

人参对微生物的促进和抑制 代谢过程的动力学模型及其应用的微量热法研究

于秀芳 张洪林 李志萍 杭 湖 陆懋芬
(曲阜师大化学系 曲阜 273165) (青岛大学化学系 青岛 266071)

摘 要 用微量热仪测定了人参对金黄色葡萄球菌促进代谢作用和对大肠杆菌、枯草杆菌抑制代谢作用的热谱图,并按微生物生长的新模型进行了数学处理,得出了生长速度常数,进而获得了人参促菌的最低用药浓度和人参抑菌的最佳用药浓度。

关键词 微量热法,细菌,人参,促菌和抑菌作用,生长速度常数

微生物在代谢过程中总会伴随着一定的热量产生,可以用微量热计连续测定这种变化得到热谱图。这些热谱曲线反映了微生物生长的丰富信息。作者已报道了应用生物群体有限增长模型的处理方法^[1],最佳生长温度^[2],最佳生长酸度^[3]和药物对微生物的抑菌作用^[4]等。在此基础上,作者又对营养药物人参对一些细菌的促进代谢过程和对另一些细菌的抑制代谢过程同时进行了研究。用热活性检测仪测得了人参对一些细菌代谢过程的完整地热谱曲线,并按有限条件下微生物生长模型计算了在不同浓度的人参作用下的生长速率常数,进一步获得对人参起抑制作用时,生长速率常数为零时的最佳用药浓度,和人参起促进作用时,生长速率常数为最大时的最低用药浓度。此项研究工作的开展对筛选营养药物和抑菌药物及其合理用药提供了一种可靠的定量方法。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株:金黄色葡萄球菌(*S. aureus*),大肠杆菌(*E. coli*),枯草杆菌(*B. subtilis*)。均由中国药品生物制品检定所提供。

1.1.2 培养基:采用牛肉膏汤液体培养基,其成分为:蛋白胨 2g;氯化钠 1g;牛肉浸膏 1g;蒸馏水 200ml,用 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}$ 和 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 调节 pH 至 7.4~7.6,过滤后分装在试管中,然后在 121℃ 蒸气灭菌 30min 备用。

1.1.3 人参的煎制:采用中药的传统的煎制方法。即取 4 年生的全须长白山鲜人参 64.3g 即干人参切片,用冷水浸泡 30min,用中药传统的煎药方法煎熬两遍,过滤后得滤液 42ml,放入冰箱中冷藏备用。原药液的浓度为每毫升含 0.43g 干人参。药液。

1.1.4 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热计,即热活性检测系统(2277 Thermal Activity Monitor, Sweden)。该仪器热稳定性能好,热功率的最小检测极限为 $0.15\mu\text{W}$,恒温工作范围 10~90℃,温度稳定在 $\pm 2\times 10^{-4}\text{℃}$ 不变。

本文于 1995 年 10 月 16 日收到。

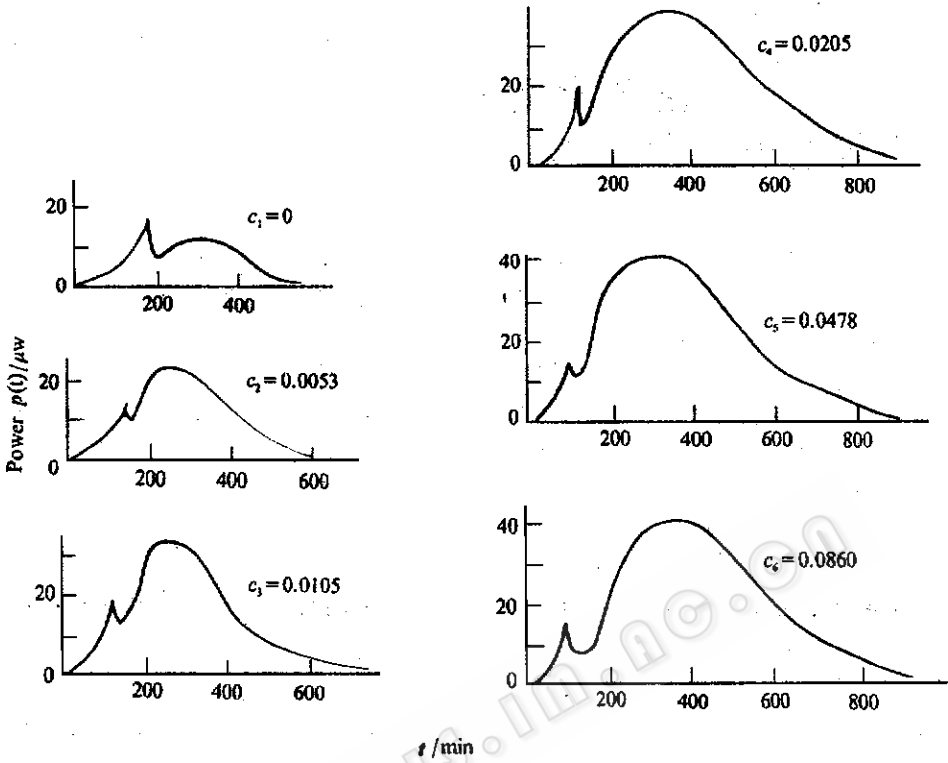


图1 310K时金黄色葡萄球菌在不同浓度人参促菌下的热谱图

Fig. 1 Thermograms of *S. aureus* at 310K in different concentration of the ginseng

图中 $c_1 \sim c_6$ 的单位是 g/ml

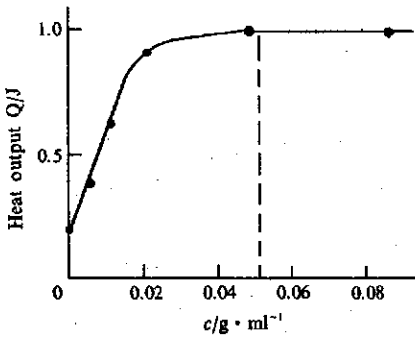
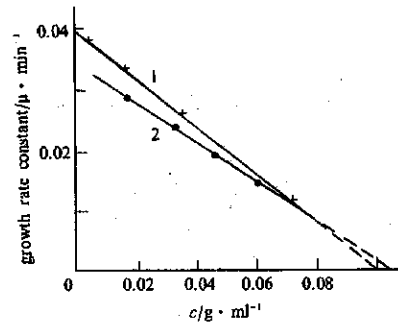


图2 人参对金黄色葡萄球菌促菌时的 Q-c 曲线

Fig. 2 Q-c curves of *S. aureus* with promoter action of ginseng



3 人参对大肠杆菌和枯草杆菌抑菌时的 $\mu \sim c$ 曲线

Fig. 3 $\mu \sim c$ curves of *E. coli* (1) and *B. subtilis* (2) with fungistatic action of ginseng

1.2 实验方法

本实验采用停流法。首先清洗和消毒流动池,分别用无菌蒸馏水,0.1mol·L⁻¹HCl和0.1mol·L⁻¹NaOH,75%酒精溶液以30ml/h流速清洗30min。清洗完毕后,以10ml/h流速的无菌蒸馏水走基线,待基线稳定后,以相同流速泵入混悬液(取灭菌后的盛有一定量培养基的试管一支,先以无菌手续接种标准菌种,然后加入不同数量的原药液,摇匀后即为混悬液),确认混悬液已充满流动池后停泵,记录仪开始测量记录流动池内细菌在人参作用下的热谱曲线,可获得完整地热谱图。

2 结果

2.1 数学模型的应用

在大多数情况下,微生物是在有限的环境中生长的,这时生长过程服从 Logistic 方程^[5]。 $dN_{(t)}/dt = \mu N_{(t)} - \beta N_{(t)}^2$ (1)

式中 μ 为在一定培养条件下的最大比生长速率(即生长速率常数), β 为衰减速率常数

设细菌总发热功率与细菌群体的数目成正比,则 $P_{(t)} = P_0 N_{(t)}$ (2)

(2)代入(1)中 $dP_{(t)}/dt = \mu P_{(t)} - (\beta/P_0)P_{(t)}^2$ (3)

积分(3)

$$1/P_{(t)} = (1/P_0 - \beta/\mu P_0) \exp(-\mu t) + \beta/\mu P_0 \quad (4)$$

或 $1/P_{(t)} = a \exp(-\mu t) + b$

其中 $a = 1/P_0 - \beta/\mu P_0$, $b = \beta/\mu P_0$

用热活性检测系统测得的热谱图实际上是在有限的环境下测定的,应属于限制性条件下的生长过程,因此,用 Logistic 方程来处理热谱曲线的上升段完全符合实际情况。

2.2 实验结果

本文先测定了在310K时金黄色葡萄球菌在无人参存在时正常代谢过程的热谱图,接着又测定了在不同浓度的人参促菌作用下的细菌生长的热谱图,其完整地热谱图见图1。

根据各细菌在人参作用下的热谱图中的生长段,作者按 Logistic 方程进行了计算机模拟,获得了不同浓度的人参促菌作用的非线性方程,其实验数据见表1。

表1 金黄色葡萄球菌在310k和不同浓度的人参促菌作用下的 $P_{(t)}$ 、 $P^*_{(t)}$ 和 t 的数据

Table 1 $P_{(t)}$, $P^*_{(t)}$ and t values of *S. aureus* with promoter action of ginseng at different concentration and 310k

0.0053g·ml ⁻¹			0.0105g·ml ⁻¹			0.0205g·ml ⁻¹		
t/min	$P_{(t)}/\mu W$	$P^*_{(t)}/\mu W$	t/min	$P_{(t)}/\mu W$	$P^*_{(t)}/\mu W$	t/min	$P_{(t)}/\mu W$	$P^*_{(t)}/\mu W$
25	1.2	1.04	25	1.2	1.53	25	1.5	1.96
50	2.1	2.00	50	3.1	3.2	50	4.6	4.50
75	3.5	3.78	75	6.2	6.45	75	9.5	9.54
100	7.1	7.00	100	12.2	12.19	100	17.5	17.52
125	13.0	12.45	120	20.2	18.85	110	20.5	21.18

$P_{(t)}$ 为实验数据 $P^*_{(t)}$ 为计算数据

对应的不同浓度的人参促菌作用下生长段的非线性方程为

$c = 0.0053\text{g/ml}$ 时, $P_{(t)}^{-1} = 1.8313 \exp(-0.02652t) + 0.0138t < 125\text{min}$

$c = 0.0105\text{g/ml}$ 时, $P_{(t)}^{-1} = 1.3655 \exp(-0.03074t) + 0.0189t < 120\text{min}$

$c = 0.0205\text{g/ml}$ 时, $P_{(t)}^{-1} = 1.1964 \exp(-0.03600t) + 0.0244t < 110\text{min}$

同时计算出在不同浓度的人参促菌作用下的生长速率常数,其数据见表 2

表 2 金黄色葡萄球菌在 310K 和不同浓度的人参促菌作用下的生长速率常数
Table 2. Growth rate constants of *S. aureus* with promoter action of ginseng at different concentration and 310K

Concentration $c/\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	0	0.0053	0.0105	0.0205	0.0478	0.0860
Rate constant $/\mu \cdot \text{min}^{-1}$	0.02300	0.02652	0.03074	0.03600	0.03977	0.03981

另外,作者还得到了金黄色葡萄球菌在不同浓度的人参促菌作用下的热谱曲线下的总面积(即发热量 Q)与人参浓度的关系,其数据见表 3,根据 $Q \sim c$ 曲线(图 2)可得到最低用的人参浓度为 0.050g/ml 。

表 3 金黄色葡萄球菌在 310K 和不同浓度的人参促菌作用下的发热量 Q

Table 3 Heat output of *S. aureus* with promoter action of ginseng at different concentration and 310K

Concentration $c/\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	0	0.0053	0.0105	0.0205	0.0478	0.0860
Heat output Q/J	0.210	0.375	0.608	0.908	0.990	1.020

本文还测定了人参对枯草杆菌和大肠杆菌作用下的热谱图。实验表明,人参对这两种细菌代谢过程有抑制作用,和一般合成药物对细菌的抑菌作用类似^[6]。其计算结果见表 4。按表 4 中数据,以 $V_n \sim c$ 曲线(见图 3)可得出最佳用药浓度。

表 4 大肠杆菌和枯草杆菌在 310K 和不同浓度的人参抑菌作用下的生长速率常数

Table 4 Growth rate constants of *E. coli* and *B. subtilis* with fungistatic action of ginseng at different concentration and 310K

<i>E. coli</i>	Conc. $c/\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	0.0043	0.0165	0.0354	0.0715
	Rate constraction $/\mu \cdot \text{ml}^{-1}$	0.0381	0.0334	0.0260	0.0114
<i>B. subtilis</i>	Conc. $c/\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	0.0165	0.0318	0.0450	0.0592
	Rate constraction $/\mu \cdot \text{ml}^{-1}$	0.0292	0.0241	0.0193	0.0148

按表 4 中数据,以 $\mu \sim c$ 作图(见图 3),可得下列方程:对大肠杆菌来说,人参抑菌作用的关系式为 $\mu = 0.03993 - 0.39786c$ ($r = -0.9999$) r 为相关系数

当 $\mu = 0$ 时, $c_0 = 0.1004\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

对枯草杆菌来说,人参抑菌作用的关系式为

$\mu = 0.03479 - 0.33751c$ ($r = -0.9999$)

当 $\mu = 0$ 时, $c_0 = 0.1031\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

3 讨 论

从图 1 中的曲线可知,金黄色葡萄球菌在不同浓度人参促进代谢生长时,在指数生长期曲线的斜率不同;而整个热谱曲线下的面积(代表了代谢过程的发热量)也不同。在指数生长期,生长速率常数与所用人参浓度在低浓度时几乎成正比增长;而整个代谢过程的发热量与所用人参浓度在低浓度时也呈成正比增长,而当浓度达一定值时,生长速率常数和发热量基本上不随人参浓度的变化而变化,近似为一常数。这说明营养药物人参有促菌作用,不是人参浓度越大越好,而是有一最低用药浓度,这个参数可以从图 2 中得出,为 0.050g/ml。

从表 4 结果表明,人参对大肠杆菌、枯草杆菌代谢过程有抑制作用。相同的药物对同一细胞的抑菌作用,其生长速率常数与用药浓度成反比,其关系式为一线性方程式。而相同的药物作用于两种不同细菌,而求得的各细菌的最佳用药浓度不同,用药浓度越小,说明药物对该细菌的抑制效果越好。

药物对细菌的抑制作用及筛选特效药是医药领域一项艰苦而繁重的任务。而营养药物对细菌的促进作用及寻找最适用药量也是当今重要的生物工程的一个领域,作者在这方面进行了初步研究,特别是一种既有抑菌又有促菌作用的药物的研究在国内外尚未见报道,这项工作的研究具有重要的学术意义和实际应用价值。

参 考 文 献

- [1]张洪林,刘永军,南照东等.生物工程学报,1994,10(4):333~337.
- [2]张洪林,李济生,南照东等.物理化学学报,1994,10(10):928~930.
- [3]Nan Z D, Y Liu Y J, Haitao Sun H T *et al.* Journal of Thermal Analysis 1995, 45(1), 93~98.
- [4]Zhang H L, Nan Z D, Sun H T *et al.* Thermochimica Acta, 1993, 223: 23~27.
- [5]高培基等.“微生物生长和发酵工程”,济南:山东大学出版社,1990.
- [6]张洪林,刘永军、南照东等.物理化学学报,1995,10(1):79~82.

Study of the Promoter and Fungistatic Action of Ginseng for Bacteria Using Microcalorimetric Method

Yu Xiufang Zhang Honglin

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

Li Zhiping Hang Hu Lu Maosun

(Department of Chemistry, Qingdao University, Qingdao 266071)

Abstract The thermograms of the promoter action and fungistatic action of ginseng for the *S. aureus*, *E. coli* and *B. subtilis* have been determined using a thermal activity monitor. The growth rate constants at different concentration of ginseng have also been calculated. From μ^c curves, the critical growth concentration of the ginseng for *E. coli* and *B. subtilis* and the minimum concentration of the ginseng for *S. aureus* also been calculated.

Key words Bacteria, promoter action and fungistatic action, ginseng, growth rate constant, microcalorimetric method