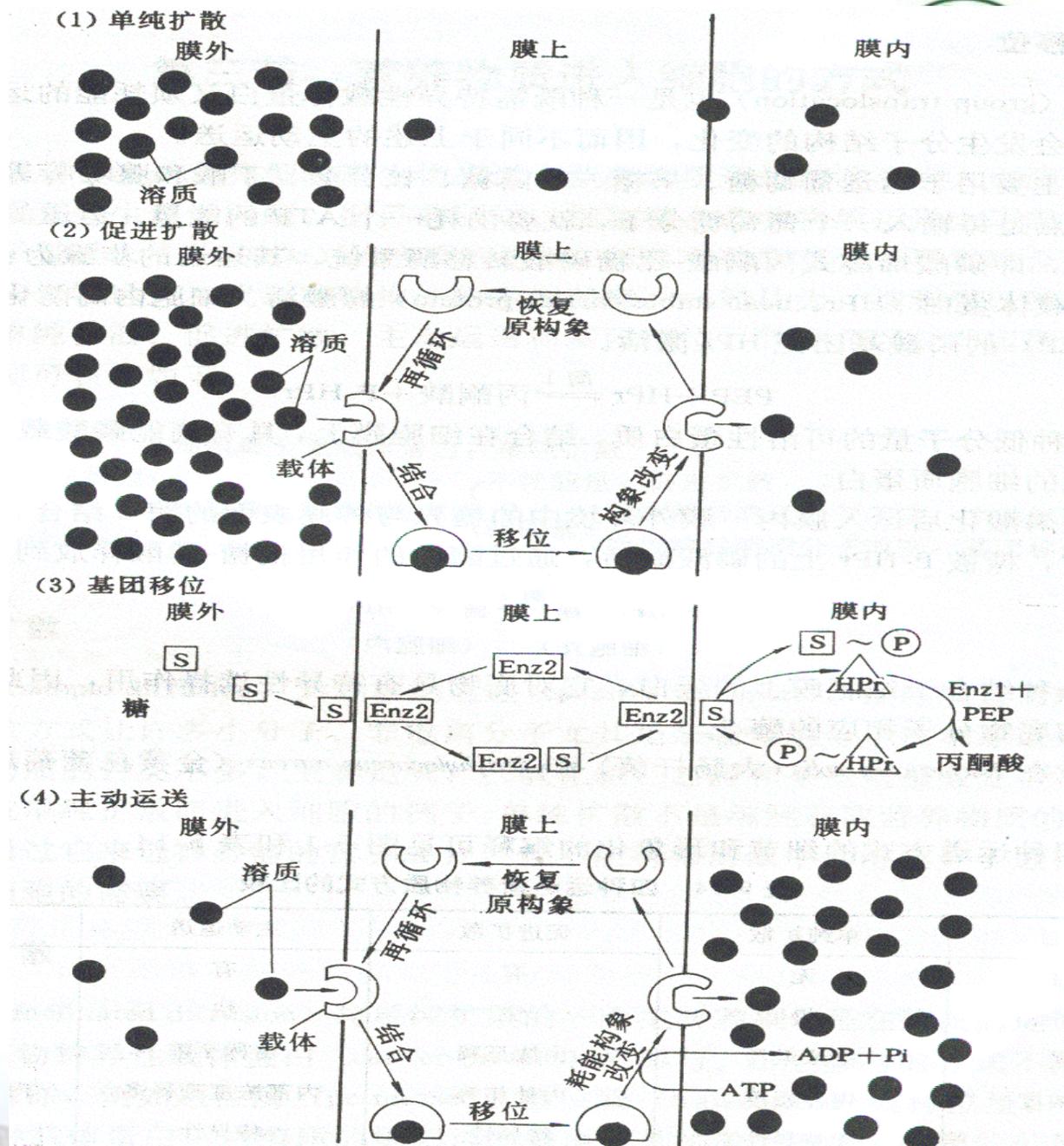


图 5-1 营养物质运送入细胞的四种方式



四种运送营养物质方式的比较

运输方式	浓度	载体	耗能	运送分子发生变化
单纯扩散	高→低	不需要	不耗能	不变化
促进扩散	高→低	需要	不耗能	不变化
主动运输	低→高	需要	耗能	不变化
基团转位	低→高	需要	耗能	变化

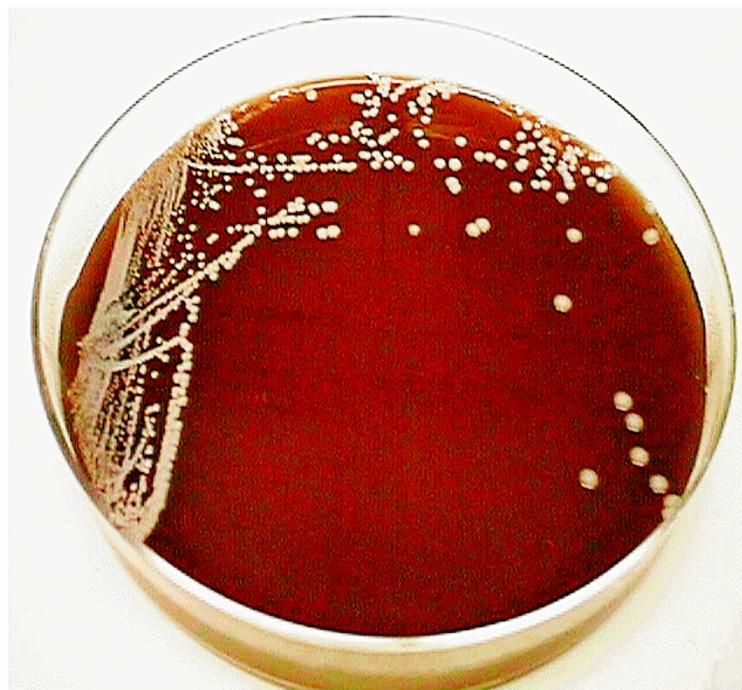


第四节 培养基





培养基(**medium/culture medium**)一种人工配制的、适合微生物生长繁殖或产生代谢产物用的混合养料。具备六种营养要素、尽快灭菌。





一、选用和设计培养基的原则和方法

(一) 4个原则

1. 目的明确

实验室：不计较成本，重复性要强；

大生产：考虑成本

① 种子培养基：利于菌种快速繁殖

② 发酵培养基：利于产物生成



2. 营养协调

在大多数化能异养微生物配制的培养基中，除水分外，碳源含量最高，其后依次是氮源、大量元素和生长因子。

要素： $H_2O > C源 > N源 > P、S > K、Mg > 生长因子$

含量： $\sim 10^{-1} \sim 10^{-2} \sim 10^{-3} \sim 10^{-4} \quad \sim 10^{-5} \quad \sim 10^{-6}$

C/N比指在微生物培养基中所含的碳源中碳原子与氮源中氮原子的摩尔数比。真菌C/N比较高，细菌C/N比较低。



3. 理化适宜

(1) pH

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

微生物在生长过程中会产生能引起培养基pH改变的代谢产物。在含糖培养基上,有的微生物有很强的产酸能力,如不加以调节,就会抑制甚至杀死自身。微生物分解蛋白质和氨基酸会产生氨,引起pH上升。

为了维持培养基pH相对稳定,常采用内源调节法(预先向培养基中加入调节物质)和和外源调节法(在培养过程中不断流加酸碱)控制培养基pH。



调节方法

① 内源调节：缓冲体系(磷酸缓冲液)

(a)磷酸缓冲液由 K_2HPO_4 和 KH_2PO_4 组成。

K_2HPO_4 溶液呈碱性， KH_2PO_4 溶液呈酸性，两者摩尔浓度相等时，pH为6.8。调节两者的浓度比可获得从pH6.0~7.6间一系列稳定的pH。此缓冲系统只在一定范围内起作用(pH6.4~7.6)





(b) 备用碱(CaCO_3 、 NaHCO_3)

CaCO_3 在水溶液中溶解度很低，加入到液体或固体培养基中时，不会使培养基pH明显升高。当微生物不断产酸时，它就逐渐被溶解，将形成的酸消耗掉。

② 外源调节：加入酸液或碱液





(2) 渗透压和水活度

渗透压：等渗环境适宜微生物生长

水活度：

②渗透压和水活度：

渗透压、等渗环境适宜微生物生长；
水活度、

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{ERH}{100}$$

微生物生长的环境中水的有效性常以水活度值(water activity, α_w)表示, 水活度值是指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, 即: $\alpha_w = P_w / P_{0w}$, 式中 P_w 代表溶液蒸汽压力, P_{0w} 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。



(3) 氧化还原势

各种微生物对氧的需求不同。氧化还原电位 E_h 可作为供氧水平的指标。

好氧微生物生长的 E_h 为 $+0.3 \sim +0.4V$ ，它们在 $E_h > 0.1V$ 的环境中均能生长；兼性厌氧微生物在 $E_h > 0.1V$ 时进行好氧呼吸，在 $E_h < 0.1V$ 时进行发酵；厌氧微生物在 $E_h < 0.1V$ 时才能生长。





培养厌氧微生物时，除了在配制培养基、灭菌、接种和培养一系列操作中采用严格的厌氧技术除去氧气外，还要在培养基中加入还原剂，降低其氧化还原电位。

不论是好氧还是厌氧微生物，随着它们的生长和代谢活动的进行，培养基的原有 E_h 会逐步降低。这是由于溶解氧的消耗及 H_2S 、 H_2 等还原性代谢产物形成累积所致。



4. 经济节约

- 以粗代精
- 以“野”代“家”
- 以废代好
- 以简代繁
- 以炆代粮
- 以纤代糖
- 以氮代脱
- 以“国”代“进”





(二)、4种方法

- ◆生态模拟
- ◆参考文献
- ◆精心设计
- ◆试验比较





二、培养基的种类

(一) 按对培养基成分的了解作分类

1. 天然培养基(complex medium; undefined medium)

概念：利用各种动植物或微生物的原料，其成分难以确切知道。

主要原料：牛肉膏、麦芽汁、蛋白胨、酵母膏、玉米粉、麸皮、各种饼粉、马铃薯、牛奶、血清等。

优点：取材广泛，营养全面和丰富，制备方便，价格低廉，适宜于大规模培养微生物。

缺点：成分复杂，成分不稳定。

举例：① 牛肉膏蛋白胨培养基：牛肉膏10g，蛋白胨5g，NaCl 10g，水1000mL

② 麸皮培养基



配制天然培养基用的几种原料性质与成分

营养物质	来源	主要成份
牛肉浸膏	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
酵母浸膏	酵母细胞的水溶性提取物浓缩而成的膏状物质	富含B类维生素,也含有有机氮化合物和碳水化合物



2. 组合培养基(defined medium)

利用已知成分和数量的化学物质配置而成。

优点：成分精确、重复性好；如高氏一号培养基。

缺点：价格较贵、配制较烦、营养贫瘠、生长慢。一般用于实验室进行营养代谢、分类鉴定和选育菌种、菌种鉴定和生物测定等定量要求较高的研究工作上。



3. 半组合培养基 (semi-defined medium)

用一部分天然物质作为碳氮源及生长辅助物质，又适当补充少量无机盐类配制的培养基。半合成培养基应用最广，能使绝大多数微生物良好地生长。

举例：

土豆蔗糖培养基（**PDA**）：土豆(即马铃薯)
200g，葡萄糖**20g**，琼脂**20g**





(二) 按培养基外观的物理状态来分

1. 固体培养基(solid medium)

根据固体的性质可把其分为四类：

- ① 凝固培养基：加1~2%琼脂或5~12%明胶作凝固剂
- ② 非可逆性凝固培养基：血清或无机硅胶
- ③ 天然固体培养基：由天然固体状基质直接制成
- ④ 滤膜

用途：固体培养基在科学研究和生产实践上具有广阔的用途，如用于菌种的分离、鉴定、菌落计数，检验杂菌，选种、育种，菌种保藏，抗生素等生物活性物质的生物测定等，还可以用于固体发酵。



琼脂与明胶性质比较

	成分	营养价值	分解性	融化温度	凝固温度	耐高压灭菌力
琼脂	聚半乳糖 硫酸酯	无	罕见	96℃	40℃	强
明胶	蛋白质	氮源	极易	25℃	20℃	弱





2. 半固体培养基(**semi-solid medium**)

加入少量的凝固剂到液体培养基中就配制成半固体培养基，琼脂用量一般在**0.5%**左右。

用途：观察细菌的运动性，鉴定噬菌体的效价和厌氧菌的培养及菌种保存等。





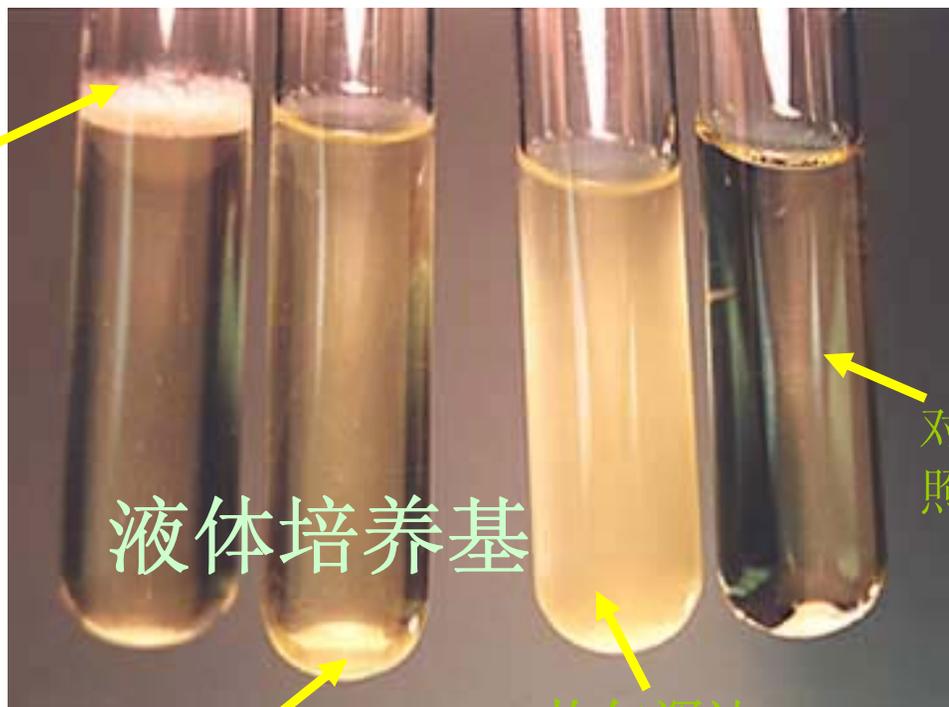
3. 液体培养基(liquid medium)

所配制的培养基是液态的，其中的成分基本上溶于水，没有明显的固形物。

液体培养基营养成分分布均匀，适用于做细致的生理代谢等各项基本理论的研究，更适用于现代化的大规模发酵生产。



菌膜

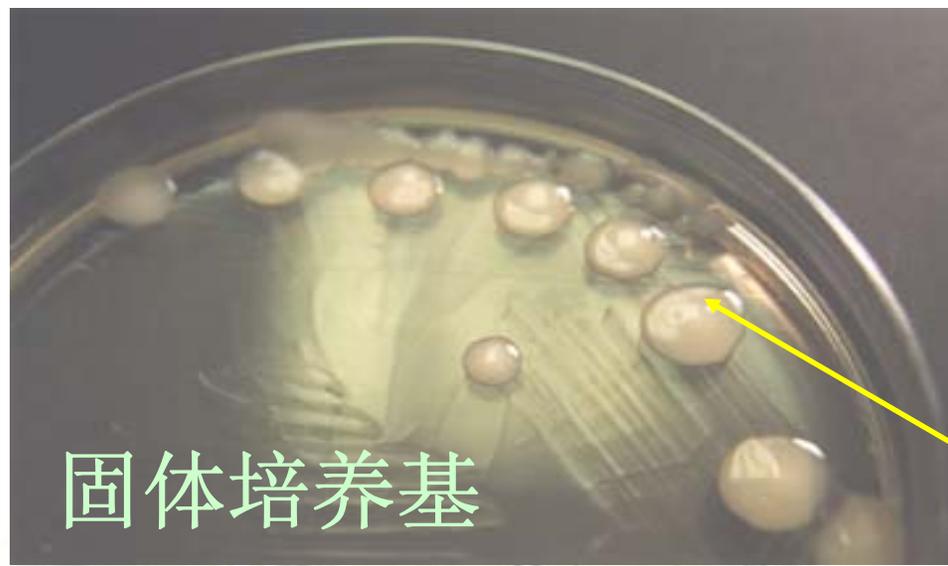


液体培养基

菌沉淀

均匀浑浊

对照



固体培养基

粘液型菌落



半固体培养基





(三) 按培养基对微生物的功能作分类

1. 选择性培养基(selected medium)

在培养基中加入某种物质以杀死或抑制不需要的菌种生长，称为选择培养基。如链霉素、氯霉素等能抑制原核微生物的生长，而制霉菌素、灰黄霉素等能抑制真核微生物的生长，结晶紫能抑制革兰氏阳性细菌的生长等。





选择对象	抑制剂及其用量(μ g/ml)	抑制对象
细菌	四环素(200) 四环素(100) 放线菌酮(20) 放线菌酮(50) 放线菌酮(100) 放线菌酮(200) 真菌素(Cabicitin)(100)	黑曲霉, 酵母 酱油曲霉, 根霉 酵母 酱油曲霉 根霉 黑根霉酱 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) 叠氮化钠(Na 3N)(0.005%, pH7) 真菌素(20)	芽孢杆菌 曲霉 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
放线菌	放线菌酮(50), 制霉菌素(50), 丙酸钠(4mg/ml)	霉菌
酵母	丙酸钠(0.2%) 丙酸钠(0.1% ~ 0.15%) CuSO ₄ ·5H ₂ O(0.05%, pH3.8) 四环素(50), 氯霉素(20), 链霉素(20 ~ 100), 青霉素(50), 金霉素(100), 真菌素(200)	曲霉, 根霉, 杆菌 青霉, 微球菌, 醋酸菌 乳酸菌, 乳链球菌 细菌
霉菌	氯霉素(100)青霉素(20), 链霉素(40), 青霉素(100), 氯霉素(50)+放线菌酮(10)	细菌 细菌, 酵母



2. 鉴别培养基(differential medium)

培养基中加有能与某一菌的无色代谢产物发生显色反应的指示剂，从而用肉眼就能使该菌菌落与外形相似的其它种菌落相区分的培养基。

最常见的鉴别性培养基是伊红美蓝乳糖培养基，即 **EMB**培养基。它在饮用水、牛乳的大肠杆菌等细菌学检验以及遗传学研究上有重要用途。



改良EMB的成分:

蛋白胨	10g
乳 糖	5g
蔗 糖 *	5g
• K_2HPO_4	2g
伊红 Y	0.4g
美 蓝	0.065g
蒸馏水	1 000ml
最终 pH=7.2	

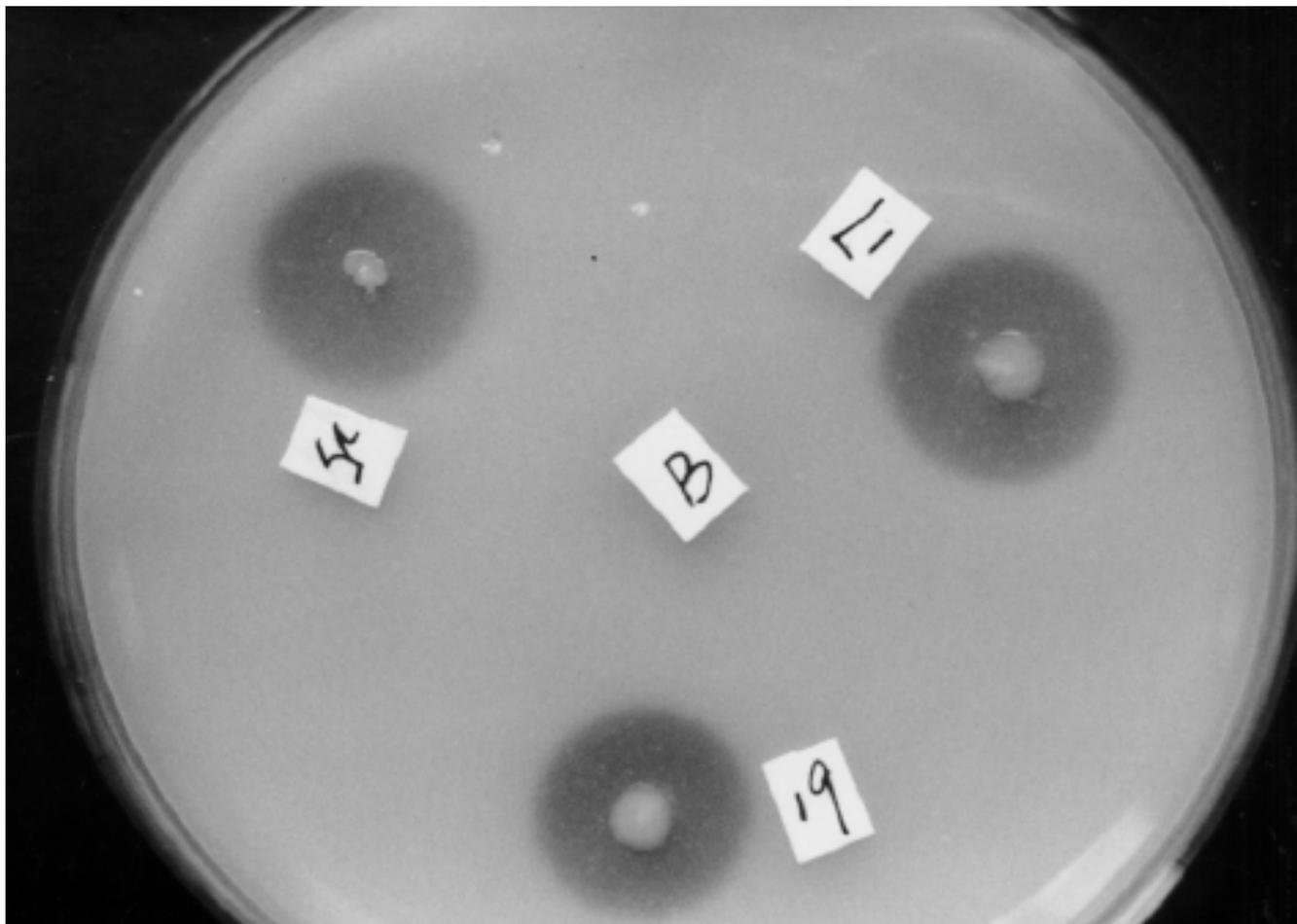




伊红美蓝两种苯胺染料可抑制革兰氏阳性细菌生长。伊红为酸性染料，美蓝为碱性染料。试样中的多种肠道细菌在伊红美蓝培养基上形成能相互区分的菌落，其中大肠杆菌能强烈发酵乳糖产生大量混合酸，菌体带 H^+ ，可与酸性染料伊红结合，再与美蓝结合形成紫黑色化合物，使菌落在透射光下呈紫色，反射光下呈绿色金属光泽。产酸力弱的沙雷氏等属细菌菌落为棕色；不发酵乳糖不产酸的沙门氏等属细菌呈无色透明菌落。



培养基名称	加入化学物质	微生物代谢产物	特征性变化	主要用途
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
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
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
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
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
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



壳聚糖降解菌产生的透明圈





五、培养基的配制

- ① 计算称量
- ② 加水溶解
- ③ 调节pH
- ④ 过滤分装
- ⑤ 放塞包扎
- ⑥ 加压灭菌



1/2 试管长

图 40 搁置斜面

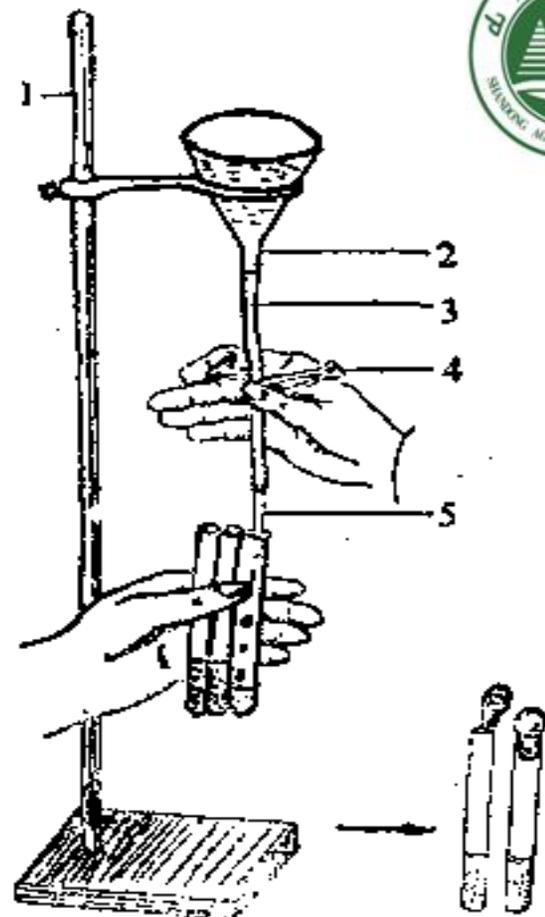


图 37 培养基的分装装置图

1. 铁架, 2. 漏斗,
3. 乳胶管, 4. 弹簧夹,
5. 玻管



复习思考题:

1. 什么叫营养和营养物? 微生物的六大营养物质是哪些?
2. 说明微生物吸收营养的吸收方式和特点。
3. 简述微生物的营养类型的特点。
4. 何谓培养基? 简述培养基的类型。



