ПРИМЕНЕНИЕ АСИМПТОТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СУСПЕНЗИЙ

Симонова Е.О., Симонов О.А., Мальчевский В.А.

ФГБУ Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения РАН, Тюмень, Россия.

В исследованиях с применением бактериальных суспензий одним из первых определяемых параметров является количество микробных клеток в единице объема. Для подсчета применяют разные методы, в том числе метод с использованием счетной камеры Горяева и метод турбидиметрии [1]. Оба этих метода имеют за собой ряд недостатков; повышенное время исполнения, применение узкоспециализированных приборов, а так же, в случае метода турбидиметрии наличие суспензии микроорганизмов с известным количеством клеток, для построения индивидуальной калибровочной кривой в каждом отдельном случае. Для решения сложившейся проблемы нами был разработан способ оптической оценки концентрации микробных клеток в суспензии, основанный на использовании асимптотического приближения теории светорассеяния [2]. Для тестирования разработанного способа использовали штамм 10-50-TS2 (вид *Achromobacter spanius*) из коллекции ТюмНЦ СО РАН. Бактерии высевали в пробирки на скошенный агар и культивировали 24 ч в термостате при 26 °С, затем смывали дистиллированной водой в объеме 5 мл

В растворы глюкозы 10% и 40% добавляли полученные смывы (9:1), проводили измерения оптической плотности суспензий в спектрофотометре ПЭ-5400УФ на двух длинах волн $\lambda_1 = 450$ нм и $\lambda_2 = 600$ нм. В качестве образца сравнения использовали дистиллированную воду. Определяли показатель преломления (μ) образцов с использованием рефрактометра RL3. На основе полученных данных рассчитывали значение волнового экспонента, средний радиус (R_{cp}) микробных тел, затем, применяя асимптотическое приближение, рассчитывали коэффициент светорассеяния, с использованием которого по измеренной оптической плотности суспензии определяли концентрацию бактерий (N). В качестве сравнения проводили подсчет микроорганизмов с использованием счетной камеры Горяева, бактериальные смывы серией разведений доводили до концентрации 1/10000 от первичной, и далее действовали по стандартной методике. Так при применении оптического метода $\mu_b = 1,46$, $R_{cp} = 0,37$ мкм, $x = 2 \cdot 10^{11}$. При подсчете методом с использованием счетной камеры концентрация микроорганизмов в материнской суспензии составила $x = (5,3 \pm 0,1) \cdot 10^{11}$. Стоит отметить, что применение оптического метода значительно сокращает время, затрачиваемое на подсчет бактерий. Дает возможность получить дополнительные сведения о микробных клетках конкретного штамма, такие как показатель преломления и их средний радиус. Минусами данной методики можно считать то что оптический способ учитывает даже нежизнеспособные клетки, но в сочетании с другими методами, такими как метод подсчета КОЕ этот недостаток можно использовать для получения важных для исследователя параметров штамма. Большой объем математических вычислений в перспективе, возможно, решить с помощью создания специализированной программы для ЭВМ.

Библиографические ссылки

1. Гунар О.В., Доренская А.В., Колосова Л.В. Оценка некоторых методов определения концентрации микробных клеток // Фармацевтическая химия и фармакогнозия. 2013. №4. С.14-17.
2. Пат. № 2636620 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/483 (2006.01): способ оптической оценки концентрации микробных клеток в суспензии №2016121869, заявл.: 25.10.2016. опубл.: 24.11.2017 / Симонов О.А., Симонова Е.О., Мальчевский В.А. – 7 с.