

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ МИКРОБНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ ШЕРСТЯНЫХ ВОЛОКОН

Е.Л. ПЕХТАШЕВА, А.И. САПОЖНИКОВА, А.Н. НЕВЕРОВ, Н.М. СИНИЦЫН

(Российская экономическая академия им. Г.В. Плеханова,
Московская государственная академия ветеринарной медицины и биологии им. К.И. Скрябина)

Объектами исследования служили образцы шерсти тонкой мериносковой и грубой каракульской, полученные на АО "Лосино-Петровская фабрика первичной обработки шерсти" (Московская область).

Для стимулирования роста и развития спонтанной микрофлоры образцы исходных волокон шерсти помещали в эксикаторы и выдерживали при температуре 30°C и относительной влажности воздуха 100%. Пробы для анализа отбирали через 7, 14 и 28 суток. Затем образцы кондиционировали при температуре 25°C и влажности 65% до постоянной массы.

Оценку обсемененности проводили методом микробиологических разведений [1] с подсчетом числа колоний микроорганизмов при посеве определенного количества испытуемого материала в чашки Петри с расплавленной плотной питательной средой (чашечный метод). Количество колоний микроорганизмов учитывали визуально методом подсчета колоний каждого разведения.

В качестве питательной среды при учете бактерий применяли МПА (мясопептонный агар), а для учета микроскопических грибов – среду агар Сабуро. Навески шерсти в количестве 0,1 г измельчали и переносили в колбу со 100 мл стерильного физиологического раствора. Таким образом получали смыв микроорганизмов, являющийся первым разведением.

Степень обесцвечивания раствора красителя (резазурина) в присутствии ферментов определяли методом редуктазной пробы. Для этого навески шерсти массой 0,1 г измельчали, помещали в стерильные пробирки и заливали 10 мл физиологического раствора. С целью интенсификации экстрагирования пробирки встряхивали в шуттель-аппарате 2...3 мин, а затем помещали в водяную баню на 2 ч. Инкубирование

проводили при 37°C.

По истечении указанного времени к анализируемой пробе добавляли 1 мл раствора резазурина с предварительно подобранным разведением стандартного раствора. Содержимое пробирок тщательно перемешивали и выдерживали еще 1 ч на водяной бане при той же температуре.

Визуальную оценку результатов редуктазной пробы проводили по изменению окраски исследуемого образца в сравнении с контрольным, не встряхивая и не переворачивая при этом пробирок. Анализ осуществляли в двух параллельных пробах. В качестве контроля использовали стерильный физиологический раствор.

Стерильный физиологический раствор при добавлении резазурина дает синесиреневое окрашивание. Ввиду того, что растворы, в которых инкубировали образцы шерсти с различной степенью бактериальной обсемененности, содержали различное количество активных микроорганизмов, при добавлении резазурина они давали различную окраску от сиреневой (синей) до светло-малиновой.

Степень обесцвечивания раствора красителя оценивали по величине оптической плотности методом спектрофотометрии. Исследования проводили на спектрофотометре СФ-46 в диапазоне длин волн видимой области спектра ($\lambda=400 - 760$ нм) через каждые 20 нм.

По результатам измерений оптической плотности растворов при разных длинах волн света построены кривые светопоглощения исследуемых рабочих растворов и определена длина волны, при которой наблюдался максимум оптической плотности. По полученным данным максимум поглощения растворов наблюдался при длине волны $\lambda=600$ нм. В связи с этим оптическую плотность растворов для оценки

степени их обесцвечивания измеряли при длине волны 600 нм.

В табл. 1 представлены данные, характеризующие обсемененность образцов во-

локон мериносовой и грубой шерсти, определенные путем визуального подсчета числа колоний микроорганизмов методом разведения (на 1 г волокна).

Таблица 1

| Время развития микроорганизмов, недели | Тонкая мериносовая шерсть | | Грубая каракульская шерсть | |
|--|---------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| | количество бактерий | количество грибов | количество бактерий | количество грибов |
| 0 (исх.) | $0,5 \cdot 10^5$ | 0 | $2,0 \cdot 10^5$ | $1,1 \cdot 10^5$ |
| 1 | $3,1 \cdot 10^6$ | $2,8 \cdot 10^5$ | $1,2 \cdot 10^7$ | $1,4 \cdot 10^6$ |
| 2 | $5,0 \cdot 10^7$ | $1,3 \cdot 10^4$ | $2,1 \cdot 10^9$ | $2,6 \cdot 10^4$ |
| 4 | $2,5 \cdot 10^8$ | 0 | $4,0 \cdot 10^9$ | 0 |

Как следует из полученных данных, как у тонкой мериносовой, так и у грубой каракульской шерсти наблюдался монотонный рост количества бактериальных клеток с увеличением времени экспозиции в условиях, благоприятствующих их развитию ($t = 25^\circ\text{C}$, $\phi = 100\%$).

Так, через 4 недели экспозиции бактериальная обсемененность тонкой мериносовой шерсти увеличилась в 5000 раз, а для грубой каракульской шерсти даже в 20 000 раз.

Зависимость количества клеток микроскопических грибов на шерстяных волокнах от времени их экспозиции в благоприятных для развития микроорганизмов условиях носит экстремальный характер: количество грибных клеток на начальных стадиях их развития (через 1 неделю) возрастает, а затем с увеличением времени экспозиции снижается. При этом уже через

4 недели рост микроскопических грибов практически прекращается и их количество на волокнах падает до нуля.

Такой характер обсемененности шерстяных волокон микроскопическими грибами может быть связан с подавлением их развития бактериальными клетками, количество которых в этих условиях сильно возрастает.

Наряду с оценкой микробиологической обсемененности шерстяных волокон методом разведений проводили исследования инкубационных растворов с помощью метода редуктазной пробы.

Результаты визуального наблюдения цветowych переходов и измерения оптической плотности (при $\lambda = 600$ нм) инкубационных растворов с шерстяными волокнами разных стадий развития спонтанной микрофлоры после постановки редуктазной пробы представлены в табл. 2.

Таблица 2

| Время развития микроорганизмов, недели | Тонкая мериносовая шерсть | | Грубая каракульская шерсть | |
|--|---------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| | оптическая плотность | цвет (визуальная оценка) | оптическая плотность | цвет (визуальная оценка) |
| Контроль, физиологический раствор | 0,889 | сине-сиреневый | 0,889 | сине-сиреневый |
| 0 (исх.) | 0,821 | сиреневый | 0,779 | сиреневый |
| 1 | 0,712 | сиреневый | 0,657 | малиновый |
| 2 | 0,651 | малиновый | 0,449 | светло-малиновый |
| 4 | 0,548 | светло-малиновый | 0,328 | светло-малиновый |

Как следует из полученных данных, в зависимости от степени бактериальной обсемененности волокон окраска водных вытяжек при постановке редуктазной пробы плавно менялась от сине-сиреневой у кон-

трольного стерильного физиологического раствора ($D = 0,889$) до сиреневой у исходных образцов шерсти ($D_{\text{тонкой}} = 0,821$ и $D_{\text{грубой}} = 0,779$), малиновой ($D_{\text{тонкой}} = 0,657$ и $D_{\text{грубой}} = 0,651$) и светло-малиновой при

значительном бактериальном загрязнении ($D_{тонкой} = 0,548$ и $D_{грубой} = 0,449$ и $0,328$).

Наличие такой зависимости можно использовать для оценки степени бактериального загрязнения образцов шерсти с применением шкалы цветовых эталонов.

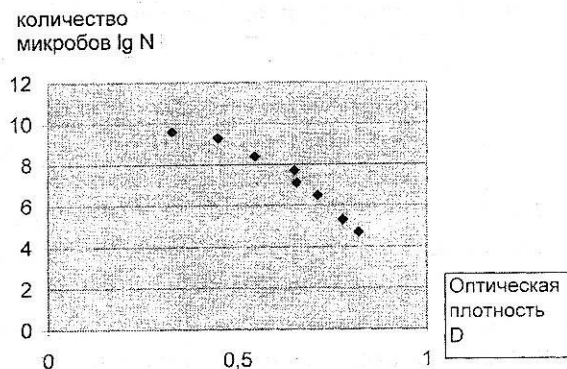


Рис. 1

На рис. 1 в полулогарифмической системе координат показана зависимость величины оптической плотности (при 600 нм) растворов вытяжек образцов

волокон шерсти с использованием редуц-тазной пробы от количества бактериальных клеток на них.

ВЫВОДЫ

Установлено, что между величиной оптической плотности растворов резазурина после инкубирования с образцами шерсти и бактериальной обсемененностью существует однозначная зависимость, позволяющая использовать ее для оценки загрязненности шерсти бактериями, в том числе и для разработки методов экспресс-анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. — М.: МГУ, 1976.

Рекомендована кафедрой материаловедения и товароведения ИГТА. Поступила 25.11.02.