



УДК 543

## О микробных биосенсорах для экспресс-определения БПК сточных вод мясокомбинатов

Перов С.Н., Калач А.В.

*Воронежский институт переподготовки кадров, Воронеж*

Мещерякова О.Л.

*Институт МВД России, Воронеж*

### Аннотация

Дан краткий обзор микробных биосенсоров. Показана необходимость экологического мониторинга сточных вод мясокомбинатов (для определения БПК) с применением микробных биосенсоров. Предпринята попытка обоснования использования актиномицетов в качестве рецепторного элемента биосенсора.

**Ключевые слова:** биосенсор, мониторинг, экспресс-метод

The short review of microbial biosensor controls is given. Necessity of ecological monitoring of sewage of meat-packing plants (for determination of Biological oxygen consumption) with application of microbial biosensor controls is shown. Attempt of a substantiation of use actinomycetes in quality reception a biosensor control element is undertaken.

**Key words:** biosensor, environmental monitoring, express analysis

### Введение

В условиях современного интенсивного промышленного производства значительно возросла нагрузка на объекты окружающей со стороны мясокомбинатов, что выразилось ее значительным загрязнением органическими соединениями. Особенностью состава производственных сточных вод мясокомбинатов является высокое содержание жиров, белков, протеинов и других органических веществ преимущественно устойчивого коллоидного состояния (~ 60 %). Широкий диапазон изменения концентраций загрязнений, высокая неравномерность расхода и предрасположение к быстрому загниванию органических примесей существенно усложняют задачу очистки сточных вод. Сточных вод мясокомбинатов характерны следующие показатели: БПК<sub>5</sub> 2-3 г/дм<sup>3</sup>, соединения азота – 1-2 г/ дм<sup>3</sup>; взвешенные вещества до 1000 мг/л. Следует отметить, что, несмотря на такие высокие концентрации загрязнений в сточных водах мясокомбинатов, подавляющее их количество (~ 80-90 %) сбрасываются практически без очистки [1, 2]. В тоже время выраженная во всем мире тенденция к уменьшению антропогенного воздействия на окружающую среду приводит к ужесточению требований экологического законодательства.

В этой связи возрастающее внимание уделяется экспресс-методам контроля, ориентированным на оценку совокупного воздействия токсикантов на окружающую среду (ОС). Применяемые в настоящее время физико-химические методы (хроматография, масс-спектрометрия, спектральный анализ) достаточно сложны и дорогостоящи и не всегда могут обеспечить необходимую оперативность предоставления информации. Большое внимание уделяется групповым полуколичественным методам анализа, ориентированным на быстрый предварительный контроль опасного уровня загрязнения или превалирующего токсического эффекта. Поставленные цели могут быть достигнуты, прежде всего, путем сочетания биохимических методов диагностики и современной сенсорной базы. Исследования последних лет показали, что в качестве нового эффективного подхода к определению широкого спектра органических соединений, в образцах окружающей среды может быть использован метод биосенсорной детекции. В этой связи интенсивно разрабатываются новые виды биосенсоров для решения задач экологического контроля.

### Применение биосенсоров в химическом анализе

Биосенсоры – это аналитические приборы или устройства, предназначенные для идентификации биологических и биохимических элементов, таких как: энзимы, нуклеиновые кислоты, антитела, антигены, микроорганизмы, клетки и др. Эти сенсоры используют биологические материалы для “узнавания” молекул и передают информацию об их наличии и количестве в виде электрического, оптического или магнитного сигнала. Биосенсоры объединяют селективные возможности биологии с технологическим аппаратом современных микроэлектроники, оптоэлектроники и нанотехнологии, создавая таким образом мощные и весьма компактные аналитические устройства для анализа качества окружающей среды [3].

Любой биосенсор состоит из двух функциональных подсистем. Первая – биорецепторная, т.е. селективирующая подсистема, где используют различные биологические структуры, обладающие высоким сродством и избирательностью к соответствующим молекулам – лигандам. Вторая – трансдьюсерная подсистема, которая преобразует биологический сигнал в физический – электрический оптический, магнитный и т.д. Для обработки информации применяют разнообразные микроэлектронные системы, интегрированные с сенсорными на одном и том же чипе. Биосенсоры подразделяются по типу биоселективирующих подсистем и типу трансдьюсеров. Их комбинирование между собой создает большое разнообразие различных типов биосенсоров [3, 4].

Важную роль в решении задач экологического мониторинга отводится микробным биосенсорам, которые перспективны как анализаторы в силу простоты и надежности конструкции, низкой стоимости биологического материала. Уникальной характеристикой микроорганизмов является их способность окислять широкий спектр органических соединений. Это дает возможность относительно простыми способами, используя принцип регистрации клеточного дыхания, формировать биосенсоры для детекции различных органических соединений. Для оценки степени загрязненности воды в настоящее время широко применяется параметр, определенный как “индекс БПК” (индекс биологического потребления кислорода). Классический метод определения БПК основан на тестах, продолжительность которых составляет 5, 10 или 20 суток ( $BPK_5$ ,  $BPK_{10}$  и  $BPK_{20}$

соответственно) [5]. Альтернативой являются экспрессные методы определения *БПК* с использованием биосенсорных анализаторов, основанные на применении микроорганизмов, способных метаболизировать широкий спектр органических соединений [6].

В настоящее время за рубежом промышленно выпускаются биосенсорные анализаторы, позволяющие в течение нескольких минут производить определение *БПК* в диапазоне 2-500 мг/дм<sup>3</sup>, в то время как в России анализаторы этого типа промышленностью не выпускаются [7].

### Мониторинг промышленных предприятий биосенсорами

Относительно биосенсорного мониторинга стоков мясокомбинатов можно предположить, что для оценки общего количества органических примесей в стоках целесообразно применение низкоселективных микробных сенсоров, например, на основе активного ила данного водоочистного предприятия, адаптированных к химическому составу тестируемых сточных вод, которые позволят производить оценку индекса *БПК*. Биосенсоры с высокой селективностью не являются инструментом, пригодным для проведения такого анализа; как правило, его выполнению в таких случаях должна предшествовать стадия определенной пробоподготовки или специфической калибровки биосенсора.

Аэробные микроорганизмы-деструкторы при разложении целевого вещества потребляют кислород ( $O_2$ ). Этот процесс можно использовать при создании микробных сенсоров для детекции целевого соединения. Поэтому поиск штаммов, пригодных для использования в биорецепторах сенсоров целесообразно проводить среди штаммов-деструкторов соответствующих соединений. Как показывает опыт последних лет, наиболее практичным преобразователем для измерения содержания молекулярного кислорода в составе сточных вод является электрод типа Кларка, который относится к амперометрическим сенсорам.

Электрохимические реакции, протекающие на поверхности электрода (датчика) в амперометрических сенсорах, генерируют в электродной системе ток, функционально связанный с концентрацией определяемого вещества. Одной из важнейших областей применения амперометрических сенсоров является определение кислорода в воде. Для этого используют электроды Кларка, генерирующие ток, пропорциональный концентрации  $O_2$  [8, 9].

Считается, что концентрация реагента линейно уменьшается в приграничном к поверхности электрода слое практически до нуля на самом электроде, где он восстанавливается или окисляется. Ионы движутся за счет диффузии и каждый ион переносит  $z$  электронов к электроду.

За счет одного процесса диффузии ток нарастает крайне медленно. Чтобы увеличить скорость электрохимической реакции, перемешивают аналит или вращают электроды, в результате чего уменьшается толщина диффузионного слоя. Это особенно важно в случае использования веществ с малыми скоростями диффузии [9].

Перенос электронов может быть ускорен за счет увеличения разности потенциалов между электродами, но существенно повышать ее опасно, так как может произойти электролитическое разложение самого аналита. Более эффективен метод использования *медиаторов* (посредников в переносе электронов).

Для увеличения скорости диффузии также применяют микроэлектроды, в которых диффузия происходит не через плоский слой, а радиально через сферу,

центр которой находится на электроде. В результате скорость реакции увеличивается и стабилизируется. Поэтому данные модификации электродов открывают новые возможности в области создания сенсорных систем [9, 10].

С другой стороны важной задачей при разработке биосенсора для экологического мониторинга стоков является формирование его рецепторного элемента. Одним из основных критериев при выборе штаммов микроорганизмов является наличие у них развитой полиферментативной системы, которая позволяет быстрее адаптироваться к новой среде и гибко реагировать на наличие веществ, обеспечивающих нормальное течение биохимических процессов в клетке. Следует отметить, что в настоящее время в области биологической очистки сточных вод наметилась тенденция к использованию биофлокулянтов, в том числе на основе актиномицетов [5, 6, 11]. Актиномицеты характеризуются высокими темпами размножения, способностью к популяционным взрывам при появлении “экологического вакуума”, слабовыраженной зависимостью наблюдаемой удельной скорости роста от популяционной плотности, что выгодно отличает их от других микроорганизмов.

Поскольку актиномицеты, в частности микроорганизм *Str. chromogenes 0832* ранее показал значительный потенциал в качестве биофлокулянта для очистки сточных вод мясокомбинатов, авторы склонны считать, что его использование в качестве рецепторного элемента биосенсора будет оправданным [11].

Таким образом, дальнейшее направление работы связано с изучением возможности использования актиномицета *Str. chromogenes 0832* в качестве основы биосенсорного анализатора “индекса БПК”, параметры которого не уступают зарубежным аналогам.

Суммируя, можно заключить, что микробные биосенсоры, позволяющие получать и перерабатывать экспресс-информацию о биохимическом составе сточных вод, благодаря своей компактности, высокой чувствительности, малому энергопотреблению, низкой цене и простоте эксплуатации являются перспективными, особенно с точки зрения создания портативных комплексных биочипов. Хотя они находятся в начале своего развития, можно ожидать существенного вклада этих биоэлектронных устройств в повышение качества, контроля технологических процессов, оценки качества окружающей среды и экологического мониторинга.

### Список литературы

- 1.Хенце М. Очистка сточных вод: Пер. с англ. [Текст] / Хенце М., Армоэс П., Ля-Кур-Янсен Й., Арван Э. – М.: Мир. – 2004. – 480 с.
- 2.Шарифуллин В.Н. Процессы сорбции и биоокисления во флокулах активного ила [Текст] / В.Н. Шарифуллин, Н.Н. Зиятдинов // Химическая промышленность. – 2006. – № 3. – С. 11-13.
- 3.Катралл Роберт В. Химические сенсоры [Текст] / Катралл Роберт В. – М.: Научный мир. – 2000. – 230 с.
- 4.Корпан Я. И. Микробные сенсоры: достижения, проблемы, перспективы (обзор) / Я.И. Корпан, А.В. Ельская // Биохимия. – 1995. – Т. 60. Вып. 12. – С. 1988 – 1995.
- 5.Kolenbrander P.E. Surface recognition among oral bacteria: multigenic coaggregations and their mediators / P.E. Kolenbrander // CRC Crit. Rev. Microbiol. – 1999. – V. 17. – P. 137-158.

6. Ohshima H. On the electrophoretic mobility of biological cells / H. Ohshima, T. Kondo // *Biophys. Chem.* – 2001. – V. 39. – P. 191-198.
7. Reshetilov A.N. Biosensoric detection of xenobiotics / Reshetilov A.N., Iliasov P.V., Makarenko A.A. // Fourth International Workshop “Biosensors and biosensing devices in medicine and environmental sciences”, Tashkent. – 1997. – Uzbekistan. – P. 127.
8. Решетиллов А.Н. Модели биосенсоров на основе потенциометрических и амперометрических преобразователей для использования в медицине, биотехнологии, мониторинге объектов окружающей среды (обзор) / А.Н. Решетиллов // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 1996. – Т. 32, № 11. – С. 78–93.
9. Лобанов А.В. Биосенсоры для экологического контроля / Лобанов А.В., Шувалова Ю.В., Зырина Н.В. и др. // *Экологические системы и приборы.* – 2001. – Том 5; № 6. – С. 72-76.
10. Makarenko A.A. The p-toluene sulfonate degradation by immobilized *Comamonas testosteroni* BS1310 (pBS1010) cells / Makarenko A.A., Arinbasarova A.Yu., Balashov S.V. at all // *Biocatalysis '98.* – Puschino, 1998. – P. 44.
11. Брындина Л.В. Интенсификация процесса очистки сточных вод мясоперерабатывающих производств / Л.В. Брындина, С.Н. Перов, О.С. Корнеева // *Биотехнология.* – 2006. – № 5 – С. 67-69.

---

**Перов Сергей Николаевич** – к.б.н., доцент кафедры экологии Воронежского института переподготовки кадров

**Калач Андрей Владимирович** – к.х.н., доцент кафедры физики Воронежского института МВД России

**Мещерякова Ольга Леонидовна** - аспирант кафедры физики Воронежского института МВД России

**Perov Sergey N.** - associate professor of Voronezh institute of staff retraining, Voronezh, Russia

**Kalach Andrew V.** - senior lecturer of physical department of Voronezh institute of the Russian ministry of internal affairs, Voronezh, Russia  
e-mail : [a\\_kalach@mail.ru](mailto:a_kalach@mail.ru)

**Mescheryakova Olga L.** - Ph. student of of physical department of Voronezh institute of the Russian ministry of internal affairs, Voronezh, Russia