

УДК 575.853 :543.25

## КЛЕТОЧНЫЙ ЭЛЕКТРОД И ЕГО АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ

© 1995г. Н.В. Седых

Ветеринарный институт, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 10.10.94

**Предложен новый способ создания клеточных электродов. Приведены принципы построения и расчёта клеточного электрода с электрофизическим преобразователем, а также особенности его функционирования и аналитические возможности.**

Клеточные электроды находят все более широкое применение в экспресс-исследованиях составов сложных, чаще всего биологических сред [1,2]. Ниже предлагается принципиально новый способ создания клеточных электродов и рассматриваются их аналитические возможности.

### ПРИНЦИПЫ ПОСТРОЕНИЯ И РАСЧЕТА КЛЕТОЧНОГО ЭЛЕКТРОДА С ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКИМ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЕМ

Для построения клеточного электрода предлагается использовать: а) принцип иммобилизации клеток электрическим полем в макропористом теле; б) принцип измерения электрофизических величин – диэлектрической проницаемости  $\epsilon'$  и угла диэлектрических потерь ( $tg \delta$ ) клеточного реактора на критических частотах релаксации двойного электрического слоя (ДЭС) иммобилизованных клеток. Эти принципы сформулированы на основе частотных исследований электрофизических свойств клеток микроорганизмов, выполненных нами ранее [3,4], и работы по электроудержанию клеток в пористых твердых средах [5]. На основе изложенных принципов ниже предлагается методика расчета такого клеточного электрода. Считаем, что иммобилизованная клетка эллипсоидальная с общим электрическим зарядом  $Q$  и полуосями  $a, b, c$ . Предположим, что среда имеет диэлектрическую проницаемость  $\epsilon'$ . С помощью специальных методов электростатики [6] рассчитаем потенциал  $\varphi$

и плотность заряда  $\rho$  на поверхности клетки на основе уравнения Лапласа. Получим

$$\varphi = \frac{Q}{2\epsilon\sqrt{a^2 - b^2}} \ln \frac{\sqrt{\xi + a^2} + \sqrt{a^2 - b^2}}{\sqrt{\xi + a^2} - \sqrt{a^2 - b^2}}$$

для клетки типа вытянутого эллипсоида ( $a > b = c$ ) и  $\xi$  – эффективный радиус шара аналогичного с эллипсоидом объема

$$\rho = -\frac{\epsilon}{4\pi} \frac{\partial \varphi}{\partial n} \Big|_{\xi=0}$$

где  $n$  – коэффициент деполяризации клетки в электрическом поле.

Вращательный момент  $J$ , действующий на иммобилизованную клетку, будет равен

$$J = \frac{abc(\epsilon_2 - \epsilon_1)^2 E^2 (3n - 1) \sin 2\theta}{\sigma[\epsilon_2 + \epsilon_1 + n(\epsilon_2 - \epsilon_1)][\epsilon_2 + (\epsilon_1 - \epsilon_2)n]}$$

где  $\epsilon_1$  – диэлектрическая проницаемость среды вне клеток,  $\epsilon_2$  – диэлектрическая проницаемость самих клеток,  $E$  – напряженность внешнего поля, удерживающего клетки,  $\theta$  – угол между направлением поля  $E$  и осью симметрии клетки.

Так как сила удержания (иммобилизация) клеток  $F$  пропорциональна  $J$ , т.е.  $F \approx kJ$ , то эффект удержания зависит в основном от напряженности внешнего поля и размеров клетки. Учитывая тот факт, что клетки в электроде – первый чувствительный элемент в этой измерительной системе, необходимо обеспечить свободный к ним доступ анализируемого вещества. Предлагаем

ступ анализируемого вещества. Предлагаемое планарное расположение токонесущих элементов в клеточном электроде (рис.1) отвечает наилучшему массообмену в нем.

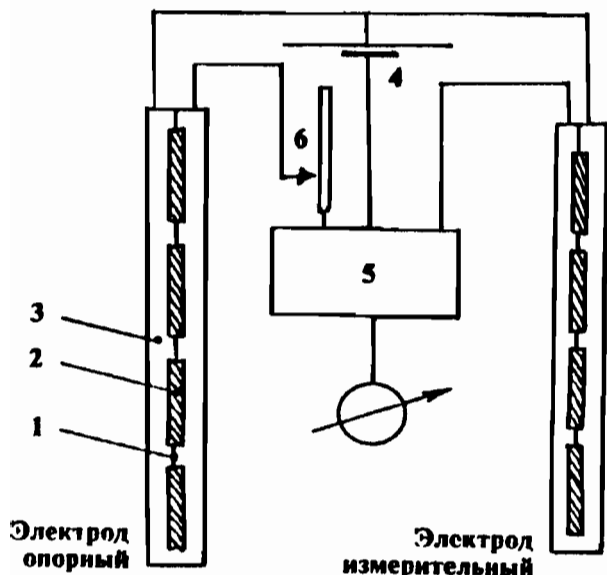


Рис.1. Конструкция клеточного электрода.

1-подложка электрода, 2-токонесущие пластины, 3-макропористый материал, 4-источник питания, 5-измерительный прибор, 6-реохорд.

Также с этой целью размеры пор макропористого твердого носителя клеток берутся в интервале 0,1 – 0,5 мм. Постоянная клеточного электрода  $\gamma$ , размеры токонесущих пластин ( $l, m$ ), а также расстояние между ними ( $d$ ) связаны между собой соотношением, анализ которого осуществляется известным из электростатики образом [7]

$$\gamma \approx 2\epsilon_1 \frac{K(k)}{K_1^1(k_1)} + (\epsilon_2 - \epsilon_1) \frac{K_1(k_1)}{K_1^1(k_1)},$$

где  $K, K_1^1, K_1, K^1$  – полные эллиптические интегралы с модулями  $k, k_1^1, k_1$  и  $k^1$  — соответственно, которые определяются значениями  $l, m$  и  $d$ . Расчеты показали, что иммобилизация клеток реализуется, когда на токонесущие пластины подается напряжение порядка 80-120 В/см.

Токонесущие пластины одновременно позволяют измерять электрофизические параметры зоны функционирования клеток. Такими параметрами могут быть удельная электропроводность ( $\rho_{уд}$ ), угол диэлектриче-

ских потерь ( $tg \delta$ ) и диэлектрическая проницаемость ( $\epsilon$ ).

### ИЗМЕРИТЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ С КЛЕТОЧНЫМ ЭЛЕКТРОДОМ, ОСОБЕННОСТИ ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Аналитические исследования с использованием клеточных электродов можно вести, лишь когда в измерительной системе присутствует электрод сравнения, либо опорный электрод (рис.2).

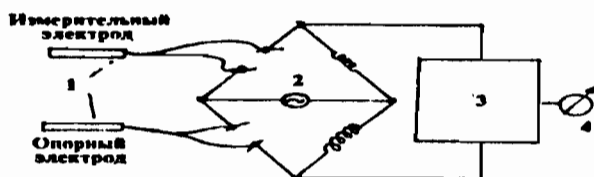


Рис.2. Схема включения клеточного электрода в измерительную цепь с токовым компаратором.

1-электроды, 2-измерительный мост, 3-блок сравнения токов, 4- измерительный прибор.

Измерительный электрод и опорный электрод включены в плечи R, C, L – автоматически уравнивающегося моста. Опорный электрод помещается в стандартную питательную среду, обеспечивающую функционирование клеток. Измерительный электрод помещается в анализируемую среду. Величина разбаланса моста несет информацию о составе анализируемой среды.

Практическая реализация количественных аналитических измерений на основе клеточных электродов осуществляется на базе хорошо известных чистых микробиологических культур. Электрофизический параметр для регистрации выбирается исходя из особенностей предполагаемых продуктов, которые синтезируют клетки в ответ на вводимое в среду анализируемое соединение. Так, если такие продукты сильно полярны, рекомендуется измерять величину  $\epsilon'$ , слабополярны –  $tg \delta$ . Если продукты представляют собой ионы, то рекомендуется определять электропроводность.

Как измерительный, так и опорный клеточные электроды включены в основную мостовую схему сравнения через свои локальные схемы сравнения, где кондуктометрическая или емкостная ячейка учитывает вклад

## Результаты аналитических определений клеточными электродами

Вид микроорганизмов в электроде	Вид исследуемой среды	Обнаруженное соединение	Концентрация обнаруженного соединения, М	Время одного определения, мин	Длительность функционирования электрода, сут
<i>Lactobacillus</i>	Культуральная среда	Витамин $B_1$	$8,5 \cdot 10^{-6}$	8	20
<i>Trichosporon brassicae</i>	Кровь	Этанол	$3 \cdot 10^{-5}$	3	26
<i>Sacch. cerevisiae</i>	Лимфа	Нистатин	$2,1 \cdot 10^{-5}$	5	21
<i>Streptococcus faecium</i>	Кровь	Холестерин	$4,0 \cdot 10^{-5}$	2	30
<i>Clostridium butyricum</i>	Промышленные стоки	Муравьиная кислота	$3,0 \cdot 10^{-6}$	11	25

от измерений электрофизических характеристик сред факторов, не связанных прямо с функционированием клеток.

Калибровка аналитической системы с клеточными электродами осуществляется обычным методом путем построения зависимости отсчетной величины ( $R$ ,  $\epsilon$  или  $tg \delta$ ) от концентрации анализируемого соединения в сложной смеси. Полученным калибровочным графиком можно пользоваться в практической работе.

Созданная аналитическая система с клеточными электродами и конечной регистрацией удельной электропроводности позволила определять различные органические соединения в сложных биосредах. Часть из полученных результатов приведена в таблице.

Как видно из таблицы, клеточные электроды позволяют определять самые различные соединения в сложных средах даже тогда, когда эти соединения находятся в исчезающе малых концентрациях.

В отличие от известных аналитических систем (газожидкостная хроматография и др.) клеточный электрод не разрушает и не разделяет исследуемую среду. Недостатком в работе клеточного электрода является короткий срок его службы. Однако, так как этот срок связан с микроорганизмом, то его замена позволяет продлить срок службы еще на такое же время. Операция замены микроорганизма в клеточном электроде может быть выполнена за 10 – 20 мин. Многократные испытания клеточных электродов показали, что в указанные сроки их функционирования метрологические характеристики и погрешность в измерениях колеблются в ин-

тервале не более 18 – 38%.

Основные направления, где оправдано применение клеточных электродов – это медицина, экология и биотехнология.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hikuta M., Suzuki H.* Application of microbial electrode to analysis of waste water // *Enzyme engineering*. New York; London. 1982. Vol.6. P.419–420.
2. *Guilbault G.G., Kauffman J.-M.* Enzyme based electrodes as analytical tools // *Biotechnol. Appl. Biochem.* 1987. Vol.9, №2. P.95–113.
3. *Седых Н.В.* Диэлектрические явления в водных растворах биоорганических соединений. Л., 1978. 223 с.
4. *Виноградов Е.Я. и др.* Диэлектрические и электропроводные свойства микроорганизмов // *Сибирский биол. журнал*. 1991. Вып.2. С.67–71.
5. *Гвоздяк П.И.* Электроудержание микроорганизмов // *Микробиология*. 1976. Т.45, №5. С.901–905.
6. *Богородицкий Н.П., Пасынков В.В., Тареев Б.М.* Электротехнические материалы. Л., 1977. 352 с.
7. *Русин Ю.С.* Метод приближенного расчета электрической емкости // *Электричество*. 1960. №11. С.48–50.