

АНАЕРОБНИЙ МЕТОД РОЗЛИВУ РІДКИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ

Л.С. ЯСТРЕМСЬКА, кандидат сільськогосподарських наук

Національний авіаційний університет, Інститут екологічної безпеки

Розроблено метод анаеробного розливу рідких поживних середовищ у флакони різної ємкості та культиватори, що дозволяє уникати контакту середовища з киснем повітря. Методика може використовуватися при серійних дослідженнях.

Ключові слова: *анаеробіоз, анаеробні облигатні мікроорганізми, рідкі поживні середовища*

Для активної життєдіяльності анаеробних бактерій необхідне створення відповідних умов – відсутність кисню в поживному середовищі і низьке значення окисно-відновного потенціалу (ОВП). Це забезпечує герметичність посуду для культивування.

У науковій літературі є роботи, присвячені цій проблемі [1-6], проте вони або перевантажені громіздким, вогнебезпечним обладнанням (піччю з мідним розжарюваним каталізатором для видалення залишків кисню, колонкою Хангейта)[1] або вимагають додаткового обладнання і не розраховані на серійні дослідження [5,6].

При культивуванні облигатних анаеробів на рідких середовищах необхідне перенесення дегазованого середовища з посуду, в якому його готували до флакона для культивування мікроорганізмів. Загальноприйнято переносити середовище піпетками або шприцем, з дотриманням умов, які перешкоджають проникненню в нього кисню [1,5,6]. При культивуванні у флаконах або у культиваторі необхідно переносити великі об'єми (100-500 мл) анаеробного поживного середовища. В цьому випадку використання піпеток або шприців недоцільне.

Метою нашої роботи було розроблення анаеробного метода розливу великих об'ємів рідких поживних середовищ у флакони та культиватори.

Матеріали і методи досліджень. Метод розливу рідкого середовища складається з його приготування за приписом, кип'ятіння, охолодження та розливання у дегазовані ємкості – флакони для переливання крові (ДСТУ 10782-85, об'ємом 250-450 мл), флакони об'ємом 100 мл, культиватори, описані [3,4], пробірки Хангейта [5] тощо.

Для продування посуду інертним газом найраціональніше використовувати аргон вищої якості (ГОСТ 10157-79), в якому об'ємна концентрація кисню становить не більше 0,0007 %. Оскільки аргон важчий за повітря, він опускається на культуральне середовище і при продуванні витісняє повітря з флаконів та культиваторів.

На рис. 1 показані основні етапи розливу рідкого середовища. До колби (1), об'ємом 1-3 л (рис.1,а) вносять рідке поживне середовище, кип'ятять, закривають гумовою пробкою (ДСТУ-78522-76) (2) непроникною для кисню, з вставленими скляними або з нержавіючої сталі трубками (3,4).

Через трубку (3) в колбу подають інертний газ аргон, який вільно проходить по трубці (4) з силіконовим шлангом (5), що перешкоджає надходженню в колбу атмосферного кисню, та охолоджують. Потім, колбу з середовищем закріплюють на штативі (9), причому шланг (5), крізь який надходить інертний газ аргон закріплюють на такій висоті, щоб рідина знаходилася нижче голки (6), через яку розливають середовище (рис.1,б).

Щоб перенести дегазоване рідке середовище з колби у флакони меншого об'єму, силіконовий шланг (5) з голкою (6) вводять у флакон (11), в якому атмосферний кисень заміщується інертним газом аргоном, що постійно надходить до флакону через голку-фіксатор (10). У дегазовані флакони вставляють шланг з голкою (6) і середовище під тиском інертного газу починає надходити у флакони меншого об'єму (рис.1, в). Перетікання середовища зупиняється, коли шланг (5) підіймають догори та затискають затискачем (7). Так само заповнюють усі наступні флакони або культиватори.

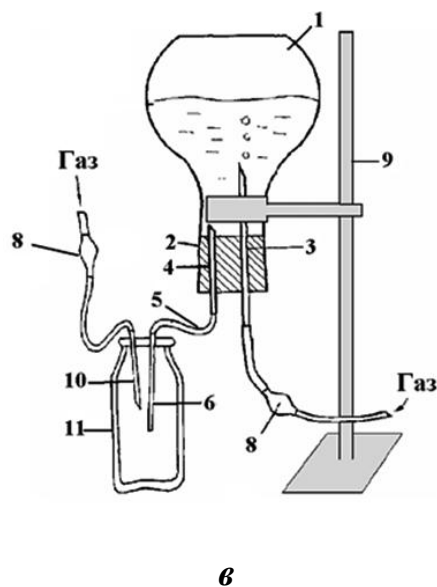
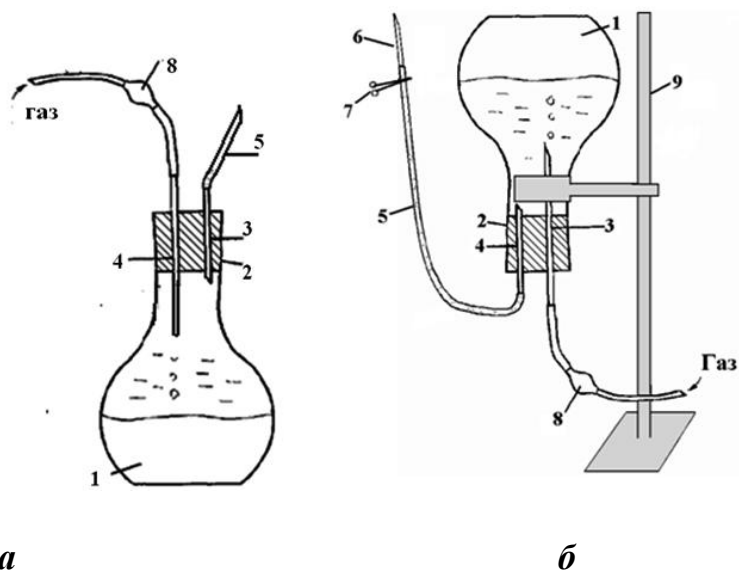


Рис. 1 Етапи анаеробного розливу рідкого поживного середовища:
a – приготування середовища до розливу; *б* – укріплення колби на штативі; *в* – розливання середовища;

1– колба з дегазованим середовищем; 2– гумова пробка; 3– трубка для подачі інертного газу аргону; 4– трубка зі скла або нержавіючої сталі; 5– силіконовий шланг; 6– голка; 7– затискач; 8– скляний перехідник з базальтовою ватою; 9– штатив; 10– голка-фіксатор; 11– флакон для культивування анаеробів

Після заповнення середовищем флакона, пробірки або культиватора в

горловину посудини вставляється гумова пробка або у випадку з культиватором, будь-яка інша. Лівою рукою злегка натискають на пробку, а правою – знімають з горловини посудини голку-фіксатор (10) і нагвинчують металевий затискувач, з отвором посередині для відбирання газової або рідкої фаз у процесі культивування мікроорганізмів (рис.2). У флаконі, пробірці або культиваторі створюють надлишковий тиск інертного газу, що перешкоджає проникненню кисню у флакон.

Після цього, одержуємо рідке поживне середовище, що знаходиться в анаеробних умовах під тиском.



Рис. 2 Загальний вигляд флаконів з середовищем закритих гумовими пробками та металевими ковпачками з отвором посередині

ВИСНОВКИ

Запропонований метод розливу рідких поживних середовищ у флакони та культиватори дозволяє уникати на всіх етапах їх приготування контакту з киснем повітря, а також швидко розливати великі об'єми середовищ у флакони та працювати при серійних дослідженнях.

Цей метод можна рекомендувати для широкого застосування в лабораторних, клінічних умовах, пов'язаних з культивуванням облигатних анаеробних бактерій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Жилина Т. Н. Методы выделения и культивирования метанобразующих бактерий. В сб: Теоретические и методические основы изучения анаэробных микроорганизмов / Т. Н. Жилина, Г. А. Заварзин. – Пушкино: НЦБИ, 1978. – С. 68–89.
2. Таширев А. Б. Техника выделения изолированных колоний анаэробных бактерий во флаконах / А. Б. Таширев, Я. Н. Данько, Д. В. Чернышенко // Микроб. журн. – 1988. – Т.50, № 4. – С. 89–90.
3. Культиватор для изучения ростовых процессов анаэробных микроорганизмов / Д. В. Чернышенко, Я. Н. Данько, А. Б. Таширев и др. // Микроб. журн. – 1990. – Т.52, № 6.– С. 90– 92.
4. Чернышенко Д. В. Система фиксируемого газового зонда для удаления кислорода из анаэробных культиваторов и пробирок / Д. В. Чернышенко, Л. С. Ястремская, В. И. Карпенко // Микроб. журн. – 1991. – Т.53, № 3. – С. 100–102.
5. Hungate R. E. Roll tube method for cultivation of strict anaerobes. – In: Methods in microbiology / R. E. Hungate // N.Y.: Acad. Press, 1969. – vol.3 – P. 117-132.
6. Robb F. T. Archaea: a laboratory manual: Methanogens / F. T Robb, K. R. Sowers, H. J. Schreier // Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, – 1995. – P. 36-47

АНАЭРОБНЫЙ МЕТОД РОЗЛИВА ЖИДКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД Л.С. ЯСТРЕМСКАЯ

Разработан метод анаэробного розлива жидких питательных сред во флаконы разных объемов и культиваторы, который позволяет избегать контакта среды с кислородом воздуха. Методика может использоваться при серийных исследованиях.

Ключевые слова: *анаэробноз, анаэробные облигатные микроорганизмы, жидкие питательные среды*

ANAEROBIC METHOD FILLING LIQUID GROWTH MEDIA

L.S. YASTREMSKA

A method for dispensing anaerobic liquid media in flasks of different volumes and cultivators, avoiding contact with environmental oxygen. The technique can be used in serial studies.

Key words: *anaerobiosis, anaerobic obligate microorganisms, liquid nutrientmedium*