УДК 541.182:53

ДІЕЛЕКТРИЧНА СПЕКТРОСКОПІЯ СУСПЕНЗІЙ БАКТЕРІЙ *E.coli*: ПРЯМА І ОБЕРНЕНА ЗАДАЧІ

Н.Г. Шкода, О.Я. Покотило

Інститут хімії поверхні Національної академії наук України
вул. Ген. Наумова 17, 03680 Київ-164; e-mail: user@surfchem.freenet.kiev.ua

На основі моделі клітин E.coli, що являє собою еліпсоїд обертання з двома конфокальними оболонками (мембрана та стінка), розраховано ефективну діелектричну проникність клітинної мембрани, а також ефективну діелектричну проникність та провідність протоплазми. На основі розвинутої теорії проведено аналіз експериментальних даних з метою визначення детальних значень електродинамічних параметрів клітин E.coli з урахуванням їхнього розподілу за розмірами.

An effective dielectric constant of cell membrane as well as conductivity and effective dielectric constant of protoplasm were calculated on the base of E.coli cell model presented by a spheroid consisted of two confocal shells (membrane and covering). An experimental data analysis has been carried out in order to obtain the E.coli detailed values of electrodynamic parameters, taking into account the cell size distribution.

Вступ

В більшості робіт з діелектричної спектроскопії матричних дисперсних систем (МДС) та колоїдів досліджено частотні залежності дійсної та уявної частини ефективної діелектричної проникності $\tilde{\varepsilon}$ в залежності від фізико-хімічних параметрів [1, 2]. Основною задачею цієї роботи є розрахунок частотної залежності дійсної та уявної частин ефективної діелектричної проникності $\tilde{\varepsilon}(\omega)$ з урахуванням фізико-хімічної природи та структури МДС, що дозволяє змоделювати різноманітні процеси розсіювання та поглинання електромагнітного випромінювання (ЕМВ). Можна розв'язати і обернену задачу - з відомої з досліду залежності $\tilde{\varepsilon}(\omega)$ визначити низку внутрішніх характеристик системи - об'ємну частку провідної фази, провідність складових системи тощо.

Діелектричні вимірювання суспензій біоклітин дають цінну інформацію про електричні властивості складових клітини, зокрема про ємність клітинних мембран, діелектричні постійні та провідність внутрішньої частини клітин та клітинних стінок [3, 4].

Для сферичних клітин типу еритроцитів людини та *Escherichia coli* Фріке [5, 6] вивів рівняння для провідності та ємності суспензій клітин при низьких частотах і надалі поширив ці рівняння на загальний випадок еліпсоїда [7]. Проте рівняння Фріке недостатнє для розрахунку провідності та діелектричної проникливості внутрішнього середовища клітини, а також частотної залежності цих величин для суспензій клітин.

Діелектричними вимірюваннями на суспензіях *E.coli* [8] визначено дисперсію на частотах від 0,1 до 100 МГц та показано, що клітини можна розглядати як провідні еліпсоїди, вкриті менш провідною мембраною. За їхньою клітинною моделлю для ємності

мембран одержано значення 0,7 мкФ/см^2. В роботах [9-11] модифіковано модель Фріке для пояснення провідності суспензій *E.coli* та *Micrococcus lysodeicticus* при низьких частотах. В моделях цих клітин вводиться додаткова провідна оболонка, що відповідає стінці клітини і розташовується поза менш провідною поверхнею мембрани. Тому видається обгрунтованим прийняти як електричну модель клітин *E.coli* еліпсоїд з двома конфокальними оболонками.

Нами було узагальнено теорію Фріке на суспензії еліпсоїдів з двома конфокальними оболонками, детально досліджено частотну залежність діелектричної проникності та провідності суспензій *E.coli* та розв'язано обернену задача для пошуку електричних параметрів клітини: провідності та діелектричної проникності стінки, мембрани та протоплазми, виходячи з експериментальних даних робіт [8-11].

Результати та їхнє обговорення

Діелектрична спектроскопія суспензій бактерій E.coli

Розподіл клітин за повздовжнім діаметром (велика вісь еліпсоїда) наведено на рис. 1. Розраховані значення середньої довжини та середнього діаметра клітин складають відповідно 2,79 мкм та 0,68 мкм. Поперечний діаметр мав постійну довжину 0,68 мкм, а довжина бактерій змінювалася від 1,2 мкм до 5,2 мкм. Ефективна діелектрична проникність та провідність вимірювались в діапазоні частот 0,01-3 МГц та 1-100 МГц відповідно.

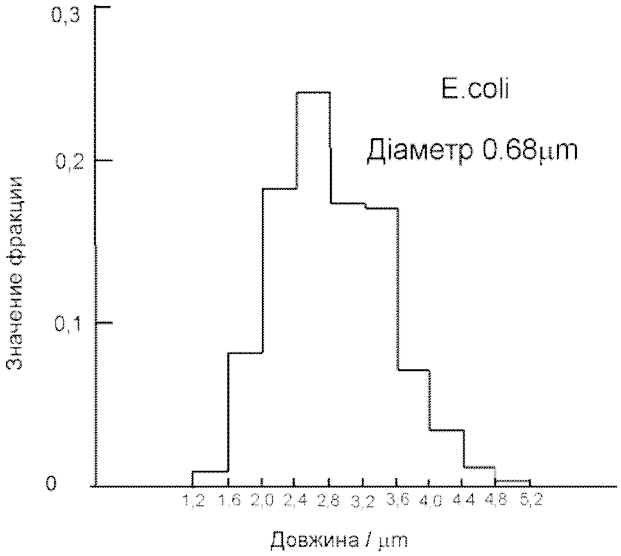

Рис. 1. Розподіл клітин *E.coli* за довжиною.

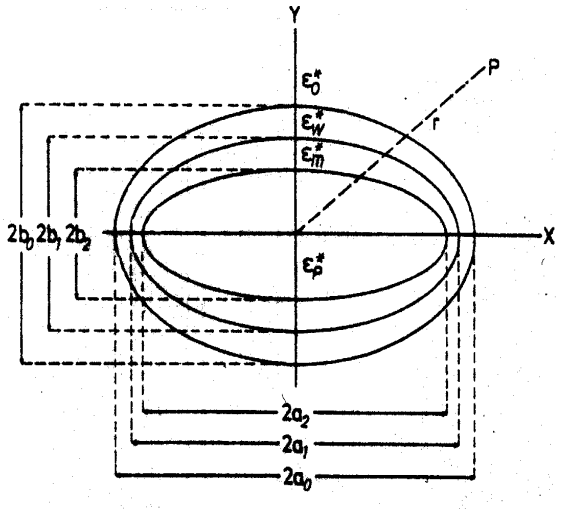

Рис. 2. Діелектрична модель клітини *E.coli.*

При аналізі діелектричних властивостей суспензій клітин обрана наступна модель: еліпсоїд обертання з діелектричною функцією ε_p^*, вкритий двома конфокальними оболонками, що відповідають плазматичній мембрані з діелектричною проникливістю ε_m^*, та стінки клітини з ε_w^*, як це показано на рис. 2. Розвинену в роботі [7] теорію для еліпсоїдів з одношаровим покриттям нами було поширено на випадок даної моделі [12], де одержано таке співвідношення для пошуку ефективної діелектричної проникності $\left(\varepsilon^*\right)$ суспензії клітин подібного типу:

$$\frac{\varepsilon^* - \varepsilon_0^*}{\varepsilon^* + 2\varepsilon_0^*} = \frac{1}{9}\sum_i \Phi_i \sum_{k=x,y,z} \frac{\bar{\varepsilon}_{1ki}^* - \varepsilon_0^*}{\varepsilon_0^* + \left(\bar{\varepsilon}_{1ki}^* - \varepsilon_0^*\right) A_{0ki}}, \tag{1}$$

$$\bar{\varepsilon}_{1ki}^* = \varepsilon_W^* \frac{\varepsilon_\omega^* + \left(\bar{\varepsilon}_{2ki}^* - \varepsilon_W^*\right) A_{1ki} + \lambda_i \left(\bar{\varepsilon}_{2ks}^* - \varepsilon_W^*\right)\left(1 - A_{0ki}\right)}{\varepsilon_W^* + \left(\bar{\varepsilon}_{2ki}^* - \varepsilon_W^*\right) A_{1ki} - \lambda_i \left(\bar{\varepsilon}_{2ks}^* - \varepsilon_W^*\right) A_{0ki}},$$

$$\bar{\varepsilon}_{2ki}^* = \varepsilon_m^* \frac{\varepsilon_m^* + \left(\bar{\varepsilon}_p^* - \varepsilon_m^*\right) A_{2ki} + \mu_i \left(\varepsilon_p^* - \varepsilon_m^*\right)\left(1 - A_{1ki}\right)}{\varepsilon_m^* + \left(\varepsilon_p^* - \varepsilon_m^*\right) A_{2ki} - \varpi_i \left(\varepsilon_p^* - \varepsilon_m^*\right) A_{1ki}}, \tag{2}$$

де

$$\lambda_i = \frac{a_{1i} b_{1i} c_{1i}}{a_{0i} b_{0i} c_{0i}}, \quad \mu_i = \frac{a_{2i} b_{2i} c_{2i}}{a_{1i} b_{1i} c_{1i}}, \quad A_{ski} = \frac{a_{si} b_{si} c_{si}}{2} \int_0^x \frac{d\xi}{\left(t_{si} + \xi\right) D_{si}}, \quad D_{si} = \left\{\left(\xi + a_{si}^2\right)\left(\xi + b_{si}^2\right)\left(\xi + c_{si}^2\right)\right\}^{1/2} \quad . \tag{3}$$

(t_{si}=a_{si},b_{si} та c_{si} при $k = x, y, z$ відповідно; s=0, 1, 2).

Чисельний аналіз системи рівнянь (1-3) та обговорення результатів

При чисельному розв'язку нелінійної системи алгебраїчних рівнянь (1-3) для визначення деяких електродинамічних параметрів клітин *E.coli* $\left(\sigma_W, \varepsilon_m, \varepsilon_p, \sigma_p\right)$ ми використали комбінацію методів Ньютона і методу найменших квадратів [12] та експериментальні частотні залежності для $\varepsilon(\omega)$ та $\sigma(\omega)$, одержані в роботі [8] і наведені на рис. 3. При виконанні цих розрахунків ми зробили такі припущення:

1. через малу товщину мембрани та стінки відносно діаметра та довжини клітин, ми припустили, що коефіцієнти деполяризації рівні між собою, тобто $A_{0ki} \approx A_{1ki} \approx A_{2ki}$;
2. оскільки *E.coli* є витягнуті сфероїди з піввісями $a_{0i} > b_{0i} = c_{0i}$, то [1]:

$$A_{0xi} = \frac{1}{q_{0i} - 1} + \frac{q_{0i}}{\left(q_{0i} - 1\right)^2} \ln\left\{q_{0i} + \left(q_{0i} - 1\right)^{1/2}\right\}, \quad A_{0zi} = A_{0yi} = \frac{1}{2}\left(1 - A_{0xi}\right). \tag{4}$$

3. внаслідок малої товщини стінок та мембрани, замість формул (3) використано наближені співвідношення:

$$\lambda_i = \frac{\left(a_{0i} - d_\omega\right)\left(b_{0i} - d_\omega\right)^2}{a_{0i} b_{0i}^2}, \quad \mu_i = \frac{\left(a_{0i} - d_\omega - d_m\right)\left(b_{0i} - d_\omega - d_m\right)^2}{\left(a_{0i} - d_\omega\right)\left(b_{0i} - d_\omega\right)^2}, \tag{5}$$

де d_ω, d_m - товщина мембрани та стінки клітини відповідно.

На практиці електродинамічні параметри σ_ω, σ_p, ε_ω і ε_p визначалися шляхом підгонки (по методу найменших квадратів) теоретичної кривої під дані експериментальної кривої $\varepsilon(f)$ та $\sigma(f)$ по частотних параметрах $\sigma_l, \varepsilon_l, \sigma_h, f_{1/2}$. Величини σ_0 та ε_0 були взяті з [12].

Застосувавши до одержаних результатів чисельний аналіз, було одержано набори фазових параметрів клітини σ_ω, σ_p, ε_ω і ε_p та теоретичні криві дисперсії $\varepsilon(\omega)$ та $\sigma(\omega)$ (суцільні лінії). Неперервні лінії розраховувалися за допомогою рівнянь (1-3) з урахуванням показаного на рис. 1 розподілу клітин за розмірами. Узгодження теоретичних та експериментальних кривих задовільне, за виняятком області високих частот.

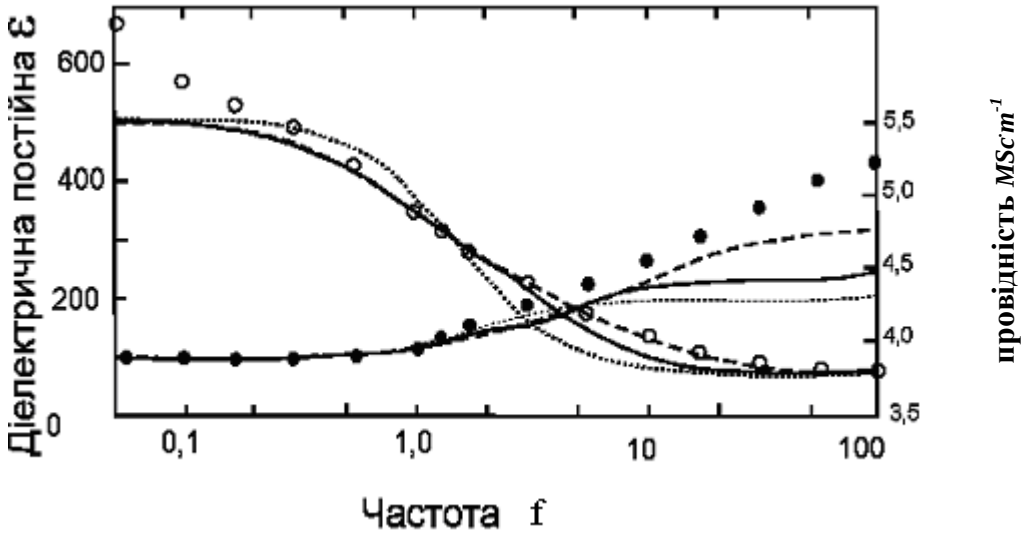

Рис. 3. Графік частотної залежності діелектричної проникності суспензій бактерій *E.coli.*

Параметри, подані в таблиці, одержано при зміні концентрації NaCl в суспендуючому середовищі та концентрації клітин в суспензії. Граничні значення діелектричної проникливості ε_l та провідності σ_l при низьких частотах не залежать від концентрації клітин в суспензії. Граничні значення ε_h на високих частотах виявляються дещо меншими значень проникності суспендуючого середовища. Значення характеристичної частоти $f_{½}$ зростає з ростом концентрації NaCl в середовищі.

Таблиця. Діелектричні параметри суспензії клітин *E.coli* в розведених розчинах та оцінка фазових параметрів клітин *E.coli.*

Зразок	Розбавл	ε_0	σ_0	σ_l	ε_l	ε_h	$f_{½}$	Ф	σ_ω	ε_m	ε_p	σ_p	C_m
1A	1	74	2.56	1.91	525	71	1.4	0.2	7.0	9.7	60	1.8	1.6
1B	3/4	74	2.51	2.06	420	71	1.4	0.2	7.7	9.0	61	1.7	1.6
1C	2/4	74	2.40	2.19	320	71	1.3	0.1	12.0	10.3	50	1.9	1.8
1D	1/4	74	2.34	2.20	215	73	1.2	0.7	10.8	10.7	63	1.7	1.8
			MSc·m-1	*MSc·m-1*			MHz		*MSc·m-1*			*MSc·m-1*	*μF·cm-2*

З таблиці легко побачити, що розраховані значення σ_ω, σ_p, ε_ω і ε_p залишаються постійними при розведенні суспензій. Значення k_w дещо розкидані та не виявляють систематичної залежності від концентрації суспензії. Цей результат є прийнятним, оскільки всі ці фазові параметри повинні бути притаманні самій клітині і не повинні залежати від концентрації клітин. Зміна концентрації NaCl від 10 до 50 ммоль/л не виявляє істотного впливу на електродинамічні параметри протоплазми $\left(\varepsilon_p, \sigma_p\right)$ та мембрани ε_m.

Література

1. Челидзе Т.Л., Деревянко А.И., Куриленко О.Д. Электрическая спектроскопия гетерогенных систем. - Киев: Наук. думка, 1977. – 231 с.
2. Гречко Л.Г., Зарко В.И., Козуб Г.М., Пикалов В.К. Диэлектрические потери в многослойных дисперсных системах // Препринт ИТФ-91-26Р. –Киев, 1991.- 33 с.
3. Schwan H. P. Electrical properties of tissue and cell suspensions // Adv. in Biol. and Medical Phys. V. 147 / J.H. Lawrence and C.A. Tobias, Eds. - New York : Acad. Press, 1959.
4. Pauly H., H. P. Schwan. Uber die Impedanz einer Suspension von kugelformigen Teilchen rnit einer Schale // Z. Naturforsch. - 1959. – B. 14. – S.125-131.
5. Fricke H. A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems. I. The electric conductivity of suspension of homogeneous spheroids //Phys. Rev. - 1924. – V. 24. – P.575-587.
6. Fricke H. A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems. II. The capacity of a suspension of conducting spheroids surrounded by a non-conducting membrane for a current of low frequency // Phys. Rev. - 1925. - V. 26. – P.678-681.
7. Fricke H. The electric permittivity of a dilute suspension of membrane-covered ellipsoids //. J. Appl. Phys. - 1953. –V. 24. –P.644-646.
8. Asami K., Hanai T. Koizumi N. Dielectric approach to suspensions of ellipsoidal particles covered with a shell in particular reference to biological cells // Jpn. J. Appl. Phys. - 1980. – V. 19. –P.359-365.
9. Einolf C.W. Passive electrical properties of microorganisms. IV. Studies of the protoplasts of Micrococcus lysodeicticus // Biophys. J. - 1969. – V. 9 –P.634-642.
10. Carstensen E.L. Passive electrical properties of microorganisms. II. Resistance of the bacterial membrane // Biophys. J. - 1967. –V. 7 – P.493-503.
11. Irimajiri A., Hanai T. and Inouye A. A dielectric theory of "multi-stratified shell" model with its application to a lymphoma cell // J. Theor. Biol. - 1979. -V. 78. – P. 251-269.
12. Гречко Л.Г., Лерман Л.Б, Шкода Н.Г. Багатошаровий еліпсоїд в електричному полі // Вісн. Київ. ун-ту, 2004. - № 1. - С.74 – 83.