

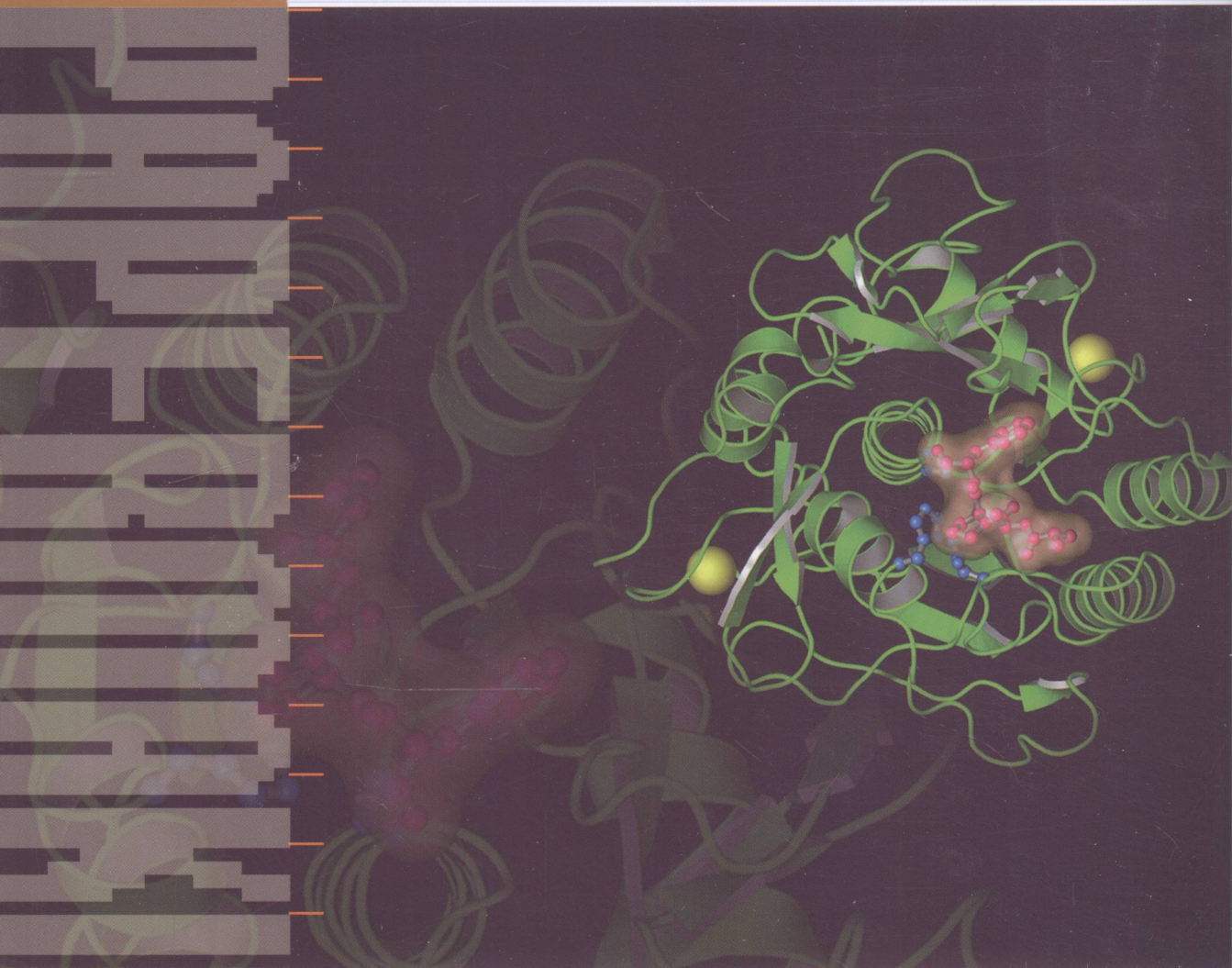
造纸科学与技术专著丛书

Biological Technology and Its Principle
in Pulping and Bleaching

制浆漂白生物 技术与原理(第二版)

林 鹿 詹怀宇 主编

林 鹿 詹怀宇 付时雨 陈元彩 庄军平 编著



 中国轻工业出版社

造纸科学与技术专著丛书

制浆漂白生物技术 与原理（第二版）

林 鹿 詹怀宇 主编
林 鹿 詹怀宇 付时雨 陈元彩 庄军平 编著

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

制浆漂白生物技术与原理/林鹿, 詹怀宇主编; 林鹿等编著. —2 版. —北京: 中国轻工业出版社, 2012. 1

(造纸科学与技术专著丛书)

ISBN 978-7-5019-8392-6

I. ①制… II. ①林…②詹… III. ①生物技术-应用-制浆-研究②生物技术-应用-纸浆-漂白-研究 IV. ①TS74

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 161040 号

责任编辑: 林 媛

策划编辑: 林 媛 责任终审: 滕炎福 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王超男 责任校对: 燕 杰 责任监印: 吴京一

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 北京君升印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2012 年 1 月第 2 版第 1 次印刷

开 本: 787×1092 1/16 印张: 30

字 数: 800 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-8392-6 定价: 89.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

070384K4X201ZBW

前 言

制浆造纸工业是国民经济的重要组成部分，是与国民经济和社会事业发展关系密切的重要基础原料工业。改革开放以来，我国造纸工业发展迅速，目前已取代美国成为世界造纸产量最大的国家。然而，我国传统制浆造纸工业还存在资源短缺、能耗较大和污染较重等问题。如何节约资源、降低能耗和产生较少污染，是未来造纸工业发展的重要方向。

传统制浆方法如机械法制浆的高能耗和化学制浆的环境污染问题促使造纸工作者不断尝试新的清洁制浆方法，在这其中生物制浆因其环境友好性而受到众多研究者的关注。近年来，生物技术与制浆造纸工业的结合使制浆造纸工业在很多方面都取得了令人满意的效果，生物技术在制浆漂白、废纸利用、纤维改性和废水处理等方面的应用前景受到更多的关注，逐渐形成生物制浆造纸技术新领域。生物技术在制浆造纸过程的节能降耗、污染控制、资源高效利用和产品品质提升等方面显示出巨大的潜力和良好的前景。

虽然生物制浆因其环境友好性具有良好的应用前景，但目前生物制浆尚存在一些问题，如生物预处理制浆存在预处理时间较长、酶预处理化学制浆过程中酶催化效率较低等，这些均值得进一步深入研究。

为更好地促进生物制浆造纸技术的发展，编著者结合国内外以及制浆造纸国家重点实验室在该领域的研究成果，并收集了大量相关资料，编写了此书。全书共分 10 章，第一章：生物制浆的微生物学基础；第二章：生物制浆的酶学基础；第三章：木素生物降解的形态特征与降解途径；第四章：木质纤维成分生物降解的酶学机制；第五章：生物化学法制浆；第六章：生物机械法制浆；第七章：树脂障碍的生物控制；第八章：纸浆生物漂白技术与原理；第九章：废纸生物脱墨技术与原理；第十章：制浆造纸污染物质的生物降解。

本书第一、第三、第六和第七章由林鹿、庄军平编写，第二、第四和第五章由付时雨编写，第八和第九章由詹怀宇编写，第十章由陈元彩编写；庞春生等参与了部分章节的编辑工作。全书由詹怀宇、林鹿审稿。

本书适合纸浆造纸行业高校、研究机构和企业工程技术人员阅读，也适合作为高等院校的教学参考书以及硕士研究生和博士研究生的教学用书或教学参考书。

希望本书的出版能进一步促进生物制浆造纸技术在我国制浆造纸工业领域中的进一步发展。但由于编著者学识所限，本书仍存在一些疏漏和不足之处，谨请各位读者批评指正。

编著者

2010 年 10 月 10 日于广州

目 录

第一章 生物制浆的微生物学基础	1
第一节 微生物学基本概念	1
一、微生物及其主要类群	1
二、微生物学的分类与命名	2
第二节 主要微生物类型	4
一、细菌	4
二、放线菌	8
三、酵母菌	9
四、霉菌	14
五、担子菌	17
六、半知菌	20
第三节 微生物的营养生长和代谢	23
一、微生物的营养	23
二、培养基	24
三、微生物的生长	25
四、微生物的代谢	28
第四节 微生物菌种的纯培养及保存	36
一、微生物的纯培养	36
二、菌种的保藏与活化	38
三、菌种保藏主要机构	38
四、菌种的退化与复壮	39
参考文献	41
第二章 生物制浆的酶学基础	43
第一节 酶的概念及分类	43
一、酶的概念	43
二、酶的命名与分类	44
第二节 酶的活力测定及分离纯化	46
一、酶的活力测定	46
二、酶的分离纯化	49
第三节 酶的性质	56
一、酶的相对分子质量	56
二、酶分子的等电点	57
第四节 酶的组成与结构	61
一、酶的活性中心	61
二、酶的必需基团	64
三、酶活性中心证明方法	65
第五节 酶的作用机理	66
一、催化化学反应活化能	66

二、酶降低化学反应的活化能——中间产物学说	66
三、酶反应的专一性	67
四、酶实现其催化功能的几种方式	68
第六节 酶促催化反应动力学	69
一、底物浓度对反应速度的影响	69
二、温度对酶促反应速度的影响	71
三、pH 对酶促反应速度的影响	71
四、酶活化	72
五、酶抑制	72
六、变构效应	74
参考文献	75
第三章 木素生物降解的形态特征与降解途径	83
第一节 降解木素微生物的类型	83
一、真菌	83
二、细菌	86
三、其他微生物	87
第二节 白腐菌对木素降解及其分泌的酶系	88
一、白腐菌对木素的降解	88
二、白腐菌降解木素的主要酶	91
三、白腐菌胞外酶之间的协同关系	102
第三节 木素生物降解的形态变化	104
一、白腐现象	104
二、褐腐与软腐现象	107
第四节 木素的降解途径	108
一、木素大分子的修饰和降解	108
二、低聚体木素分子的降解	110
三、木素单体的环开裂反应	114
第五节 木质纤维其他主要成分的生物降解	116
一、纤维素的降解	116
二、半纤维素的降解	121
三、木素降解与纤维素和半纤维素降解的关系	122
第六节 木素生物合成及控制	124
一、木素在植物体内的生物合成	124
二、与木素生物合成控制有关的酶	126
三、木素生物合成的控制	129
第七节 木素生物降解技术难点及木素降解酶的应用前景	133
一、木素的存在状况	133
二、木素生物降解过程存在的主要障碍	133
三、木素生物降解的应用前景	136
参考文献	138
第四章 木质纤维成分生物降解的酶学机制	141
第一节 直接催化木素大分子修饰与降解的主要酶类	141
一、过氧化物酶	142
二、与木素生物降解直接有关的其他酶	143

第二节 白腐菌木素降解酶产生的典型模式	145
一、木素过氧化物酶+锰过氧化物酶型	145
二、锰过氧化物酶+漆酶型	146
三、木素过氧化物酶+漆酶型	149
四、其他酶型	149
五、不同类型白腐菌对 ¹⁴ C-标记合成木素(DHP)的降解	149
第三节 木素降解酶的催化机制	150
一、木素过氧化物酶催化反应机制	150
二、锰过氧化物酶的催化反应机制	152
三、漆酶的催化机制	153
第四节 木素降解酶催化反应的调控因子	154
一、芳基醇	154
二、草酸	165
三、纤维二糖氧化还原酶—CBQ 和 CbO	168
四、Fenton 反应	172
五、谷胱甘肽	175
六、不饱和脂肪酸	175
第五节 木素酶基因工程与生物制浆	176
一、木素酶同工酶及其产生	176
二、木素酶基因表达	178
三、木素降解酶基因结构	179
四、木素降解酶基因工程与生物制浆	182
参考文献	185
第五章 生物化学法制浆	190
第一节 生物硫酸盐法制浆	191
一、木材生物硫酸盐法制浆	191
二、非木材生物硫酸盐法制浆	197
第二节 生物亚硫酸盐法制浆	198
第三节 生物烧碱法制浆	202
第四节 生物脱胶烧碱法制浆	204
第五节 生物溶剂法制浆	205
参考文献	208
第六章 生物机械法制浆	212
第一节 生物机械浆的研究发展过程	213
第二节 Bio-MP 生物预处理的作用机理及主要处理方法	214
一、Bio-MP 中生物预处理的作用机理	214
二、Bio-MP 中生物预处理的主要方法	214
三、影响 Bio-MP 制浆的因素	219
第三节 生物机械浆的研究方法及制浆过程中相关的变化	220
一、生物机械浆的研究方法	220
二、生物机械法制浆过程中原料组分的变化	221
三、生物机械法制浆过程中纤维分离特点和结构的变化	222
四、生物机械法制浆过程中木素结构变化	226

五、生物机械浆与机械浆纤维表面特征的变化比较	227
第四节 Bio-MP 磨浆能耗、纸浆性能和光学性质以及废水特性	234
一、生物预处理对 Bio-MP 磨浆能耗的影响	234
二、生物预处理对 Bio-MP 浆强度和光学性质的影响	236
三、Bio-MP 的废水特性	239
第五节 非木材纤维原料生物预处理制机械浆研究概况	240
第六节 生物机械制浆工业化生产效益及前景分析	242
一、生物机械制浆工业化生产效益分析	242
二、生物机械制浆发展中存在的主要问题及展望	245
参考文献	246
第七章 树脂障碍的生物控制	248
第一节 造纸原料中树脂的种类及性质与分离	249
一、造纸原料中树脂的种类	249
二、造纸原料中黏性杂质的物理化学特性	253
三、树脂类物质化学组分的分离和分析方法	256
第二节 黏性杂质沉积潜力的评价及现阶段树脂障碍的主要控制方法	258
一、黏性杂质沉积潜力的评价方法	258
二、现阶段控制树脂障碍的主要方法	259
第三节 树脂的生物控制	261
一、真菌在树脂控制上的应用	261
二、脂肪酶在树脂控制上的应用	267
三、氧化酶类在树脂控制上的应用	273
四、生物法与化学法相结合的树脂控制	275
五、现存的问题及展望	278
参考文献	279
第八章 纸浆生物漂白技术与原理	282
第一节 生物漂白的研究及其进展	282
一、半纤维素酶辅助漂白的研究	282
二、微生物漂白的研究	284
三、木素降解酶生物漂白的研究	286
第二节 生物漂白用酶及酶产生菌	287
一、半纤维素酶及酶产生菌	287
二、木素降解酶及酶产生菌	289
第三节 纸浆的半纤维素酶辅助漂白	290
一、半纤维素酶辅助漂白的原理	291
二、半纤维素酶辅助漂白的影响因素	291
三、硫酸盐木浆的半纤维素酶辅助漂白	293
四、亚硫酸盐法溶解浆的木聚糖酶漂白	308
五、生物硫酸盐木浆的木聚糖酶漂白	309
六、非木材纸浆的半纤维素酶漂白	310
第四节 化学浆的微生物漂白	326
一、针叶木硫酸盐浆和烧碱-AQ 法浆的白腐菌漂白	326
二、阔叶木硫酸盐浆的白腐菌漂白	328
三、红麻皮烧碱-AQ 法浆的白腐菌漂白	332

四、蔗渣烧碱法纸浆的白腐菌漂白	334
第五节 纸浆的木素降解酶漂白	336
一、纸浆的木素过氧化物酶漂白	336
二、纸浆的锰过氧化物酶漂白	341
三、纸浆的漆酶/介体系统 (LMS) 漂白	346
四、纸浆的漆酶/天然介体系统漂白	375
五、纸浆的木聚糖酶-LMS 协同生物漂白	381
参考文献	388
第九章 废纸生物脱墨技术与原理	395
第一节 酶法脱墨的研究进展	395
第二节 酶法脱墨的机理	396
第三节 酶法脱墨的影响因素	397
一、油墨组成和废纸特性	397
二、酶的类型及用量	397
三、表面活性剂	398
四、pH	398
五、处理温度	398
六、反应时间	399
七、纸浆浓度	399
八、碎浆用白水质量	399
九、添加顺序	399
十、搅拌作用	399
第四节 复合纤维素酶脱墨的实验室实验	400
一、复印废纸、化学浆废纸和机械浆废纸的酶法脱墨	400
二、混合办公废纸的酶法脱墨	400
三、废新闻纸的酶法脱墨	407
四、彩色胶印废新闻纸的酶法脱墨	410
第五节 复合纤维素酶脱墨的中间试验	412
一、试验条件	412
二、试验结果	413
第六节 淀粉酶用于非接触印刷白色办公废纸脱墨	414
第七节 脂肪酶用于油基油墨印刷的废纸脱墨	417
第八节 混合酶用于激光打印废纸的脱墨	419
第九节 漆酶/介体系统用于废新闻纸的脱墨	421
第十节 纤维素酶/半纤维素酶与漆酶协同用于废新闻纸的脱墨	423
第十一节 酶法脱墨的生产试验和工业化应用	424
一、废新闻纸酶法脱墨的生产试验和工业化应用	424
二、混合办公废纸酶法脱墨的生产试验和工业化应用	427
三、废文化用纸酶法脱墨的生产试验和工业化应用	429
参考文献	430
第十章 制浆造纸污染物质的生物降解	432
第一节 造纸废水的好氧生物处理	432
一、好氧生物处理中微生物	432

二、好氧过程中微生物生态演替规律	437
第二节 废水厌氧处理	438
一、厌氧生物处理中的基本生物过程——阶段性理论	439
二、厌氧消化过程中的主要微生物	440
第三节 制浆废水污染物质的来源	442
一、制浆漂白过程产生的污染物质类型	442
二、CTMP 制浆废水的污染物质类型	444
第四节 制浆造纸污染物质的微生物降解机制	445
一、碳水化合物的降解	445
二、脂肪酸和树脂酸的降解与树脂障碍的克服	446
三、芳香化合物的降解	446
四、含硫化合物的降解	448
第五节 生物强化技术在制浆造纸环境治理的应用及高效工程菌的构建	449
一、高效工程菌在污染环境生物强化治理中的应用	449
二、高效菌株的构建途径	450
三、高效复合菌群和工程菌的组合构建	452
第六节 环境中微生物多样性的研究技术	453
一、磷脂酸法	453
二、BIOLOG 微量分析	453
三、分子生物学方法	453
第七节 环境样品中 DNA 提取方法	454
一、从环境样品中提取 DNA 的方法	454
二、样品的预处理	455
三、细胞裂解	455
四、DNA 的提取	457
五、DNA 的纯化	457
六、评价提取出的环境样品的 DNA	458
七、展望	458
第八节 PCR-DGGE 在制浆造纸废水处理微生物检测中的应用	458
一、PCR-DGGE 的发展	459
二、PCR-DGGE 的技术原理	459
三、PCR-DGGE 在环境检测中的应用	460
四、PCR-DGGE 影响因素和应用的局限性	461
五、PCR-DGGE 技术的应用前景	463
参考文献	463

第一章 生物制浆的微生物学基础

生物制浆是利用微生物或其制品（酶）对植物纤维原料预处理，以生物途径代替化学途径或部分化学途径，然后进行机械、化学机械或化学法处理，使植物纤维原料分离成纸浆的过程，故生物制浆中选择适宜的微生物以及选择相应的处理工艺成为生物制浆的关键，因此了解微生物相关基础知识，也就成为了生物制浆的基础。本章就有关微生物学基本概念、类型、生长及分离纯化和保存等加以概要性介绍。

第一节 微生物学基本概念

一、微生物及其主要类群

微生物是指所有形体微小、结构简单的低等生物的总称。微生物包括没有细胞结的病毒、亚病毒、原核类的细菌、放线菌、蓝细菌、立次克氏体、支原体、衣原体、螺旋体、古生菌，属于真核类的酵母菌、霉菌和蕈菌，以及单细胞藻类和原生动物等。其中细菌是微生物学的主要研究对象。微生物无所不在，遍布于自然界、动植物及人体。微生物的个体极其微小，大多数微生物必须借助显微镜才能看清。微生物虽然微小，但数量庞大^[1~2]。微生物的一般特点：

1. 形体微小，结构简单

微生物的个体都相当微小，测量其大小通常用微米（ μm ）或纳米（ nm ）为单位。肉眼一般都看不见，必须借助显微镜将它们放大几百倍乃至上千倍才能看清楚。有些微生物，如病毒用普通光学显微镜也无法看见，只有用电子显微镜将它们放大几万倍乃至几十万倍才能看清楚。微生物结构简单，大多数是单细胞个体，少数是简单的多细胞个体。

2. 种类繁多，分布广泛

微生物种类繁多，据统计，目前已发现的微生物约有 15 万种，更大量的微生物资源还待我们发掘。随着分离方法的改进和研究工作的深入，微生物的新种、新属、新科甚至新目、新纲不断发现。有人估计已发现的微生物种类至多不超过自然界微生物总数的 10%，而且，新的微生物种类不断产生。微生物在自然界分布极为广泛。土壤、空气、河流、海洋、盐湖、高山、沙漠、冰川、油井、地层下以及动物体内外、植物体表面等各处都有大量的微生物在活动。微生物聚集最多的地方是土壤，土壤是各种微生物生长繁殖的大本营。每一粒土，就是一个微生物世界，不论是数量还是种类均很多。空气中悬浮着无数的尘埃和水滴，它们是微生物在空气中的藏身之处。例如，在太平洋深达 10000 多米的海底温泉中存在既耐高温又耐常压的在厌氧条件下自养生活的硫细菌。

3. 代谢类型多、代谢能力强

微生物代谢类型之多是动植物所不及的，它们几乎能分解地球上的一切有机物，也能合成各种有机物。微生物的代谢产物极多，仅抗生素就有 9000 多种。微生物有多种产能方式，有的利用分解有机物放出的能量；有的从无机物的氧化中获得能量；有的能利用光能，进行光合作用；有的能进行有氧呼吸；有的能进行无氧呼吸；有的能固定分子态氮；有的能利用

复杂有机氮化合物。有的微生物具有抗热、冷、酸、碱、高渗、高压、高辐射剂量等极端环境的特殊能力。微生物的代谢能力比动物强得多。它们个体小、比表面积大、一个或几个细胞就是一个独立的个体，能迅速与周围环境进行物质交换，因而具有很强的合成与分解能力，如产朊假丝酵母（*Candida utilis*）合成蛋白质的能力是大豆的 100 倍，是肉用公牛的 10 万倍。

4. 生长繁殖快，培养容易

微生物的繁殖速度是动植物无法比拟的。有些细菌在适宜的条件下每 20 min 就繁殖一代，24h 就是 72 代，由 1 个细菌变成 4.7×10^{21} 个（质量约 4722t）；经 48h 后可产生 2.2×10^{43} 个后代，如此多的细菌的质量约等于 4000 个地球之质量。微生物的快速繁殖能力应用到工业发酵上可以大大提高生产率。微生物的培养容易，能在常温常压条件下利用简单的营养物质，甚至工农业废弃物上生长繁殖，积累代谢产物。

5. 容易发生变异，适应能力强

微生物个体微小，易受环境条件影响，加之繁殖快，数量多，容易产生大量变异的后代。利用这一特性选育优良菌种比较方便。微生物有极灵活的适应性，这也是动植物无法比拟的。为了适应多变的环境条件，微生物在长期进化中产生了许多灵活的代谢调控机制，并有很多种诱导酶。微生物对环境条件尤其是恶劣的“极端环境”具有惊人的适应能力。例如，多数细菌能耐 $-196 \sim 0^\circ\text{C}$ 的低温；在海洋深处的某些细菌可在 $200 \sim 300^\circ\text{C}$ 的高温条件下正常生长；一些嗜盐细菌甚至能在饱和盐水中正常生活；产芽孢细菌和真菌在干燥条件下能保藏几十年、几百年甚至上千年。耐酸碱、耐缺氧、耐毒物、抗辐射、抗渗透等特性在微生物中较为常见。

二、微生物学的分类与命名

人类在发现和研究微生物之前，把一切生物分成截然不同的两大界——动物界和植物界。随着人们对微生物认识的逐步深入，从两界系统分成六界系统即病毒界、原核生物界、原生生物界、真菌界、植物界和动物界。病毒界生物的结构特征是无细胞结构，大小为纳米（nm）级，如病毒、类病毒等；原核生物界主要为原核生物，细胞中无核膜与核仁的分化，大小为微米（ μm ）级，如细菌、蓝细菌、放线菌、支原体、衣原体、立次克氏体、螺旋体等；原生生物界主要为一些低等真核生物，细胞中具有核膜与核仁的分化，为大、小型真核生物，如单细胞藻类、原生动物等；真菌界为单细胞或多细胞，细胞中具有核膜与核仁的分化，为小型真核生物；植物界为一些细胞中具有核膜与核仁的分化的大型非运动真核生物；动物为一些细胞中具有核膜与核仁的分化的大型能运动的真核生物。常用的微生物分类鉴定的形态学特征见表 1-1，原核细胞和真核细胞的比较见表 1-2。

微生物的命名采用双名制。双命名法包括属名和种名，属名在前，字首大写，种名在后，字首小写，有时在种名后还有附加部分。属名规定了微生物的主要形态特征和生理特征等，而种名往往补充说明微生物的颜色性状和用途等次要特征。种名是由一个特征性形容词组成，属名为名词或用作名词的形容词（单数或双数，字首大写）。特征性形容词或是形容词必须在语法上与属名一致，如枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）、细尖克勒氏酵母（*Kloeckera apilata*）；或是主格名词与属名并列如逗号弧菌（*Vibrio comma*）。当描述一个物种时，可通过收藏株中某一培养物来描述该物种名所指的最原始培养物，称作主模式株，其他培养物称为补模式株。

近代微生物分类体系通常包括 7 个主要层次：界、门、纲、目、科、属、种。种是

基本单元。近缘的种归并为属，近缘的属归并为科，科隶属于目，目隶属于纲，纲隶属于门，门隶属于界。一个微生物种类还可以划分为亚种、变种或型，这些构成了微生物的亚结构。

表 1-1 常用的微生物分类鉴定的形态学特征	
形态学特征内容	
培养特征	最重要的是菌落特征，如菌落的形状、大小、颜色、隆起、表面状况、质地、光泽、水溶性色素等
细胞形态	
形状	球形、杆状、弧形、螺旋形、丝状、分枝等特殊形状
大小	其中最重要的是细胞的宽度或直径
排列	单个、成对、成链或其他特殊排列方式
特殊的细胞结构	
鞭毛	有无鞭毛、着生位置及其数量
芽孢	有无芽孢、形状、着生位置、孢囊是否膨大
孢子	孢子形状、着生位置、数量及排列
其他	荚膜、细胞附属物如柄、丝状物、鞘、静止细胞和连鞘等
超微结构	细胞壁、细胞内膜系统、放线菌孢子表面特征等
细胞内含物	异染颗粒、聚β-羟丁酸等类脂颗粒、硫粒、气泡、伴胞晶体等
染色反应	革兰氏染色、抗酸性染色
运动性	鞭毛泳动、滑行、螺旋体运动方式

表 1-2 原核细胞和真核细胞的比较		
	原核生物	真核生物
核的结构与功能		
核膜	无	有
核仁	无	有
DNA	单分子，没有组蛋白	在几条或多数染色体上通常有组蛋白与之结合
分裂	没有有丝分裂	有有丝分裂，有丝分裂期有微管纺锤体
有性生殖	不连续的过程，无减数分裂，只有部分遗传互补体重组	连续过程，减数分裂，全部染色体互补体重组
细胞质的结构或组成		
质膜	常缺少固醇	常有固醇
内膜	比较简单，有间体	复杂，有内质网和部分有高尔基体
核糖体	70S	80S，而线粒体和叶绿体的核糖体为 70S
简单的细胞器	无	线粒体、微粒体、液泡，溶酶体
呼吸系统	原生质膜或间体的一部分，无线粒体	有线粒体
运动方式		
鞭毛运动	鞭毛，亚显微大小，每根鞭毛是由分子大小的一个纤维组成	鞭毛或纤毛，显微大小，由微管成分构成
非鞭毛运动	滑动	滑动
微管	可能没有	广布的，如鞭毛，纤毛基体，有丝分裂的纺锤器，中心粒
大小	一般较小，直径通常小于 2μm	通常较大，直径从 2μm 到大于 10μm

微生物的分类鉴定方法可分成 4 个水平：①细胞的形态和习性水平，例如，用经典的研究方法，观察微生物的形态特征、运动性、酶反应、营养条件、生长条件、代谢特性、致病性、抗原性和生态学特性等；②细胞组分水平，包括细胞壁、脂类、醌类和光合色素等成分的分析，所用的技术除常规技术外，还使用红外光谱、气相色谱、高效液相色谱和质谱分析等新技术；③蛋白质水平，包括氨基酸序列分析、凝胶电泳和各种免疫标记技术等；④核酸水平，包括（G+C）mol%值的测定，核酸分子杂交，16 S 或者 18 SrRNA 寡核苷酸序列分析，重要基因序列分析和全基因组测序等^[3~4]。

第二节 主要微生物类型

一、细菌

1. 细菌的基本形态和大小

细菌的基本形态有球状、杆状和螺旋状，分别称为球菌、杆菌和螺旋菌。

球菌的细胞呈球形或近似球形，球菌分裂后产生的子细胞保持一定的排列方式，在分类鉴定上有重要意义。根据排列方式不同，可分为单球菌如尿素微球菌 (*Microoccus ureae*)，双球菌如褐球固氮菌 (*Azotobacter chroococcum*)，链球菌如溶血链球菌 (*Streptococcus hemolyticus*)，四联球菌如四联微球菌 (*Micrococcus tetragenus*)，八叠球菌 (*Sarcina ureae*)，葡萄球菌如金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)。

杆菌的细胞呈杆状或圆柱形。其长短、粗细差别很大。短而粗，近似球形的称短杆菌如产氨短杆菌 (*Brevibacterium ammonigenes*)。长而细，呈圆柱形形成丝状的称长菌，如乳杆菌 (*Lactobacillus*)。呈分枝状的称发枝杆菌，如以歧杆菌 (*Bifidobacterium*)。一般地说，同种杆菌其粗细比较稳定，而长短常因培养时间、培养条件不同而有较大变化。不同杆菌的端部形态各异，一般钝圆；有的截平，如炭疽芽孢杆菌 (*Bacillus anthracis*)；有的略尖，如鼠疫杆菌 (*Pasteurella pestis*)。多数杆菌分散存在，也有链状、栅状、“八”字状的群体。杆菌的应用较广，工农业生产中所用的细菌大多是杆菌。

螺旋菌的细胞呈弯杆状。若弯曲不满一圈，呈弧状或逗号形状的叫弧菌，如逗号弧菌 (*Vibrio comma*)；菌体较长，弯曲在2~6圈的称螺旋菌，如迂回螺旋菌 (*Spirillum volutans*)。而菌体弯曲在6圈以上，体长而柔软的称螺旋体，如梅毒密螺旋体 (*Treponema pallidum*)。螺旋菌常以单细胞形式存在。

细菌个体微小，其大小随种类不同而异，可用微尺在显微镜下测量。量度细菌大小的单位是微米 (μm 即 10^{-6}m)。量度其亚细胞结构则要用纳米 (nm)。细菌的质量更是微乎其微，一个大肠杆菌细胞的质量仅为 10^{-12}g ，即大约 10^9 个大肠杆菌细胞才达到 1mg ^[1,3,4]。

2. 细菌的细胞结构

细菌细胞的一般构造包括：细胞壁、细胞膜、细胞质、间体、核糖体、核质、内含物颗粒。特殊结构（部分细菌具有的或一般细菌在特殊环境下才具有的）有荚膜、鞭毛、伞毛和芽孢（见图 1-1）^[2~5]。

（1）细胞壁：细胞壁是位于细胞表面的一层厚实、坚韧而略有弹性的结构。用质壁分离与适当的染色方法，可在光学显微镜下观察到细胞壁；用电子显微镜观察细菌超薄切片等方法，可证明细胞壁的存在。

细胞壁的功能与它的化学组成和结构有关，主要有维持细胞外形、保护细胞免受外界因素的损伤、是细胞运动的支点，与细菌的抗原性、致病性以及吞噬菌体的敏感性有关。失去细胞壁后的各种形状的细菌都将变成球形。细菌在一定范围内的高渗溶液中会出现质壁分离现象，但细菌仍维持原来的形状；细菌在一定范围内的低渗溶液中，原生质吸水膨胀，但菌体不会破裂；具鞭毛的细菌失去细胞壁后不能运动，证明鞭毛运动的重要性；细胞壁也阻挡有害物质进入，如革兰氏染色 [一般细菌细胞壁染色的方法，是用草酸铵结晶紫初染后加碘液媒染，后经脱色剂（丙酮或乙醇）脱色再用番红复染，呈蓝紫色的称为革兰氏阳性菌，用 G+ 表示；呈红色的称为革兰氏阴性菌，用 G- 表示]。如 G- 阴性细菌细胞壁可阻挡相对

分子质量超过 800 的抗生素透入。

细菌细胞壁的主要成分为肽聚糖，这是原核微生物特有的成分，还结合有磷壁酸、脂多糖和脂蛋白等成分。革兰氏阳性菌的肽聚糖含量高（30%~95%），磷壁酸含量也较高，脂多糖含量为 1%~4%，一般也不存在脂蛋白；而革兰氏阴性菌的肽聚糖含量低（5%~20%），磷壁酸一般没有，脂多糖含量较高（11%~22%），脂蛋白含量也较高。肽聚糖是由 *N*-乙酰葡萄糖胺、*N*-乙酰胞壁酸通过 β -1,4-糖苷键连接成的肽聚糖多糖链，再由 4 个氨基酸连起来的短肽连接在 *N*-乙酰胞壁酸分子上。4 个氨基酸是由 *L* 型与 *D* 型交替排列的方式连接而成，即 *L*-丙氨酸→*D*-谷氨酸→*L*-赖氨酸→*D*-丙氨酸。革兰氏阳性菌和阴性菌细胞壁的肽聚糖厚度不同，前者厚度 20~80nm，由 40 层左右网状分子组成；而革兰氏阴性菌细胞壁的肽聚糖厚度只有 18~20nm。

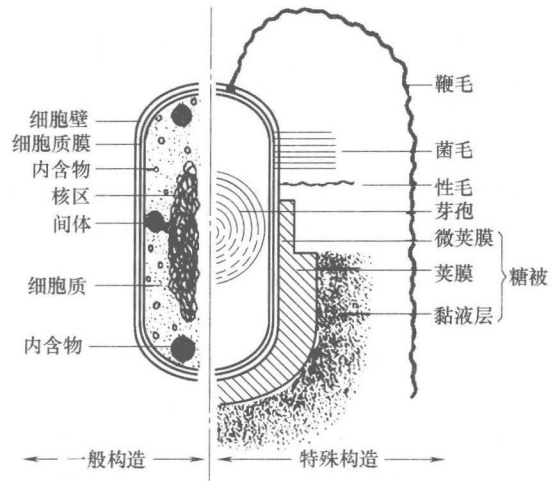


图 1-1 细菌细胞结构

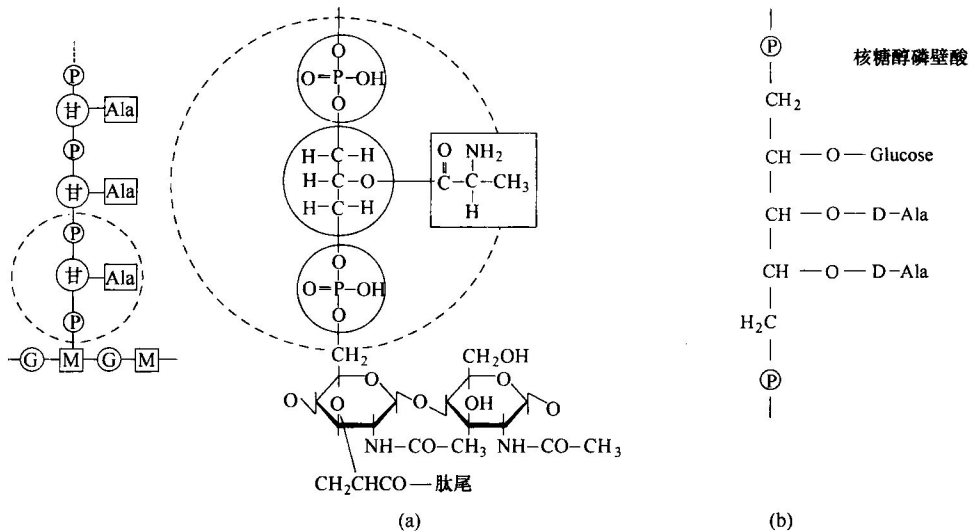


图 1-2 甘油磷壁酸的结构模式 (a) 及其单体 (虚线范围内) 的分子结构 (b)

磷壁酸是革兰氏阳性细菌细胞壁的特有成分。磷壁酸是酸性多糖，它们以共价键与肽聚糖连接成一个整体，其主链由数十个磷壁酸核糖醇或磷酸甘油组成。图 1-2 为甘油磷壁酸的结构模式及其单体分子结构示意图。脂多糖是革兰氏阴性细菌细胞壁特有的成分，位于细胞壁的外壁层，由磷脂双分子层、脂蛋白与脂多糖组成。

(2) 细胞膜和内膜系统：细胞膜是紧贴细胞壁内侧包围细胞质的一层柔软而富有弹性的半透性薄膜，又称细胞质膜或质膜。细胞膜厚 7~8nm，质量为细胞干质量的 10%，主要成分是蛋白质（50%~70%）和磷脂（20%~30%），还含有少量多糖，基本结构为双层磷脂，每个磷脂分子有一个亲水性的头部和两条长链脂肪酸组成的疏水尾部，亲水性头部向外，疏水性尾部向内，从而使两层磷脂分子整齐排列，构成细胞膜的主体。蛋白质有些穿过磷脂（内嵌蛋白），有些位于

表面(外周蛋白)。细胞膜是细菌的极其重要的结构,细胞膜受损细胞立即死亡。细胞膜功能主要有:控制细胞内外物质运输;维持细胞内正常渗透压的屏障作用;参与细胞壁和荚膜的合成;参与能量的产生;是许多酶的所在部位,因而是重要的代谢活动中心;细胞膜也与细胞的运动有关,细胞鞭毛的基体位于细胞膜上,提供运动所需要的能量。

某些细菌的细胞膜内凹延伸或折叠成为形式多样的内膜系统,以提供某种功能所需要的更大面积,主要有间体、载色体、羧酶体等。间体的主要功能是促进细胞壁横隔壁的形成并与遗传物质的复制及其分裂有关。载色体含有光合色素和电子传递组分,是进行光合作用的场所。羧酶体内含固定 CO_2 所需的 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶和 5-磷酸核酮糖激酶,是自养细菌固定 CO_2 的场所。

(3) 细胞核和质粒:细菌的细胞核是原核生物所特有的无核膜结构的原始细胞核,又称拟核、染色质体等。细胞核位于细胞质中部,多呈球状、杆状或哑铃状,没有核膜、核仁,没有固定形态,结构也很简单,由大型环状的双链 DNA 折叠缠绕而成。细胞核只有一个染色体,细菌分裂时 DNA 复制,染色体一分为二,不能进行减数分裂,其功能是贮存和传递遗传信息。

质粒是细菌细胞内染色体外的遗传因子,为环状 DNA 分子,称质粒。每个菌体可含有 1 个或多个质粒,每个质粒可以有几个甚至 50~100 个基因。质粒不仅带有部分遗传信息,具有各种特定的表型效应。质粒既能自我复制,也能稳定遗传。

(4) 细胞质及其内含物:细菌的细胞膜内除核质以外的一切透明、黏稠的胶状物称为细胞质,其主要成分为水、蛋白质、核酸、脂类及少量的糖和无机盐。细菌细胞质中富含核酸,因而嗜碱性强,幼龄菌着色均匀。细胞质内的主要内含物有核糖体、气泡、肝糖粒、淀粉粒、硫粒等。核糖体是原生质内的一种核糖核蛋白的颗粒状结构,它是蛋白质合成的场所。核糖体由 50%~70% 的 RNA 和 30%~50% 的蛋白质组成,在细胞内可以呈单个游离的或链状的多聚核糖体状态。细菌气泡不透水、不透溶质,只能透气,可能具有调节浮水的作用,使细菌细胞生活在适宜的水层深度。颗粒状内含物大多为细胞贮藏物,有异染颗粒和聚 β -羟丁酸颗粒,前者具有贮藏磷素、能量和降低渗透压的作用,后者具有贮藏能量、碳源和降低细胞内渗透压的作用。肝糖粒又称糖原,较小,遇碘呈红棕色。硫粒是一些硫细菌如贝氏硫细菌(*Beggiatoa*)的硫粒贮藏场所。

(5) 细菌细胞的特殊结构:细菌细胞除具有基本结构外,有些还有荚膜、鞭毛、芽孢、菌鞘和附器等特殊结构。荚膜是某些细菌在一定条件下,细胞壁表面覆盖的一层松散、透明的黏液性物质,具有一定的形态,相对稳定地附着在细胞壁外,形成较厚的膜,称为荚膜。通常一菌一膜,也有多菌共膜的,称菌胶团。荚膜含有大量的水分,约占 90% 以上,其余主要是多肽或蛋白质,如肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)荚膜多为多糖;炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)荚膜为多肽。荚膜的主要功能是保护菌体、防止菌体变干,贮藏养料,当营养缺乏时,可被细菌用作碳源和能源;荚膜也堆积某些代谢废物;荚膜还是主要的表面抗原,是一些病原菌的毒力因子,同时还是一些病原菌必须的黏附因子。

鞭毛是生长在细菌表面上细长、波浪形弯曲的丝状物(见图 1-3),是细菌的运动器官。鞭毛很细,直径 12~18nm,但长度超过菌体若干倍,用电子显微镜可直接观察到。鞭毛的主要化学成分为蛋白质,有少量的多糖或脂类物质。大多数球菌不生长鞭毛,部分杆菌生鞭毛,螺旋菌和弧菌一般都生鞭毛。根据鞭毛数目及着生位置,可分为单毛菌、丛毛菌和周毛菌 3 类。原核生物的鞭毛结构十分简单,由鞭毛蛋白组成,鞭毛蛋白呈螺旋排列,中空,每根鞭毛相当于一根微管。鞭毛具有推动细菌运动的功能,通过旋转使菌体运动,犹如轮船上

的螺旋桨，实际上是一个精致的超微型马达，其能量来自细胞膜上质子动势，鞭毛的运动速度很快，致使菌体移动的速度每秒钟可达菌体长度的若干倍。

菌毛，又称伞毛等，是生长在细菌体表的一种比鞭毛更细、短、硬、直、多的蛋白质丝状物。菌毛不是运动器官，有的是在细菌接合时传递遗传物质，有的是噬菌体的吸附位点，有的是可以作为黏附于其他物体表面的器官。

芽孢及其他休眠结构。芽孢是某些细菌在一定的生长阶段，在细胞内形成的一个圆形或椭圆形的抗逆性休眠体。每一个细菌只形成一个芽孢，一个芽孢萌发后也只能产生一个菌体，所以它不是一个繁殖体，只起度过不良环境的作用。能产生芽孢的细菌种类不多，杆菌中只有好氧性的芽孢杆菌属（*Bacillus*）和厌氧性的梭菌属（*Clostridium*）。芽孢的形状、大小和位置因菌种而异，如破伤风梭菌（*Clostridium tetani*）

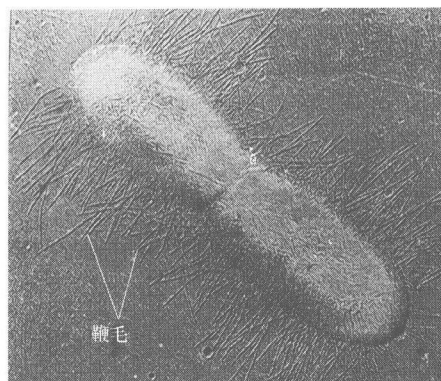


图 1-3 细菌鞭毛

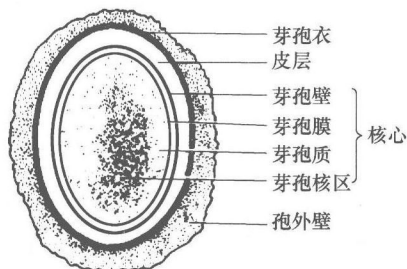


图 1-4 细菌芽孢构造示意图

的芽孢位于菌体一端，圆形、比菌体大。芽孢含水量少，壁厚而致密，结构坚实，通透性低，折光性强，不易着色，其结构由孢外壁、芽孢衣、皮层和核心 4 部分组成（见图 1-4）。

（6）菌鞘：有些水生细菌，如浮游球衣菌（*Sphaerotilus natans*）的细菌常排列成丝状体，外套有长的管状物，称菌鞘。菌鞘由菌体分泌后紧包在菌链的外面，薄而透明。菌鞘的成分主要是蛋白质、多糖和脂质，不含胞壁酸。

（7）附器：有些革兰氏阴性菌上还有菌柄或菌丝状的细胞质伸出物，这些结构的直径小于成熟细胞，内含细胞质，外包细胞壁，统称为附器。菌丝状伸出物中还含有核糖体，偶尔还含有 DNA。附器能发生分裂，形成两个不相等的细胞。

3. 细菌的繁殖方式与群体形态

细菌一般进行无性繁殖，表现为细胞的横分裂，称为裂殖。细菌的繁殖过程可分为 3 步：首先，染色体复制，细胞核一分为二，同时细胞膜在菌体中央以横切方向形成横隔膜，将细胞质分为两部分；其次，细胞壁向内生长，将横隔膜分为两层，横隔膜也形成两层，成为子细胞的细胞壁；最后，子细胞分离成两个独立的菌体。少数细菌以其他方式繁殖，有的像酵母菌进行出芽繁殖；有的以不等二分裂进行繁殖，形成一个有柄细胞和一个极生鞭毛的细胞。

生长在固体培养基上，通常来源于一个细胞、肉眼可见的微生物细胞群体叫作群落。由一个细胞繁殖而成的群体称为纯培养，又称克隆。各种细菌在一定培养条件下形成的菌落具有一定的特征。菌落特征取决于组成菌落的细菌的细胞结构和生长行为。如有鞭毛的细菌能运动，其菌落大而扁平，边缘不规则；无鞭毛、不能运动的细菌形成的菌落较小、较厚、边缘圆整。有荚膜的细菌，其菌落光滑、黏稠、透明；无荚膜细菌的菌落表面粗糙、多褶、较干燥。呈链状排列的细菌菌落，表面粗糙、卷曲、边缘不整齐。细菌的菌落特征包括大小、形状、边缘情况、隆起形状、表面光泽、表面状态、质地、颜色和透明度等，是细菌分类的重要依据。多数细菌菌落呈圆形，小而薄，表面光滑，湿润，较黏稠，半透明，颜色多样，