

РЕДУКТАЗНАЯ ПРОБА И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПРОДУКЦИИ И РЕДУКТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Редуктазная проба основана на способности дегидрогеназ живых клеток быстро восстанавливать окисленную форму редокс-красителя, а также на визуальном наблюдении за его обесцвечиванием или изменением цвета. Дегидрогеназы высокочувствительны к действию ингибирующих и токсичных веществ, и их повреждение приводит к нарушению окислительно-восстановительных процессов и гибели клеток [1]. Благодаря простоте, а также отсутствию необходимости в средствах измерений РП нашла широкое применение в биологии и медицине для анализа жизнеспособности и активности клеток, а также используется для оценки санитарно-гигиенических условий производства, ускоренного определения общей бактериальной загрязненности молока и обнаружения в нем ингибирующих веществ [2].

Среди недостатков РП наряду с субъективностью контроля конечного времени обесцвечивания красителя установлена ее сильная зависимость от условий внешней среды, видового состава микроорганизмов, а также присутствия ингибирующих и биоцидных веществ, что снижает корреляцию между общим содержанием клеток и временем обесцвечивания редокс-красителя [3].

Целью данной работы была разработка оптико-редуктазного метода для контроля качества продукции и редуктазной активности микроорганизмов.

Редуктазную активность клеток оценивали путем визуального контроля времени обесцвечивания красителей метиленового синего (МС) и резазурина (РЗ), а также определяя скорость их обесцвечивания (v , ч^{-1}) на длинах волн 660, 570 и 600 нм в оптическом варианте РП (ОРП). В качестве тест-объектов для анализа редуктазной активности клеток методом РП и ОРП служили суточные культуры Гр(-) и Гр(+) микроорганизмов *E. coli* F_{H_1F} , *Clostridium* *sp.* из коллекции кафедры биотехнологии, обладающие высокой редуктазной активностью. Полученные результаты приведены в таблице.

Таблица – Изменение времени и скорости обесцвечивания красителей МС и РЗ от содержания микроорганизмов в среде

No, кл/мл	$t_{\text{обесц.}}, \text{ч}$		$v, \text{ч}^{-1}$	
	МС	РЗ	МС	РЗ
$1 \cdot 10^5$	5,5	1	0,02	0,01
$1 \cdot 10^6$	2,5	0,6	0,5	0,5
$5 \cdot 10^6$	0,3	0,3	2,0	2,0

В результате проведенной работы установлена высокая корреляционная связь между временем, скоростью обесцвечивания красителя в визуальной РП и методе ОРП и численностью микроорганизмов. Это позволяет количественно охарактеризовать редуктазную активность клеток и сократить длительность анализа с 5 ч до 20 мин в случае использования редокс-красителя МС и до 10 мин – для резазурина.

ЛИТЕРАТУРА

- Игнатенко, А. В. Биотестирование токсичности водных сред методом редуктазной пробы / А. В. Игнатенко // Труды БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология. - Минск : БГТУ, 2018. № 2 (211). С. 155–160.
- Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа: ГОСТ 9225-84. Введ. 01.01.86. М.: Стандартинформ, 2009. 16 с.
- Игнатенко, А. В. Микрокалориметрическое исследование влияния ингибирующих веществ на молочнокислые бактерии / А. В. Игнатенко // Труды БГТУ. Сер. 4, Химия и технология органических веществ. 2000. Вып. 8. С. 238–243.