

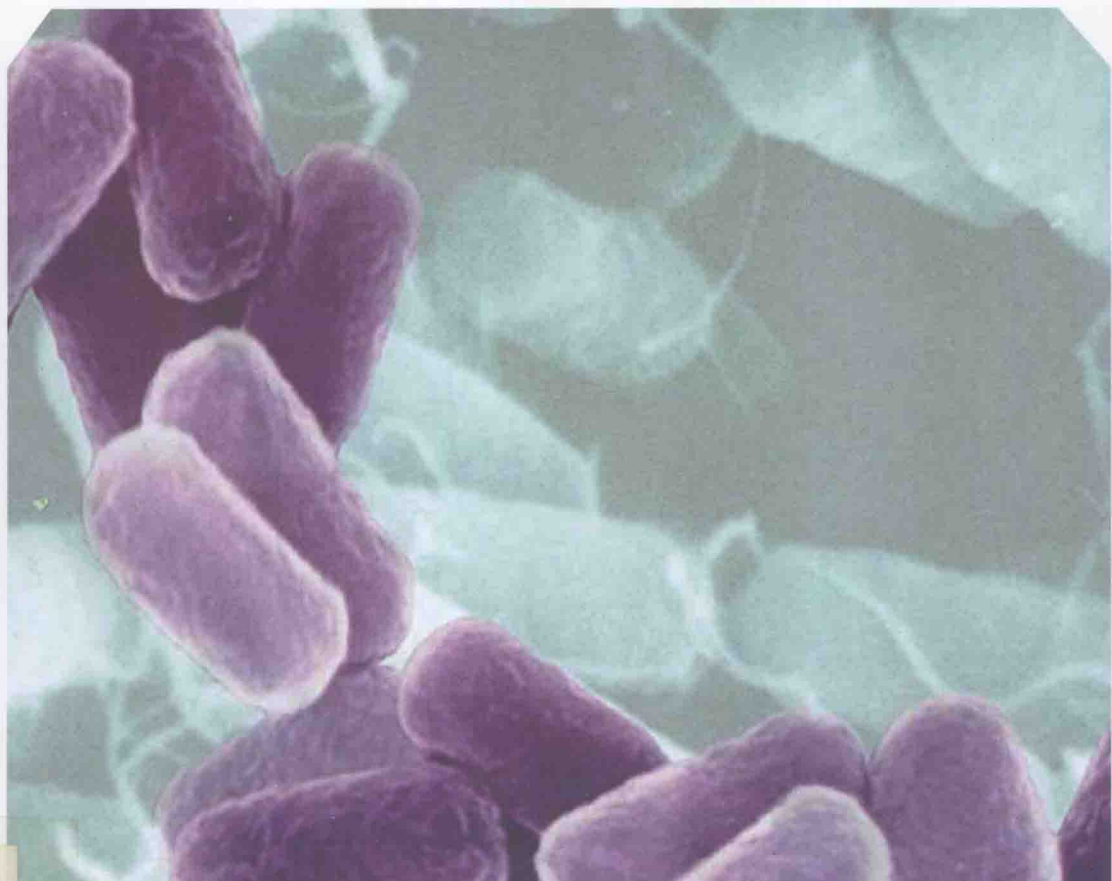


高职高专“十二五”规划教材

微生物应用技术

WEISHENGWU
YINGYONG JISHU

万洪善 主编



化学工业出版社



高专“十二五”规划教材

微生物应用技术

WEISHENGWU
YINGYONG JISHU

万洪善 主编



化学工业出版社

北京

本书是为了配合“化学制药技术”国家重点建设专业的建设而编写的高职高专教材。根据高职高专特点,采用项目化编写,突出实用性。

全书分为四大模块。模块一:认识微生物,介绍了微生物的特点、研究对象、微生物学的发展过程以及微生物学与人类的关系;模块二:微生物基础知识,介绍了原核微生物、真核微生物、病毒等微生物的生物学特性和应用;模块三:微生物技能操作,介绍了微生物的分布与控制技术、微生物的接种、分离和培养技术、微生物菌种保藏技术、免疫学技术;模块四:拓展项目,介绍了药物微生物限度检查、食品卫生微生物检查和发酵型乳酸饮料的制作。为了拓宽学生知识面,开阔视野,本书还设计了生动有趣的知识链接、视野拓展等内容。

本书可作为高职高专院校药物制剂技术、生物制药技术、食品/药品质量检测技术等与药学相关的制药技术类专业的教材,也可作为相关专业学生参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

微生物应用技术/万洪善主编. —北京:化学工业出版社, 2013. 3.
高职高专“十二五”规划教材
ISBN 978-7-122-16453-7

I. ①微… II. ①万… III. ①微生物学-高等职业教育-教材 IV. ①Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 020067 号

责任编辑: 窦 臻
责任校对: 边 涛

文字编辑: 糜家铃
装帧设计: 张 辉

出版发行: 化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮编编码 100011)

印 装: 大厂聚鑫印刷有限责任公司

787mm×1092mm 1/16 印张 11 $\frac{3}{4}$ 字数 293 千字 2013 年 4 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 28.00 元

版权所有 违者必究

前 言

《微生物应用技术》是高职高专教材，适用的主要专业为药物制剂技术、生物制药技术、食品/药品质量检测技术等与药学相关的制药技术类专业。本书针对高等职业教育和高职高专学生的特点，面向制药企业生产和管理第一线，按照药品行业技术领域的相关职业岗位（药品检验、药品生产加工、药品工业发酵等）的任职要求，以强化技能训练和素质教育这一理念编写的。

本书以国内现有的微生物应用技术相关教材及讲义为基础，根据教学需要，结合编者长期的教学实践经验，本着“理实一体化，突出技能操作”的原则，采用项目化编写，在每一项目中，注重突出岗位要求的核心知识与技能，边讲边练，工学结合，校企合作，同时兼顾学生的可持续发展。

本书共分四大模块、十个项目，分别介绍了认识微生物、微生物基本知识、微生物技能操作（微生物的分布与控制技术，微生物的接种、分离与培养技术，微生物菌种保藏技术以及免疫学技术）的内容；为了培养学生综合训练能力和创新能力，在拓展项目中，安排了药物微生物限度检查、食品卫生微生物检查检验和发酵型乳酸饮料制造等内容。为了增强教材内容的可读性、趣味性，突出培养学生合作能力和创新能力，教材中设立了“知识目标”、“能力目标”、“知识链接”、“视野拓展”、“案例分析”、“课堂互动”、“知识小结”、“目标检测”等内容，供学习者提高学习效果；根据实际需要安排了相应的实操内容，每个实操任务有任务描述和任务执行过程（接受指令、查阅依据、制订计划、实施操作和结果报告），其间按需插入“训练”、“注意事项”和“思考讨论”，避免了实操作过程的失误；项目小结采用树状结构，一目了然；项目后安排了目标检测内容，便于学生自学。各学校可根据专业培养目标、专业知识结构需要、职业技能要求及学校教学实验条件选取教学内容。为方便选用本教材的学校开展教学，本书配有教学大纲和 ppt 电子课件，请发邮件至 cipedu@163.com 免费索取。

全书由万洪善主编并统稿，袁芹参与编写工作。编写过程中得到连云港职业技术学院、连云港高等师范专科学校、连云港中医药高等职业技术学院的全力支持。另外在编写过程中，连云港恒瑞医药股份有限公司、江苏正大天晴药业股份有限公司给予了相关技术上的支持，在此表示衷心的感谢。

由于微生物技术涉及面广，各个区域行业、企业有各自特点，加之编者的水平和能力有限，书中不当之处敬请读者批评指正。

万洪善

2012年12月

目 录

模块一 认识微生物

一、微生物	1
二、微生物学	3
三、微生物技术的应用	8
四、实操练习	9
视野拓展	17
知识小结	18
目标检测	19

模块二 微生物基础知识

项目一 原核微生物	20
一、细菌	20
二、实操练习——微生物镜检技术	25
三、放线菌	30
视野拓展	31
项目二 真核微生物	31
一、单细胞真菌	32
二、多细胞真菌	32
三、几类常见真菌	34
视野拓展	36
项目三 病毒	36
一、病毒的生物学特性	37
二、病毒的干扰现象与干扰素	42
三、亚病毒	43
四、病毒与实践	44
五、实操练习——噬菌体的分离、纯化与效价的测定	45
视野拓展	48
知识小结	49
目标检测	49

模块三 微生物技能操作

项目一 微生物的分布与控制技术	51
一、微生物的分布	51

二、实操练习——微生物的检测	54
三、微生物与环境的关系	59
四、微生物的控制	60
五、实操练习——消毒灭菌技术	68
视野拓展	71
知识小结	72
目标检测	72
项目二 微生物的接种、分离与培养技术	73
一、微生物的营养与生长	73
二、微生物的人工培养	84
三、微生物生长的测定	94
四、微生物的代谢	100
五、实操练习——微生物的接种、分离、纯培养技术	104
视野拓展	112
知识小结	113
目标检测	113
项目三 微生物菌种保藏技术	114
一、微生物的遗传	115
二、微生物的变异	116
三、菌种的衰退、复壮和保藏	119
四、育种及菌种的保藏技术	122
视野拓展	130
知识小结	131
目标检测	131
项目四 免疫学技术	132
一、免疫学基础	133
二、实操练习——免疫学检测技术	141
视野拓展	145
知识小结	146
目标检测	146

模块四 拓展项目

项目一 药品微生物限度检查	148
一、药品微生物限度检查方法	148
二、不同药品供试液的制备	150
三、控制菌检查	152
项目二 食品卫生微生物检查	159
一、总则	159
二、菌落总数测定	161
三、霉菌和酵母菌计数	163
四、大肠菌群计数	164

项目三 发酵型乳酸饮料的制作.....	166
---------------------	-----

附 录

附录一 染色液的配制	170
附录二 指示液的配制	171
附录三 培养基的配制	171
附录四 药品微生物限度标准（2010年版《中国药典》）	174
附录五 制药行业微生物检验室要求	175
附录六 药品微生物限度检查原始记录参考范本	177
参考文献.....	179

模块一

认识微生物

【知识目标】

1. 掌握微生物的概念和特点；
2. 熟悉微生物学的发展简史；
3. 了解微生物与人类的关系、微生物技术在工农业生产中的应用。

【能力目标】

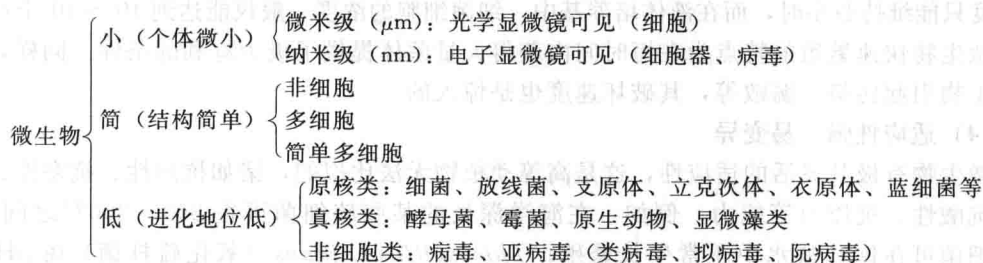
1. 熟练掌握实验室规则；
2. 学会生物废弃物的处置方法；
3. 学会实验室发生意外时的应急处理办法；
4. 学会配制微生物实验室常用洗涤剂；
5. 能够熟练清洗玻璃器皿并对其进行包扎。

一、微生物

微生物与人类的关系十分密切，它们的生命活动与人类日常生活和生产息息相关：一方面部分微生物可给人类带来毁灭性的疾病和灾害；另一方面大多数微生物对人类是无害的，而且是有益的。如何正确使用微生物这把“双刃剑”，利用有益微生物，控制有害微生物，造福于人类是我们学习微生物应用技术的目的。

1. 微生物的概念

微生物是一群个体微小、结构简单，必须借助于光学显微镜或电子显微镜才能看到的小生物类群的总称。按其结构、组成分为三大类：非细胞微生物、原核微生物和真核微生物。



2. 微生物的特点

微生物和动植物一样具有新陈代谢等生物的基本特征，但微生物也有其自身的特点（见表 1-1）。

表 1-1 微生物形态、大小和细胞类型

微生物	大小近似值	细胞的特性
病毒	0.01~0.25 μm	非细胞的
细菌	0.1~10 μm	原核生物

微生物	大小近似值	细胞的特性
真菌	2~1000 μm	真核生物
原生动	2~1000 μm	真核生物
藻类	1m~几米	真核生物

(1) 个体微小, 结构简单

微生物的个体极其微小, 要测量它们, 必须用“ μm ”或“nm”作单位。如一个典型的球菌体积仅为 $1\mu\text{m}^3$; 最近芬兰科学家 E. O. Kajander 等发现了一种能引起尿结石的纳米细菌, 其直径最小仅为 50nm, 甚至比最大的病毒更小一些。这种细菌分裂缓慢, 三天才分裂一次, 是目前所知的最小的具有细胞壁的细菌。迄今为止, 所知的个体最大的细菌是一个硫细菌, 其大小一般在 0.1~0.3mm, 能够清楚地用肉眼看到。它们的结构也是非常简单的, 大多数微生物为单细胞, 只有少数为简单的多细胞。又如 PSTV 由 359 个核苷酸组成的 RNA, 长度为 50nm; 朊病毒仅由蛋白质分子组成。

(2) 吸收多, 转化快

科学家研究发现, 微生物吸收和转化物质的能力比动物、植物要高很多倍, 如在合适的环境下, *Escherichia coli* (大肠杆菌) 每小时内可消耗其自重 2000 倍的乳糖。*Candida utilis* (产蛋白假丝酵母) 合成蛋白质的能力比大豆强 100 倍, 比食用公牛强 10 万倍, 微生物的这个特性为它们的高速生长繁殖和产生大量代谢产物提供了充分的物质基础, 从而使微生物有可能更好地发挥“活的化工厂”的作用, 人类对微生物的利用主要体现在它们的生物化学转化能力上。

(3) 生长旺, 繁殖快

生物界中, 微生物具有惊人的生长繁殖速度, 其中二等分裂的细菌尤为突出。人们研究得最透彻的微生物是 *Escherichia coli* (大肠杆菌), 其细胞在合适的生长条件下, 每繁殖一代的时间是 12.5~20.0min。如按 20min 繁殖一代计, 则每小时繁殖 3 代, 24h 可繁殖 72 代, 菌体数目可达到 4.722×10^{24} 个 (约 $4.722 \times 10^6 \text{kg}$), 如果把这些细胞排列起来可将整个地球表面覆盖。但事实上, 由于营养、空间、代谢产物等种种条件的限制, 细菌的指数分裂速度只能维持数小时, 而在液体培养基中, 细菌细胞的浓度一般仅能达到 $10^8 \sim 10^9$ 个/mL。

微生物快速繁殖的特点为在短时间内获得大量菌体提供了极为有利的条件。同样, 如果是微生物引起污染、腐败等, 其破坏速度也是惊人的。

(4) 适应性强、易变异

微生物有极其灵活的适应性, 这是高等动植物无法比拟的, 诸如抗热性、抗寒性、抗盐性、抗酸性、抗压力等能力。例如: 在海洋深处的某些硫细菌可在 250~300 $^{\circ}\text{C}$ 之间生长; 嗜盐细菌可在饱和盐水中正常生长繁殖; *Thiobacillus oxidans* (氧化硫杆菌) 在 pH 值为 1~2 的酸性环境中生长。*Bacillus*. sp. (未定名) 的芽孢在琥珀内蜜蜂肠道中已保存了 2500 万~4000 万年。

微生物的个体一般都是单倍体, 加之它具有繁殖快、数量多以及与外界环境直接接触等原因, 虽然微生物的变异频率仅为 $10^{-9} \sim 10^{-6}$, 也可在短时间内产生大量变异的后代。在微生物育种中利用变异这一特性可获得高产菌株。如在 1943 年, 利用 *Penicillium chrysogenum* (产黄青霉) 发酵生产青霉素, 每毫升青霉素发酵液中只分泌约 20 单位的青霉素, 生产 1 茶匙约需数千英镑。而现在通过微生物遗传育种工作者的不懈努力, 使该菌产量变异逐渐累积, 加之其他条件的改进, 每毫升发酵液中达到 5 万单位, 甚至达到 10 万单位, 成

本大大降低。这在动植物育种工作中是不可思议的。这是对人类有益的变异。

实践中常遇到一些有害变异，在医疗中最常见的致病菌对抗生素所产生的抗药性变异。青霉素于 1943 年刚问世时，对 *Staphylococcus aureus* 最低制菌浓度为 $0.02\mu\text{g}/\text{mL}$ 。过了几年，制菌浓度不断提高，有的菌株的耐药性竟比原始菌株提高了 1 万倍。如在 20 世纪 40 年代用青霉素治疗时，即使是严重感染的病人，每天只需 10 万单位，而现在成人需 800 万单位，新生儿也不少于 40 万单位。病情严重时，甚至用数千万。同时也说明了“滥用抗生素无异于玩火”的口号是有充分科学依据的。

知识链接

微生物容易变异，使得微生物育种工作相对高等动植物育种容易得多。但也存在许多不利的方面，会给菌种储藏工作带来一定不便。若致病菌发生耐药性变异，会造成原来的有效药物失去药效，迫使人们不得不去寻找新的药物。

(5) 分布广，种类多

微生物在自然界分布极为广泛，土壤中，海洋内，河流里，空气中，高山上，岩石内到处都有微生物。人们用地球物理火箭在距地球表面 85km 的空中找到了微生物，在万米深的海底找到了微生物，在 427m 的沉积岩中也找到了活的细菌。食物（手指甲盖大的生肉上有上万个）中、粮食（1g 上有几千到几万个）内、饮料（1 汤匙生牛奶中有 2000 万个）里、动植物体内外及人的肠道（100 万亿个，近 400 种）中都有微生物。

微生物的种类繁多。目前已发现的微生物约有 15 万种。但据前苏联的科学家估计这只占微生物总量的 5%~10%。随着分离、培养方法的改进和研究工作的进一步深入，将会有更多的微生物被发现。因而研究和开发微生物资源的前景是十分灿烂的。

二、微生物学

1. 微生物学及其研究内容

微生物学是研究微生物及其生命活动规律和应用的学科。研究内容涉及微生物在群体、细胞或分子水平上的形态结构、分类鉴定、生理生化、生长繁殖、遗传变异、生态分布以及微生物各类群之间，微生物与其他生物之间的相互作用、相互影响，微生物在农业、工业、环境保护、医疗卫生事业等方面的应用。

2. 微生物学的任务

微生物学是研究微生物及其生命活动规律，以及其与人类关系的一门学科，它的根本任务就是发掘微生物资源，充分利用和改善有益微生物；控制、消灭或改造有害微生物，消除其有害影响，使其更好地造福人类。

3. 微生物学的发展

微生物学的发展是随着人类认识自然和改造自然的过程中发展起来的。现扼要地将它分为 5 个时期（见表 1-2）。

表 1-2 微生物学史简表

分期	史前期	初创期	奠基期	发展期	成熟期
时间/年	约 8000 年前~1676	1676~1861	1861~1897	1897~1953	1953~至今
实质	朦胧阶段	形态描述阶段	生理水平研究阶段	生化水平研究阶段	分子生物学水平研究阶段

续表

分期	史前期	初创期	奠基期	发展期	成熟期
时间/年	约 8000 年前~1676	1676~1861	1861~1897	1897~1953	1953~至今
开创者	各国劳动人民。其中尤以我国的制曲、酿酒技术著称	列文·虎克——微生物学的先驱者	① 巴斯德——微生物学奠基人 ② 科赫——细菌学奠基人	E. Buchner——生物化学奠基人	J. Watson 和 F. Crick——分子生物化学奠基人
特点	① 未见细菌等微生物的个体；② 凭实践经验，利用微生物的有益活动（进行酿酒、发面、制酱、酿醋、沤肥、轮作、治病等）	① 自制单式显微镜，观察到细菌等微生物的个体；② 出于个人爱好对一些微生物进行形态描述	① 微生物学开始建立；② 创立了一整套独特的微生物学基本研究方法；③ 开始运用“实践—理论—实践”的思想方法开展研究；④ 建立了许多应用性分支学科；⑤ 进入寻找人类和动物病原微生物的“黄金时期”	① 对无细胞酵母菌“酒化酶”进行生化研究；② 发现微生物的代谢统一性；③ 开始寻找各种有益微生物代谢产物；④ 普通微生物学开始形成；⑤ 各相关学科和技术方法相互渗透、相互促进，加速了微生物学的发展	① 微生物学从一门在生命科学中较为孤立的以应用为主的学科，成为一门十分热门的前沿基础学科；② 在基础学理论的研究方面，逐步进入到分子水平的研究，微生物迅速成为分子生物学研究中的最主要的对象；③ 在应用研究方面，向着更自觉、更有效和可被人控制的方向发展

在真正看到微生物以前，人们就已感觉到微生物的存在，甚至已在不知不觉中应用它们，如 4000 多年前中国民间酿酒已十分普遍，后来又相继发明了酿醋、制酱等。

但直到 17 世纪，荷兰商人列文·虎克发明了显微镜（见图 1-1），人类才第一次观察到了微生物，认识了这一“自然界的秘密”。随后，许多研究者凭借显微镜对微生物类群进行了广泛的观察和研究，充实和扩大了人类对微生物类群认识的视野。

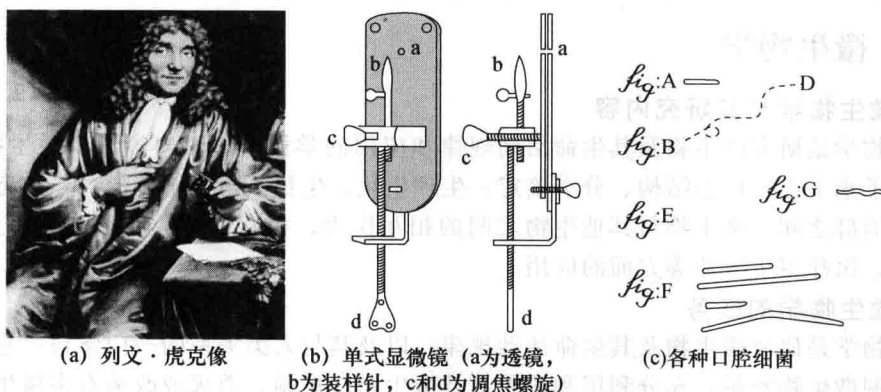


图 1-1 列文·虎克及其单式显微镜

从列文·虎克首次发现微生物之后的 200 年，人们对微生物的研究基本停留在形态描述和分类工作方面，未能将其形态与生理活动与人类生产实践联系起来。直到微生物学杰出奠基人——法国的巴斯德（Louis Pasteur）和德国的科赫（Robert Koch）为代表的科学家的出现，才改变了这种结局。

巴斯德（1822~1895 年）的主要贡献：① 否定了自然发生说 [巴斯德在前人工作的基础上，进行了许多试验，其中著名的曲颈瓶试验（见图 1-2）无可辩驳地证实，生命只能来自于生命的胚种，彻底否定了“自然发生学说”]；② 提出发酵是由微生物引起（酒精发酵）

的；③ 提出传染病是由病原菌引起的（建立了病原学说）；④ 提出预防接种措施，并研究出来多种疫苗（炭疽、鸡霍乱、狂犬病）；⑤ 发明巴氏消毒法（在 $60\sim 65^{\circ}\text{C}$ 做短时间的加热处理，杀死有害微生物）。

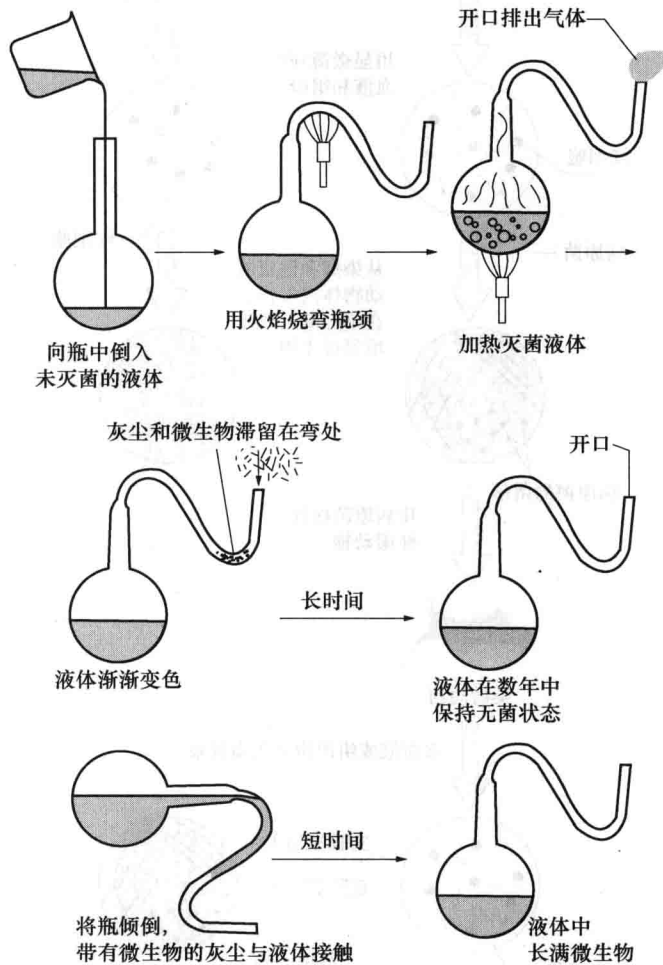


图 1-2 曲颈瓶试验

科赫（1843~1910年）的主要贡献：① 发明了明胶固体培养基和细菌染色方法；② 证实了炭疽病菌是炭疽病的病原菌；发现了肺结核的病原菌，这是当时死亡率极高的传染病，科赫因此而获得了诺贝尔奖；③ 提出了科赫法则。科赫法则的要点是：病原微生物必须能自原宿主分离出来，并在培养基中培养成纯培养，用这种微生物的纯培养接种健康而敏感的宿主，同样的疾病会重复发生，能重新分离出同一病原微生物并培养成纯培养（见图 1-3）。

巴斯德和科赫的杰出工作，使微生物学作为一门独立的学科开始形成，并为今后微生物学的研究和发展奠定了重要基础。

1860年，英国外科医生李斯特应用药物杀菌，并创立了无菌的外科手术操作方法。1897年德国学者毕希纳发现了酵母菌酒精发酵的酶促过程，将微生物生命活动与酶化学结合起来。1929年英国人弗莱明发现青霉菌能抑制葡萄球菌的生长。自1940年青霉素被美国人 Florey 和 Chain 分离出来并由此开始了现代抗生素发酵工业，微生物作为药物来源的重要地位才被普遍确认。而仅仅经过半个多世纪，微生物药物已经从单一品种发展成为抗病原

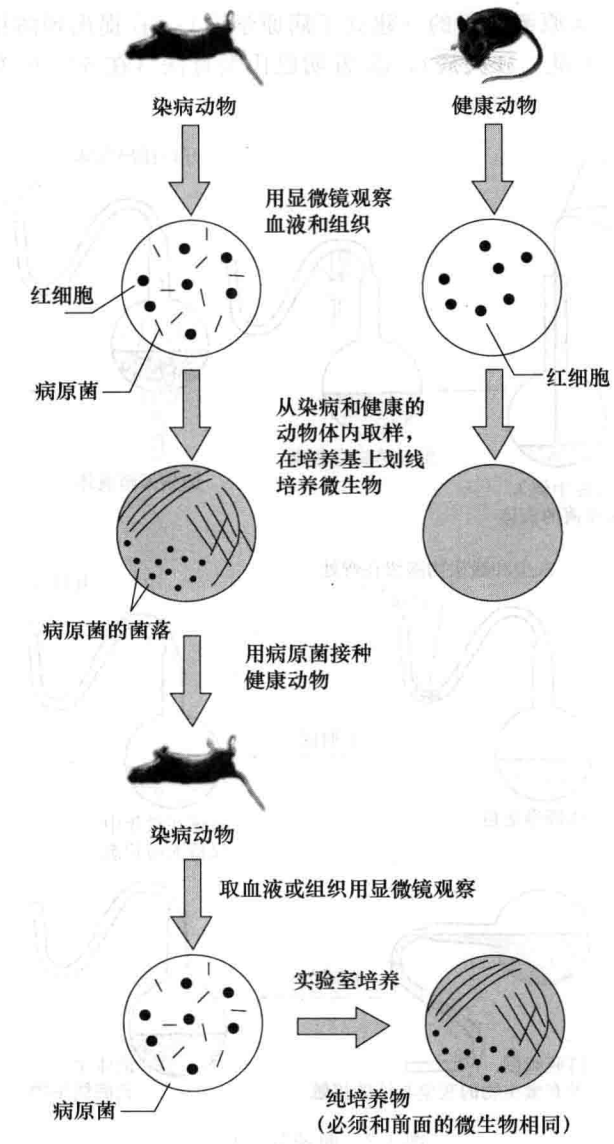


图 1-3 科赫法则

生物、抗肿瘤、免疫调节剂、酶制剂、调节细胞功能、调节动植物生长等诸多领域应用的重要药物种类。

20 世纪以后，相邻学科研究成果的应用使微生物学沿着两个方向发展，即应用微生物学和基础微生物学。在应用方面，对人类疾病和躯体防御技能的研究，促进了医学微生物学和免疫学的发展，同时农业微生物学、兽医微生物学也相继成为重要的应用学科。应用成果不断涌现，促进了基础研究的深入，细菌和其他微生物的分类系统出现不断完善。对细胞化学结构和酶及其功能的研究发展了微生物生理学和生物化学。微生物遗传与变异的研究导致了微生物遗传学的诞生。微生物生态学在 20 世纪 60 年代也形成了独立的学科。

在基础理论研究的同时，微生物学的实验技术同样发展迅速，19 世纪后期微生物的培养技术已趋成熟，如显微技术、灭菌方法、加压灭菌器、纯化培养技术、革兰氏染色法、培养皿和琼脂作凝固剂等。如今微生物学实验技术已相当完善，包括形态研究、纯培养技术、微生物

的营养与环境条件、微生物的分离纯化与鉴定、微生物遗传学实验、应用微生物实验等。这些技术已不仅仅作为基础研究的手段，更重要的是其在应用学科的发展中发挥了巨大的作用。

4. 微生物学研究的基本方法

在自然科学中，微生物世界难以被认识的主要障碍是：个体微小、外貌不显、杂居混生、因果难联。在微生物学的创立和发展中，克服这四道难关的主要代表是列文·虎克、巴斯德、科赫等人。由他们所创建的显微镜技术、无菌技术、纯种分离技术和微生物纯种培养技术等四项独特研究方法，为微生物学的创建和发展奠定了基础，而且至今仍有力地推动着现代生物学的研究和生产实践的发展。

(1) 显微镜技术

栖居于自然界中的微生物是以肉眼难以分辨地杂居丛生着。在显微镜问世之前，人们是无法目睹这个丰富多彩的微生物世界的。光学显微镜的诞生，它将肉眼的分辨率提高到微米级水平，而电子显微镜的出现使人眼分辨达到纳米水平。从此过去视而不见、触而不觉的微生物世界就展现在人们的眼前。第一台显微镜是由荷兰的杨森父子发明的。列文·虎克是第一个用显微镜来观察和描述微生物的。以后光学显微镜中相继出现了相差、暗视野和荧光等新附件，加上良好的制片和染色技术等又大大推动着微生物学形态、解剖和分类等研究。20世纪30年代初电子显微镜技术，以及与之配套的各种新技术和新方法的应用，使微生物学的研究从细胞水平逐渐向亚细菌和分子水平迈进。所以显微镜技术的问世和完善，不仅为揭开微生物世界做出贡献，同是也为揭示微观领域的奥秘提供了强有力的工具。

(2) 无菌技术

要真正揭开微生物世界的奥秘，就得深入研究，也就是必须创造一个无其他微生物干扰的无菌环境，即我们常说的无菌技术。无菌技术是在分离、转接及培养纯培养物时防止其被其他微生物污染的技术。现代无菌技术是由法国人阿贝特（Appert）在食品储藏中偶然发现的。而对灭菌技术的原理等做出科学解释的是巴斯德，他所进行的举世闻名的曲颈瓶实验，不仅彻底否定了当时十分流行的“生命自然发生学说”，而且为微生物学中的无菌技术的创立和发展奠定了理论和实践基础。

(3) 纯种分离技术

纯种分离技术是人类揭开微生物世界奥秘的重要手段。要揭开在自然条件下处于杂居混生状态的某一微生物的特点，以及它们对人类是有益还是有害，就必须采用在无菌技术基础上的纯种分离方法。早期对微生物群体进行单个纯化分离者是李斯特。但真正取得突破的是科赫发明的培养皿琼脂平板技术。从此，它为微生物的纯种分离技术奠定了扎实的基础。直到现在它仍广泛地应用于微生物菌种的筛选、鉴定、育种、计数及各种生物测定等工作中。

(4) 微生物纯种培养技术

微生物纯种培养技术在科学实验和生产实践中有着极其重大的理论与实践意义。若为微生物提供一个初级培养的实验方法并不复杂，但要使微生物在大规模生产中良好地生长或累积代谢产物，就得考虑一些最为合理的培养装置和有效的工艺条件，并且还要在整个微生物的发酵过程中严防其他微生物的干扰，即防止杂菌污染。在整个微生物纯种培养技术的发展过程中，大规模液体深层通气搅拌发酵装置，即发酵罐的发明及大规模地普及使用，它为生物工程学开辟了崭新的前景。同时微生物发酵工业也已成为国民经济的重要支柱之一。

综上所述，微生物学中四项独特的基本研究技术无疑为微生物学的创始、奠基和发展提供了基础。随着微生物在工、农、医及环保等领域中日益广泛的应用，微生物学的研究方法和技术必将日趋完善和发挥更大的作用。

三、微生物技术的应用

1. 微生物与制药工业的关系

微生物与制药工业、药品质量和人的关系非常密切，在制药工业中，有些药品和制剂本身就是微生物。有些药品是以微生物的代谢产品作为原料或以其有效作用参与制药过程。在现代医药工业中，微生物技术的开发日趋显示出其广阔的前景，不少药品和精细化学制品已可应用遗传工程的技术利用微生物进行生产。常见的微生物药物有：抗生素（青霉素、链霉素、氯霉素、土霉素、金霉素等）、维生素（维生素 B、维生素 C 等）、氨基酸（谷氨酸、苏氨酸、丙氨酸等）、核酸类物质、酶制剂和酶抑制剂（链激酶、青霉素酶、蛋白酶、脂肪酶等）、甾体化合物（胆甾醇、胆酸、肾上腺素等）。

微生物给药品生产、销售、使用三方面带来的麻烦，造成的重大损失越来越引起人们的重视。无处不在的微生物对药品原料、生产环境和成品的污染，是造成生产失败、成品不合格，直接或间接对人类造成危害的重要因素。药物被污染后，微生物在适当条件下生长繁殖，促使药物发生物理或化学性质的改变，使药品疗效降低或失效或生产毒害作用。污染微生物的药品还可直接导致患者感染，引起药源性疾病，或是败血症。

医药产品是人类与疾病斗争的工具，在世界各国的医药实践中，由药品中污染微生物而引发的悲剧时有发生。1970 年 10 月和 1971 年 4 月，美国疾病控制中心（CDC）报告有败血症流行，该病的流行与静脉输液药剂有关。调查报告称截至 1971 年 3 月 6 日，在美国 7 个州中的 8 家医药里发现有 150 例细菌污染病例，到 1971 年 3 月 27 日，败血症的病例达到 405 人，1971 年 4 月 22 日，生产导致上述败血症的输液药剂的厂家的注册文号被取消。美国 1976 年的统计数字表明，前 10 年内因质量问题从市场上撤回输液产品的事件超过 600 起，410 人受到伤害，54 人死亡。药品中污染的微生物通过微生物体及其分泌代谢产物导致机体过敏、中毒、感染等，严重的可以直接导致菌血症危及生命。此外，某些药品中污染微生物通过代谢活动改变药物组成，破坏有效成分而造成疗效改变或失效。药品中发现的污染菌见表 1-3。

表 1-3 药品中发现的污染菌

年份/年	品名	污染菌
1907	鼠疫疫苗	破伤风梭菌
1943	荧光素滴眼液	铜绿假单胞杆菌
1946	免疫血清疫苗	金黄色葡萄球菌
1948	滑石粉	破伤风梭菌
1966	抗生素眼药膏	铜绿假单胞杆菌
1970	洗必泰消毒剂	洋葱假单胞菌
1972	静脉注射液	假单胞菌、欧文菌、肠杆菌属亚种
1977	隐形眼镜护理水	黏质沙雷菌、肠道细菌属亚种
1981	外科敷药	梭菌属亚种
1983	水性肥皂	斯氏假单胞菌
1986	漱口剂	大肠杆菌

因此，世界各国高度重视药品生产过程及成品的无菌或微生物限度检测。在药品生产过程中严格执行 GMP 管理，确保药品生产质量。为确保药品生产过程不受污染，对生产环境实施全面净化。生产环境的全面净化，目的在于阻止环境对药品生产的不良影响。而造成药

品生产污染和交叉污染的主要原因来自生产环境中的微粒（灰尘、药尘等）和微生物，它们寄迹于空气、工业用水、原辅料、设备设施、生产人员等各种载体，并直接或间接地污染药品。因此，微粒和微生物是药品生产环境控制的主要对象。其中，微生物具有分布广、适应强、生命力旺盛等特点，即使在已经净化的环境中，引发微生物大量繁殖的因素依然随处可见，它所产生的二次污染（细菌代谢产物等）和交叉污染，对药品质量造成严重影响。因此，控制微生物是净化生产环境的重中之重。

2. 食品领域

通过微生物技术对农产品原料的发酵作用，可获得许多食品和饮料。利用微生物的生理生化作用，使最终产品口味、色泽等发生感官上的改善，使产品更具营养，更易消化，口味更好，并无病原微生物，无毒害，更易储藏。比如大家熟悉的面包、乳酪、泡菜、酱油以及啤酒、葡萄酒、白兰地、威士忌等。当然，微生物的滋生也会使食品腐败变质而失去食用价值，如水果腐烂、食品发霉等。

3. 工农业生产

(1) 微生物在工业生产中的应用

如上所述，微生物发酵技术已成为医药、食品工业的支柱产业，形形色色的产品已成为人类生产必不可少的组成部分。除此之外，微生物技术在其他行业的应用也进展很快，如：石油工业，从石油资源的勘探、开发到下游的炼化、污水处理等流程，微生物技术也发挥着巨大作用。

在环境治理领域，如水的生化降解技术、固体废物的处理处置等方面，微生物技术的应用都显示了其高效、环保、经济以及操作简单的优势。

(2) 微生物在农业生产中的应用

由于环境污染，生态资源遭到破坏，导致农产品质量下降，更为严重的是残留污染物带来的“瓜不甜、果不香、菜无味”等致病致癌物质的增多已严重威胁着人类健康。微生物技术的应用是改变这一现状的有效途径。

将有益微生物制成生物制剂，可加速分解土壤中的有害物质，促进植物生长。如由日本科学家研制的一种新型高科技复合微生物菌剂，其中含有光合菌、酵母菌、乳酸菌、放线菌等。光合菌以土壤接受的光和热为能源，以根系的有机物或有害气体为食饵，产生氨基酸、核酸等代谢物，促进植物的生长发育，这些代谢物既可被植物直接吸收，又可为其他微生物的繁殖提供活动基质，提高植物的固氮能力。乳酸菌有很强的杀菌力，可抑制有害微生物的繁殖，加剧有机物的腐败分解，减轻病害发生。酵母菌分泌激素，能促进根系生长和细胞分裂，还可以为其他微生物生长繁殖提供所需的基食。放线菌产生抗生素物质能抑制病原菌的繁殖，在和光合菌共生的条件下，放线菌的杀菌效果成倍提高，丝状菌对土壤中酯的生成有良好的作用，并有分解、消除恶臭的效果。

微生物技术的应用不仅能够促进动植物生长，增产防病、改良土壤、改善环境，同时还可大大提高农副产品的营养和保鲜储存时间；可减少以至不用化肥、农药和抗生素，提高农产品质量，生产安全绿色的有机食品。随着新的研究成果的不断应用，其必定产生巨大的经济效益、社会效益和生态效益。

四、实操练习

● 任务1 实验室操作要求与规范 ●

通过学习微生物实验室操作要求与规范，为今后实验教学活动的顺利展开、明确微生物

实验室的功能、特殊性和防止微生物安全问题的发生、建立无菌观念奠定基础。

1. 接受指令

(1) 指令

指令是指规定计算机操作类型以及相关操作数的一组字符。本书借用指令一词，泛指管理人员下达给工作人员的工作任务以及具体内容。操作人员的实施是从接受指令开始的。实验室操作要求与规范的指令如下：

- ① 熟练掌握实验室规则；
- ② 学会生物废弃物的处置方法；
- ③ 学会实验室发生意外时的应急处理办法。

(2) 指令分析

- ① 通过讨论学习，强化实验室生物安全意识，学会遵守实验室规则。
- ② 通过对桌面生物污染的处理，学会实验室发生意外时的应急处理办法。

2. 查阅依据

(1) 依据

依据是指规范操作行为的相关文件。

(2) 本项目的依据

《实验室生物安全手册》。

3. 制订计划

以小组为单位，分组讨论微生物实验室规则、生物废弃物的处置方法、实验室微生物污染时的应急处理办法，采用模拟教学实践方式，进行桌面消毒演练或生物安全事故应急演练。

4. 实施操作

(1) 准备

- ① 试液。3%来苏尔、菌液（已灭菌）。
- ② 用具。面盆、抹布、手套等。

[训练] 为了保证实操完成顺利，实操前应准备好所需的用具。请填写备料单（见表 1-4）。

表 1-4 备料单（任务 1 实验室操作要求与规范）

序号	品名	规格	数量	备注
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

(2) 桌面生物污染的处理

- ① 将菌液（已灭菌）洒至桌面。