

Измерение концентрации и скорости движения подвижных бактерий методом ультрамикроскопии

Научный руководитель – Макулова Виктория Сергеевна

Писарева Екатерина Игоревна

Студент (магистр)

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет химико-фармацевтических технологий и биомедицинских препаратов (ХФТ), Москва, Россия

E-mail: pisareva_katya@list.ru

Метод ультрамикроскопии был разработан Рихардом Зигмонди, нобелевским лауреатом по химии 1925 года. В основе данного метода лежит специальный способ освещения образца жидкости лазером под углом 90 градусов к оптической оси микроскопа, при помощи которого происходит наблюдение и запись видео. Такой подход позволяет увидеть рассеяние от отдельных наночастиц в жидкости, сами частицы при этом не видны, размер и форму частиц таким методом определить нельзя. Но можно подсчитать их число в единице объема и наблюдать за их броуновским движением (или другим типом движения). Метод ультрамикроскопии позволяет измерять численную концентрацию наночастиц размером до 10 нм (для металлических частиц) [1].

В работе представлены результаты исследования серии образцов питьевой воды, прошедших очистку пурифайерами и образцов воды без очистки – водопроводной. Пурифайер – это проточный кулер, очищающий водопроводную воду до качества питьевой с помощью системы встроенных фильтров, такие системы очистки воды массово устанавливаются в школах, поликлиниках и других общественных местах. Также для серии растворов стандартных образцов наночастиц (коллоидное золото 35 нм, SiO₂ 55 нм и 100 нм) проведено измерение численной концентрации частиц.

Показано, что методом ультрамикроскопии во всех образцах питьевой воды из пурифайеров детектируются подвижные бактерии, при этом в водопроводной воде таких бактерий не наблюдается. Выполнена оценка концентрации таких бактерий во всех исследованных образцах воды из пурифайеров – порядка 10⁶ шт/мл. Сделана оценка скорости движения таких бактерий – средняя 80 мкм/с. Важно отметить, что эти бактерии не видны методами оптической микроскопии (светлое и темное поле, фазовый контраст, флуоресценция с окрашиванием). Это связано с их малыми размерами, слабым контрасте и быстрыми перемещениями. Только при использовании системы гиперспектральной микроскопии (CytoViva Darkfield Hyperspectral Microscopy) такие объекты уверенно наблюдались. Бактерии имеют вид палочки с длиной 3-5 мкм и толщиной 200-300 нм. Однако, такой прибор очень дорогой, мало распространен и не позволяет сделать оценку численной концентрации таких подвижных бактерий. Также, был выполнен анализ КОЕ двух образцов воды из пурифайеров и одного образца водопроводной воды. В образцах воды из пурифайеров №1 – 38 КОЕ/мл, №2 – 23 КОЕ/мл. В водопроводной воде 10 КОЕ/мл. Измерена динамика роста бактерий в течение 48 часов. Проведен посев на твердых питательных средах Сабуро и NA (Nutrient agar) и посев на минеральную среду.

Важным результатом исследования питьевой воды было обнаружение бактерий, которые другими методами нет возможности детектировать в экспресс режиме. Такой результат может быть востребован как в методах контроля чистоты воды, так и в микробиологических исследованиях определённых видов бактерий.

Источники и литература

- 1) 1. Описание метода ультрамикроскопии: URL: <http://npcounter.ru/> (01.02.2025)