

细菌超弱光的初步研究

王英彦 赵艾

(北京市环境保护科学研究所, 北京)

马玉琴 于明珠 张月敬 李心愿 代军

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

用高敏单光子式超弱光测量仪, 测量了大肠埃希氏菌 (*E. coli*), 枯草芽孢杆菌 (*Bac. subtilis*) 和产氨短杆菌 (*Bre. ammoniagenes*) 的超弱光光谱分布, 超弱发光动力学过程和超弱光强度; 并确定超弱光强度与细菌数之间的定量关系。

关键词 超弱发光; 细菌

粪链球菌 (*Streptococcus faecalis*) 和单核细胞增生利斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 是最早被检出具有发射超弱光能力的细菌, 同时被测量的大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*), 肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 和明尼苏达沙门氏杆菌 (*Salmonella minnesota*) 则未被检出^[1-3]。随着光电子学和电脑技术的发展, 高敏光子测量系统的建立, 大肠埃希氏菌最近被确定具有超弱发光的功能, 并进行了较深入的探讨^[4]。本文报道用高敏单光子式超弱光测量仪^[5], 对表 1 所列的 3 种常见的细菌进行超弱光测量的结果。观测的项目是光谱分布, 超弱发光动力学过程和超弱光强度及其与细菌数之间的关系。目的是进一步了解细菌的超弱发光及其有关的特征, 为超弱发光的基本机理研究和作一项分析技术的实际应用提供实验数据。

材料和方法

(一) 菌种

中国科学院微生物研究所供应。

(二) 试样

冷冻干粉菌种在固体斜面培养基上复

苏, 其中大肠埃希氏菌用 BPY 培养基; 枯草芽孢杆菌和产氨短杆菌用牛肉汁琼脂培养基在 37℃ 下培养。后用无菌水配制成细菌悬液的稀释系列。

(三) 测量

将以上配成的细菌悬液置于高敏单光子式超弱光测量仪^[5]中, 分别测量细菌超弱光的光谱分布、发光动力学曲线和超弱光强度 (ULI), 单位是光子计数率 ($h\nu \cdot s^{-1}$)。

(四) 细菌悬液比浊度测定

在观测光谱分布时, 上述制得的细菌悬液采用比浊度测定法^[6]控制细菌悬液中的细菌数 (表 1)。

表 1 菌种和比浊度

Table 1 Bacterial strains and turbidity

菌种 Strains	比浊度 Turbidity
人肠埃希氏菌 (<i>E. coli</i>)	0.074
枯草芽孢杆菌 (<i>Bac. subtilis</i>)	0.023
产氨短杆菌 (<i>Bre. ammoniagenes</i>)	0.092

(五) 诱导

将经由此浊度法确定了细菌数的细菌

本文于 1988 年 11 月 21 日收到。

悬液置于 40W 白炽灯下预照射 30min 后, 立即移至超弱光测量仪进行超弱发光动力学曲线的描记, 时间为 1200s。

(六) 细菌计数

在测量超弱光强度的同时, 将另一部分细菌悬液稀释系列进行培养, 其中大肠埃希氏菌在 37℃ 下培养 24h; 枯草芽孢菌和产氨短杆菌则在 35℃ 下培养 48h。然后, 用常规的平板计数法测定细菌数。

结果和讨论

(一) 光谱分布

在 300—700nm 波长范围内, 三种细菌具有各自的光谱分布曲线(图 1)。光谱分析表明, 在可见光区内, 三种细菌发射超弱光的最大峰值在红光区 (600—700nm) 均为 669nm; 在蓝绿区 (410—560nm) 内, 枯草芽孢杆菌发射超弱光的最大峰值有三个, 分别是 427, 487 和 553nm; 大肠埃希氏

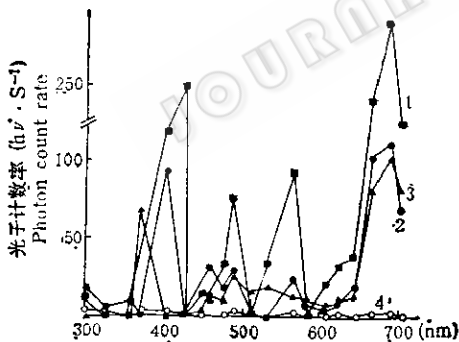


图 1 三种细菌的光谱分布

Fig. 1 Spectral distribution of three bacterial strains

1. *Bac. subtilis*; 2. *E. coli*; 3. *Bre. ammoniagenes*; 4. 无菌水对照组 Sterile distilled water control.

每种细菌在测定光谱时用菌悬液比浊度调节细菌数持于相同的水平(表 1)。

The same level of bacterial count of every strain was fixed by adjusting the turbidity of bacterial suspension when the spectra were measured.

菌和产氨短杆菌的最大峰值均不甚显著。至于在紫外光区 ($<400\text{nm}$) 内, 枯草芽孢杆菌发射超弱光的最大峰值为 400—427 nm; 大肠埃希氏菌的为 400nm。产氨短杆菌的则为 357nm。

(二) 发光动力学曲线

细菌悬液经光照诱导后测得如图 2-A 所示的超弱光发光动力学曲线。三条曲线分别显示三种细菌的超弱光强度与时间的关系。为便于分析细菌的以上超弱光强度-时间的动力学过程, 将图 2-A 画为半对

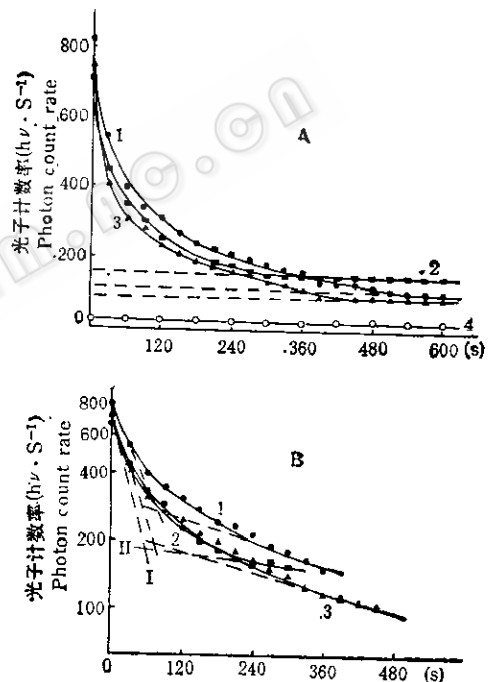


图 2 三种细菌的超弱光发光动力学曲线

Fig. 2 Kinetic curve of ultraweak luminescence from three bacterial strains

1. *E. coli*; 2. *Bac. subtilis*; 3. *Bre. ammoniagenes*; 4. 无菌水对照组 Sterile distilled water control.

A. 三种细菌的光子发射动力学曲线

Photon emission kinetic curve

B. 曲线 A 的变量分析

Analysis of variable element in the curve A

I. 快相成分 Fast phase component

II. 慢相成分 Slow phase component

表 2 三种细菌超弱发光动力学分析

Table 2 Analysis of the kinetics of ultraweak luminescence from three bacterial strains

菌 种 Strains	超弱光强度公式 Formula of ultraweak luminescence intensity	寿命 Life (s)	
		I	II
<i>E. coli</i>	$ULI = ULI_0(0.68^{-1/50} + 0.32^{-1/350}) + ULI_1$	90	390
<i>Bac. subtilis</i>	$ULI = ULI_0(0.77^{-1/42} + 0.23^{-1/240}) + ULI_1$	41	840
<i>Bre. ammoniogenes</i>	$ULI = ULI_0(0.81^{-1/48} + 0.18^{-1/900}) + ULI_1$	48	900

表 3 超弱光强度和细菌数的关系*

Table 3 Relationship between ultraweak luminescence intensity (ULI) and bacterial count (BC)

大肠埃希氏菌 (<i>E. coli</i>)		枯草芽孢杆菌 (<i>Bac. subtilis</i>)		产氨短杆菌 (<i>Bre. ammoniogenes</i>)	
细菌数 BC (Individuals)	超弱光强度 ULI ($h\nu \cdot s^{-1}$)	细菌数 BC (Individuals)	超弱光强度 ULI ($h\nu \cdot s^{-1}$)	细菌数 BC (Individuals)	超弱光强度 ULI ($h\nu \cdot s^{-1}$)
45	22	420	25	350	24
6	18	38	20	32	23
4	17	3	19	7	21
3	16	1	16	3	18

* 在总测量时间 240s 内的总光子计数率分为前半时的和后半时的光子计数率。本文的 ULI 取后半时的光子计数率表示。

Photon counts rates of second half time were used to be representative of the results in this paper, because of total count rate measured for 240 s including the count rates of first half time and second half time.

数图表达(图 2-B)。经图解法分析表明,细菌的超弱发光含两项指数衰减成份,即快相成份(I)和慢相成份(II),它们是细菌发光中光诱导部分,可用表 2 中的 ULI (超弱光强度)的公式表达。表达式中 ULI_0 为光诱导成分的初始强度, ULI_1 为生化代谢引起的发光强度。另外,表 2 中还列出三种细菌的快相和慢相两种成分的寿命,数据表明三种细菌的光诱导成分消失时间不一。

(三) 超弱光强度和细菌数的关系

如表 3 所示,三种细菌的超弱光强度(ULI)和细菌数(BC)之间存在相应的关系,即随细菌数的减少,ULI 值也趋向降低。大肠埃希氏菌是三种细菌中 ULI 值较高的,而其余两种细菌的 ULI 值几乎相

同。

根据上述的实验结果可以得出以下三点结论:

1. 大肠埃希氏菌、枯草芽孢杆菌和产氨短杆菌等三种细菌,用高敏超弱光测量仪均测出其超弱光,并获得各自的超弱光强度与细菌数的定量关系。

2. 三种细菌在 300—700nm 波长范围内具有各自的超弱光光谱分布曲线。

3. 在超弱发光动力学过程中,大肠埃希氏菌的快相和慢相两种成分的寿命,与枯草芽孢杆菌或产氨短杆菌有较大的差别,而后二者则彼间相近。

细菌到人类的所有活有机体都有发射超弱光的功能,其光谱范围是 180—800 nm,强度是 $10-10^4 h\nu/s \cdot cm^2$ 。对照本实

验测得三种细菌超弱光的结果, 以往大多数被检测的细菌均呈阴性, 其主要原因可能是光子计数系统灵敏度不足的缘故^[4]。本文研究的三种细菌的光谱分布曲线相似, 是否与细菌的物种特性相近有关, 这有待深入探讨。三种细菌的超弱光强度与细菌数间获得相应的数量关系, 但是并不显著, 这也有待研究改善。由于超弱光测量的是试样的表面发光, 而本实验中采取的试样是细菌悬液, 因此有可能存在空间效应从而影响实际的测值。大肠埃希氏菌^[4], 种子苗^[7], 动物细胞^[8]和植物细胞^[9]均可通过脂质过氧化的裂解产生激发态 1O_2 二聚体和激发态羰基而发射可见光光谱, 还可通过伴随蛋白质合成发生氧化副反应, 如色氨酸和含色氨酸的蛋白质氧化而发射紫外光光谱。本实验受试的三种细菌发射 300—700 nm 波长的超弱光, 可能出于上述的同一过程。将低水平的生物的化学发光归因于氧化代谢中活性氧自由基的产生是目前较为流行的解释。关于超弱发光的确切机制尚不清楚。生物超弱发光是同许多生命过程相联的, 例如除氧化代谢外, 还有细胞分裂或死亡, 光合作用, 致癌过程, 解毒功能, 甚至生长调节等^[10]。因此, 因产生 1O_2 , $>C^*=O$ 等活性氧发射超弱光子流很可能是许多潜在性解释中的一种。总之, 生物超弱发光的特性, 机制和应用等各方面都有着不少需要探讨的问题。但是, 这一课题不仅

在细胞间“信息联系”等方面^[4]具有理论意义, 而且在临床化学、生理学、微生物学、海洋生物学、土壤学和食品及畜产品业等许多部门都与实际用途。尤其随着光电子学和电脑技术的巨足进步, 更应引起兴趣而作进一步的研究。本文报道的细菌超弱光实验的结果无疑是为这种研究提供关于微生物学领域的一些新资料。

参 考 文 献

- [1] Ruth, B.: *Electromagnetic Bio-information*, F. H. Popp(Eds), Urban Schwarzenberg, Munich, pp. 107—122, 1978.
- [2] Hunter, D. J. et al.: *Bioluminescence and Chemiluminescence*, M. A. Deluca (Eds), Academic Press, New York, pp. 531—542, 1981.
- [3] Roth, J. A. et al.: *J. Bacteriol.*, 144: 752, 1980.
- [4] Tibury, R. N. et al.: *Photochem. Photobiol.*, 47(1): 145, 1988.
- [5] 沈 恂等: *生物物理学报*, 4(2): 98, 1988.
- [6] [日]微生物研究法讨论会编 (程光胜等译): *微生物学实验法*, 科学出版社, 北京, 第 154—155 页, 1981。
- [7] Boveris, A.: *Photochem. Photobiol.*, 38: 99, 1983.
- [8] Tarusov, B. N. et al.: *Ultraweak Luminescence in Biological System*, Moscow University, Moscow, 1967.
- [9] Vladimirov, Yu. A.: *Ultraweak Luminescence Accompanying Biochemical Reactions* (English transl.), NASA, C. F. S. T. I., Springfield, Vermont, 1966.
- [10] Slawinska, D. et al.: *Chem- and bioluminescence*, J. G. Burr (Eds), Marcel Dekker Inc., New York, pp. 495—531, 1985.

STUDIES ON ULTRAWEAK LUMINESCENCE OF BACTERIA

Wang Yingyan Zhao Ai

(Beijing Municipal Research Institute

of Environmental Protection, Beijing)

Ma Yuqin Yu Mingzhu Zhang Yuejing

Dai Jun Li Shenxun

(Institute of Biophysics, Academic Sinica, Beijing)

Ultraweak luminescence of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Brevibacterium ammoniagenes* was measured with high sensitive single photon counting equipment (Made in China). The results obtained from ultraweak luminescence of as above three bacterial strains were as follows: spectral distribution curves, photon emission kinetic cur-

ves or emission intensity and its quantitative relationship between intensity and bacterial counts.

Key words

Ultraweak luminescence; Bacterium