

# 用比浊法测定微生物群体浓度时 $\lambda$ 值的选择

徐 军

(中国科学院微生物研究所, 北京)

在微生物的研究工作中通常用比浊法测试菌体浓度。但是这个方法中却存在着不同菌体怎样确定和选取波长的问題。多数情况下比色计的波长选择往往盲目地根据国外文献的报道或沿用经验数据来确定。因此,在波长选择的认识上较混乱,影响了比浊方法的准确和完善。针对这个问题,作者选择了五个有代表性的微生物进行比较研究,并得出了确定波长的科学参考依据。

## 材料与方法

### 1. 微生物种类

酵母: 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 深红酵母 (*Rhodotorula rubra*)。

细菌: 恶臭醋杆菌混浊变种 (*Acetobacter rancens* var. *turbidans*); 红色细菌 (*bacteria of unknown species*)。

原生动物: 金黄滴虫 (*Ochromonas* sp.)。

### 2. 液体培养基

酵母: 麦芽汁培养基。

恶臭醋杆菌、醋酸菌培养基: 葡萄糖 3g, 酵母膏 10 g,  $\text{CaCO}_3$  10 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水 1000ml。

红色细菌: 营养肉汁培养基。

金黄滴虫: 豚蛋白胨 1—2g, 胰蛋白胨 1—2g, 酵母粉 2g, 牛肉膏 2g, 醋酸钠 2g,  $\text{CaCl}_2$  0.001g, 蒸馏水 1000ml, pH6.5—6.8, 1kg/cm<sup>2</sup> 蒸汽压力灭菌 30 分钟。

### 3. 仪器

(1) 日立“557”双光束双波长紫外分光光度计。

(2) CARLZEISS JENA 显微镜。

### 4. 方法:

把五种培养物分别接在各自液体培养基中,酿酒酵母培养 48 小时,深红酵母培养 60 小时,恶臭醋杆菌培养 48 小时,红色细菌培养 48 小时,金黄滴虫接种到培养基中后用黑纸包裹试管(防止光照后产生干扰)培养 24 小时,培养箱温度均为 28℃。

培养好的微生物,酵母、细菌用千分之一盐水制成菌悬液,金黄滴虫用培养基作悬浮液,充分混匀后,用“557”紫外分光光度计作全波吸收和透射扫描。样品的对照除金黄滴虫用其培养基和蒸馏水以外,其它菌均采用千分之一盐水。另外,为防止悬液中菌体沉淀,扫描速度一般要求较快,可选择 300—1200nm/min。

把酵母菌悬液稀释成三个不同浓度样品分别全波扫描,同时用血球计数板在显微镜下计算出三个浓度各自的含菌数量。

再选用深红酵母稀释 4 个浓度,选择波长 550nm、580nm、610nm,分别读出三个波长时的不同浓度光密度吸收值。

## 结果与讨论

1. 酿酒酵母和深红酵母大约在 400—800 nm 范围内无吸收峰,两种酵母的三种浓度吸收曲线见图 1-1 和图 1-2。

2. 恶臭醋杆菌在大约 500—850nm 范围内无吸收峰。恶臭醋杆菌吸收曲线见图 2。

3. 红色细菌从 350—850nm 范围内呈缓慢下降直线。红色细菌吸收曲线见图 3。

4. 金黄滴虫在 678nm 处有一小吸收峰,考虑到液体培养基带颜色,再用蒸馏水作对照测液体培养基,在 687nm 处未有吸收峰出现。金

本工作得到贾建华等同志帮助和北京大学陈阅增先生惠赠材料,特此致谢。

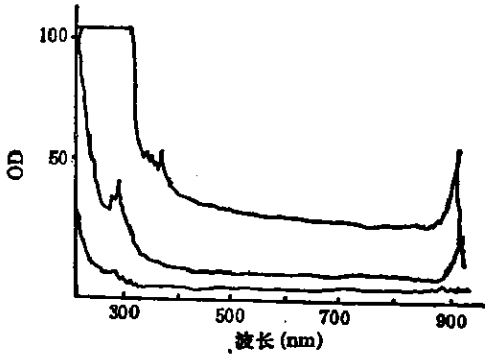


图 1-1 深红酵母三个浓度的吸收曲线

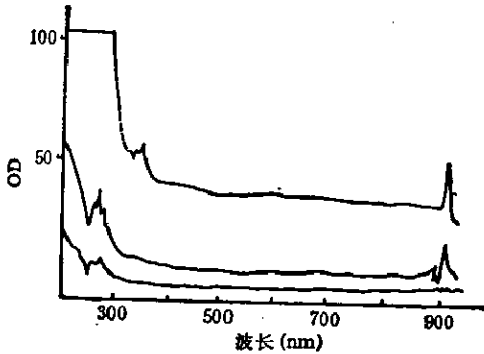


图 1-2 酿酒酵母三个浓度的吸收曲线

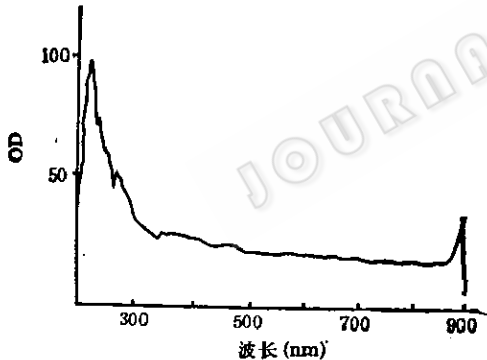


图 2 恶臭醋杆菌吸收曲线

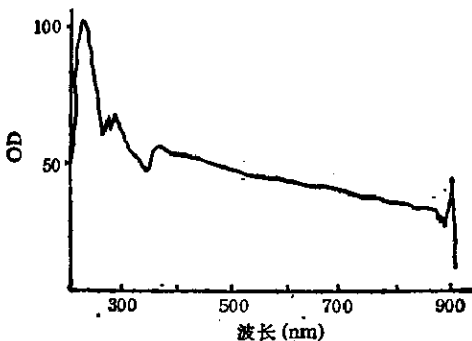


图 3 红色细菌吸收曲线

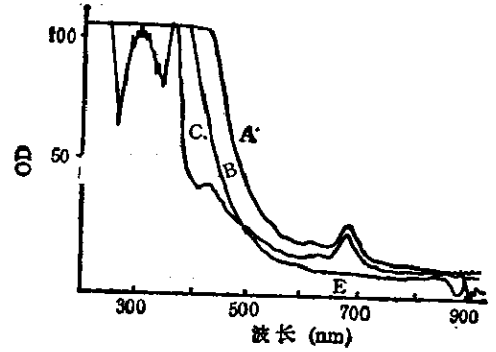


图 4 金滴虫吸收曲线

A: 蒸馏水对照测液体生长物 B: 蒸馏水对照测液体培养基  
C: 液体培养基对照测液体生长物

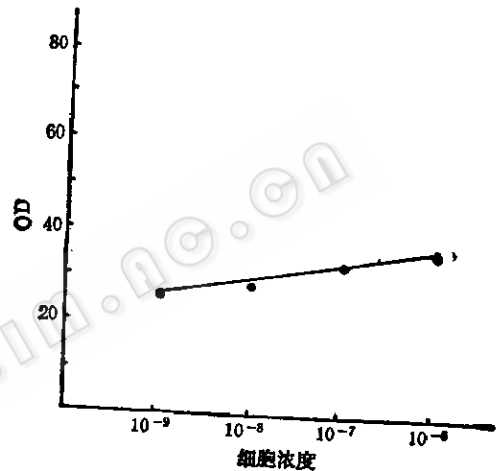


图 5 深红酵母不同浓度时的吸收曲线

黄滴虫吸收曲线见图 4。

5. 深红酵母不同浓度菌悬液在 550nm、580nm、610nm 波长时的光密度吸收值相同，均呈线性关系，不同浓度吸收曲线见图 5。

6. 在显微镜下用血球计数器对酿酒酵母和深红酵母三个不同浓度样品菌体计数，酿酒酵母的三种浓度分别为  $3.8 \times 10^7$  个/ml,  $9.1 \times 10^6$  个/ml,  $2.2 \times 10^6$  个/ml。深红酵母的三种浓度分别为  $2.5 \times 10^7$  个/ml,  $6 \times 10^6$  个/ml 和  $1.5 \times 10^6$  个/ml。

为突出材料的代表性，作者选用了细胞较大 ( $4 \times 6 \mu$  左右) 的酵母菌和细胞较小 (宽度  $1 \mu$  左右) 的细菌，选用了带颜色的菌和没有细胞壁的单细胞原生动物，通过对这些微生物的多次培养和反复测试，可以看出：

(下转封二)