

细菌生长的热力学性质的研究

张洪林* 刘永军 孙海涛

(曲阜师范大学化学系, 山东曲阜 273165)

孙秀芳 单庆祝

(曲阜市卫生防疫站)

谢昌礼 屈松生

(武汉大学化学系, 武汉 430072)

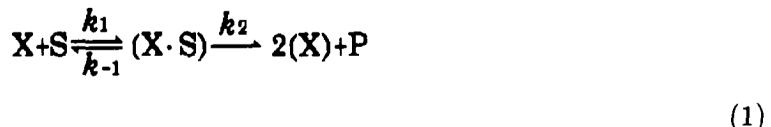
关键词： 细菌 微量热 热力学函数

前文^[1]报导了大肠杆菌在不同培养基中生长的速率及热力学函数，本文在此基础上又测定了不同细菌在相同培养基中生长的规律。

细菌生长是一系列非常复杂的过程，为便于研究，使复杂问题简单化，我们采取与过渡状态理论类似的模式进行处理，得出了一些热力学函数，这些数据为进一步探讨这一复杂过程提供了有用的信息。

1 基本原理

细菌生长可假定分三个阶段：第一阶段是底物进行扩散，并和细菌表面的活性物质进行作用，第二阶段是细菌将底物吸收到细胞内形成细胞-底物复合物；第三阶段是细胞-底物复合物在一系列酶的作用下进行酶促反应，进行分裂生长并排出代谢产物。如下式表示：



式中： X 代表细菌； S 代表底物； (X·S) 代表细菌-底物复合物； 2(X) 为反应后的细菌； P 为代谢产物； K 为生长速率常数。

按上述假设，细菌生长的模式与化学反应中的过渡状态理论很类似，因此，我们仿照过渡状态理论的方法进行处理：

$$\text{平衡常数 } K^\ddagger = [(X \cdot S)]/[X][S] \quad (2)$$

$$\text{速率常数 } k_2 = (kT/h) \cdot \exp(-E_a/RT) \quad (3)$$

式中： k 为玻兹曼常数； h 为普朗克常数； E_a 为激活能。

$$\text{又 } \Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger = E_a - T\Delta S^\ddagger \quad (4)$$

$$K^{\ddagger} = \exp(-\Delta G^{\ddagger}/RT) \quad (5)$$

因此,只要测得 k_2 和 E_a , 就可以求得细菌和底物形成复合物的活化熵 ΔS^{\ddagger} 、活化吉布斯自由能 ΔG^{\ddagger} 及活化平衡常数 K^{\ddagger} .

2 实验部分

2.1 仪器

本实验采用瑞典 Thermo Metric AB 公司制造的一种新型热导式微量量热计即热活性检测系统 (Thermal Activity Monitor). 关于此仪器的结构、原理、操作在参考文献 [2,3] 中已有详细介绍, 这里不再赘述.

2.2 实验材料

实验所用菌种由山东省卫生防设站菌种室提供. 菌种为: 枯草杆菌 (*B. subtilis*); 宋内氏志贺菌 (*S. sonnei*); 蜡样芽孢杆菌 (*B. cereus*); 白色葡萄球菌 (*S. albus*); 大肠杆菌 (*E. coli*); 绿脓杆菌 (*P. aeruginosa*); 奇异变形杆菌 (*P. mirabilis*); 金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*).

实验所用培养基为牛肉汤液体培养基, 其成分如下: 蛋白胨 2g, 氯化钠 1g, 牛肉浸膏 1g, 蒸馏水 200mL, 调 pH 至 7.4~7.6; 121 °C 蒸气灭菌 30 分钟备用.

2.3 实验方法

实验采用停流法. 首先按如下顺序清洗和消毒流动池: 以 $30\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$ 流速的无菌蒸馏水清洗 30 分钟; 以 $30\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$ 流速的 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 溶液清洗 30 分钟; 以 $30\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$ 流速的 75% 酒精清洗、消毒 30 分钟; 以 $30\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$ 流速的无菌蒸馏水清洗 30 分钟. 清洗完毕后, 以 $30\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$ 流速的无菌蒸馏水走基线, 待基线稳定后, 以相同流速泵入以无菌手续接种标准菌悬液的培养基混悬液, 确认混悬液充满流动池后停泵, 仪器即开始测量记录流动池内细菌代谢的热谱曲线. 当记录笔返回基线后, 即认为实验结束, 然后可对仪器进行电标定.

3 结果与讨论

3.1 实验结果

本文测定了 8 种细菌在不同温度、相同培养基中的代谢曲线. 根据其指数生长曲线可以计算出细菌在给定温度下的生长速率常数及激活能 (见表 1)^[4]. 按 (3)、(4)、(5) 式可计算活化熵 ΔS^{\ddagger} . 活化吉布斯自由能 ΔG^{\ddagger} 和形成活化复合物的平衡常数 K (见表 2).

表 1 各细菌在相同培养基中的生长速率常数和激活能

Table 1 Growth rate constants and Activation energy of bacteria in the same medium

bacteria	k_2/min^{-1}				$E_a/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
	304.15K	307.15K	310.15K	313.15K	
<i>B. subtilis</i>	0.0187	0.0204	0.0317		68.836
<i>S. sonnei</i>	0.0227	0.0242	0.0282	0.0320	31.266
<i>B. cereus</i>	0.0271	0.0318	0.0339	0.0375	27.435
<i>S. albus</i>	0.0140	0.0195	0.0229		64.397
<i>E. coli</i>	0.01819	0.02636	0.0315	0.0355	57.771
<i>P. aeruginosa</i>	0.0150	0.0179	0.0243		62.987
<i>P. mirabilis</i>	0.0215	0.0235	0.0251	0.02926	26.171
<i>S. aureus</i>	0.0103	0.0129	0.0201		87.309

3.2 讨论

(1) 实验测出 8 种细菌在相同培养基中生长所需的活化吉布斯自由能在 $82 \sim 84 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 之间, 这说明培养基相同时, ΔG^\ddagger 差别不大, 即细菌在液体培养基中活化情况相似.

表 2 各细菌在相同培养基中的活化熵 $\Delta S^\ddagger (\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})$, 活化自由能 $\Delta G^\ddagger (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$ 和活化平衡常数 $K^\ddagger \times 10^{15}$.

Table 2 Activation entropy ($\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$, Activation free enthalpy ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) and Equilibrium constant of activation of bacterial growth in the same medium

		T/K			
		304.15K	307.15K	310.15K	313.15K
B. Subtilis	ΔS^\ddagger	-47.47	-49.01	-47.63	
	ΔG^\ddagger	83.267	83.891	83.601	
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	4.922	5.318	8.182	
S. sonnei	ΔS^\ddagger	-169.40	-170.51	-169.83	-169.8
	ΔG^\ddagger	82.764	83.456	83.904	84.413
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	6.007	6.307	7.274	8.171
B. cereus	ΔS^\ddagger	-180.57	-180.21	-180.62	-180.71
	ΔG^\ddagger	82.238	82.759	83.455	83.997
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	7.136	8.288	8.658	9.588
S. albus	ΔS^\ddagger	-64.48	-63.88	-64.65	
	ΔG^\ddagger	83.999	84.008	84.439	
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	3.685	5.080	5.911	
E. coli	ΔS^\ddagger	-84.10	-82.35	-83.37	-84.25
	ΔG^\ddagger	83.337	83.237	83.616	84.141
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	4.787	6.873	8.135	9.071
P. aeruginosa	ΔS^\ddagger	-68.54	-69.18	-68.71	
	ΔG^\ddagger	83.827	84.225	84.286	
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	3.950	4.666	6.272	
P. mirabilis	ΔS^\ddagger	-186.66	-186.86	-187.20	-186.61
	ΔG^\ddagger	82.914	83.536	84.202	84.643
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	5.659	6.112	6.478	7.480
S. aureus	ΔS^\ddagger	8.34	7.32	8.17	
	ΔG^\ddagger	84.775	85.062	84.775	
	$K^\ddagger \times 10^{15}$	2.711	3.362	5.188	

(2) 实验中求得的活化熵 (ΔS^\ddagger) 除一株菌外均为负值. 从热力学的观点看, 熵的减少表示混乱度降低, 这就是说所生成的活化中间复合物较反应物分子更为有序.

(3) 实验中求得的各细菌活化态的平衡常数其数量级都相同 (10^{-15}), 这说明各细菌在相同培养基中达平衡时的限度是相差很小的.

参考文献

- 1 谢昌礼等. 物理化学学报, 1989, 5:608
- 2 谢昌礼等. 物理化学学报, 1986, 2:263
- 3 谢昌礼等. 物理化学学报, 1986, 2:481
- 4 汤厚宽等. 物理化学学报, 1987, 3:113

STUDY ON THERMOKINETIC PROPERTIES OF BACTERIAL GROWTH

Zhang Honglin* Liu Yongjun Sun Haitao

(Department of Chemistry, Qufu Normal University, Qufu Shandong 273165)

Sun Xiufang Shan Qingzhu

(Qufu Municipal Sanitation and Antiepidemic Station)

Xie Changli Qu Songsheng

(Department of Chemistry, Wuhan University Wuhan 430072)

ABSTRACT

According to the transition state theory of reaction rates, we have calculated the thermokinetic properties of bacterial growth: Activation entropy (ΔS^\ddagger), Activation Gibbs free energy (ΔG^\ddagger) and equilibrium constant (K^\ddagger).

Keywords: Bacteria, Microcalorimetry, Thermokinetic function