



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **45111** (13) **U**
(51) МПК (2009)
G01N 21/64

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ОБЕРТАЛЬНОЇ ШВИДКОСТІ РУХЛИВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

1

(21) u200905297

(22) 27.05.2009

(24) 26.10.2009

(46) 26.10.2009, Бюл. № 20, 2009 р.

(72) ПОСУДІН ЮРІЙ ІВАНОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

(57) Спосіб визначення обертальної швидкості рухливих мікроорганізмів, який включає взаємодію світлового потоку з клітинами, що обертаються, який **відрізняється** тим, що використовують метод світлорозсіювання із застосуванням інфрачервоного

2

воного фільтра та темнопільного конденсора, завдяки чому світло від освітлювача мікроскопа не потрапляє в об'єктив мікроскопа, та одночасно направляють спалах білого світла на суспензію водоростей у латеральному напрямку відносно площини предметного скла, внаслідок чого світло набуває розсіювання на клітинах, що обертаються, а флуктуації розсіяного на клітинах інтенсивності світла, яке потрапляє в об'єктив, вимірюються системою реєстрації в одиницях обертальної швидкості клітин.

Корисна модель відноситься до техніки вимірювання параметрів рухливих мікроорганізмів, і може бути використана для вивчення фізіологічних і біофізичних властивостей цих мікроорганізмів та впливу зовнішніх факторів та стресів на ці мікроорганізми.

Відомий спосіб визначення обертальної швидкості рухливих клітин заснований на вимірюванні кількості обертів, що утворює стигма (частина хлоропласту) під час руху клітин водоростей, за допомогою оптичного мікроскопа [Посудин Ю.И., Мясук Н.П., Радченко М.И., Лилицкая Г.Г. Фотокинетические реакции двух видов *Dunaliella* Teod. // Микробиология, 1988. - Т. 57. Вип.6. - С.1001-1006]. Недоліком способу є довготривалість, трудомісткість процедури вимірювань та невисока точність результатів вимірювань.

Найбільш близьким до способу, що заявляється є спосіб, заснований на Допплерівській спектроскопії. Суть ефекту Допплера полягає у тому, що під час опромінювання об'єкта, що рухається, світлом певної частоти (довжини хвилі) відбувається розсіювання світла, причому частота (довжина хвилі) розсіяного світла залежить від швидкості руху об'єкта. Якщо діяти на клітини джгутікових мікроорганізмів лазерним випромінюванням, то можна оцінити швидкість обертального руху клітин, [Ascoli C. New techniques in photomotion methodology // Biophysics of Photoreceptors and Photobehaviour of

Microorganisms/G/ Colombetti (ed.). - Pisa: Lito Felici, 1975. - P. 109-120].

Недоліком способу є складність процедури вимірювання та висока собівартість обладнання, в основі якого є лазерне джерело випромінювання.

Завданням способу, що пропонується, є зменшення складності та собівартості обладнання, призначеного для визначення обертальної швидкості рухливих клітин.

Поставлене завдання досягається тим, що у способі визначення обертальної швидкості рухливих клітин мікроорганізмів, який включає взаємодію світлового потоку з клітинами, що обертаються, згідно корисної моделі, застосовують метод світлорозсіювання, який включає інфрачервоного фільтра та темнопольного конденсора, завдяки чому світло від освітлювача мікроскопа не попадає в об'єктив мікроскопа, та одночасно направляють спалах білого світла на суспензію водоростей у латеральному напрямку відносно площини предметного скла, внаслідок чого світло набуває розсіювання на клітинах, що обертаються, а флуктуації розсіяного на клітинах інтенсивності світла, яке потрапляє в об'єктив, вимірюються системою реєстрації в одиницях обертальної швидкості клітин.

Суть способу полягає в тому, що застосовують метод світлорозсіювання, який полягає у застосуванні інфрачервоного фільтра та темнопольного конденсора, завдяки чому світло від освітлювача мікроскопа не попадає в об'єктив мікроскопа. Одночасно, направляють спалах білого світла на

(13) **U**
(11) **45111**
(19) **UA**

суспензію водоростей у латеральному напрямку відносно площини предметного скла. Це світло набуває розсіювання на клітинах, що обертаються; флуктуації розсіяного на клітинах інтенсивності світла, яке потрапляє в об'єктив, вимірюються системою реєстрації.

Спосіб містить такі операції:

1. Розташовують суспензію з клітинами, що досліджуються, на предметному склі мікроскопа;

2. Подають світло від освітлювача на інфрачервоний фільтр та темнопольний конденсор;

3. Направляють у латеральному напрямку спалах білого світла на суспензію клітин тривалістю 60-80мс та інтенсивністю 1мВт/см^2 ;

4. Реєструють сигнал флуктуацій розсіяного на клітинах світла фотоприймачем;

5. Подають електричний сигнал з виходу фотоприймача на спектроаналізатор, поєднаний з комп'ютером;

6. Вимірюють обертальну швидкість клітин.

На Фіг. пояснюється принцип визначення обертальної швидкості рухливих клітин. Інфрачервоний компонент випромінювання джерела 1 проходить через інфрачервоний фільтр 2 і темнопольний конденсор 3 та потрапляє на суспензію 4 водоростей, які досліджуються. Спалах світла направляють на суспензію у латеральному напрямку. Модульований за рахунок обертання

клітин сигнал збирається об'єктивом 5 та реєструється фотоприймачем 6, вихідний сигнал якого подають на спектроаналізатор 7, сполучений з комп'ютером 8. Метод реєстрації світлорозсіювання дає можливість проводити вимірювання, накопичуючи за допомогою комп'ютера дані через кожні 300мс у шестикратній повторюваності.

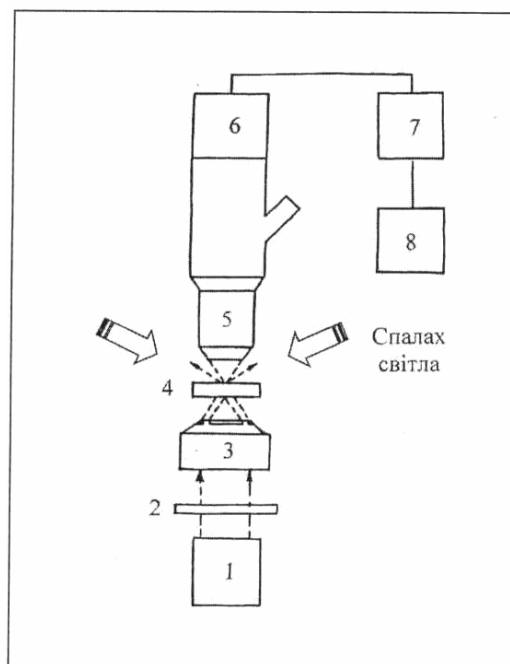
Світло, інтенсивність якого промодульована за рахунок рухливих клітин, формує сигнал на виході фотоприймача, який змінюється за законом:

$$I(t) = \beta I(1 + M_{об} \cos 2\pi \nu_{об} t),$$

де β - квантова ефективність фотоприймача; I - середнє значення інтенсивності розсіяного на клітинах випромінювання, що потрапляє в об'єктив; $M_{об}$ - коефіцієнт, що залежать від обертання клітини відповідно; $\nu_{об}$ - частота обертання клітини.

Як приклад можна навести типові значення обертальної швидкості клітин двох видів зеленої водорості *Dunaliella*: $\nu_{об} = 0,52 \pm 0,04 \text{ об/с}$ для *Dunaliella salina* та $\nu_{об} = 0,54 \pm 0,04 \text{ об/с}$ для *Dunaliella viridis*.

Запропонований спосіб характеризується зменшенням трудомісткості і довготривалості процедури вимірювань та підвищенням точності вимірювань обертальної швидкості рухливих клітин мікроорганізмів.



Фіг.