

微量热法测定细菌的临界生长温度

谢昌礼* 汤厚宽 宋昭华 屈松生 廖耀庭 刘海水

(武汉大学化学系, 武汉 430072)

(广州军区武汉总医院)

关键词: 微量热学 生长热谱 临界生长温度

应用微量热学的方法, 我们已能成功地测得细菌生长过程的热谱^[1], 这种热谱包含着有关细菌生长代谢过程的丰富信息, 例如对热谱曲线的指数生长段进行解析, 可得出细菌生长的速率常数、激活能^[2]和有关的热力学参数^[3]。故采用微量热法测定细菌在不同培养温度下的生长速率常数, 利用计算机拟合出相应 k (速率常数) 和 T (培养温度) 的线性关系式后, 若把生长速率为零的温度定义为临界生长温度时, 就可以根据由上述实验所得的 $k \sim T$ 线性关系式求得细菌的临界生长温度。

本工作仍采用微量热法对福氏志贺氏菌 (*S. flexneri*) 和大肠埃希氏菌 (*E. coli*) 进行实验测定。按文献^[3]的方法求出它们在不同温度下的生长速率常数; 对于大肠埃希氏菌还用几种不同的培养基分别进行实验测定。

由实验结果发现 $\sqrt{k} \sim T$ 具有良好的线性关系, 可拟合成直线方程:

$$\sqrt{k} = a + bT \quad (1)$$

令(1)式中的生长速率常数 $k = 0$ 时, 则临界生长温度 $T_0 = -a/b$ 。

仪器材料及实验方法

实验采用瑞典 LKB 公司制造的一种新型热导式微量热计—LKB 2277 型生物活性检测系统 (Bioactivity Monitor)。关于此仪器的结构、原理、操作在参考文献[1,2]中已有介绍, 这里不再赘述。

所用福氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*) 和大肠杆菌菌株 (*E. coli* ACCT) 及有关培养基均由广州军区武汉总医院检验科提供, 各种培养基的成份如下 (以 1000 ml 计):

基本培养液 (记为 M): NaCl 5g, MgSO₄ 5g, 枸橼酸钠 12g, K₂HPO₄ 2g, 对氨基苯甲酸 0.02g, NaOH (2mol · L⁻¹) 2.5 ml. (pH = 7.3)。

培养基 A: (M) + 蛋白胨 5g; 培养基 B: (M) + 豚胨 5g; 培养基 C: (M) + 胰胨 5g; 培养基 D: (M) + 牛肉膏 2g; 培养基 E: (M) + 豚胨 5g + 胰胨 5g; 培养基 F: (M) + 豚胨 5g + 胰胨 5g + 蛋白胨 5g + 牛肉膏 2g。

葡萄糖培养基 (记为 G): NH₄Cl 1g, Na₂HPO₄ 15.1g, KH₂PO₄ 7.3g, NaCl 0.5g,

MgSO₄ 0.12g, CaCl₂ 11mg, FeCl₃ 1.6mg, 葡萄糖 2g, (pH=7.1).

实验方法: 在本研究课题的前期工作中(见文献^[3]), 已报导了大肠杆菌(*E. coli* ACCT)在上述培养基中生长速率常数的测定方法及结果. 本文用同样方法测定了福氏志贺氏菌在培养基(F)中于不同温度下的生长速率常数.

实验结果及讨论

1. 实验结果: 表1列出了福氏志贺氏菌和大肠杆菌在培养基(F)中于不同温度下的生长速率常数.

表1 福氏志贺氏菌和大肠杆菌在不同温度下的生长速率常数 $k(\text{min}^{-1})$

Table 1 Growth rate constants $k(\text{min}^{-1})$ of *S. flexneri* and *E. coli* at the different temperatures

T/K	<i>S. flexneri</i>		<i>E. coli</i>	
	k	\sqrt{k}	k	\sqrt{k}
295	0.01017	0.1008	0.01437	0.1198
300	0.01938	0.1392	0.02089	0.1445
305	0.02552	0.1597	0.02929	0.1711
310	0.02977	0.1725	0.03967	0.1991
315	ND*	ND	0.05825	0.2413

* ND, no determination

由 $\sqrt{k} \sim T$ 数据进行线性拟合, 对于福氏志贺氏菌其相应公式为:

$$\sqrt{k} = -1.2823 + 4.712 \times 10^{-3}T \quad (2)$$

相关系数 $r = 0.971$, 由(2)式当 $k = 0$ 时便得到其临界生长温度 $T_0 = 272.1\text{K}$.

对于大肠杆菌

$$\sqrt{k} = -1.639 + 5.948 \times 10^{-3}T \quad (3)$$

相关系数 $r = 0.994$, $T_0 = 275.5\text{K}$.

表2列出大肠杆菌在不同培养基中测得的增长速率常数 k ; 表3、4分别列出其相应的 $\sqrt{k} \sim T$ 数据, 线性公式及临界生长温度.

表2 大肠杆菌在不同培养基中的生长速率常数

Table 2 Growth rate constants of *E. coli* in the different media

T/K	rate constants k/min^{-1}						
	A	B	C	D	E	F	G
295	0.01246	0.01133	0.01226	0.00958	0.01093	0.01437	ND
300	0.01512	0.01653	0.01562	0.01514	0.02022	0.02098	ND
305	0.02539	0.02625	ND	ND	0.02750	0.02929	0.01064
310	0.03118	0.03386	0.03056	0.03162	0.03402	0.03667	0.01459
315	ND	ND	ND	ND	ND	0.05825	0.01861

表3 大肠杆菌在不同培养基中的 $\sqrt{k} \sim T$ 数据

Table 3 Data of \sqrt{k} vs. T of *E. coli* in the different media

T/K	\sqrt{k}						
	A	B	C	D	E	F	G
295	0.1116	0.1064	0.1107	0.09787	0.1045	0.1198	ND
300	0.1229	0.1286	0.1249	0.1230	0.1421	0.1448	ND
305	0.1593	0.1620	ND	ND	0.1658	0.1711	0.1051
310	0.1766	0.1840	0.1748	0.1772	0.1844	0.1914	0.1207
315	ND	ND	ND	ND	ND	0.2412	0.1354

表4 大肠杆菌在不同培养基中的 $\sqrt{k} \sim T$ 线性公式及临界生长温度

Table 4 Linear equation in \sqrt{k} vs. T and T_0 of *E. coli* in the different media

medium	$\sqrt{k} \sim T$ equation	r	T_0/K
A	$\sqrt{k} = -1.257 + 4.626 \times 10^{-3}T$	0.981	271.7
B	$\sqrt{k} = -1.465 + 5.324 \times 10^{-3}T$	0.996	275.2
C	$\sqrt{k} = -1.181 + 4.368 \times 10^{-3}T$	0.993	270.4
D	$\sqrt{k} = -1.481 + 5.349 \times 10^{-3}T$	0.999	276.8
E	$\sqrt{k} = -1.449 + 5.270 \times 10^{-3}T$	0.986	274.2
F	$\sqrt{k} = -1.839 + 5.948 \times 10^{-3}T$	0.994	275.5
G	$\sqrt{k} = -0.9091 + 3.320 \times 10^{-3}T$	0.999	273.8

average: $T_0 = 273.9 \pm 1.7K$

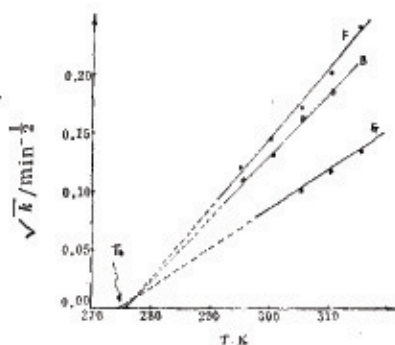


图1 大肠杆菌在不同培养基中 $\sqrt{k} \sim T$ 关系及临界生长温度

Fig.1 Linear relation of \sqrt{k} vs. T and the critical growth temperatures of *E. coli* in the different media

2. 讨论 ①通过测定不同温度下细菌生长速率所得到的 $\sqrt{k} \sim T$ 线性关系式,对研究细菌生长和温度的关系,提供了一个明确、定量的关系式,从中得到的临界生长温度无疑亦是研究细菌生长的一个重要参数。这些对微生物学具有一定的意义。

②由表4的实验结果我们惊奇地发现大肠杆菌的临界生长温度趋于常数 $T_0 = 273.9 \pm 1.7K$,它与生长速率常数和激活能不同,不受培养基等条件变化的影响(如图1所示),是一个更具有特征性的参数,可能是细菌本身所固有的特性。对于其他种类的细菌其临界生长温度是否也是这样,还需要用实验进一步证实,如果证实这种普遍性成立,无疑临界生长温度这一参数就具有重要的学术意义和实际应用价值。

参 考 文 献

- [1] 谢昌礼、汤厚宽、宋昭华、屈松生等, 物理化学学报, 1986, 2, 481
[2] 汤厚宽、谢昌礼、宋昭华、屈松生等, 物理化学学报, 1987, 3, 113
[3] 谢昌礼、汤厚宽、宋昭华、屈松生等, 物理化学学报, 1989, 5, 608

CRITICAL GROWTH TEMPERATURES OF BACTERIA BY MICROCALORIMETRIC METHOD

Xie Changli* Tang Houkuan Song Zhaohua Qu Songsheng

(Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072)

Liao Yaoling Liu Haishui

(Army Hospital of Guangzhou Military Area, Wuhan)

ABSTRACT

In this paper, we have determined the multiplication rate constants (k) of *Shigella flexneri* and *E. coli*, at different temperatures and in different culture media by means of a microcalorimeter. From these results a linear equation as $\sqrt{\bar{k}} = a + bT$ can be established for the bacterial growth. The corresponding linear equation for *S. flexneri* is $\sqrt{\bar{k}} = -1.2823 + 0.0047122 T (r = 0.971)$, so its critical growth temperature T_0 is equal to 272.1 K. The linear equation for *E. coli* is $\sqrt{\bar{k}} = -1.6390 + 0.005948 T (r = 0.994)$, $T_0 = 275.5$ K. The experimental results indicate that the critical growth temperature of *E. coli*, is nearly a constant ($T_0 = 273.9$ K) in different culture media, which is very informative for the study on microorganism growth.

Keywords: Microcalorimetry, Growth thermogram, Critical growth temperature.