



金属离子化合物抗菌活性的微量热法

黄在银 屈松生 赵群金 冯 英

(武汉大学化学系, 武汉 430072)

用微量热法测定了大肠杆菌在四种金属离子化合物作用下的生长代谢热谱。计算了大肠杆菌在指数生长期的生长速率常数 k 、传代时间 G 、生长抑制率 I 和发热量 Q 等参数; 建立了热谱信息参量之间的关系, 定量地讨论了金属离子化合物对大肠杆菌生长代谢的抑制, 并发现可用 P_{max} 和 t_r 表征大肠杆菌和生长代谢的化合物的抗菌活性。

关键词: 金属离子化合物 大肠杆菌 抗菌活性 微量热法

1 实验仪器、材料与方方法

Escherichia coli (广西 CCTCC AB91112) 由华中师范大学生物学系提供, 在 37°C 下驯化培养, 保存于冰箱中 (6°C) 备用。培养基为牛肉膏 5 g, NaCl 5 g, 蛋白胨 10 g, 溶于 1000 mL 蒸馏水中, 调节 pH 至 7.2, 120°C 高压灭菌 30 min 备用。Zn(Ac)₂·2H₂O, Cu(Ac)₂·H₂O, Ni(Ac)₂·4H₂O, Co(Ac)₂·4H₂O 均为 A. R 级。仪器采用瑞典产 LKB-2277 生物活性监测系统, 详见文献^[1]。

本实验采用停流法, 系统恒温于 37°C, 测定前的管道和流动池的清洗、消毒等同文献^[1]。清洗消毒完毕, 待得到稳定基线后用蠕动泵以 50 mL·h⁻¹ 的流速将金属离子化合物与细菌的混合液 (细菌接种量为 1.5 × 10⁶·mL⁻¹) 泵入热量计, 仪器自动跟踪记录流动池内细菌生长的热谱, 即 $P \sim t$ 曲线, 当记录笔返回基线以后, 实验即结束。

2 实验结果与讨论

2.1 实验结果

根据大肠杆菌在金属离子化合物作用下的生长热谱曲线, 按文献^[1-3]方法求出细菌生长速率常数 (k)、传代时间 (G)、抑制率 (I) 和产热量 (Q) 等参数, t_r 为细菌生长的停滞期时间。

对参数拟合可得 k 与 c 的关系式。定义半抑制浓度 $C_{\frac{1}{2}}$ 为细菌生长速率常数等于对照组的 $\frac{1}{2}$ 时所对应的化合物的浓度, 定义 $k=0$ 所对应化合物的浓度为最小抑制浓度, 用 MIC 表示。以

收稿日期: 1997-08-18。收修改稿日期: 1998-01-10。

国家自然科学基金及高等学校博士学科点专项基金资助项目。

* 通讯联系人。

第一作者: 黄在银, 男, 45岁, 副教授; 研究方向: 生物热化学。现在湖北民族学院化工系。

上结果如表1、表2所示。

表1 不同化合物的 $k \sim c$ 关系式、 $C_{\frac{1}{2}}$ 和 MIC

Table 1 Half-inhibitory Quantity, Mini-inhibitory Quantity and $k \sim c$ Formula of Different Compound

compound	$k \sim c$ formulas	R	$C_{\frac{1}{2}} (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Zn(Ac) ₂ ·2H ₂ O	$k=0.0331-6 \times 10^{-5}c$	-0.96221	242.5	552
Cu(Ac) ₂ ·H ₂ O	$k=0.0370-6 \times 10^{-5}c$	-0.96514	307.5	617
Co(Ac) ₂ ·4H ₂ O	$k=0.0370-7 \times 10^{-5}c$	-0.93263	263.6	529
Ni(Ac) ₂ ·4H ₂ O	$k=0.0338-2 \times 10^{-5}c$	-0.95977	762.5	1690

表2 大肠杆菌在不同条件下生长代谢的参数

Table 2 Parameters of *E. coli* under Different Condition at 310K

compound	c ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	k (min^{-1})	R	G (min)	I	P_{max} (μW)	t_r (min)	$Q \times 10^2$ (J)
<i>E. coli</i> (control)	0	0.0371	0.99902	18.7	0	54.4	67	10.7
Zn(Ac) ₂ ·2H ₂ O	20	0.0324	0.99933	21.4	12.7	38.5	160	7.81
	50	0.0292	0.99945	23.7	21.3	35.0	165	7.70
	100	0.0242	0.99956	25.5	34.8	27.7	275	5.57
Cu(Ac) ₂ ·H ₂ O	100	0.0319	0.99917	21.7	14.0	32	180	5.78
	200	0.0271	0.99906	25.6	27	29.1	190	6.54
	250	0.0198	0.99739	35.0	46.6	15.8	226	5.49
Co(Ac) ₂ ·4H ₂ O	320	0.0193	0.99911	35.9	48	16	232	5.9
	50	0.0321	0.99970	21.6	13.5	27.8	173	5.27
	100	0.0325	0.99923	21.3	12.4	20.8	220	4.02
Ni(Ac) ₂ ·4H ₂ O	200	0.0226	0.99935	30.7	39.1	12.5	373	3.63
	50	0.0323	0.99983	21.5	12.9	36	192	6.74
	100	0.0327	0.99968	21.2	11.8	36	215	6.73
	200	0.0306	0.99964	22.6	17.5	31.4	244	6.58
	300	0.0284	0.99937	24.4	23.4	27.3	285	6.06

我们还对 $P_{max} \sim c$ 、 $t_r \sim k$ 、 $t_r \sim P_{max}$ 和 $P_{max} \sim k$ 关系作图进行线性拟合, 结果如表3所示。

表3 大肠杆菌在不同金属离子化合物作用下各种参数之间的关系

Table 3 Formulas between the Parameters of the Growth of *E. coli*

compound	$P_{max} = A + Bc$			$P_{max} = A + Bk$		
	A	B	R	A	B	R
Zn(Ac) ₂ ·2H ₂ O	41.44	-0.1361	-0.99837	-25.036	1985.46	0.94511
Cu(Ac) ₂ ·H ₂ O	42.26	-0.0889	-0.90658	-9.825	1353.78	0.98233
Co(Ac) ₂ ·4H ₂ O	31.95	-0.0993	-0.99006	-14.300	1192.65	0.97261
Ni(Ac) ₂ ·4H ₂ O	37.70	-0.0371	-0.98254	-33.260	2126.96	0.99426
compound	$t_r = A + BP_{max}$			$t_r = A + Bk$		
	A	B	R	A	B	R
Zn(Ac) ₂ ·2H ₂ O	581.90	-11.320	-0.95974	789.02	-20203.5	-0.81528
Cu(Ac) ₂ ·H ₂ O	278.91	-3.076	-0.99632	0.0724	-0.00023	-0.98388
Co(Ac) ₂ ·4H ₂ O	524.91	-13.230	-0.96942	0.0423	-0.00005	-0.96578
Ni(Ac) ₂ ·4H ₂ O	538.04	-9.305	-0.97170	0.0418	-0.00005	-0.94871

2.2 讨论

实验表明:大肠杆菌在金属离子化合物作用下,其生长的停滞期均增长,曲线的第一峰向后移,且变得平缓,传代时间 G 增长,生长速率常数 k 和最大热功率均小于对照组的值。这说明这四种金属离子化合物均对大肠杆菌有不同程度的抗菌活性,其抗菌活性的大小随化合物和浓度不同而不同。根据半抑制浓度 $C_{1/2}$ 可见化合物的抗菌活性的顺序是 $\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{Co}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} > \text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O} > \text{Ni}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 。因为四种盐的阴离子相同,所以四种盐对大肠杆菌的抗菌活性顺序也就是四种金属离子对大肠杆菌的抗菌活性顺序。根据 MIC, 抗菌活性最强的是 $\text{Co}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 其次是 $\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 最弱的是 $\text{Ni}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 。金属离子与细菌的作用机理及构效关系有待进一步探讨。根据表3我们发现,大肠杆菌最大发热功率 P_{\max} 不仅与化合物浓度具有线性关系,还与速率常数 k 有线性关系;停滞期 t_r 与 P_{\max} 也具有线性关系;除 $\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 外,停滞期时间 t_r 与速率常数 k 也有较好的线性关系。 k 与 P_{\max} 成正比说明当细菌与药物作用时,在其它条件相同的情况下可用 P_{\max} 代替 k 表征细菌生长代谢和药物抗菌活性大小,由于 P_{\max} 可直接从热谱上读出,因而比用 k 表征更简便。同理,停滞期 t_r 也可代替 k 表征三种金属离子对大肠杆菌生长代谢和药物抗菌活性。

参 考 文 献

- [1] Xie, C. L.; Song, Z. H.; Qu, S. et al *Thermochemica Acta*, 1988, 123, 33-41.
 [2] 刘 义、冯 英、谢昌礼等,无机化学学报,1996,12(2),148-145.
 [3] 冯 英、刘 义、谢昌礼等,物理化学学报,1996,12(8),746-750.

MICROCALORIMETRY ON THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METAL ION COMPOUNDS

Huang Zaiyin Qu Songsheng Zhao Qunjin Feng Ying

(Department of chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072)

The effects of metal ions on *E. coli* have been studied by microcalorimetry. The results show that different kind of metal ions have different effects on *E. coli* and their metabolic power-time curves are different as well as the mechanisms of their actions are also different. The sequence of the antibacterial activity metal ion compounds is: $\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{Co}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} > \text{Cu}(\text{Ac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O} > \text{Ni}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, and their half inhibitory concentrations also increase with this sequence.

Keywords: metal ion compounds *E. coli* antibacterial activity
microcalorimetric method