

# ДЕТЕКЦИЯ ЭТИЛОВОГО СПИРТА БИОСЕНСОРОМ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК GLUCONOBACTER OXYDANS В ПРОБАХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТАЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Архипова А.В.

Научный руководитель – к.х.н., доцент Решитилов А.Н.

*Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский федеральный университет, Красноярск*

Уксусная кислота - простейшая органическая кислота, неотъемлемая часть растительных и животных жиров. В небольших концентрациях она присутствует в продуктах питания и напитках, участвует в метаболических процессах при созревании фруктов. Для получения пищевой уксусной кислоты используется способность уксуснокислых бактерий окислять этиловый спирт.

В производстве уксусной кислоты для оптимального проведения технологического процесса необходимо иметь информацию о содержании этилового спирта, поскольку его снижение до определенного уровня свидетельствует о завершении процесса. Применение биосенсора на основе клеток микроорганизмов для оценки содержания указанной компоненты оптимизирует процесс производства и снизит за счет этого стоимость конечного продукта.

Целью данной работы являлось создание амперометрического микробного биосенсора для детекции этилового спирта.

В работе были использованы штаммы микроорганизмов *Gluconobacter oxydans* subsp. *industries* ВКМ В-1280 (предоставленные Всероссийской коллекцией микроорганизмов). Имобилизацию клеток осуществляли физической сорбцией на фильтрах из стекловолокна (тип GF/A, Whatman, Великобритания). Для этого 5 мкл клеточной суспензии, содержащей биомассу в концентрации 100 мг сырого веса/мл, наносили на фильтр и подсушивали при комнатной температуре в течение 20 мин. При формировании биосенсора биорецептор размером 3×3 мм<sup>2</sup> фиксировали на измерительной поверхности кислородного электрода Кларка (ООО «Кронас», Россия) с помощью капроновой сетки и прижимного кольца.

Измерения проводили в режиме открытой кюветы. В этом режиме для регистрации сигнала сенсора использовали гальваностат-потенциостат IPC2L, подключенный к компьютеру. Пробу (100 мкл) вносили в кювету объемом 2 мл. Измерения проводили при постоянном перемешивании. После регистрации отклика сенсора производили промывание ячейки фосфатным буферным раствором с pH=6.6. Регистрируемым параметром являлась максимальная скорость изменения сигнала (нА/с). Для обработки данных использовали программы IPC2L, SigmaPlot 10.0, Microsoft Excel.

Нами была исследована возможность анализа этилового спирта в растворе уксусной кислоты с помощью микробного биосенсора. В качестве рецепторного элемента был использован бактериальный штамм *G. oxydans* subsp. *industries* В-1280.

Получена градуировочная зависимость для этилового спирта. Диапазон детекции составил 0.003 – 0.1%, период измерения - 10-15 минут. В качестве оптимальной была выбрана концентрация этилового спирта - 0.025%. Для биорецептора на основе клеток штамма *Gluconobacter oxydans* subsp. произведена оценка воспроизводимости ответов. Коэффициент вариации откликов сенсора составил 10%. При оценке оптимального режима работы сенсора нами получены зависимости ответов сенсора от pH и ионной силы буферного раствора. Биорецептор позволял выполнять измерения без потери активности в диапазоне pH - от 3.2. до 6.6 и при ионной силе буферного раствора от 10 до 150 мМ.

В настоящее время проводится дальнейшее исследование свойств биосенсора на основе клеток *Gluconobacter oxydans* для детекции этилового спирта, но уже на данном этапе можно рассматривать этот сенсор как достаточно перспективный. Микробный биосенсор может быть применен для контроля этилового спирта в реальных образцах уксусной кислоты.