

细胞动力学研究*

III. 细菌算术级数式生长过程热动力学

刘 义 谭安民 谢昌礼 汪存信 屈松生

郝宗宇

(武汉大学化学系, 武汉 430072)

(河南省卫生防疫站, 郑州 450003)

关键词: 细菌生长, 微量热法, 热动力学, 热化学

在细胞指数生长中, 有

$$dN/dt = k \cdot N \quad (1)$$

$$N_t = N_0 \cdot \exp(kt) \quad (2)$$

这个指数模型只能在短时间内适用, 因为细胞培养过程中, 它的生长要受到众多条件的限制, 同时细胞的增殖能力也是有限的, 不可能都按指数式进行增长.

细菌生长的发热曲线反映了其生长、生理和生化等特征的变化, 所以通过发热曲线可用来分析各种细菌的这些生长特征. 细菌的生长和代谢是一个极其复杂的过程, 关于细胞的生长过程, Holzel 等^[1]提出了很多的数学模型来描述, 但是有一种特殊的生长 — 算术级数式(线性)生长, 尚未被提及. 在一般的情况下, 细菌的生长在一定的范围内符合指数特征. 但是, 对于不同的菌种, 不同的生长条件, 不同的代谢类型, 细菌的生长会有不同的类型和特征, 其生长的热动力学性质和方程, 亦应有所不同, 如指数方程、logistic 方程、线性方程等, 也许还会有其它形式的方程.

在细菌算术级数式生长过程中, 其生长规律并不是呈指数式增长, 而是呈算术级数式生长, 其比生长速率不断减少, 而细菌的增长速率是一个常数. 即:

$$dN/dt = C \quad (3)$$

若单个细菌的发热功率为 W , 则

$$N_t = P_t/W, \quad N_0 = P_0/W$$

$$d(P/W)/dt = C$$

$$dP/dt = C \cdot W = k_m \quad (4)$$

1995-08-29 收到初稿, 1995-11-18 收到修改稿. 联系人: 屈松生. * 国家自然科学基金资助项目

$$P_t = P_0 + k_m \cdot t \quad (5)$$

$$\text{又} \quad dP/dt = k_m = k_m \cdot P^0 \quad (6)$$

即在算术级数式生长过程中, 其生长代谢级数 $n=0$.

对于指数式生长, 则有

$$dP/dt = k \cdot P^1 \quad (7)$$

即在指数生长过程中, 其生长代谢级数 $n = 1$, 且

$$\ln P_t = \ln P_0 + k \cdot t \quad (8)$$

(k_m 为代谢速率常数, k 为细菌生长速率常数, P 为 t 时刻的热功率, t 为时间, n 为生长代谢级数)

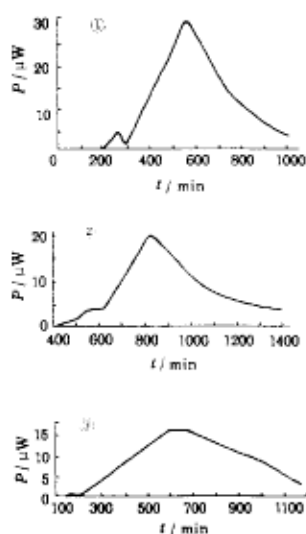


图 1 布鲁氏菌的生长发热曲线

Fig.1 Thermogenesis curves of *Brucella* growth

① $S_2(55007)$ 37.1°C ; ② $M_5(55009)$ 27.8°C ; ③ $M_5(55009)$ 39.6°C

在算术级数式生长过程中, 按 (5) 式, 以 P_t 对 t 进行拟合, 则得直线斜率为 k_m . 它表示细菌在生长过程中, 单位时间内所增长的热功率的大小. 它反映了细菌在生长过程中, 热功率增长的快慢, 从而也反映了细菌在生长过程中生长快慢特征. 在这种情况下, 细胞数的变化不是时间 t 的指数函数, 而是时间 t 的线性函数, 反映了细菌在某些条件下的一种特殊的生长特征, 这种生长过程中的热化学特征目前未见报导. 进一步深入地研究这种生长的特征, 对我们从事生物热化学研究将会有一定的意义.

1 材料和方法

1.1 材料

布鲁氏菌 $S_2(55007)$, $M_5(55009)$, 河南省卫生防疫站提供. 其培养基为土豆、葡萄糖培养基 (蒸馏水: 土豆浸出液 = 1:1) 1000 mL 中含: 牛肉膏 5 g; 葡萄糖 10 g; 甘油 5 mL; 胰蛋白胨 10 g, pH=7.2.

1.2 仪器

LKB2277 生物活性检测系统.

1.3 方法

停流法 (Stopped flow) 检测. 依次用无菌蒸馏水, $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}$, $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 和无菌蒸馏水, 对测量通道进行清洗和消毒. 待用无菌蒸馏水走出稳定的基线后, 将新接种的菌液泵入热量计, 使整个通道充满菌液, 然后用夹子夹住管子两端, 开始检测.

2 结果与讨论

分别测量了上述两种菌的生长情况, 其发热曲线如图 1 所示. 这些曲线在相同的实验条件下, 有良好的重现性.

由图 1 可见, 这三条细菌的生长曲线均为直线, 即随时间进行线性生长. 其 $P \sim t$ 数据于表 1 所示.

表 1 布鲁氏菌生长的 $P \sim t$ 数据
Table 1 $P \sim t$ data of Brucellas growth

S ₂ (55007) 37.1 °C				M ₅ (55009) 27.8 °C		M ₅ (55009) 39.6 °C			
t/min	P/μW	t/min	P/μW	t/min	P/μW	t/min	P/μW	t/min	P/μW
300	2.2	480	20.2	625	4.3	225	1.5	450	10.1
320	4.2	500	22.1	650	6.1	250	2.3	475	11.0
340	6.4	520	24.2	675	8.1	275	3.1	500	11.9
360	8.5	540	26.9	700	10.0	300	4.0	525	12.7
380	10.5	560	29.1	725	12.0	325	4.9	550	13.4
400	12.5			750	14.1	350	6.0	575	14.2
420	14.7			775	16.3	375	7.0	600	15.2
440	16.8			800	18.5	400	8.0		
460	18.7			825	19.7	425	9.0		

以表 1 中的 $P \sim t$ 数据, 按 (5) 式进行线性拟合, 所得到的结果如表 2 所示.

表 2 按 (5) 式拟合的实验结果
Table 2 Experimental results fitted by equation (5)

Brucellas	T/°C	$k_m/\mu W \cdot \text{min}^{-1}$	kinetic equation	R
S ₂ (55007)	37.1	0.10538	$P_t = -28.16 + 0.10538 t$	0.99946
M ₅ (55009)	27.8	0.08114	$P_t = -46.64 + 0.08114 t$	0.99948
M ₅ (55009)	39.6	0.03742	$P_t = -7.04 + 0.03742 t$	0.99914

由表 2 可见, 曲线拟合的相关系数最小的为 0.99914, 说明其相关性均很好, 细菌在此情况下的生长确为线性生长, 其生长代谢的级数 $n=0$, 为 0 级生长. 即:

$$P_t = P_0 + k_m \cdot t$$

$$dP/dt = k_m = k_m \cdot P^n, \quad n = 0$$

目前的文献中, 主要是按指数模型进行处理. 如果取表 1 中的 $P \sim t$ 数据点, 按指数模型以 (8) 式进行拟合, 所得的结果如表 3 所示.

由表 3 可见, 按指数模型处理的结果, 其相关系数均小于 0.99, 相关性较差. 从而说明了这两种菌在相应条件下确为算术级数式生长, 而不是指数式生长. 这些结果说明了这些菌生长的特征, 为进一步研究其生理, 生化特征提供了重要的信息. 由式 (1) 可见, 指数模型中的 k 实际上就是细菌的比生长速率 μ . 按 (5) 进行拟合得到的 k_m , 是细菌在生长过程中的热功率增长速率. 这时细菌生长的比生长速率与时间有关, 是时间和热功率的函数, $\mu = k_m/P$, 即细菌的比生长速率随着时间的推移、热功率的增大而减小. 在取点时间间隔相等的条件下, 我们求得了细菌算术级数式 (线性) 生长过程的平均比生长速率 $\bar{\mu}$:

表 3 按指数模型拟合的实验结果

Table 3 Experimental results fitted by the exponential model

Brucellas	T/ °C	10 ³ · k/min ⁻¹	R
S ₂ (55007)	37.1	8.4912	0.94145
M ₅ (55009)	27.8	8.0827	0.98469
M ₅ (55009)	39.6	5.6095	0.95587

$$\begin{aligned} \bar{\mu} &= \frac{1}{n}(k_m/P_1 + k_m/P_2 + \cdots + k_m/P_n) \\ &= \frac{k_m}{n}(1/P_1 + 1/P_2 + \cdots + 1/P_n) \\ &= \frac{k_m}{n} \sum_{i=1}^n (1/P_i) \end{aligned} \quad (9)$$

由平均比生长速率 $\bar{\mu}$, 可评价细菌生长的快慢. 由此可得到细菌的平均世代时间 \bar{G} :

$$\bar{G} = (\ln 2)/\bar{\mu}$$

如表 4 所示.

表 4 布鲁氏菌的 $\bar{\mu}$ 和 \bar{G} 值

Table 4 Values of $\bar{\mu}$ and \bar{G} of Brucellas

Brucelles	T/ °C	10 ³ · $\bar{\mu}$ /min ⁻¹	\bar{G} /min
S ₂ (55007)	37.1	11.520	60.2
M ₅ (55009)	27.8	8.478	81.8
M ₅ (55009)	39.6	6.986	99.2

综上所述, 算术级数式 (线性) 生长的细菌, 应按 (5) 式进行处理, 其生长代谢级数 $n = 0$. 然后由 (9) 式求出其生长过程的平均比生长速率 $\bar{\mu}$.

有些情况下, 细菌的生长也是线性生长, 如文献 [2] 中的座疮丙酸杆菌, 其生长过程分为两段, 且两段均为线性生长, 按式 (5) 进行处理, 其结果如表 5 所示. 在我们的实验中, 细菌生长过程中, 随着产物的积蓄, 其生长曲线的后一部分往往是直线的, 如文献 [3] 的布鲁氏菌 83-202, 83-980, M₅(55009) 等, 其后一部分的生长往往符合线性生长特征, 其结果如表 5 所示.

表 5 细菌线性生长的结果

Table 5 Results of bacteria linear growth

Bacteria	T/ °C	t/min	kinetic equation	R
Propionibacterium	35.0	① 0 ~ 300	$P_t = 7.71 + 0.06157 t$	0.99777
acnes		② 340 ~ 500	$P_t = 3.34 + 0.05925 t$	0.99963
83-202	37.1	325 ~ 470	$P_t = -28.93 + 0.13099 t$	0.99897
83-980	37.1	425 ~ 585	$P_t = -44.02 + 0.12198 t$	0.99986
M ₅ (55009)	37.1	450 ~ 650	$P_t = -33.82 + 0.08772 t$	0.99871

在有些情况下, 如营养缺陷型以及其它突变型的细菌, 其生长规律也呈算术级数式生长 [4]. 一般情况下, 自然界中的生长因子的浓度极低, 它被细菌繁殖时用去一部分后, 就会影响细菌的下一步生长速率, 所以, 野生状态下的很多细菌, 其生长是算术级数式的.

参 考 文 献

- 1 Holzel R, Motzkus C, Lamprecht I. *Thermochimica Acta*, 1994, 239:17
- 2 谭安民, 谢昌礼, 屈松生等. 物理化学学报, 1995, 11(10):954
- 3 刘 义, 谭安民, 谢昌礼等. 物理化学学报, 1996, 12(4):377
- 4 尤复翰, 陆佩洪主编. 细胞的发育, 南京: 江苏科学技术出版社, 1983, pp.63-65

Cell Kinetic Study

III. Thermokinetic Study of Bacterial Arithmetic Series Growth

Liu Yi Tan Anmin Xie Changli Wang Cunxin Qu Songsheng
(Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072)

Hao Zongyu

(Henan Health Epidemic Prevention Station, Zhengzhou 450003)

Abstract By using an LKB-2277 Bioactivity Monitor, we have determined the thermogenesis curves of two species of *Brucellas* arithmetic series growth. From the thermogenesis curves, a thermokinetic equation as:

$$dP/dt = k_m \cdot P^n$$

could be established for bacterial arithmetic series growth in which the order of growth metabolism $n=0$. The mean specific rate constant of multiplication $\bar{\mu}$ and the mean generation time \bar{G} *et al.* were calculated. This model was compared with the exponential model.

Keywords: Bacterial growth, Microcalorimetry, Thermokinetics, Thermochemistry