

УДК 543.07:579.22:543.9

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦЕПТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ БИОСЕНСОРОВ ПРИ ДВУХ СПОСОБАХ ИММОБИЛИЗАЦИИ МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖЕЙ

© 2012 г. М. Г. Зайцев*, В. А. Арляпов*, В. А. Алфёров*, А. Н. Решетилов**

*Тульский государственный университет, г. Тула, 300600

** Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Московская обл., г. Пущино, 142290
e-mail: anaton@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 30.09.2011 г.

Рецепторные элементы биосенсора на основе дрожжевых клеток *Hansenula polymorpha* NCYC 495 In для определения этанола формировали, применяя два типа иммобилизации клеток: физическую адсорбцию на мембране из стекловолокон и пришивку на модифицированной нитроцеллюлозной мембране. Линейный диапазон определения этанола для биорецептора на основе дрожжей, адсорбированных на стекловолокне, составил 0.05–1.18 и 0.2–1.53 мМ для биорецептора на основе дрожжей, иммобилизованных на нитроцеллюлозной мембране. Рецепторные элементы на основе сорбированных клеток обладали в 2.5 раза более высокой долговременной стабильностью. Время отклика было в 1.5 раза меньше у клеток, иммобилизованных с помощью ДЭАЭ-декстрана и бензохинона. Результаты определения этилового спирта биосенсорами на основе иммобилизованных адсорбцией и пришивкой клеток, а также стандартным ареометрическим методом имели высокую корреляцию (0.998 и 0.997 соответственно для двух методов иммобилизации). Полученные результаты свидетельствуют о возможности рассматривать описанные модели рецепторных элементов биосенсоров как прототипы опытных образцов для выхода в практику.

Одной из важных аналитических задач является экспресс-определение содержания низших спиртов в образцах. Это определение выполняется в различных технологических процессах, например, в броидильном производстве этилового спирта, в процессах культивирования микроорганизмов при использовании спиртов в качестве источника углерода, при контроле качества спиртных напитков, в фармацевтической промышленности, в клиничко-токсикологических исследованиях [1]. Традиционные методы определения спиртов либо отличаются недостаточной точностью, либо трудоемки, дороги и характеризуются длительным временем анализа. Наиболее часто концентрацию спиртов определяют при помощи ареометра (спиртометра) или пикнометра [2, 3], однако этот метод не является селективным, так как наличие в растворе солей, углеводов и других примесей искажает результаты замера. Газовая хроматография, представляющая стандартный метод оценки спиртов [2, 3], является дорогостоящим методом и требует наличия квалифицированного персонала.

Актуальным направлением исследований является разработка метода анализа, который позволил бы упростить и удешевить процедуру определения указанных компонентов без потери точности и специфичности, а также обеспечить возможность их постоянного мониторинга в ре-

альных объектах. Перспективным подходом является развитие биосенсорной технологии [4]. К настоящему времени описано значительное количество моделей биосенсоров для детекции этанола и других алифатических спиртов, основанных на использовании ферментов [5, 6], в том числе алкогольоксидазы (АО). Источником АО, как правило, служат дрожжи *Candida boidini*, *Pichia pastoris*, *Pichia angusta*, *Hansenula polymorpha* [7]. Наряду с использованием АО достаточно часто используются целые клетки микроорганизмов. Их применение имеет ряд преимуществ, к которым относятся существенное сокращение стоимости анализа, простота выполнения иммобилизационных процедур и возможность осуществлять многостадийные реакции, при этом не требуется введения дополнительных экзогенных факторов [8]. Так, не претендуя на полноту рассмотрения, отметим некоторые особенности точных биосенсоров на основе клеток микроорганизмов. Иммобилизованные адсорбцией микроорганизмы *Pichia angusta* рассмотрены в работе [9]. В исследовании применена иммобилизация адсорбцией на стекловолоконную мембрану и использован способ получения различной селективности биосенсорной детекции за счет изменения условий культивирования биомассы. Многоканальный биосенсор на основе микроорганизмов *Gluconobacter oxydans*, *Pichia angusta* и *Saccharomy-*

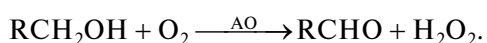
Ces bayanus позволял проводить анализ этанола в присутствии глюкозы, фруктозы и метанола [10]. Амперометрический биосенсор на основе клеток *Candida tropicalis*, иммобилизованных в желатин с использованием глутарового альдегида, имел широкий диапазон чувствительности и позволял проводить анализ этанола в диапазоне концентраций от 0.5 до 7.5 мМ [11]. Эти примеры, а также представленные в обзоре [8], свидетельствуют о возможности аналитического определения спиртов с помощью микробных биосенсоров. В настоящей работе представлялось важным ответить на вопрос о возможности иммобилизации именно микробных клеток на нитроцеллюлозную мембрану и произвести сравнительный анализ параметров полученных рецепторных элементов биосенсоров для различных вариантов иммобилизации.

Цель работы – создание и изучение характеристик амперометрического биосенсора для анализа этанола на основе клеток дрожжей, иммобилизованных различными способами: адсорбцией и иммобилизацией на химически модифицированной поверхности нитроцеллюлозной мембраны.

МЕТОДИКА

Биосенсорные измерения. Электрохимические измерения проводили с использованием гальванопотенциостата IPC 2L (“Кронас”, Россия), сопряженного с персональным компьютером под специализированным программным обеспечением IPC-micro той же фирмы для регистрации и обработки сигналов сенсоров. Средняя величина тока биосенсора в насыщенной окружающим воздухом дистиллированной воде, содержащей 9.2 мг/дм³ растворенного кислорода, при комнатной температуре составляла 30 нА при шуме преобразователя ±0.25 нА.

Измерения выполнены в кювете объемом 5 мл. Для измерений использовали натрий-калиевый фосфатный буфер, pH-7.6, концентрация солей – 60 мМ. Раствор перемешивали магнитной мешалкой (200 об/мин). Пробы вводили автоматическими микропипетками переменного объема 100–1000, 20–200 мкл (“GILSON”, Франция). Измеряемым параметром (откликом биосенсора) являлась максимальная скорость изменения выходного сигнала биосенсора при добавлении субстратов (нА/с), определение проводили по изменению содержания кислорода в приэлектродном пространстве согласно биохимической реакции, катализируемой АО дрожжевых клеток:



После каждого измерения электрод промывали буферным раствором в течение 5–10 мин для восстановления концентрации кислорода в при-

электродном пространстве до первоначального уровня.

Культивирование дрожжевых микроорганизмов.

В работе были использованы 4 штамма метилотрофных дрожжей: *Pichia angusta* ВКМ Y-2559, *Pichia angusta* ВКМ Y-2518, *Pichia angusta* ВКМ Y-1397, *Hansenula polymorpha* NCYC 495 In. Все штаммы были получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов ИБФМ РАН (г. Пушкино). Клетки выращивали на минеральной среде (г/л): (NH₄)₂SO₄ – 2.5, MgSO₄ – 0.2, K₂HPO₄ – 0.7, NaH₂PO₄ – 3.0, дрожжевой экстракт – 0.5 г, DL-лейцин – 0.17, глицерин – 8.3 мл, микроэлементы – 1 мл. Собранную биомассу хранили при 4°C.

Иммобилизация биоматериала. В работе использовали два способа иммобилизации микроорганизмов – на мембране из стекловолокон и на химически модифицированной с помощью ДЭАЭ-декстрана и бензохинона нитроцеллюлозной мембране.

Иммобилизация микроорганизмов адсорбцией на мембране из стекловолокон Whatman GF/A. Дрожжевые клетки ресуспендировали в калий-натрий фосфатном буферном растворе, pH-7.6, затем отбирали небольшое количество клеток (50–100 мг осажденной биомассы), разбавляли этим же буфером в соотношении 1 : 16 (по массе). Полученную суспензию наносили в количестве 5 мкл на фрагмент стекловолоконного фильтра GF/A (“Whatman”, Великобритания) размером 3 × 3 мм² и высушивали в течение 5–10 мин на открытом воздухе. Содержание осажденной биомассы в конечном биорецепторном элементе составляло ~30 мкг/мм². Полученный биорецептор закрепляли на мембране кислородного электрода защитным нейлоновым колпачком.

Иммобилизация микроорганизмов с помощью ДЭАЭ-декстрана и бензохинона на нитроцеллюлозной мембране. 200 мкл раствора бензохинона (0.5 М) смешивали с 10 мг ДЭАЭ-декстрана, при этом бензохинон присоединялся к гидроксильной группе мономера ДЭАЭ-декстрана (рис. 1).

Для дальнейшей работы отделяли систему ДЭАЭ-декстран–бензохинон (система А) от свободного бензохинона. Для этого использовали колонку с сефадексом G-25. Объем собранной фракции составлял 3 мл. На следующем этапе смешивали 400 мкл системы А и 100 мг осажденной биомассы. Суспензию тщательно перемешивали, при этом положительно заряженные аминогруппы ДЭАЭ-декстрана связывались с отрицательными зарядами на поверхности клеток, обусловленными наличием на поверхности карбоксильных групп аминокислот.

После перемешивания в систему помещали несколько фрагментов нитроцеллюлозной мембраны размером 3 × 3 мм² и оставляли в холодиль-

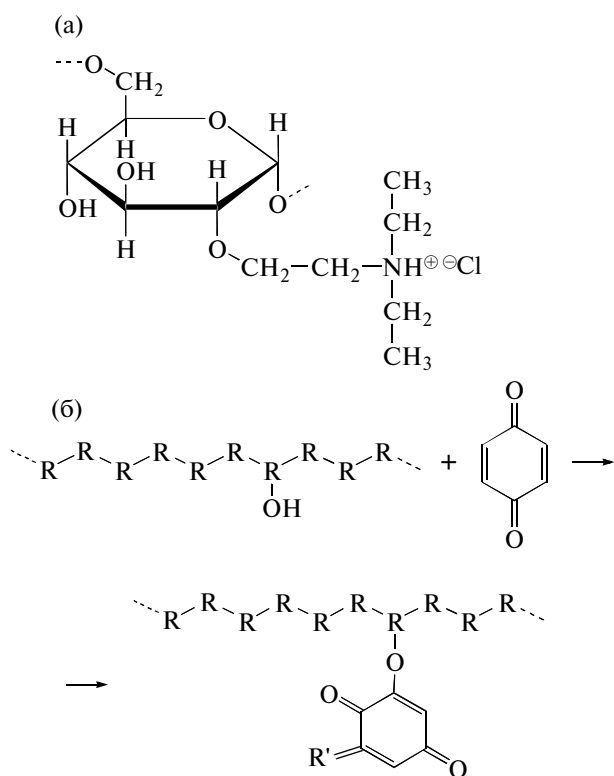


Рис. 1. Реакция присоединения бензохинона к ДЭАЭ-декстрану (а) и строение мономера ДЭАЭ-декстрана (б).

нике при +4°C на 24 ч. Предложенная схема иммобилизации клеток на поверхность мембраны представлена на рис. 2.

Мембрану с иммобилизованными клетками отмывали калий-натрий фосфатным буфером, рН 7.6, и закрепляли на поверхности электрода. Конечную плотность клеток на мембране при выполнении иммобилизации по данной методике оценить достаточно сложно и данный вопрос при выполнении работы нами не ставился. Можно лишь отметить, что биомасса, которая исходно вводилась в систему А, выбиралась из условия, что если посадка будет произведена без потерь клеток, то их плотность на биорецепторном элементе должна была составлять величину, равную 30 мкг/мм², т.е. как и предполагаемая плотность клеток на мембране GF/A при иммобилизации адсорбцией.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор дрожжевого штамма для создания микробных сенсоров. Для выбора штамма, наиболее подходящего для формирования рецепторного элемента биосенсора, провели оценку субстратной специфичности 4 штаммов метилотрофных дрожжей: *P. angusta* ВКМ Y-2519, *P. angusta* ВКМ

Y-1397, *P. angusta* ВКМ Y-2559, *H. polymorpha* NCYC 495 In. Дрожжевые клетки иммобилизовали на стекловолоконном фильтре GF/A и использовали в качестве биораспознающих элементов сенсора. Для проведения эксперимента использовали растворы субстратов одинаковой концентрации (2.5 мМ). Полученные результаты для четырех штаммов метилотрофных дрожжей представлены на рис. 3.

Рецепторные элементы обладали расширенной специфичностью, так как дрожжевые клетки, являясь сложным организмом с наличием множества разнообразных ферментов, способны окислять широкий спектр субстратов. В результате проведенных экспериментов было установлено, что наиболее подходящим для разработки биорецепторного элемента биосенсора является штамм *H. polymorpha* NCYC 495 In, так как он характеризовался наиболее выраженным ответом на присутствие в среде этилового спирта.

В работе [12] описано изготовление биораспознающих элементов на основе фермента алкоголь-оксидазы, иммобилизованного в модифицированную бензохиноном и ДЭАЭ-декстраном нитроцеллюлозную мембрану. Отрицательно заряженная молекула фермента прочно удерживалась положительно заряженной поверхностью модифицированной мембраны. Полученные таким образом биораспознающие элементы отличались высокой стабильностью и чувствительностью [13]. Мы предположили, что такой метод иммобилизации можно использовать и для создания биораспознающих элементов на основе целых клеток метилотрофных дрожжей. Поскольку метод иммобилизации может изменить субстратную специфичность биокатализатора, нами была определена субстратная специфичность дрожжей *H. polymorpha* NCYC 495 In, иммобилизованных на модифицированной нитроцеллюлозной мембране. Результаты показали, что субстратная специфичность иммобилизованных таким образом дрожжевых клеток не изменилась по сравнению с адсорбционным способом иммобилизации (данные не приведены).

Для определения рабочих параметров разработанных биорецепторов, построили градуировочные зависимости величины отклика биосенсора от концентрации этанола в анализируемом растворе (рис. 4). В приведенном примере кривая, полученная для клеток, иммобилизованных адсорбцией, располагалась выше, полученной при иммобилизации на нитроцеллюлозную мембрану. Для градуировочных зависимостей, построенных в одном масштабе, данный факт должен означать более высокую чувствительность рецепторных элементов, полученных адсорбцией, если предположить равенство концентраций клеток в элементах. Однако делать данный вывод было бы

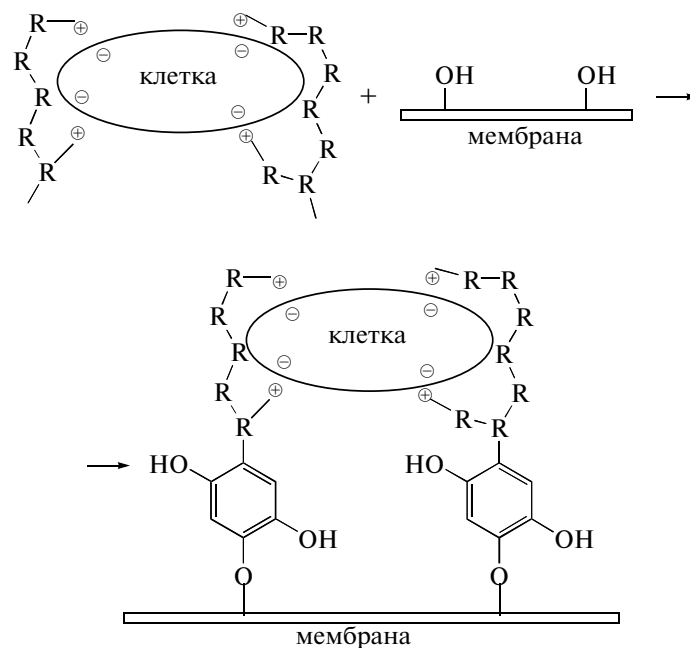


Рис. 2. Иммунизация клеток на поверхности модифицированной нитроцеллюлозной мембраны.

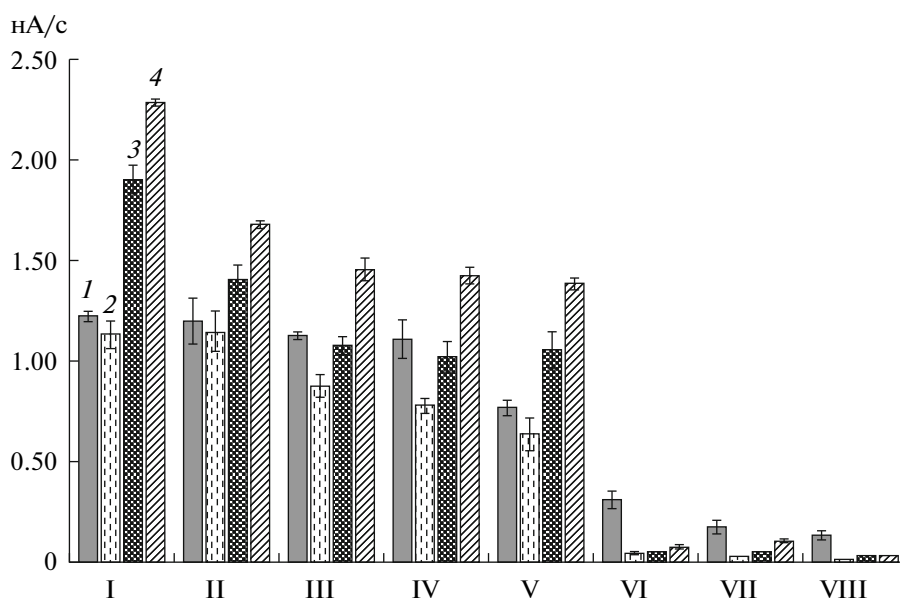


Рис. 3. Субстратная специфичность дрожжевых штаммов.

I – метанол, II – этанол, III – пропанол-1, IV – бутанол-1, V – метаналь, VI – глицерин, VII – глюкоза, VIII – фруктоза.

1 – *P. angusta* ВКМ У-2518, 2 – *P. angusta* ВКМ У-1397, 3 – *P. angusta* ВКМ У-2559, 4 – *H. polymorpha* NCYC 495 ln. Приведены средние значения величины откликов биосенсора для трех последовательных измерений.

преждевременно, поскольку количество биокатализатора, иммобилизованных клеток на рецепторных элементах, которое вносит вклад в чувствительность элемента, не определяли, а оно может быть различным. В этой связи можно утверждать, что полученные описанным методом биорецепторные элементы имеют чувстви-

тельность, равную 1.01 и 0.319 нА/с мМ, для иммобилизации адсорбцией и встраиванием с помощью комплекса бензохинон–ДЭАЭ–декстран соответственно.

Для описания кинетики ферментативных реакций в гомогенных условиях использовали гиперболическое уравнение Хилла с двумя парамет-

рами для получения кажущихся значений характеристик ферментов, находящихся в клетках [14], которое имеет вид:

$$R = \frac{R_{\max}[S]^h}{K_M^h + [S]^h},$$

где R_{\max} – максимальная скорость потребления кислорода иммобилизованными микроорганизмами, достигаемая при $[S] \rightarrow \infty$, K_M – эффективная константа Михаэлиса, т.е. концентрация субстрата, при которой $R = R_{\max}/2$, h – параметр Хилла.

Следует отметить, что поскольку от концентрации биокатализатора, или количества иммобилизованных клеток, зависят параметры R и R_{\max} , то их сравнение между собой для двух способов иммобилизации также не производили.

Для практических целей измерения снижение ошибок анализа достигают, как правило, проведением измерений в диапазоне, соответствующем линейному участку градуировочной зависимости. Этот диапазон ограничен сверху константой K_M . Нижняя граница линейного участка соответствует нижней границе определяемых концентраций и рассчитывается статистическим методом, исходя из значения относительного стандартного отклонения результатов измерения ($S_r(C) < 0.33$ [15]). В табл. 1 приведены характеристики рецепторных элементов для двух способов иммобилизации дрожжей *H. polymorpha* NCYC 495 In.

Следует отметить, что отклики биосенсора с биорецепторами, полученными как первым способом иммобилизации, так и вторым, оставались стабильными на протяжении 15 последовательных измерений, при этом относительное стандартное отклонение не превышало 3%. Однако для биорецептора с клетками, адсорбированными на GF/A на 21 сут использования величина от-

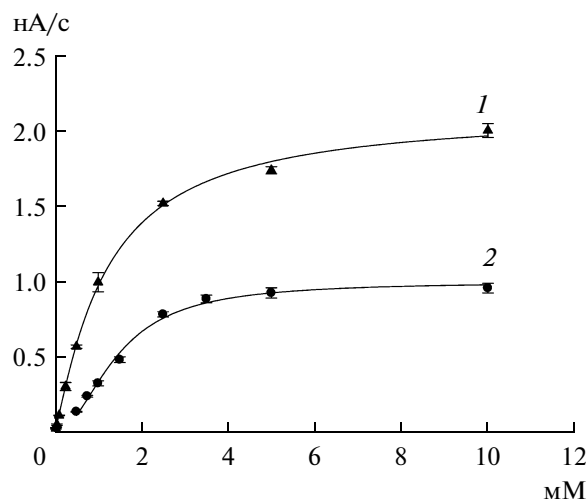


Рис. 4. Зависимость величины отклика биосенсора от концентрации этанола при использовании двух способов иммобилизации клеток метилотрофных дрожжей адсорбцией на GF/A (1) и иммобилизацией на нитроцеллюлозной мембране (2).

клика снижалась на 61% от первоначального значения, а для биорецептора с клетками, иммобилизованными на нитроцеллюлозной мембране величина отклика снижалась на 62% уже на 9 сут использования.

Важно отметить, что биорецепторный элемент на нитроцеллюлозной мембране обладал большей механической прочностью по сравнению с биорецептором на основе GF/A и его можно хранить отдельно от электрода, в то время как биорецептор с адсорбированными на GF/A микроорганизмами при снятии с электрода распадается на фрагменты. Такая особенность метода иммобилизации с использованием нитроцеллюлозной мембраны дает возможность поставлять пользователям готовые рецепторные элементы. Таким

Таблица 1. Сравнительная характеристика биосенсоров при использовании двух способов иммобилизации дрожжевых клеток

Характеристика биосенсора	Способ иммобилизации микроорганизмов	
	адсорбция на GF/A	иммобилизация на нитроцеллюлозной мембране
Нижняя граница определяемых концентраций, мМ	0.05	0.2
Верхняя граница определяемых концентраций, мМ	1.18	1.53
Коэффициент чувствительности, нА/с мМ	1.01	0.319
Повторяемость, отклонение от среднего значения за 15 измерений, %	3	3
Долговременная стабильность, сут	20	8
Время отклика, с	15–20	10–15
Время единичного измерения, с	350–400	250–300

Таблица 2. Определение содержания этанола в коммерчески доступных образцах алкогольной продукции

Анализируемый образец	Способ измерения концентрации этанола, об. %			
	биосенсор на основе клеток <i>H. polymorpha</i>		ареометр	заявленная производителем
	адсорбция на GF/A	иммобилизация на нитроцеллюлозной мембране		
Водка “Велес”	46 ± 2	44 ± 3	45.3 ± 0.5	40 ± 0.2
Вино “Рислинг”	12 ± 2	12 ± 2	10.0 ± 0.5	10.5
Вино “Ламбада”	11 ± 1	10 ± 1	10.0 ± 0.5	10.0
Портвейн “333”	18 ± 2	18 ± 1	17.5 ± 0.5	18

образом, оба способа иммобилизации имеют свои преимущества и могут быть использованы для разработки рецепторов биосенсоров на основе метилотрофных дрожжей для определения содержания низших спиртов. Биосенсорные анализаторы с разработанными биорецепторными элементами по аналитическим и метрологическим характеристикам не уступают зарубежным аналогам [12]. Нижняя граница определяемого содержания этанола с использованием разработанных рецепторных элементов почти в 100 раз ниже, чем нижняя граница концентраций, определяемых ареометрическим и пикнометрическим методами — 10 мМ, и в 1000 раз ниже нижней границы — 0.86 М, определяемой газохроматографическим методом [5].

При практическом тестировании полученных биорецепторных элементов определяли концентрацию этанола в образцах коммерческих алкогольных продуктов. В качестве реальных образцов спиртосодержащих жидкостей использовали несколько образцов вин и водку, изготовленную из спирта “Экстра”. Референтным методом определения этанола в анализируемом растворе был выбран ареометрический метод. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Результаты определения этилового спирта с помощью биосенсоров на основе иммобилизованных адсорбцией и пришивкой клеток и стандартным ареометрическим методом имели высокую корреляцию (0.998 и 0.997, соответственно для двух методов иммобилизации).

Исследованы методики формирования биорецепторных элементов, ранее хорошо зарекомендовавшие себя в работе с клетками рода *Gluconobacter* и ферментом алкогольоксидазой, с новым типом клеток, а именно, с метилотрофными дрожжами *H. polymorpha* 495 In. Биорецептор на основе этих клеток является основой для определения важного компонента многих процессов — этилового спирта. Показано, что биорецептор, полученный иммобилизацией клеток метилотрофных дрожжей сорбцией на мембране из стекловолокна, как и иммобилизацией этих же клеток

на нитроцеллюлозной мембране с помощью комплекса бензохинон–ДЭАЭ–декстран, позволяет получить рецепторные элементы, обладающие удовлетворительными параметрами — высокой чувствительностью, широким линейным диапазоном определения этанола в анализируемом образце, высокой долговременной стабильностью. Проведено определение спирта в реальных образцах спиртных напитков. Показано, что данные, полученные с использованием биосенсоров на основе микроорганизмов *H. polymorpha* 495In, иммобилизованных обоими способами, и стандартным ареометрическим методом характеризуются высоким значением коэффициента корреляции.

Полученные новые данные свидетельствуют о высокой степени сорбционного удерживания дрожжевых клеток мембраной из стекловолокна, а также о возможности фиксации клеток на поверхности нитроцеллюлозной мембраны. Решение практической задачи говорит о возможности применения разработанных биорецепторных элементов при создании недорогих и простых в обслуживании промышленных приборов для экспресс-анализа этанола в образцах алкогольной продукции и бродильных средах.

Работа выполнена при поддержке ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009–2013 годы”, Госконтракт № 16.740.11.0766, ФЦП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 годы ГК № 16.512.11.2126 и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых — кандидатов наук, договор № 16.120.11.4341-МК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сибирный В.А., Гончар М.В., Рябова О.В., Майдан М.М. // Микробиол. журн. 2005. Т. 67. № 4. С. 85–100.
2. Алфёров В.А., Арлянов В.А., Каманин С.С. // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2010. № 2. С. 247–255.

3. Арляпов В.А., Понаморева О.Н., Алфёров В.А. // Биотехнология. 2008. № 5. С. 84–91.
4. Terry L.A., White S.F., Tigwell L.J. // J. Agric. Food Chem. 2005. V. 53. № 5. P. 1309–1325.
5. Azevedo A.M., Prazeres D.M., Cabral J.M., Fonseca L.P. // Biosens. Bioelectron. 2005. V. 21. № 2. P. 235–47.
6. Wen G., Zhang Y., Shuang S., Dong C., Choi M.M. // Biosens. Bioelectron. 2007. V. 23. № 1. P. 121–9.
7. Gonchar M., Maidan M., Korpan Y., Sibirny V., Kotylak Z., Sibirny A. // FEMS Yeast Research. 2002. V. 2. P. 307–314.
8. Liang S., Wenzhao J., Changjun H., Yu L. // Biosens. Bioelectron. 2011. V. 26. P. 1788–1799.
9. Voronova E.A., Iliasov P.V., Reshetilov A.N. // Analytical Letters. 2008. T. 41. № 3. P. 377–391.
10. Арляпов В.А., Понаморева О.Н., Алфёров С.В., Алфёров В.А., Решетиллов А.Н. // Сенсорные системы. 2011. Т. 25. № 4. С. 352–360.
11. Акылмаз Е., Динçкая Е. // Biosens. Bioelectron. 2005. V. 20. № 7. P. 1263–1269.
12. Зайцев М.Г., Алфёров В.А., Кузнецова Т.А., Рогова Т.В., Горячева А.А., Понаморов К.А., Решетиллов А.Н. // Изв. ТулГУ. Естественные науки. 2008. № 2. С. 200–207.
13. Алфёров В.А., Зайцев М.Г., Понаморева О.Н., Кузнецова Т.А., Рогова Т.В., Решетиллов А.Н. // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 12. С. 1322–1329.
14. Kurganov B.I., Lobanov A.V., Borisov I.A., Reshetilov A.N. // Analitica Chimica Acta. 2001. T. 427. № 1. P. 11–19.
15. Гармаш А.В. Метрологические основы аналитической химии. М.: Московский государственный университет, 2005. 34 с.

Receptor Elements for Biosensors in Two Ways of Methylotrophic Yeast Immobilization

M. G. Zaitsev^a, V. A. Arlyapov^a, V. A. Alferov^a, and A. N. Reshetilov^b

^a Tula State University, Tula, 300600 Russia

^b Institute of the Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, pr. Nauki 5, Pushchino, Moscow oblast, 142292 Russia

e-mail: anaton@ibpm.pushchino.ru

Received September 30, 2011

Abstract—Receptor elements for biosensors based on *Hansenula polymorpha* NCYC 495 In yeast cells for ethanol assay were developed using two ways of cell immobilization, i.e., physical adsorption on a glass fiber membrane and covalent binding on a modified nitrocellulose membrane. The linear diapason of ethanol assays for a biosensor based on yeast cells adsorbed on glass fiber was 0.05–1.18; for a biosensor based on yeasts immobilized on a nitrocellulose membrane, 0.2–1.53 mM. Receptor elements based on sorbed cells possessed 2.5 times higher long-term stability. The time response was 1.5 times less for cells immobilized using DEAE-dextran and benzochinone. The results of ethyl alcohol assays using biosensors based on cells immobilized via adsorption and covalent binding, as well as using the standard areometric method, had high correlation coefficients (0.998 and 0.997, respectively, for the two ways of immobilization). The results indicate the possibility to consider the described models of receptor elements for biosensors as prototypes for experimental samples for practical use.

Сдано в набор 26.04.2012 г.	Подписано к печати 29.06.2012 г.	Формат 60 × 88 ¹ / ₈	
Цифровая печать	Усл. печ. л. 14.0	Усл. кр.-отт. 1.7 тыс.	Уч.-изд. л. 14.0
	Тираж 116 экз.	Зак. 507	Бум. л. 7.0

Учредитель: Российская академия наук, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН

Издатель: Академиздатцентр “Наука”, 117997 Москва, Профсоюзная ул., 90
 Оригинал-макет подготовлен МАИК “Наука/Интерпериодика”
 Отпечатано в ППП «Типография “Наука”», 121099 Москва, Шубинский пер., 6