

应用微量量热法研究大肠埃希菌在白头翁总皂苷液中的代谢作用

潘晓茹 (潍坊学院化学化工系, 山东 潍坊 261061)

摘要:目的 确定大肠埃希菌在白头翁总皂苷液中的最佳生长浓度和临界生长浓度。方法 微量量热法。结果 测定了大肠埃希菌在不同浓度的白头翁总皂苷液中生长的热功率-时间曲线,应用限制性条件下微生物生长的模型进行数据处理,得出生长速率常数,并用计算机拟合出非线性方程。结论 白头翁总皂苷液是抑菌的。

关键词:大肠埃希菌;白头翁总皂苷;临界生长浓度;最佳生长浓度;微量量热法

中图分类号: R965.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)02-0111-02

Microcalorimetric Study of the Metabolic Action of *Escherichia coli* In the Total Triterpenoid Saponin of *Pulsatilla Chinensis* Regel Solution

PAN Xiao-ru (Department of Chemistry, Weifang University, Weifang 261061, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Establish the optimum growth concentration and the critical concentration of *Escherichia coli* in the total triterpenoid saponin'solution of *Pulsatilla chinensis* Regel. **METHODS** Microcalorimetric method. **RESULTS** The power-time curves of *E. coli* in the total triterpenoid saponin'solution of *Pulsatilla chinensis* Regel were determined. According to logistic equation, the growth rate constants at different concentrations were calculated. The nonlinear equation was fitted by computer. **CONCLUSION**

The total triterpenoid saponin'solution of *Pulsatilla chinensis* Regel has the ability to inhibit bacterium.

KEY WORDS: *Escherichia coli*; the total triterpenoid saponin of *Pulsatilla chinensis* Regel; critical growth concentration; optimum concentration; microcalorimetric method

白头翁为毛茛科植物白头翁 (*Pulsatilla chinensis* Regel.) 的干燥根,主产于河北、辽宁、安徽、江苏、河南等省。中药白头翁始载于《神农本草经》,列为下品,是常用中药,具有清热解毒、凉血止痢、燥湿杀虫的功效。现代研究认为白头翁除了抗菌和抗病原虫作用外,还具有抗癌、治疗内毒素血症等作用^[1]。白头翁的化学成分主要为三萜皂苷,含量在 9%左右。近年来应用微量量热法研究药物的抑促菌作用已有报道,但涉及皂苷类药物的报道很少。本实验应用微量量热计这一精密仪器研究白头翁总皂苷对细菌的作用,绘制出大肠杆菌在不同浓度的白头翁总皂苷液中生长的热功率-时间曲线,并用计算机拟合出非线性方程,确定了大肠杆菌在白头翁总皂苷液中的最佳生长浓度和临界生长浓度。

1 实验仪器与材料

热活性检测仪为瑞典产 2277,标准大肠杆菌由山东省卫生防疫站提供。牛肉膏汤培养基,配制方法为蛋白胨 2 g,氯化钠 2 g,牛肉浸膏 1 g,蒸馏水 200 mL,调节 pH 至 7.20~7.40,121℃高压蒸汽灭菌备用。

药物配制:依照文献^[2],取白头翁根粉于索氏提取器以乙醚回流脱脂,而后滤出药渣,晾干,加 95%乙醇回流 6 h,趁热过滤,药渣用乙醇洗二次,乙醇液减压浓缩至小体积,加入多量丙酮,析出白色粉质,即为白头翁总皂苷。将提取的白头翁总皂苷 2.0165 g,加入 6.17 mL 蒸馏水,则白头翁总皂

苷液浓度为 0.327 g/mL。

2 实验方法

本实验采用的测量方式为停流法。首先清洗消毒流动池,以 30 mL/h 流速的无菌蒸馏水清洗 30 min;以 30 mL/h 流速的 0.1 mol/L HCl 溶液清洗 30 min;以 30 mL/h 流速的 0.1 mol/L NaOH 溶液清洗 30 min;以 30 mL/h 流速 75%乙醇溶液清洗 30 min,再用无菌蒸馏水以 30 mL/h 流速清洗 30 min,并确定基线。取灭菌后的盛有 8 mL 培养基的试管一支,加入不同量的白头翁总皂苷液,然后以无菌操作接种大肠杆菌(3 接种环),摇匀后即得混悬液。确认混悬液已充满流动池后停泵,仪器即开始测量记录流动池内大肠杆菌在不同浓度的白头翁总皂苷液的培养基中代谢的热功率-时间曲线,当记录笔返回基线实验结束。

3 实验结果

本实验测定了 310 K 时大肠杆菌在不同浓度的白头翁总皂苷液的培养基中生长的热功率-时间曲线,其指数生长期的曲线见图 1。由图 1 中的数据,按 Logistic 方程进行处理,计算出大肠杆菌在不同浓度白头翁总皂苷液中的生长速率常数 μ ,见表 1。图 2 为大肠杆菌在白头翁总皂苷液浓度为 4.0370×10^{-3} g/mL 中生长的热功率-时间曲线。

作者简介:潘晓茹(1977-),女,山东淄博人,讲师,理学硕士,主要从事生物热动力学研究,现工作单位:潍坊学院化学化工系,电话:13280103587。E-mail: sdpxr@eyou.com

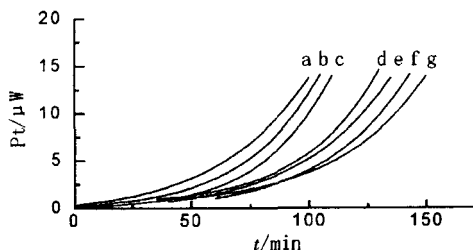


图 1 310 K时大肠杆菌在不同浓度白头翁总皂苷液的培养基中生长的热功率-时间曲线

Fig 1 Power-time curves of *E. coli* at 310 K and different concentration of the total triterpenoid saponin solution of *Pulsatilla chinensis* Regel

(a) 0 g/mL; (b) 2.8364×10^{-3} g/mL; (c) 4.0370×10^{-3} g/mL; (d) 2.0310×10^{-3} g/mL; (e) 1.1819×10^{-2} g/mL; (f) 1.9000×10^{-2} g/mL; (g) 1.2217×10^{-3} g/mL

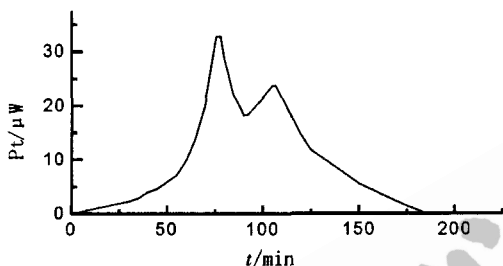


图 2 310 K时大肠杆菌在 4.0370×10^{-3} g/mL白头翁总皂苷液的培养基中生长的热功率-时间曲线

Fig 2 Power-time curve of *E. coli* at 310 K and concentration of 4.0370×10^{-3} g/mL of the total triterpenoid saponin solution of *Pulsatilla chinensis* Regel

表 1 大肠杆菌在 310 K和不同浓度白头翁总皂苷液的培养基中的生长速率常数

Tab 1 The growth rate constants of *E. coli* at 310 K and different concentration of the total triterpenoid saponin solution of *Pulsatilla chinensis* Regel

白头翁总皂苷液浓度 /(10^{-3} g/mL)	生长速率常数 μ /min	相关系数 r
0	0.0343	0.9997
1.2217	0.0206	0.9998
2.0310	0.0257	0.9997
2.8364	0.0312	0.9998
4.0370	0.0305	0.9991
11.819	0.0249	0.9998
19.000	0.0210	0.9998

根据表 1 的数据,用计算机拟合出方程式,在 $1.2217 \times 10^{-3} \sim 4.0370 \times 10^{-3}$ g/mL之间,方程式为

$$\mu = -0.0021 C^2 + 0.0149 C + 0.0052 \quad r = 0.9870$$

当 μ 最大时, $C = 3.5476 \times 10^{-3}$ g/mL,即最佳生长浓度 3.5476×10^{-3} g/mL。

在 $C > 4.0370 \times 10^{-3}$ g/mL,方程式为

$$\mu = -0.0006 C + 0.0329 \quad r = 0.9968$$

当 $\mu = 0$ 时, $C = 0.0548$ g/mL,即临界生长浓度为 0.0548

g/mL。

4 讨论

4.1 2277热活性检测仪测定细菌的生长代谢热功率-时间曲线实际上是在恒温恒容条件下,各种营养物质(包括溶解氧)的供应是有限的,产物的反馈抑制作用同样存在的情况下测定的,属于限制条件下微生物群体的生长代谢过程^[3],可以用 Logistic 方程来描述,即

$$dN_t/dt = \mu N_t - \beta N_t^2 \quad (1)$$

式中 μ 为群体的增长速率常数, β 为群体的衰减速率常数。

设每个细菌输出的热功率为 W ,

$$P_t = W N_t \quad (2)$$

代入(1)得

$$dP_t/dt = \mu P_t - \beta P_t^2/W \quad (3)$$

积分得

$$1/P_t = [1/W - \beta/(\mu W)] e^{-\mu t} + \beta/(\mu W) \quad (4)$$

$$\text{或} \quad 1/P_t = a e^{-\mu t} + b \quad (5)$$

式中 $a = 1/W - \beta/(\mu W)$, $b = \beta/(\mu W)$,从实热功率-时间图上的 P_t - t 数据用计算机拟合可求出动力学参数 μ 、 β 的值^[4]。

4.2 实验结果表明:与白头翁总皂苷液浓度为 0 g/mL 时生长速率常数相比,白头翁总皂苷液是抑菌的。当白头翁总皂苷液浓度低时,大肠杆菌在指数生长期的生长速率常数明显升高,说明白头翁总皂苷液对大肠杆菌有促进作用;当白头翁总皂苷液浓度高时,大肠杆菌在指数生长期的生长速率常数明显降低,说明白头翁总皂苷液对大肠杆菌有抑制作用。由 μ - C 方程式表明,大肠杆菌在白头翁总皂苷液最佳生长浓度为 3.5476×10^{-3} g/mL;临界生长浓度为 0.0548 g/mL。

4.3 本实验中所研究的白头翁总皂苷是一种三萜皂苷,通过实验结果可以看出其抑菌效果是非常明显的。本实验仅对白头翁总皂苷进行了初步的研究,以后将应用微量热法对其主要成分做更细致的研究,随着天然有机化学理论的发展及现代分离、分析技术的提高,今后的皂苷化学研究一定会有广阔的发展空间。

参考文献

- [1] SHU Y, HAN G X, LIU W Y, *et al.* Research on medicinal material chemical composition and pharmacological function of *Pulsatilla chinensis* Regel [J]. *Mater Med Pract J* (药学实践杂志), 2000, 18 (6): 387.
- [2] LIN C Y, ZHANG Y, NIAN C F, *et al.* *Tianjin Pharm* (天津药学) [M]. 1999, 11 (2): 31.
- [3] ZHANG H L, SUN H T, LIU Y J, *et al.* Determination of the thermograms and establishment of the experimental law for bacterial growth and study of kinetic properties [J]. *The mochimica Acta*, 1993, 223: 29.
- [4] LIU Y, TAN A M, XIE C L, *et al.* Research on cellular dynamics [J]. *Phys Chem J* (物理化学学报), 1996, 5: 451.

收稿日期: 2006-08-07