

## 细胞动力学研究 \*

### II. 产物抑制生长过程的热动力学

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, 热化学, 热动力学

分批培养是研究微生物生长的一种传统培养方式. 该法将少量微生物接种到一定量的培养基中, 随着时间的推进和微生物的生长、繁殖, 有效营养物质愈来愈少, 而代谢产物不断积累, 环境逐步变得不适于生长. 因此, 细菌的比生长速率逐步降低, 直到最后有效养分耗尽, 导致生长停止和机体的死亡<sup>[1]</sup>.

在细菌生长过程中, 代谢产物积蓄, 而抑制其生长, 引起生长速率减小, 可用下式表示

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

式中  $N$  为  $t$  时刻的细胞数,  $i$  为抑制物的浓度,  $a$  为常数. 当  $a=0$  时, 则为指数式生长. 假定抑制物的生成速率与细菌生长速率成正比, 则

$$di/dt = b \cdot dN/dt \quad (2)$$

$b$  为常数. 当  $t=0$  时,  $i=0$ , 上式积分得

$$i = b(N - N_0) \quad (3)$$

$N_0$  为  $t=0$  时的细胞数. 把 (3) 式代入 (1) 式得

$$\frac{dN}{dt} = k \cdot N[1 - ab(N - N_0)] = k(1 + abN_0)N[1 - \frac{ab}{1 + abN_0} \cdot N] \quad (4)$$

令  $k(1 + abN_0) = k_0$ ,  $(1 + abN_0)/ab = N_{st}$ , 则

$$dN/dt = k_0N(1 - N/N_{st}) \quad (5)$$

又因为  $N = P/W$ , ( $W$  为单个细菌的发热功率), 则

$$dP/dt = k_0P(1 - P/P_{st}) \quad (6)$$

(6) 式在初始条件  $t=0$  时,  $P = P_0$  下解得

$$\ln[P_{st}/P_t - 1] = \ln[P_{st}/P_0 - 1] - k_0 \cdot t \quad (7)$$

式中  $P_t$  为  $t$  时刻的发热功率. 令  $\beta = 1/P_{st}$ , 则

$$\ln[1/(\beta \cdot P_t) - 1] = \ln[1/(\beta \cdot P_0) - 1] - k_0 \cdot t \quad (8)$$

因为  $(1 + abN_0)/ab = N_{st}$ , 则

$$1/ab + P_0/W = P_{st}/W, \quad 1/ab = (P_{st} - P_0)/W$$

而  $k = k_0/(1 + abN_0) = k_0(1 - \beta \cdot P_0)$  (9)

因为  $1/\beta P_t > 0$ , 所以  $0 < \beta < 1/P_m$ . ( $P_m$  为生长期曲线中的最大发热功率).

用计算机按 (8) 式进行循环计算和拟合, 得到相关性最好、线性关系最好的一个  $\beta$  值, 从而得出  $k_0$ ,  $R$  和  $P_0$  值. 再由 (9) 式求得  $k$  值. 此热动力学方程的建立, 对我们进一步研究细菌生长动力学、生长特征及代谢机制等有一定的意义.

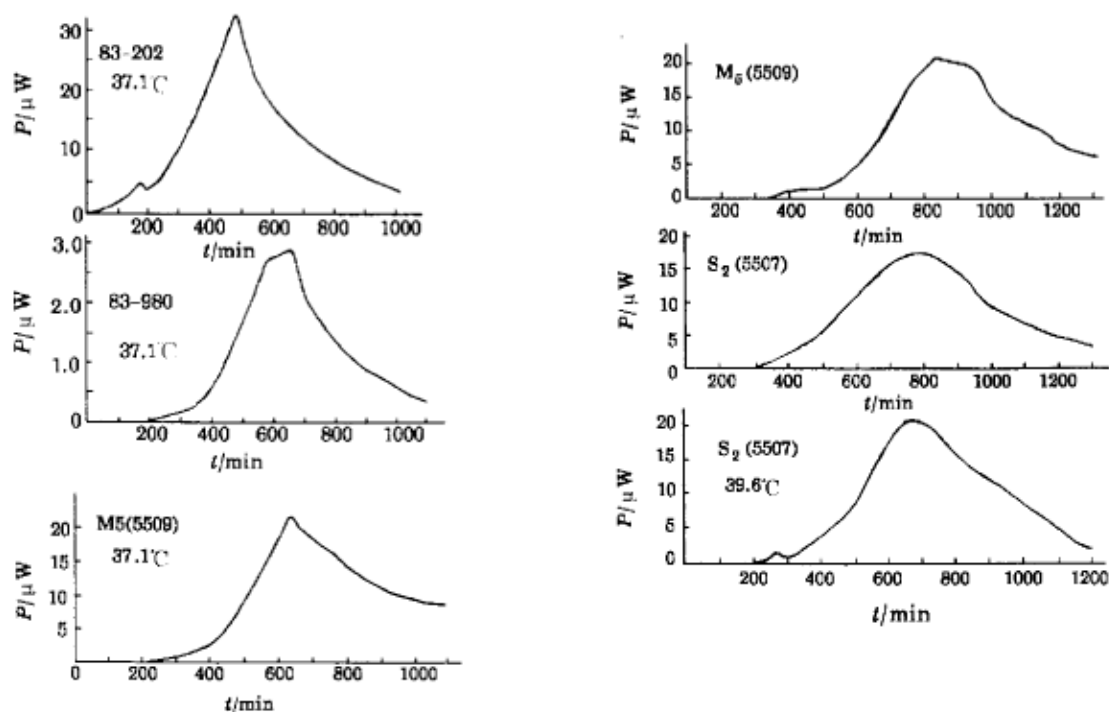


图 1 布鲁氏菌的生长发热功率曲线

Fig.1 Thermogenesis power curves of Brucellas growth

## 1 实验部分

### 1.1 材料

布鲁氏菌  $S_2(55007)$ ,  $M_5(55009)$ , 83-202, 83-980, 均由河南省卫生防疫站提供.

布鲁氏菌培养基为土豆、葡萄糖培养基 (蒸馏水: 土豆浸液 = 1:1), 1000mL 中含: NaCl 5g, 牛肉膏 5g, 葡萄糖 10g, 甘油 5mL, 胰蛋白胨 10g, pH=7.2.

## 1.2 仪器

LKB-2277 生物活性检测系统.

## 1.3 方法

实验中采用停流法检测. 依次用无菌蒸馏水、 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl、 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH 和无菌蒸馏水对测量管道进行清洗和消毒. 待用无菌蒸馏水走出稳定的基线后, 将新接种的菌液泵入量热计, 待整个管道充满菌液后, 停泵, 用夹子夹住管道两端, 开始连续检测.

## 2 结果和讨论

我们分别测量了布鲁氏菌  $S_2(55007)$ ,  $M_5(55009)$ , 83-202, 83-980 等在相应的温度下的完整生长发热功率曲线, 如图 1 所示. 在实验条件相同的情况下, 这些细菌的生长发热功率曲线有良好的重现性.

对上述的生长发热功率曲线, 在细菌生长期中的热功率  $P_t$  和时间  $t$  代入 (8) 式中, 以  $\ln[1/(\beta \cdot P_t) - 1]$  对  $t$ , 用计算机进行循环计算和线性拟合, 所得的结果如表 1 所示.

表 1 布鲁氏菌计算和拟合的结果  
Table 1 The calculating and fitting results of Brucellas

Brucellas	T/°C	$10^2 \cdot k_0/\text{min}^{-1}$	$10^2 \cdot \beta/\mu\text{W}^{-1}$	R	$10^4 \cdot \beta P_0$	$10^2 \cdot k/\text{min}^{-1}$
83-202	37.1	1.206	2.19	0.9997	85.18	1.196
83-980	37.1	1.517	2.81	0.9997	4.535	1.516
$M_5(55009)$	37.1	1.336	3.44	0.9998	6.270	1.335
$M_5(55009)$	32.2	1.297	3.92	0.9995	4.129	1.296
$S_2(55007)$	32.2	1.309	5.37	0.9966	25.30	1.306
$S_2(55007)$	39.6	1.293	3.87	0.9979	9.568	1.292

由表 1 可见, 用此产物积蓄引起对细胞生长抑制的热动力学模型, 对上述实验进行处理, 相关系数均大于 0.996, 相关性很好, 说明此模型比较接近细菌生长的实际特征. 但是, 在目前的文献<sup>[2-4]</sup>中, 主要是运用指数模型对细菌生长进行处理, 即

$$P_t = P_0 e^{kt} \quad (10)$$

或

$$\ln P_t = \ln P_0 + kt \quad (11)$$

将以上的实验生长发热功率曲线, 与表 1 中取相同的数据点, 按指数模型 (10) 进行处理, 所得结果如表 2 所示.

表 2 按指数模型处理的实验结果  
Table 2 The experimental results obtained according to exponential model

Brucellas	T/°C	$10^3 \cdot k/\text{min}^{-1}$	R
83-202	37.1	7.8306	0.9888
83-980	37.1	11.3297	0.9892
$M_5(55009)$	37.1	10.2104	0.9905
$M_5(55009)$	32.2	7.7583	0.9822
$S_2(55007)$	32.2	7.4089	0.9466
$S_2(55007)$	39.6	8.4731	0.9801

比较表 1 和 2 的结果可见, 按指数模型进行处理时, 相关系数较小, 相关性均不好, 且均比表 1 中的相关系数小. 由此说明产物抑制动力学模型 (6) 比指数模型更接近于细菌生长的特征, 更符合细菌生长的实际情况.

在细胞动力学研究 I<sup>[5]</sup> 中, 我们曾经指出, 其有限生长热动力学模型对 Br.981 在 32°C 时的生长情况不适宜, 如果采用本文的产物抑制动力学模型 (6) 处理, 所得的结果如表 3 所示.

表 3 Br.981 在 32° 时的实验结果  
Table 3 Experimental results of Br.981 growth at 32°C

according to model (6)					according to exponential model	
$k_0/\text{min}^{-1}$	$\beta/\mu\text{W}^{-1}$	$\beta P_0$	$k/\text{min}^{-1}$	$R$	$k/\text{min}^{-1}$	$R$
0.01490	0.0293	$2.662 \times 10^{-4}$	0.01489	0.9988	$8.1475 \times 10^{-3}$	0.9838

由表 3 可见, 对于 Br.981 生长过程, 产物抑制动力学模型 (6) 也比指数模型更适合于其生长特征, 处理的结果相关性很好.

对于指数模型 (10), 细菌的比生长速率  $\mu = 1/N \cdot (dN/dt) = 1/P \cdot (dP/dt) = k$ ; 而产物抑制动力学模型 (6) 中, 细菌的比生长速率  $\mu = 1/N \cdot (dN/dt) = k_0(1 - P/P_{st})$ . 此产物抑制动力学模型直接反映了产物积蓄对细菌繁殖的影响;  $(1 - P/P_{st})$  项反映了有限环境中剩余的尚未被细菌所占有的、可供利用的有效营养物或生存空间的一种量度, 是细菌再增殖的潜力所在, 正是这一项说明了产物抑制动力学模型 (6) 是一个反映细菌在有限条件下其增长受到产物积蓄线性限制作用. 当细菌数  $N$  小时, 产物积蓄效应小, 它受到产物的抑制小, 环境中剩余的有效营养和空间  $(1 - P/P_{st})$  多, 这时细菌发展的潜力大, 细菌的比增长速率  $\mu = k_0(1 - P/P_{st})$  大. 而当细菌数  $N$  增大, 代谢产物就愈来愈多, 环境中剩余的有效营养和空间  $(1 - P/P_{st})$  愈来愈少, 这时能提供细菌再发展的潜力愈来愈低. 最后当产物积蓄到一定的程度时, 有效营养和空间接近于零, 环境中已不再剩余有效营养了, 这时细菌也不可能再发展了, 细菌的比生长速率  $\mu$  下降为零了.

细菌的生长发热功率曲线代表着细菌生长和代谢的特征, 反映出生长和代谢过程中, 生理和生化特征随时间的变化情况. 我们可以看出, 指数模型即为产物抑制动力学模型 (6) 关于  $a=0$  的线性化模型. 因而, 可以说指数模型所以用于描述这种条件下的细胞增长导致失真的主要原因是“线性化”所致. 虽然产物抑制动力学模型 (6) 比指数模型更接近实际情况, 但我们可以看出, 产物抑制动力学模型 (6) 仅比指数模型右边多了一个线性产物抑制因子项. 某些情况下, 这种模型仍然不足以描述实际情况. 对于不同特征的细菌, 其生长发热功率曲线不同, 因此, 需要建立不同的热动力学模型进行处理, 以得到不同生长特征的动力学参数. 这还有待于进一步深入地研究和探讨.

#### 参 考 文 献

- 1 俞俊棠, 唐孝宜主编. 生物工艺学 (下), 上海: 华东化工学院出版社, 1992, pp.82-84
- 2 Xie C L, Sun D Y, Song Z H, et al. *Thermochimica Acta*, 1992, 197:101
- 3 Xie C L, Tang H K, Song Z H, et al. *Thermochimica Acta*, 1988, 123:33
- 4 Zhang H L, Liu Y J, Sun H T, et al. *Thermochimica Acta*, 1993, 216:19
- 5 刘 义, 谢卫红, 谢昌礼等. 物理化学学报, 1996, 12(2):156

## Cell Kinetic Study

### II. Thermokinetic Study of the Process of Cell Growth Inhibited by Metabolites

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 LKB2277 Bioactivity Monitor, we have determined the thermogenesis power curves of four kinds of Brucellas S<sub>2</sub>(55007), M<sub>5</sub>(55009), 83-202, 83-980. And established the thermokinetic equation for the process of cell growth inhibited by the products of metabolism, as:

$$\ln[1/(\beta \cdot P_t) - 1] = \ln[1/(\beta \cdot P_0) - 1] - k_0 \cdot t$$

From this equation, the rate constants of cell growth  $k [= k_0(1 - \beta \cdot P_0)]$  were obtained. This thermokinetic equation is very suitable for cell growth of separated culture and is very important for the study of bacterial limited growth and their characteristics.

**Keywords:** Bacterial growth, Microcalorimetry, Thermokinetics, Thermochemistry