

抗生菌的分離 及其抗菌效能的生物學檢定

H. C. 葉高羅夫 著

馮明霞 周本勵 譯

人民衛生出版社

5.383

262

1

序

近年来，由于医药、农业及某些工业部門(主要是食品工业)的需要，寻找細菌、放綫菌和真菌所产生的新抗菌物质的工作，正在日益广泛地开展起来。

在許多高等学校中，特别是莫斯科大学中的一些教研室(微生物、低等植物、植物生物化学等)的研究生都参加了关于各种微生物抗菌作用的研究和个别抗菌物质的研究。但当进行这些研究工作的时候，往往感到困难的是：如何使用和选择一個适当方法，以便对所提出的课题能作进一步的深入研究。这些困难的所以存在，主要是由于直到目前为止，虽然在微生物的抗菌作用和各種抗菌素的研究方面，已有大量文献，但在从自然条件下分离抗生菌的方法及其抗菌效能的研究方法方面，迄无綜合性的专著。

本书作者的著作任务即在于綜合分散在各类文献里的有关抗生菌分离和抗菌效能测定的方法，使之成为一本不大的手冊，同时加以批判性的分析。作者认为此书对于剛从事科学工作的研究人員可能有一定程度的帮助。

作者并不认为此书已包括一切抗生菌分离方法及其抗菌效能的测定方法，而且所引述的研究方法，也并非法定指示。

作者乐于接受讀者对本书提出的批評性指示和意見。

目 錄

序	
緒論	1
抗生菌在自然界中的分布	6
拮抗性細菌	8
拮抗性放綫菌	9
从自然生存条件中分离抗生菌	11
拮抗性細菌及放綫菌的分离	16
平皿中琼脂平板表面的泥漿接种法	17
密集接种法	20
菌苔上的土壤直接接种法	21
土壤培養法	21
含菌琼脂平板法	21
抗菌素及其菌种的初步鉴定	22
交叉抗菌法	23
利用对一定抗菌素为耐葯型的試驗微生物檢定抗菌物質的方法	29
对一定抗菌素具耐葯性的微生物的實驗室制备法	30
抗菌效能的生物学檢定法	34
逐級或連續稀釋法	34
基于抗菌素可在营养琼脂中扩散的方法	40
使用小管的琼脂扩散法	47
划綫法	54
將琼脂块移放到另一平皿中央的方法	58
使琼脂平板的一半先長滿抗生菌，再划綫接种試驗微生物的方法	60
移块法	63
在抗生菌集落上灌注含試驗微生物的营养琼脂的方法	64
Waksman 氏法	65
圓濾紙片法	65
鏈霉素和双氫鏈霉素的檢定法	67
“小島”法	67
比濁法	69
快速法	72
結論	73

緒 論

在自然条件下，几乎从未发现过微生物象在人工条件下获得的純培养那样单独地存在着。微生物在自然界中最为常見的是形成一定的群体；在这些群体內的种与种之間可以有各种各样的相互关系。通常将这种相互关系区分为四种类型：互生，共生，抗生和寄生。

互生現象 凡一种微生物的生命活动产物可为他种微生物所利用，則此种微生物間的相互关系便称为互生現象。此現象在自然界非常普遍。

共生現象 凡二种或二种以上的微生物在共同生存中处于互利的情况，則可认为是共生的相互关系。这种关系在自然条件中也很普遍。

抗生現象 凡一种微生物能抑制他种微生物的生長，則此种微生物間的相互关系称为抗生关系。

寄生現象 最后，寄生現象是指群体中的一种微生物完全依靠他种微生物維持生命且在某些情况下还会使其寄主趋于死亡的一种相互关系。

在微生物界，可从噬菌体和微生物間的相互关系中看到寄生現象。这些現象(細菌噬菌現象，放綫菌噬菌現象等)在微生物学實踐中頗为常見。

至于本书所涉及的，仅为微生物間相互关系中的一种，即抗生現象(或称抗菌現象，拮抗現象)。

微生物的拮抗作用可表现为不同方式。在本书中，我們仅集中討論那些和形成抗菌素(微生物的特殊代謝产物)有关

的拮抗作用。抗菌素，正如 Лазарев 氏所指出的，純粹是一个实际的概念。这一概念包括了各种由生物体产生的物质，只要这些物质具有抗細菌、杀真菌或抗原虫的作用。

微生物在其发展的演化过程中，发生了并在遺傳上固定了形成抗菌素的能力，这就使它在尖銳的生存竞争条件中具有較其对手更为有利的地位。因此，抗菌物质的形成，应该看作是微生物在一定的外界条件累积过程中所表现的现象，其中，一定性质的微生物間存在着拮抗的相互关系，也是外界条件之一。

当然，周圍的微生物群，作为生物发展中复杂的外界条件的組成部分，对于抗菌素的形成过程是起着一定作用的。由下面的例子即可說明这一点：凡是能分离出抗生菌最多的地方，也总是可以发现多种微生物的地方，因此也是生存斗争最尖銳的地方。这些地方常是施肥的沃土及腐植土等。不过，抗菌物质的形成，是不可能只以生存斗争来解釋的，它还和其他决定抗生菌物质代謝特性的生态条件有关。

实验証明：建立一定的培养条件，可显著改变抗菌素的形成；即使在生物生長完全正常的情况下，抗菌素的产量也可以从大大增加以至完全停止。因此抗菌素的生物合成是一个复杂的过程；它的发生，一方面是由于和周圍生物間的一定的竞争关系，另一方面是由于抗生菌的一定的物质代謝特性。而如所周知，营养和供給能量的物质的特性、通气量、温度、培养基的物理化学情况等——换言之即生物在其中发育的全部錯綜复杂的外界条件都可对物质代謝有巨大影响。所以在研究生物的拮抗作用和研究抗菌素形成条件的时候，必須認真地考虑这些影响抗菌素产量的全部复杂因素。

对控制抗菌素形成过程有关的因素，可以从全面地研究

其菌种的生理而获得最深入的了解；可惜这方面的研究还进行得很差。抗菌物质的形成常与生物的一定发育阶段有关。确定抗菌素最大积聚量的时期乃是一项非常重要的研究任务，此任务可由研究抗菌素积聚的动态过程而获得解决。

* * *

早在发现青霉素、短杆菌肽、鏈霉素等有价值的制剂之前，学者們就已注意到与形成抗菌物质有关的拮抗现象。

使微生物学成为一门科学的奠基人 Pasteur 氏在 1887 年便指出炭疽菌对鸡霍乱杆菌有抑制作用，虽然在当时尚未使用“拮抗作用”这个术语。

俄国学者曾在研究微生物的拮抗作用和抗菌产物的实际工作中起了重大作用。微生物拮抗作用的研究是和杰出的学者 Мечников 氏的研究分不开的。

俄国学者 Полотебнов 氏和 Манассеин 氏在 Fleming 氏发现青霉素很多年以前，就在实验和临床条件下，在利用青霉素治疗皮肤病和梅毒中证明了青霉菌的抗菌效能。还在 1877 年 Лебединский 氏就观察到了青霉菌对病体内细菌的抗菌作用。

Высоцкий 氏比 Emmerich 氏和 Löw 氏早十年就指出用綠脓杆菌来治疗各型白喉是很适当的，但国外却认为綠脓杆菌的抗菌性是 Emmerich 氏和 Löw 氏首先发现的。

Тишуткин 氏首先肯定了灵杆菌 (*Bacterium prodigiosum*) 的杀真菌作用。

在本世纪初，Шиллер 氏报告了从那些在自然条件下并无拮抗作用的微生物中人工制取抗生素的方法。

外国学者们的发现在抗菌素知识的发展方面也有重大意

义。Garre 氏在 1887 年提出了测定細菌拮抗作用的方法，他的方法基本上和現用方法差別不大。Frost 氏在 1904 年报告了研究細菌間拮抗作用的許多技术方法。

此后又有个别学者报告了由放綫菌及霉菌所形成的各种抗菌物质。如 Gratia 氏和 Dath 氏在 1924 年报告了由白色放綫菌(*Actinomyces albus*)形成的抗菌物质，他們称之为放綫菌素。

1929 年，Fleming 氏在逗点状青霉菌 (*Penicillium notatum*) 的培养中发现了抗菌物质——青霉素，并研究了此物质的某些性质。但是 Fleming 氏的报告，在当时并未引起注意，直到隔了 11 年后的 1940 年 Florey 氏和 Chain 氏才注意到 Fleming 氏在 1929 年所报告的抗菌物质，于是才拟制了自培养液中分离青霉素的方法和确定了此制剂的优异疗效。

1944 年，Schatz 氏、Bugie 氏和 Waksman 氏分离得一种优异的新抗菌素，即灰色放綫菌 (*Actinomyces griseus*) 菌株所形成的鏈霉素。鏈霉素在医学实际中广泛应用于治疗結核病、土拉侖斯菌病 (兔热病) 及某些其他疾病。近五年間还获得了許多由放綫菌形成的有价值的新抗菌素如：金霉素、氯霉素、地霉素、白霉素等。

苏联学者們曾发现許多新抗菌素制剂，如：Гаузе 氏及其同事发现的苏联短杆菌肽 (советский грамицидин)、石蕊霉素 (литмоцидин) 和白霉素 (альбомицин); Красильников 氏和 Коренько 氏的霉菌素 (мицетин)、曲霉素 (аспергиллин)、長孢菌素 (лонгиспорин) 等; Дергач 氏及其同事的霏那淨 (санозин); Кашкин 氏及 Соловьев 氏的 аспергин; Литвинов 氏及 Моисеева 氏的 лензитин 等等。

近十年来，由于分离出許多有价值的抗菌素制品，因而关于微生物的拮抗作用問題曾获得特別广泛和全面的研究。这些抗菌制品已广泛应用于医学实践，以治疗許多过去认为难以治愈的严重病症；并且还用于农业和許多工业部門中。目前，寻找新的、效力更大的抗菌素的工作，正在以愈益壯闊的力量繼續进行着。

微生物抗菌效能的測定方法，对于研究微生物的抗菌作用有很大帮助。約在 50 年之前，科学院院士 Омелянский 氏就指出了微生物学方法在分析許多物质中的优越性。

Омелянский 氏 (1906) 写道：“目前已經是将細菌学方法应用到化学中去并使它和这門科学中的其他方法具有同等地位的时候了。”Омелянский 氏在指出微生物学方法的精确性和专属性之后，繼續說道：“化学科学可从細菌中得到新的、真是取之不尽的各种試剂，并且这种試剂較之这門科学目前所有的試剂的专属性和精确性要高好几倍。”

有充分理由可以肯定，Омелянский 氏所提出的将微生物用于許多物质定量分析的方法，在近十年中已經得到了明确的承认。此法已开始被广泛应用于氨基酸、維生素的測定，而特別是抗菌物质的測定。

目前，在生物化学研究中，微生物学方法已开始与其他方法(物理方法、化学方法)結合使用。

抗菌素的生物学檢定法無論在生产、實驗室和临床方面，目前仍在其他抗菌素檢定方法中占有首要地位。

● 抗菌物质的抗菌效能檢定方法的要点是：使抗菌素直接作用于生長在固体(琼脂)或液体培养基中、对该制剂有敏感性的活菌細胞上。

苏联学者們为了努力保証供应我們的医疗事业和农业以

有效的新葯剂，在寻找新抗菌物质和进一步研究提高已知的，有实际价值的抗菌素产量方面的工作正在日益广泛地开展着。

研究抗菌物质形成的条件问题是这门科学中很重要的一环，应该更广泛地采用微生物学中最先进的生理方法来研究菌种的生命活动情况。

分离和研究新抗菌素的工作应以下述原则为基础，即应广泛地结合各种专业的学者如：微生物学家、生物化学家、有机化学家、医学家、工艺家等的工作。只有这样，才能获得好的结果。

抗菌菌在自然界中的分布

寻找新的抗菌物质，要求善于从各种基质中分离出具有显著拮抗性的微生物，因此就必须对抗生菌在自然界中的分布情况有一个大体的概念。

微生物的分布，自空气中的尘土、动植物的残骸、各种食物起，以至于活的动植物体内到处都有。但大多数微生物的自然生活场所总不外是土壤和沼泽。土壤是各种微生物群特别丰富的来源，在土壤中有大量的细菌、放线菌、真菌及其他微生物。

土壤中微生物群组成的质量和数量与许多因素有关，如土壤的种类（黑土、灰土、褐土、碱性土等）、土壤的耕耘情况（熟地或荒地，施肥地或不施肥地）、土壤上生长的植物种类以及湿度、温度、酸度等。

Waksman 氏(1947)曾引述了下列一些资料，这是一些

关于某些微生物群在土壤中的分布与土壤耕耘情况(表 1)和土壤上生长的植物种类(表 2)間的关系的一些資料。

表 1 土壤的耕耘情况对微生物数量的影响
(1 克土壤)

耕 耘 情 况	pH	微 生 物 的 数 量(千)		
		細 菌	放 綫 菌	眞 菌
不施肥·····	4.6	3000	1150	60
施石灰·····	6.4	5410	2410	23
施鈣盐及磷酸盐类·····	5.5	5369	1520	38
施盐类及硫酸銨·····	4.1	2690	370	112
施硫酸銨及石灰·····	5.8	6990	2520	39
施盐类及硝酸鈉·····	5.5	7600	2530	47
施厩肥及盐类·····	5.4	8800	2920	73

表 2 植物对土壤中微生物数量的影响
(1 克土壤)

植 物 种 类	土 样	微 生 物 的 数 量(千)		
		細 菌	放 綫 菌	眞 菌
黑麦	根处	28600	4400	216
黑麦	根旁	13200	3200	262
玉蜀黍	根处	41000	13400	178
玉蜀黍	根旁	24300	8800	134
甜菜	根处	57800	15000	222
甜菜	根旁	32100	12200	176
紫花苜蓿	根处	93800	9000	268
紫花苜蓿	根旁	17800	3300	254

由表 1 可見：土壤耕耘情况(此处是指施加不同肥料)对其中微生物的数量起着多么巨大的影响，例如：施厩肥的土壤与未施肥的土壤相比，細菌数量要增加二倍、放綫菌数量要

增加一倍。

表 2 中的数据明显指出微生物在植物的根处要比根旁发育得好。

許多研究者认为有大量微生物的土壤中常可发现拮抗型的微生物。这是很可理解的，因为生活在土壤中的微生物愈多，则相互間的生存竞争也愈尖锐；竞争常采取各种形式，其中也包括形成抗菌物质的竞争形式。

但实际情况也并非全然如此。例如象 Красильников 氏 (1950) 已经指出的，在含有很多放线菌的土壤中根本不能发现抗生素的情况也不是少见的。

除土壤以外，还可以从水、空气、各种蔬菜和水果的表面、发霉的面包和干酪等处分离出具有显著拮抗作用的微生物，并可用以制造抗菌物质。

拮抗性細菌

細菌中以产芽胞杆菌族的拮抗型为最多，其中大部分有代表性的菌种是从土壤、污水、畜粪及其他基质中分离出来的。在这些菌种中在形成抗菌素方面占主要地位的有：枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*)，蕈状杆菌 (*Bac. mycoides*)，马铃薯杆菌 (*Bac. mesentericus*)，短杆菌 (*Bac. brevis*)，多粘杆菌 (*Bac. polymyxa*) 等。

产芽胞杆菌能形成許多抗菌物质如：短杆菌肽，短杆菌素 (тиротрицин)，短杆菌酪肽 (тироцидин)，枯草菌素 (субтилин)，杆菌肽 (бацитрацин)，杆菌素 (бациллин) 和許多其他的。而苏联短杆菌肽已在医疗上获得实际应用。

但在无芽胞杆菌族中也有拮抗型，其中最受注意的是形成螢光綠和螢光紅色素的菌种——綠脓杆菌 (*Pseudomonas*

pyocyanea), 螢光杆菌(*Ps. fluorescens*), 灵杆菌(*Bacterium prodigiosum*)等。

在无芽胞杆菌形成的抗菌素中較著名的有: 綠脓菌藍素(пиоцианин), 半綠脓菌藍素(гемипиоцианин), 灵菌紅素等(продигиозин), 但这些物质还没有得到实际应用。

拮抗性放綫菌

微生物中, 就拮抗型的数量而言以放綫菌为第一。在施肥良好又含有大量腐植质的沃土(暖房, 温室和菜田的土壤)中拮抗性放綫菌的数量最多。土壤中拮抗性放綫菌按土壤的性质分布如下:

表 3 苏联土壤中拮抗性放綫菌的分布
(根据 Нахимовская 氏的资料)

土 壤	菌种總数	其 中 之 抗 生 菌	
		菌 种 数	%
黑土.....	24	10	41.6
碱性土.....	11	7	63.6
盐土.....	4	4	100.0
高原地(帕米尔)土.....	9	6	66.6
砂土.....	6	5	83.0
沙漠地土.....	5	4	80.0
水草地土.....	14	7	50.0
黏地土.....	7	4	57.2

表 3、表 4 的资料說明放綫菌活动型在各种性质的土壤中的分布頗不一致。正如 Красильников 氏及其同事所說的(1953): 在耕地和开垦地土层中拮抗性放綫菌的数量以 0—45 厘米深处为最多, 往下愈深則放綫菌数量便愈少, 其中的抗生素也如此。

表 4 苏联土壤(1克)中放线菌的分布量(千)

(根据 Красильников 氏及其同事的资料, 1953)

土 样	放线菌		抗 生 菌		大腸菌
	總 数	總数	%	其中能抑制的数量	
中亞細亞灰土(瓦赫什河流域和荒漠草原等)	14300	5200	37	840	6
黑土(基輔区等)	3500	1520	43	880	24
高加索黑土	1040	260	25	220	21
南部森林土(高加索沿岸)	1400	420	30	380	27
卡拉雅查試驗农場的栗色土(格魯吉亞)	2480	280	11	0	—
苏联中部碱性土	4200	780	18	140	3
莫斯科附近的碱性土	2900	380	13	60	2
泥炭質土	1480	80	5	20	1.3
湖中淤泥	340	200	60	140	41

經長期干燥的土样会影响它所有的抗生素的质(种类)和量。由于抵抗力較弱的菌种的死亡, 其余菌种在微生物总数中的比例便略見增加。所以应该从新鮮的土样中分离抗生素。

总而言之, 寻找抗生素时不仅須注意土壤的成分, 还要注意所采土样的处理時間。

由放线菌形成的大量抗菌素中, 已經获得了有很大实用价值的制品如: 鏈霉素——由 *Actinomyces globisporus streptomycini* 所形成; 金霉素——自 *Act. aureofaciens* 菌种得到; 氯霉素——系 *Act. venezuelae* 所形成; 白霉素——系 *Act. subtropicus* 所形成; 新霉素——系 *Act. fradiae* 所分泌; 地霉素——系 *Act. rimosus* 所形成等。应着重指出的是, 就寻找新的抗菌物质來說, 放线菌是最有前途的一族。

从自然生存条件中分离抗生素

如前所述，土壤是各种微生物发育最良好的自然基质。在熟土和施肥良好的土壤中微生物特别丰富，从中可分离出大量的拮抗型。为了更正确地理解从自然生存地点分离出抗生素的原则，必须考虑到微生物形成抗菌物质的条件。

抗菌物质的形成乃是与菌种的物质代谢特性有关的一种过程，而菌种的物质代谢特性又决定于培养条件。

培养基中氮、碳、磷和其他元素的来源、它们之间的数量比例，以及 pH 值、空气和温度等对于抗菌物质的形成有着重要的、有时甚至是决定性的影响。所以，对待各种基质中的抗生素的定量测定问题应当非常小心。往往微生物在一种培养条件下不能发现任何拮抗性质的特征，而在另一种培养条件下却非常明显地表现出这类性质。

对微生物形成抗菌物质有重大影响的因素很多，而用来培养微生物的培养基的成分应认为是其中的主要因素。其他培养条件如：培养基的有效酸度(pH)、空气、温度、氧化还原条件等对于抗菌物质形成过程的重要意义也不小。

从自然基质中分离抗生素的时候，如忽视了上述因素之一，便可能在微生物的拮抗性质方面造成错误的概念。

各族微生物的拮抗型，为了本身的发育和形成抗菌物质，需要不同的培养条件。不同种的微生物对其培养条件的不同要求反映了：分离不同种的抗生素要使用不同成分的培养基，并应为该菌种创造其他的特殊条件。

既然，不同微生物在形成抗菌素方面要求不同的培养条

件，那末就可選擇适当的培养基來創造這些條件。可以借著配制許多適當的培养基而在下列幾方面建立不同的培養條件：1)微生物利用各種氮源和碳源的可能性，2)培养基中各種成分的一定比例(氮、磷和碳以及其他某些微量元素的比重起着重大的作用)，3)微生物發育過程中，培养基的 pH 向一定方向的變動，4)建立必要的氧化還原條件，5)使培养基有一定的粘度。現將上述各因素逐一進行簡短的探討如下：

一 氮源 如所周知，細菌對氮源的要求比放線菌高。放線菌能在各種氮源中發育。但正如以上所已經指出的，微生物的發育良好和抗菌素的形成不是經常一致的。往往有這樣情形：微生物發育旺盛，但卻完全不形成抗菌素，即使它確有形成的潛在可能性。所以，為了鑑定微生物形成抗菌素的能力，必須在培养基中應用氮原子氧化程度不同的各種氮源來確定它們被微生物利用的性質。

一類氮源(硝酸盐和亚硝酸盐)是氮處於氧化狀態(NO_3^- ， NO_2^-)，另一類(銨鹽，氨基酸)是處於還原狀態(NH_4^+ ， $-\text{NH}_2$)。在天然培养基中(玉蜀黍渣或其他面粉類)所含的氮主要是蛋白質的形式。蛋白質的營養價值決定於氮以 NH_3 的形式自其中分解出來的容易程度。肉汁中主要含非蛋白性氮。在微生物學實際工作中廣泛使用的蛋白胨是由各種多肽、二肽以至游離氨基酸的混合物所組成的。

因此，配制各種氮源的培养基時就必須考慮該培养基中可被利用的氮的形式(氧化狀態還是還原狀態)。但是也不能不考慮鹽類本身特性、它的陽離子。例如，使用 KNO_3 作氮源時，其陽離子 K^+ 與使用 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 時的陽離子 Ca^{++} 相比較，是以另一種方式影響著微生物及其所實現的過程的。所以配制培養微生物的培养基時，也必須認真地注意這些因素。

鈹盐和氨基酸是最易同化的氮源。在培养基中有容易同化的碳源存在时，微生物对它们的利用还会更好得多。使用鈹盐的困难往往是与其生理酸度有关。作为氮源的氨基酸是生理上中性的物质，微生物对氨基酸的利用不如鈹盐。不同的氮源对微生物的生长及其形成抗菌物质的作用，可由下例看出。

如所周知，鏈霉素菌种 *Actinomyces globisporus streptomycini* 在含有以硝酸盐或亚硝酸盐为氮源的培养基中生长不良，同时不能形成抗菌素。而鈹盐是生长和形成鏈霉素的最佳氮源。对于金霉素菌种 *Act. aureofaciens* 也如此。制造金霉素所用的培养基中以硫酸鈹为主要氮源。

制造青霉素时，除鈹基氮源和玉米浆外，在培养基中还加入硝酸盐。在不含有硝酸盐的培养基中其生理生化过程显著改变。例如：pH 增长缓慢得多，青霉素的形成持续至第三期。

碳源 由于不同的化学特性，碳源对微生物的生长和抗菌物质的形成决不是没有影响的。例如在青霉素的生物合成中，在培养液充分通气的条件下，乳糖的被利用要比葡萄糖慢。培养基中有葡萄糖，能加速所有的代谢过程；约经 50 小时便达到青霉素形成的最大量；而当有乳糖时，则需 150—160 小时。在使用葡萄糖的过程中，对氮的利用要比使用乳糖时快得多。

使用碳源时，碳链的结构(直链、叉链、环链)和碳原子的氧化程度有重大的意义。最普通的碳源是糖类，特别是己糖类。己糖应包括多原子的醇类(甘油、甘露醇、红藓醇等)及由糖的一或二个碳原子氧化而成的羧酸类。例如由葡萄糖形成的酸类：葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、葡萄糖酮酸等均归入此类。

許多有机酸和醇类,按其化学结构來說,虽和糖类有很大区别,但它們也是許多微生物的良好碳源。最易同化的含氧酸是:乳酸、柠檬酸、苹果酸等。

配制含各种碳源的微生物培养基时,必須使用在化学上属于不同类型的碳水化合物(糖类、醇类、有机酸)。有时为了更好地使微生物生長和形成抗菌素,可在一种培养基中合理地使用各种碳源如:糖、有机酸或其他碳源。

培养基中各种成分的比例对微生物的发育及抗菌素的形成有重大影响。同时,基質中不同物质的配合及其性質上的特征也有重大意义。关于这方面,以上已略有提及。

培养基中各种成分的数量比例在研究过程中具有不小的意义。例如:对形成金霉素而言,培养基中最好的碳源是葡萄糖。同时,发现葡萄糖的濃度如果增加到3%以上,而不改变培养基的其他成分,則抗菌素的产量便显著下降。又例如:形成紫放綫菌素的 *Actinomyces lavendulae*, 当培养基中磷的濃度为40—50 毫克/升时,所得抗菌素的产量最大。再增加磷的濃度,紫放綫菌素的形成就急剧下降。

因此,由于片面增加碳或磷而破坏了培养基中成分間的比例,会抑制抗菌素的形成。培养基中,例如在培养 *Actinomyces globisporus streptomycini* 的培养基中,微量元素(Fe、Zn、Mg)的不同比例也能大大改变鏈霉素的形成过程。

培养基的开始有效酸碱度(pH)对微生物的发育及其抗菌素的形成有重大影响,这是可按試驗者的愿望来調节的。开始的酸度在微生物发育过程中可以变动于酸性或碱性范圍內。这种 pH 的变动可能是由于微生物对培养基中各种离子消耗不均衡的結果所引起的。例如:使用硫酸銨或任何其他本来是酸性的盐类作为氮源时,由于酸性殘基积累的結