

## Использование биоэлектрoхимического потенциала для оценки функционального состояния дрожжей

С. Э. Мурик, Т. С. Лазарева, Е. В. Антонова, С. Э. Сергиенко  
ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, г. Иркутск

Оценка функционального состояния (ФС) микроорганизмов – остается актуальной задачей как для биотехнологических производств, так и для оценки экологической обстановки в водных средах. Одним из подходов здесь могло бы быть использования биопотенциалов, в частности мембранного потенциала, который тесно связан с работой ионных насосов, в свою очередь зависящей от состояния внутриклеточного метаболизма, в том числе энергетического. Однако, внутриклеточная регистрация мембранного потенциала с помощью микроэлектродов для оценки ФС микроорганизмов достаточно сложна для её широкого применения.

Целью настоящей работы было исследование возможности оценки ФС взвеси микроорганизмов макроэлектродным методом. Для этого было проведено исследование ФС дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* по данным электрохимического потенциала (ЭХП). Регистрацию ЭХП проводили с помощью хлорсеребряного (ЭВЛ-1МЗ.1) и платинового (ЭПВ-1) электродов (Гомельский завод измерительных приборов, Беларусь), являющихся соответственно электродами сравнения и измерения. Измерение потенциалов проводили между двумя стеклянными ячейками (объемом 100 мл) заполненными питательным раствором YEPD (yeast extract (5г/л), peptone (10г/л), dextrose (20г/л)) и соединенными между собой графитовым войлочным мостиком, в одну из которых вносились дрожжи (САФ-Момент, 2г). Регистрацию ЭХП проводили в течение 3-5 часов в сутки, периодически делая 1-мин измерения ЭХП с помощью измерителя Эксперт-001 (ООО "Эконикс-Эксперт", г. Москва). Всего один эксперимент продолжался 5 суток.

Дрожжи вносились в ячейку, где находился измерительный электрод, в первые же сутки эксперимента после 10 мин измерения исходной разности ЭХП. На 4-е сутки обе ячейки (одна с YEPD, другая с YEPD+дрожжи) нагревали на водяной бане в течение 30 минут. После достижения в ячейках 86 °С они выдерживались при данной температуре еще на протяжении 15 мин. После окончания высокотемпературной экспозиции и остывании растворов до 29 °С измерение ЭХП возобновлялось. Проведено три серии опытов. Статистическая обработка осуществлялась с использованием t-теста (критерий Стьюдента) для зависимых выборок. Данные представлены как среднее арифметическое ± ошибка среднего.

Результаты регистрации и анализа электрического потенциала между ячейками с помощью хлорсеребряного и платинового электродов показало, что ЭХП раствора YEPD равнялся +232±19 мВ. Внесение дрожжей в стакан с платиновым электродом привело к снижению ЭХП

уже за первые 10 минут более чем на 50 мВ ( $p=0,014$ ). Всего же в первый опытный день за три с половиной часа наблюдения ЭХП упал на  $283\pm 26,7$  мВ ( $p=0,01$ ). Развитие микроорганизмов в течение 3-х суток сопровождалось его дальнейшим уменьшением и приобретением отрицательных значений относительно электрода сравнения (см. Рис. 1). При этом в отдельных исследованиях снижение потенциала достигало более 450 мВ. Воздействие летальной для дрожжей температуры проявилось в уменьшении отрицательного потенциала на  $195\pm 67$  мВ.

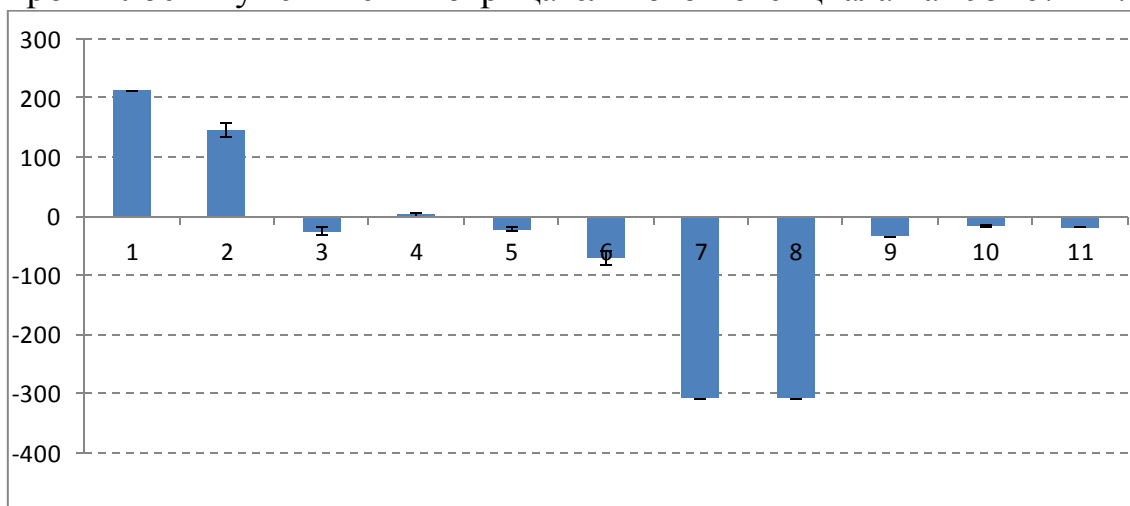


Рис.1. Величина средних значений ( $\pm$  ошибка среднего) ЭХП (мВ) за 10-мин периоды в течение 5 суток в одной из серий опытов до внесения дрожжей в стакан с платиновым электродом (1), после их внесения (2-8) и после водяной бани (9-11)

Регистрируемый при внесении дрожжей электрический потенциал в значительной части состоит из окислительно-восстановительного потенциала водного раствора питательной среды, в которой культивировали дрожжи, а также потенциала самих дрожжей. При гибели клеток, создаваемый течением жизненных процессов восстановительный потенциал, по всей видимости, исчезал.

Таким образом, полученные результаты позволяют с оптимизмом смотреть на возможность оценки ФС суспензий одноклеточных на основе регистрации и анализа биоэлектрохимического потенциала.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Немецкого научно-исследовательского сообщества в рамках научного проекта № 21-54-12022 «Структурно-функциональные взаимодействия электродоактивных биопленок в микробных топливных и электролизных элементах».

## THE USE OF BIOELECTROCHEMICAL POTENTIAL FOR ASSESSING OF FUNCTIONAL STATE OF YEAST

Murik S.E., Lazareva T.S., Antonova E.B., Sergienko S.E.

Irkutsk State University

Assessment of the functional state (FS) of microorganisms - remains an urgent task both for biotechnological industries and for assessing the ecological situation in aquatic environments. One approach here could be to use biopotentials, in particular membrane potential, which is closely related to the work of ion pumps, which in turn depends on the state of intracellular metabolism, including energy. The use of microelectrode technology is technically difficult and most likely will not allow assessing the total FS of microorganism systems.

The purpose of the work is to study the possibility of assessing FS of the suspension of microorganisms by a macroelectrode method. To do this, a study of FS of yeast *Saccharomyces cerevisiae* was carried out according to electrochemical potential (ECP).

A study of the FS of *Saccharomyces cerevisiae* was conducted on ECP data. ECP registration was carried out with Ag/AgCl and platinum electrodes. Potentials were measured between two glass cells filled with a YEPD nutrient solution and connected to each other by a graphite felt bridge, in one of which yeast was introduced. ECP registration was carried out for 3-5 hours per day, periodically taking 1-minute ECP measurements. Only one experiment lasted 5 days. Three series of experiments were conducted.

The results of recording the electrical potential showed that the ECP of the YEPD solution was  $+232 \pm 19$  mV. Introduction of yeast into a glass with a platinum electrode led to a decrease in ECP in the first 10 minutes by more than 50 mV ( $p = 0,014$ ). In total, on the first experimental day in three and a half hours of observation, ECP fell by  $283 \pm 26.7$  mV ( $p = 0.01$ ). The development of microorganisms during 3 days was accompanied by its further reduction and acquisition of negative values relative to the reference electrode. At the same time, in individual studies, the decrease in potential reached more than 450mV. The effect of yeast lethal temperature was manifested in a decrease in negative potential by  $195 \pm 67$  mV ( $p < 0,05$ ).

The obtained results make it possible to look optimistically at the possibility of evaluating FS suspensions of single cells based on the registration and analysis of bioelectrochemical potential.