

УДК 543.9:663:3664

**ИММОБИЛИЗАЦИЯ БАКТЕРИЙ PARACOCCLUS YEEI, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АКТИВНОГО ИЛА, В ОРГАНОСИЛИКАТНЫЕ МАТРИЦЫ***О.А. Каманина, Е.А. Ланцова, М.С. Тимошина**Тульский государственный университет, Тула, Россия*

Бытовая и производственная деятельность человека вызывают все большее загрязнение водных объектов рек, озер, водохранилищ, морей. Для обеспечения эффективных мер экологического контроля и дезактивации загрязнений разрабатывают методы и оборудование для быстрой и чувствительной оценки степени загрязнения воды. Одним из наиболее широко используемых показателей для мониторинга загрязнителей в водной среде является биохимическое потребление кислорода (БПК), то есть количество растворенного кислорода (в мг), необходимое для окисления всех биodeградируемых органических соединений, которые происходят в 1 дм<sup>3</sup> воды.

Обычный метод определения БПК является известный как БПК<sub>5</sub> представляет собой сложную и трудоемкую процедуру, включающую пятидневную инкубацию, а также требует значительного опыта и навыков для получения воспроизводимых результатов [1]. В этом контексте значительное внимание уделяется разработке экспресс-методов определения БПК с использованием биосенсорных анализаторов, основанных на применении микроорганизмов, способных метаболизировать широкий спектр органических соединений, что позволит провести интегральную оценку плотности загрязнения, значительно повысить операционную эффективность анализа и снизить его стоимость [2].

Для оценки общего количества органических примесей в природных и сточных водах целесообразно применение низкоселективных микробных сенсоров, например, на основе активного ила водоочистного предприятия, адаптированных к химическому составу тестируемых сточных вод, которые позволяют производить оценку индекса БПК. Однако БПК-биосенсоры на основе активного ила нестабильны в работе, так как биоценоз активного ила может меняться с течением времени. Поэтому эффективно в качестве биораспознающего материала для БПК-сенсора применять чистую культуру микроорганизмов, выделенных из активного ила. Это будет способствовать более эффективной биodeградации содержащихся в пробе органических соединений за счет расширения спектра окисляемых субстратов, и обеспечивать устойчивость биоматериала к воздействию негативных факторов окружающей среды и высокую стабильность рецепторного элемента.

Для повышения стабильности рецепторного элемента используют различные методы иммобилизации биоматериала. Одним из современных подходов для иммобилизации микроорганизмов является их микрокапсулирование, т. е. получение структур, представляющих собой клетки, окруженные полупроницаемой оболочкой [3].

Для получения таких материалов часто применяют золь-гель метод, который не требует энергоемкого, дорогостоящего оборудования, является экономичным и экологически чистым, а самое главное, реакции золь-гель синтеза протекают в мягких условиях, что важно для иммобилизации живых клеток микроорганизмов [4].

Ранее в нашем научном коллективе установлена возможность инкапсулирования дрожжей в органосиликатные матрицы с использованием золь-гель технологий, как способа получения стабильных гетерогенных биокатализаторов БПК-биосенсоров [5]. Впервые показано, что дрожжевые клетки участвуют в самоорганизованном формировании архитектуры гибридного материала, и в определенных условиях образуется структура «клетки в оболочке». Однако пока выявлены не все параметры и условия для направленного формирования таких структур.

При использовании поливинилового спирта (ПВС), как структуроуправляющего агента в золь-гель синтезе органомодифицированных материалов, возможно образование органосиликатных пленок благодаря способности ПВС формировать гидрогели. Однако оставалось неизвестным, возможно ли образование оболочки вокруг клеток микроорганизмов, выделенных из активного ила бактерий *Paracoccus yeei* ВКМ В-3302 (Р. уеи). Поэтому в работе провели иммобилизацию бактерий *P. yeei* в золь-гель матрицы различного состава и оценили морфологию получаемых биокатализаторов на основе иммобилизованных бактерий.

В работе были сформированы 7 гетерогенных биокатализаторов на основе клеток бактерий *Parasoccus yeii*, выделенных из активного ила, иммобилизованных в органосиликатную матрицу при использовании в качестве структуроуправляющего агента ПВС с различным соотношением тетраэтоксисилана (ТЭОС) и метилтриэтоксисилана (МТЭС): № 1 – 100/0, № 2 – 75/25, № 3 – 60/40, № 4 – 50/50, № 5 – 40/60, № 6 – 25/75 и № 7 – 0/100. С помощью оптической микроскопии в работе визуализировали морфологию органосиликатной матрицы в системах с различным содержанием МТЭС при использовании в качестве структуроуправляющего агента ПВС.

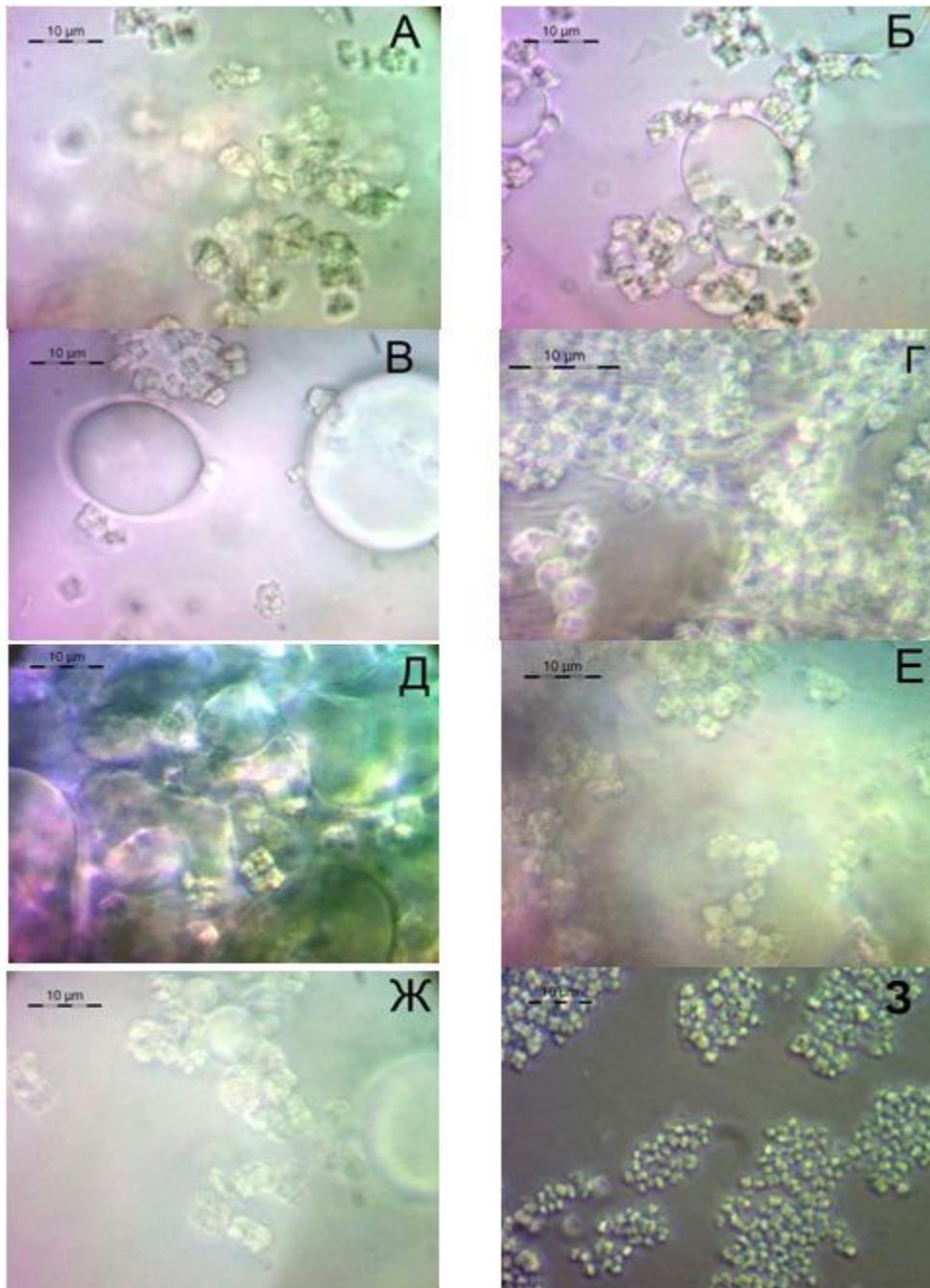


Рис. 1. Фотографии иммобилизованных бактерий в золь-гель матрицы, полученные с помощью оптической микроскопии с соотношением ТЭОС/МТЭС: А – 100/0; Б – 75/25; В – 60/40; Г – 50/50; Д – 40/60; Е – 25/75; Ж – 0/100; З – чистая культура бактерий *Parasoccus yeii*

При формировании матрицы с иммобилизованными бактериями *Paracoccus yeii* с соотношением силановых прекурсоров ТЭОС/МТЭС 100/0, 75/25, 60/40, 50/50, 40/60, 25/75 и 0/100 уменьшается плотность матрицы, что связано с увеличением концентрации гидрофобной добавки. Из рисунка 1а видно, что структура матрицы без гидрофобной добавки наиболее плотная, при увеличении содержания МТЭС появляются сферические частицы размером до 25 мкм. При формировании матрицы с соотношением силановых прекурсоров ТЭОС/МТЭС 25/75 и 0/100 формируется рыхлая матрица, из которой могут вымываться клетки микроорганизмов. Однако при использовании матрицы с соотношением ТЭОС/МТЭС 50/50 и 40/60 на поверхности сферических частиц находятся, по видимому, инкапсулированные клетки микроорганизмов. Возможно, при этих соотношениях происходит наиболее эффективная иммобилизация бактерий, но это требует дополнительных исследований.

В дальнейшем необходимо определить аналитические и метрологические характеристики биосенсора на основе разработанных гетерогенных биокатализаторов, полученных при иммобилизации в различные золь-гель матрицы бактерий *P. yeii*. А также оценить защитные функции образующейся капсулы вокруг бактерий *Paracoccus yeii* ВКМ В-3302, выделенных из активного ила.

*Работа выполнена в рамках Государственного Задания  
МИНОБРНАУКИ РФ (№ 0824\_2019-0007).*

#### ЛИТЕРАТУРА

ПНД Ф 14.1:2:3:4.123-97 Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений биохимической потребности в кислороде после n-дней инкубации (БПКполн.) в поверхностных пресных, подземных (грунтовых), питьевых, сточных и очищенных сточных водах

Ohshima H. On the electrophoretic mobility of biological cells / H. Ohshima, T. Kondo // *Biophys. Chem.* – 2001. V. 39, P. 191–198.

S. Rathore, P.M. Desai // *Microencapsulation of microbial cells* // *Journal of Food Engineering.* – 2013. V. 116, P. 369–381.

M. Blondeau, T. Coradin // *Living materials from sol-gel chemistry: current challenges and perspectives* // *Journal of Materials Chemistry* 2012, V. 22(42), P. 335–343.

О.Н. Понаморева, Е.Л. Афонина, О.А. Каманина, Д.Г. Лаврова, В.А. Арляпов, В.А. Алферов, А.М. Боронин // Дрожжи *Debaryomyces hansenii* в органосиликатной оболочке как основа гетерогенного биокатализатора // *Журнал Биотехнология* 2017, Т. 33, № 4, С. 44–53