

УДК 544.653.2+544.478.1+577.152.1

## ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРРИЦИАНИДА КАЛИЯ В КАЧЕСТВЕ МЕДИАТОРА ДЛЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОАНОДА НА ОСНОВЕ *Escherichia coli*<sup>1</sup>

© 2022 г. М. В. Дмитриева<sup>а, \*</sup>, А. С. Фрейман<sup>а</sup>, В. В. Сорокин<sup>а</sup>,  
А. А. Терентьев<sup>а</sup>, Е. В. Золотухина<sup>а, б</sup>

<sup>а</sup>Институт проблем химической физики, Черноголовка, Россия

<sup>б</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

\*e-mail: angel.maria@mail.ru

Поступила в редакцию 04.03.2022 г.

После доработки 30.03.2022 г.

Принята к публикации 31.03.2022 г.

В работе изучена возможность организации биоанода на основе живых клеток *Escherichia coli* при проведении биохимического окисления глюкозы. Показано, что феррицианид калия может выступать в качестве медиатора для данной биоэлектрокаталитической системы и при этом проявляется влияние концентрации медиатора на эффективность протекания биоэлектрохимической реакции с живыми клетками. Выявлено, что природа буферного раствора может оказывать влияние на электрохимические отклики исследуемой системы.

**Ключевые слова:** медиаторный биоэлектрокатализ, окисление глюкозы, редокс-медиатор, *E. coli*, феррицианид калия, микробные топливные элементы

DOI: 10.31857/S0424857022100048

### ВВЕДЕНИЕ

Биологические топливные элементы (БТЭ) – подкласс низкотемпературных топливных элементов, преобразующих химическую энергию окислителя в электрическую посредством биоэлектрокатализа [1]. Другим активно изучаемым устройством, в основе работы которого лежит биоэлектрокатализ, являются биосенсоры [2]. Известные биоэлектрокатализаторы можно разделить на 3 группы: чистые ферментные препараты, живые микроорганизмы и биомиметики [3–5]. Наиболее перспективными для практического использования при извлечении энергии из топлив на основе отходов растительного, животного и антропогенного происхождения являются микроорганизмы или их ансамбли (типа активного ила). Для биосенсоров чаще используют ферментные препараты или биомиметики, что резко удорожает их стоимость.

Ранее нами сообщалось об альтернативном ферментному типу биоэлектрокатализаторе – грубом белковом экстракте [6–9]. Такой экстракт, полученный из дезинтегрированной биомассы микроорганизмов, без разделения и выде-

ления отдельных ферментов, содержит в своем составе все необходимые ферментные и коферментные системы для окислительных реакций. Было показано, что для белкового экстракта, полученного из *Escherichia coli* ВВ (*E. coli*), наиболее стабильные результаты и высокие токовые отклики достигаются при использовании медиаторной системы на основе гексацианоферрата(III) калия.

Одним из актуальных вопросов, активно изучаемых в научной литературе, является механизм переноса электрона с ферментной системы на медиатор и с живых клеток на медиатор [4–11]. Если для ферментной системы можно предполагать близость этого механизма к сложной, но гомогенной окислительно-восстановительной реакции, то для микроорганизмов, работающих на эндоферментах, взаимодействие ферментов с медиатором возможно через различные механизмы. Оно может происходить через клеточную мембрану, т.е. через адсорбционные механизмы [10, 11], или путем переноса электронов при помощи эндогенных низкомолекулярных веществ (таких как феназины, фенон, флавины и т.д.) на экзогенные медиаторы, находящиеся в окружающей бактерий среде [4, 10]. Известно, что одни и те же медиаторы зачастую подходят и для ферментных систем, и для микроорганизмов [4]. В ряде работ было показано возможное применение

<sup>1</sup> Статья подготовлена для специального выпуска журнала, посвященного памяти выдающегося электрохимика Олега Александровича Петрия (1937–2021).

ние феррицианида калия для различных штаммов *Escherichia coli*: *E. coli* K 12 [15], *E. coli* HB101, *E. coli* (Migula) Castellani and Chalmers [16], *E. coli* Btr (NCIB 9485) [17], однако в некоторых сообщалось о негативном бактериостатическом эффекте, оказываемом феррицианидом калия на работу микробного топливного элемента [12–14]. В работе [18], напротив, оценивают влияние концентрации феррицианида калия на характеристики микробного топливного элемента, но при этом не анализируют токсичность данного медиатора.

Таким образом, данные по использованию феррицианида калия в качестве медиатора анодной реакции несколько противоречивы и относятся к микробным топливным элементам в целом, т.е. могут быть связаны и с другими компонентами топливного элемента. В связи с этим, важным вопросом представляется оценить роль концентрации этого медиатора на эффективность протекания биоэлектрокаталитического окисления глюкозы *E. coli* на биоаноде и оценить степень негативного воздействия медиатора, связанную с бактериостатическим и бактерицидным действием в отношении биоанода МТЭ.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

### Реагенты

$\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , KOH, TRIS (Sigma Aldrich, ч. д. а.) были использованы для приготовления буферных растворов в тридистиллированной воде (SZ97A Automatic third pure-water distillator, Shanghai Yarong Biochemistry instrument factory). Феррицианид калия (Alfa Aesar, >98%, ч. д. а.) был использован в качестве редокс-медиатора. Глюкоза (Avogadro, ос. ч.) была использована в качестве субстрата.

### Получение живых клеток *E. coli*

Бактерии выращивали в среде Lysogeny broth (LB), содержащей 1% (в/о) пептона Vasto™ (“BD”, США), 0.5% (в/о) дрожжевого экстракта Vasto™ (“BD”, США), 1% (в/о) NaCl и 0.1% (в/о) глюкозу. Колонию *E. coli* BB, выращенную на твердой среде (LB, 2% агар) инокулировали в 10 мл LB для получения ночной культуры. Ночную культуру (1 мл) вносили в 100 мл LB в 500-мл колбах и выращивали при 37°C при интенсивной аэрации. Через 6 ч после начала выращивания бактерии осаждали центрифугированием при 1700 g [6]. Осажденные бактерии ресуспендировали в 50 мМ калий-фосфатном буферном растворе, pH 7.2, из расчета 1 мл на 50 мл выращенной культуры. Далее клетки использовали в качестве биоэлектрокатализатора.

### Электрохимические измерения

Электрохимические эксперименты проводили на потенциостате Autolab PGSTAT 101 (“Metrohm”, Нидерланды) в стандартной стеклянной трехэлектродной ячейке с разделенными пространствами, содержащей 15 мл буферного раствора в качестве фонового электролита. В качестве буферной системы были испытаны 0.5 М калий-фосфатный буфер (pH 7.6) и 0.1 М буферный раствор TRIS (pH 7.2), подобранные для белковых экстрактов в [7]. Рабочим электродом был стеклоуглеродный электрод в форме диска площадью 0.07 см<sup>2</sup>. Потенциометрические измерения проводили относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода сравнения, отделенного от рабочего отделения ячейки стеклянной фриттой. Вспомогательным электродом служила платиновая фольга, также отделенная от рабочего отделения ячейки стеклянной фриттой (для исключения влияния процессов на противоэлектроде). Большинство экспериментов проводилось в инертной атмосфере, дегазирование осуществляли посредством линии Шленка. Активные вещества (медиатор, глюкоза, живые клетки) вводили непосредственно в ячейку, находящуюся под давлением аргона (20 мбар). Все измерения проводились в двух режимах поляризации: 1) потенциодинамический (циклическая вольтамперометрия со скоростью развертки потенциала 100 мВ/с); 2) потенциостатический (потенциал поляризации для феррицианида калия составил 0.5 В во всех измерениях). Измерения проводили при постоянном перемешивании раствора магнитной мешалкой (150 об/мин). Все измерения выполняли при температурном режиме 37°C, который поддерживался с помощью водяной бани с терморегулятором.

Зачистку рабочего электрода проводили посредством полирования на фетре (шероховатость 1 мкм) (FD 1, Escil; NFC, Kemet) с алмазной суспензией (1 мкм, Aka-Poly 1 μm, Akasel; 1 мкм, IPS, Escil), затем промывали тридистиллированной водой и этанолом, после чего в течение 10 мин подвергали ультразвуковой обработке в тридистиллированной воде для удаления алмазов с поверхности.

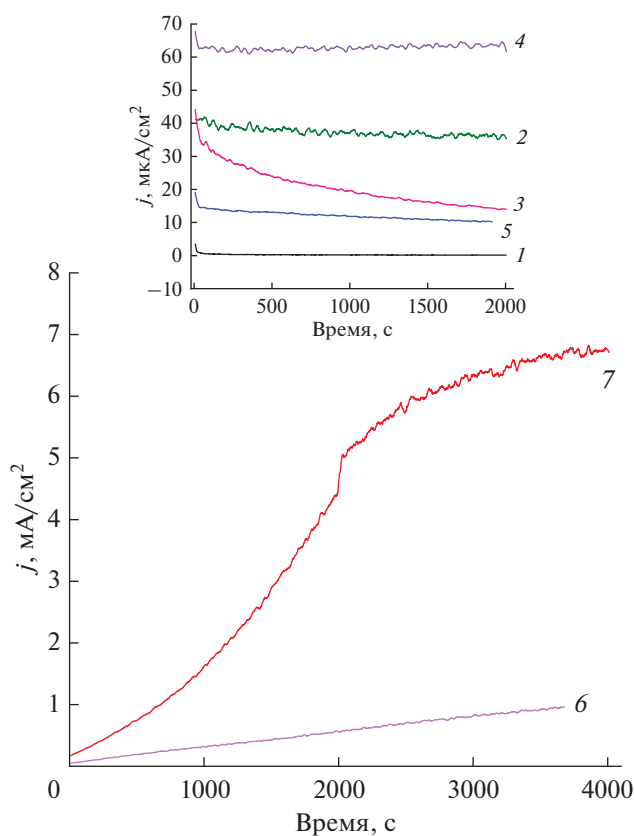
Дегидрогеназная активность в пересчете на 1 мг абсолютно сухих клеток в 1 мл буферного раствора *E. coli* составляет 1.01 мг/мл при концентрации клеток 0.79 мг/мл. При электрохимических испытаниях использовали 1 мл клеточной культуры *E. coli*, содержащей 0.79 мг клеток.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее [7, 9] были подобраны оптимальные условия (pH, температура, тип буферного раствора) для биоанодов на основе белковых экстрактов *E. coli*. В настоящей работе эти же параметры бы-

ли использованы для живых клеток *E. coli*. Сначала электрохимические измерения проводили в фосфатном буферном растворе в качестве электролита. Провели ряд холостых экспериментов с оценкой влияния каждого компонента рабочего раствора (медиатор, субстрат, живые клетки *E. coli*) на характер изменения токового отклика и установили, что измеряемые отклики находятся на уровне фонового тока (рис. 1, кривые 1–3). Токковые отклики в системе с медиатором и субстратом оказались несколько выше, чем у компонентов рабочего раствора по отдельности, но они также остаются на уровне фоновых (рис. 1, кривая 4). В системе, где в отсутствие медиатора живые клетки находились в контакте с 2 мМ раствором глюкозы, также не происходило роста токовых откликов (рис. 1, кривая 5), а в системе, где живые клетки были добавлены в раствор медиатора (рис. 1, кривая 6), начинался заметный постепенный рост токовых откликов, связанный с переработкой глюкозы, содержащейся в клеточной жидкости живых клеток *E. coli*. В клетки *E. coli* глюкоза поступает из питательной среды и чаще всего присутствует в виде глюкоза-6-фосфата, так как при прохождении через мембрану глюкоза фосфорилируется [19–22], а кроме того, глюкоза входит в состав полисахаридов, являющихся основным компонентом внешней мембраны грамотрицательных бактерий (липополисахарид) [23]. Наконец, в системе, где одновременно присутствовали все компоненты медиаторного биоанода, как и в случае с ферментативным экстрактом [6, 7], происходил резкий рост токовых откликов (рис. 1, кривая 7). Таким образом, полученные данные подтверждают медиаторный путь сопряжения биохимической и электродной реакций в исследуемой системе.

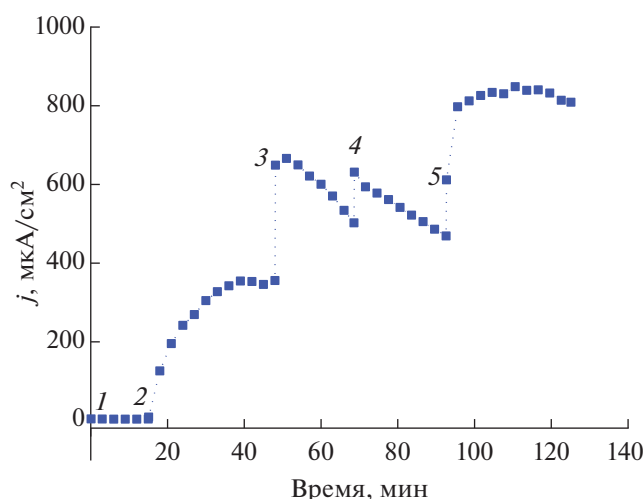
Для изучения влияния концентрации медиатора на эффективность протекания биоэлектрохимической реакции ее варьировали от 5 мМ до 0.2 М. Концентрацию медиатора в 5 мМ выбирали, исходя из данных с белковыми экстрактами, для которых при этой концентрации наблюдался нулевой порядок реакции по веществу (медиатор) [9]. Однако в системе с живыми клетками за 10 мин измерений наблюдалось полное обесцвечивание рабочего раствора, характерное для полного перехода медиатора из окисленной формы феррицианида (желтый) в восстановленную ферроцианида (прозрачный). Поскольку площадь электрода мала, то за счет электродной реакции концентрация окисленной формы медиатора в растворе не успевает восполниться, и ток становится предельно диффузионным по концентрации восстановленной формы медиатора, которая уже не зависит от скорости или полноты осуществления биохимической реакции в растворе (рис. 2, кривая 2).



**Рис. 1.** Зависимость плотности тока от времени на стеклоуглеродном электроде при потенциале поляризации 0.5 В в системах: (1) 2 мМ  $C_6H_{12}O_6$ , (2) 0.2 М  $K_3[Fe(CN)_6]$ , (3) 1.58 мг *E. coli*, (4) система (1) с добавлением 0.2 М  $K_3[Fe(CN)_6]$ , (5) система (3) с добавлением (2) мМ  $C_6H_{12}O_6$ , (6) система (3) с добавлением 0.2 М  $K_3[Fe(CN)_6]$ , (7) система (4) с добавлением 1.58 мг *E. coli*. Фоновый электролит 0.5 М калий-фосфатный буферный раствор (рН 7.6). Температура: 37°C.

Добавка окисленной формы медиатора в рабочий раствор до общей концентрации 10 мМ (рис. 2, кривая 3) привела к резкому возрастанию токовых откликов за счет быстрого перехода добавленного медиатора в восстановленное состояние в результате гомогенной реакции с ферментной системой микроорганизмов в растворе. Далее раствор стал вновь обесцвечиваться, а токовые отклики снижаться. Удвоение концентрации глюкозы не привело к существенным изменениям в токовых откликах (рис. 2, кривая 4). Повторное увеличение концентрации медиатора в рабочем растворе вдвое (рис. 2, кривая 5) вновь вызвало скачкообразный рост токового отклика системы, а последующее снижение плотности тока замедлилось.

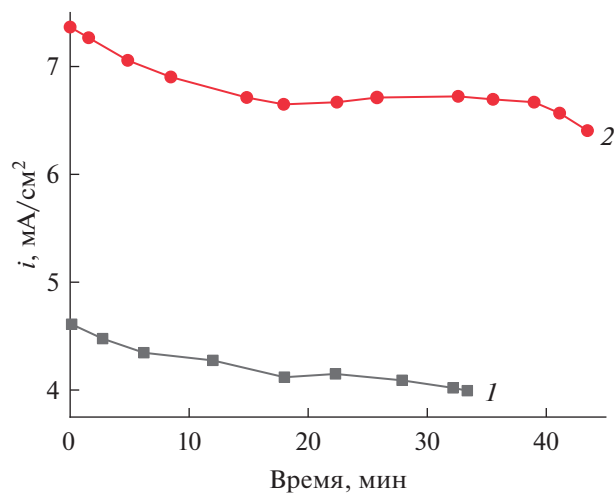
Увеличение концентрации медиатора на порядок, до 0.2 М, увеличило токовые отклики незна-



**Рис. 2.** Токвые отклики, полученные при потенциале поляризации 0.5 В на стеклоглеродном электроде в 0.5 М калий-фосфатном буферном растворе, pH 7.6. Состав растворов: (1) 5 мМ феррицианид калия и 2 мМ раствор глюкозы; (2) система (1) с добавлением 0.79 мг клеток *E. coli*; (3) система (2) с добавлением 5 мМ феррицианида калия; (4) система (3) с добавлением 2 мМ глюкозы; (5) система (4) с добавлением 10 мМ феррицианида калия. Температура 37°C.

чительно, до 1 мА/см<sup>2</sup>, но раствор перестал обесцвечиваться с течением времени, и ток стал стационарным. Последующие эксперименты с концентрацией феррицианида показали, что концентрация в 0.1 М является достаточной для 0.79 мг клеток. Учитывая дегидрогеназную активность экстракта и живых клеток (0.35 и 1.01 мг/мл, соответственно), получается, что для нулевого порядка реакции по концентрации медиатора для экстракта требуется 0.36 ммоль медиатора (25 мг K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) на единицу ДГА экстракта, тогда как для живых клеток необходимо 1.5 ммоль медиатора (490 мг феррицианида калия) на единицу ДГА клеток. Следовательно, система с живыми клетками является более активной с точки зрения превращения окисленной формы медиатора в восстановленную.

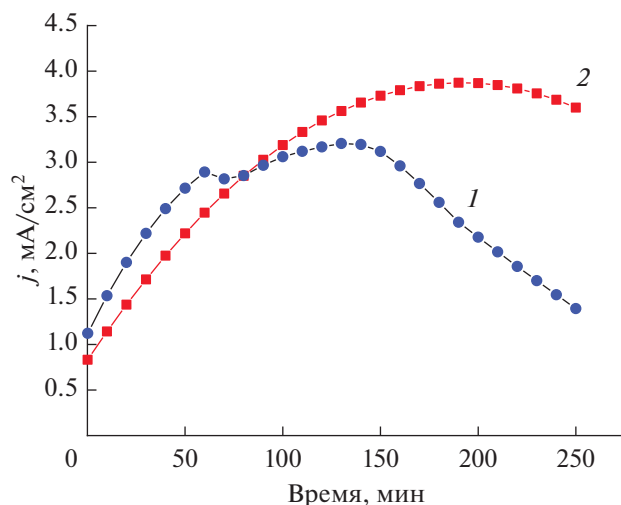
При удвоении концентрации клеток *E. coli* в рабочем растворе наблюдается резкий рост токовых откликов до 4.5 мА/см<sup>2</sup> (рис. 3, кривая 1), но затем токовые отклики снижаются. Вероятными причинами снижения токовых откликов являются пассивация поверхности стеклоглеродного рабочего электрода за счет адсорбции инактивных молекул или самих клеток микроорганизмов, а также расходование глюкозы и замедление биохимической реакции за счет возможного бактериостатического действия феррицианида. Однако, если за счет эффекта пассивации (уменьшение электроактивной площади) ограничивается скорость электрохимической реакции окисления



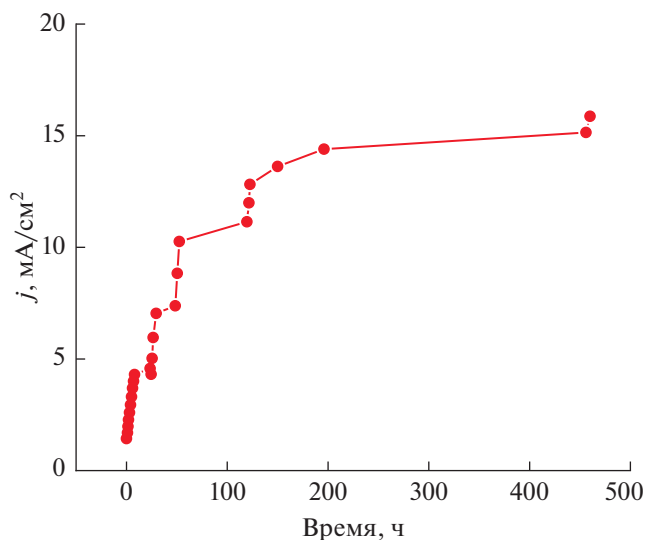
**Рис. 3.** Зависимость плотности тока от времени на стеклоглеродном электроде при потенциале поляризации 0.5 В в системе (1) 1.58 мг *E. coli*, 0.2 М K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], 2 мМ C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, (2) в той же системе после зачистки рабочего электрода. Фоновый электролит 0.5 М калий-фосфатный буфер (pH 7.6).

восстановленной формы медиатора на электроде, то протеканию реакций в растворе (окисление глюкозы ферментными системами *E. coli* и переход медиатора в восстановленную форму) ничего не мешает. В результате этого в растворе накапливается восстановленная форма медиатора, которая после зачистки электрода вступает в электрохимическую реакцию, что приводит к резкому росту измеряемых токов. Поэтому, как видно из рис. 3, после зачистки электрода (кривая 2) токовые отклики составляют примерно 7 мА/см<sup>2</sup>, но из-за повторной пассивации электрода вновь начинается снижение тока. Увеличение концентрации глюкозы, напротив, не приводит к значительным увеличениям плотности тока.

Поскольку для экстракта биомассы было обнаружено влияние состава буферной системы на биоэлектрохимическую активность [7], была сделана попытка оценить также аналогичное влияние для живых клеток. Концентрация медиатора при этом была выбрана оптимальная – 0.1 М, а состав буферной системы менялся. В качестве буферных растворов использованы 0.1 М TRIS и 0.1 М калий-фосфатный буферный раствор. Токвые отклики, генерируемые в буферной системе TRIS в качестве фонового электролита, изначально были выше (рис. 4, кривая 1), чем при использовании в аналогичных условиях калий-фосфатного буфера (кривая 2). Однако со временем наблюдалось угнетение токовых откликов, в то время как для системы с калий-фосфатным буферным раствором отмечалось постепенное возрастание и стабилизация тока. Так, через 4 ч для системы на основе TRIS плотность тока упала до



**Рис. 4.** Токовые отклики, полученные при потенциале поляризации 0.5 В на стеклоуглеродном электроде в 0.1 М буферном растворе TRIS pH 7.2 (1), в 0.1 М калий-фосфатном буферном растворе pH 7.6 (2). Состав рабочего раствора: 0.79 мг клеток *E. coli*, 2 мМ глюкозы и 0.1 М феррицианида калия. Температура 37°C.



**Рис. 5.** Токовые отклики, полученные при потенциале поляризации 0.5 В на стеклоуглеродном электроде в 0.5 М калий-фосфатном буферном растворе pH 7.6. Состав рабочего раствора: 0.79 мг клеток *E. coli*, 2 мМ глюкозы и 0.1 М феррицианида калия. Температура 37°C.

1.5 мА/см<sup>2</sup>, а для системы на основе калий-фосфатного буферного раствора плотность тока возросла до 3.5 мА/см<sup>2</sup>. При этом в системе с буферным раствором TRIS раствор приобретал зеленый цвет и ядовитый запах, что, очевидно, негативно сказывалось как на электрохимическом поведении системы, так и на стабильности работы живых клеток в биохимической реакции. Следует отметить, что и концентрация буферного раствора сильно влияет на получаемые электрохимические отклики. Так, для 0.1 М калий-фосфатного буферного раствора и для 0.5 М раствора того же состава токовые отклики отличаются в 2 раза (см. рис. 3, кривая 2 и рис. 4, кривая 2).

Поскольку в ряде работ говорится о негативном бактерицидном действии медиатора феррицианида калия на клетки микроорганизмов [12–14], то для ответа на вопрос о таком воздействии в исследуемой системе выполнили длительные эксперименты с периодическим измерением тока на рабочем стеклоуглеродном электроде, помещаемом в ячейку в заданные интервалы измерения. Как видно из рис. 5, через 196 ч токовые отклики выходят на стационарный уровень и даже спустя более 400 ч непрерывной работы ячейки токовые отклики не снижаются. Таким образом, негативное (бактерицидное) действие феррицианида для биоанода с живыми клетками *E. coli* ВВ не проявляется. Более 450 ч эксперимент в тех же условиях не проводили из-за практически полного исчерпания концентрации феррицианида в ячейке и его полного перехода в восстановленную форму. Добавка новой порции феррицианида к раствору привела к новому росту

токовых откликов до уровня 24 мА/см<sup>2</sup>, что подтверждает сохранение активности клеток *E. coli* при длительном контакте с раствором феррицианида.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате тестовых экспериментов было обнаружено, что биоанод, организованный на основе биохимической реакции окисления глюкозы живыми клетками *E. coli*, работает по принципу электрокатализа, осуществляемого по медиаторному механизму. Было подтверждено, что феррицианид-ион проявляет в реакции с живыми клетками схожую активность, как обнаруженная ранее для белкового экстракта на основе *E. coli*. Был обнаружен ряд факторов, оказывающих влияние на характеристики изучаемого биоанода:

1. Как и для белкового экстракта, проявляется влияние концентрации медиатора на эффективность протекания биоэлектрохимической реакции с живыми клетками. Так, для использования экстракта достаточно использовать 0.36 ммоль медиатора на единицу дегидрогеназной активности для обеспечения нулевого порядка реакции по медиатору, тогда как для живой клеточной культуры *E. coli* — 1.5 ммоль.

2. Негативный фактор, сказывающийся на продолжительности работы биоанода, — постепенная пассивация поверхности электрода инактивными компонентами системы, что приводит к падению токовых откликов в системе.

3. Интересным фактом стало обнаруженное влияние природы буферного раствора на электрохимические отклики исследуемой системы.

4. Длительные испытания токовых откликов биоанода показали, что феррицианид калия не оказывает заметного бактерицидного или бактериостатического действия, следовательно, обнаруженные и описанные ранее в литературе эффекты негативного воздействия феррицианида калия как медиаторной системы могли быть обусловлены взаимодействием медиатора с другими компонентами микробного топливного элемента.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием оборудования и ресурсов Центра компетенций Национальной технологической инициативы при ИПХФ РАН.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа Дмитриевой Марии была поддержана стипендией Президента Российской Федерации № СП-2619.2018. Работа соавторов выполнена в рамках государственного задания (номер госрегистрации ААААА 19-119061890019-5).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aquino Neto, S. and De Andrade, A. R., New energy sources: the enzymatic biofuel cell, *J. Brazilian Chem. Soc.*, 2013, vol. 24, no. 12, p. 1891.
2. Rocchitta, G., Spanu, A., Babudieri, S., Latte, G., Madeddu, G., Galleri, G., Nuvoli, S., Bagella, P., Demartis, M.I., Fiore, V., Manetti R., and Serra, P.A., Enzyme biosensors for biomedical applications: Strategies for safeguarding analytical performances in biological fluids, *Sensors*, 2016, vol. 16, no. 6, p. 780.
3. Adachi, T., Fujii, T., Honda, M., Kitazumi, Y., Shirai, O., and Kano, K., Direct electron transfer-type bioelectrocatalysis of FAD-dependent glucose dehydrogenase using porous gold electrodes and enzymatically implanted platinum nanoclusters, *Bioelectrochemistry*, 2020, vol. 133, p. 107457.
4. Slate, A.J., Whitehead, K.A., Brownson, D.A.C., and Banks, C.E., Microbial fuel cells: An overview of current technology, *Renewable and Sustainable Energy Rev.*, 2019, vol. 101, p. 60.
5. Simmons, T.R., Berggren, G., Bacchi, M., Fontecave, M., and Artero, V., Mimicking hydrogenases: From biomimetics to artificial enzymes, *Coordination chem. rev.*, 2014, vol. 270, p. 127.
6. Дмитриева, М.В., Золотухина, Е.В., Герасимова, Е.В., Терентьев, А.А., Добровольский, Ю.А. Дегидрогеназная и электрохимическая активности экстрактов *Escherichia coli*. *Прикл. биохимия и микробиология*. 2017. Т. 53. № 4. С. 458. [Dmitrieva, M.V., Zolotukhina, E.V., Gerasimova, E.V., Terent'ev, A.A., and Dobrovolskii, Y.A., Dehydrogenase and electrochemical activity of *Escherichia coli* extracts, *Appl. Biochem. and Microbiol.*, 2017, vol. 53, no. 4, p. 458.]
7. Дмитриева, М.В., Герасимова, Е.В., Терентьев, А.А., Добровольский, Ю.А., Золотухина, Е.В. Электрохимические особенности медиаторного биоэлектрокаталитического окисления глюкозы новым типом биоэлектродкатализатора. *Электрохимия*. 2019. Т. 55. С. 1111. [Dmitrieva, M.V., Gerasimova, E.V., Terent'ev, A.A., Dobrovolskii, Y.A., and Zolotukhina, E.V., Electrochemical Peculiarities of Mediator-Assisted Bioelectrocatalytic Oxidation of Glucose by a New Type of Bioelectrocatalyst, *Russ. J. Electrochem.*, 2019, vol. 55, p. 889.]
8. Dmitrieva, M.V. and Zolotukhina, E.V., Data describing the cofactor additives effect on bioelectrocatalytic activity of "crude" extracts, *Data in Brief*, 2020, vol. 30, p. 105513.
9. Дмитриева, М.В., Шишов, И.Н., Шмалий, С.В., Мязин, В.Д., Баженов, А.Ю., Герасимова, Е.В., Золотухина, Е.В. Кинетика медиаторного биоэлектродкаталитического окисления глюкозы белковыми экстрактами *Escherichia coli*. *Электрохимия*. 2020. Т. 56. С. 1034. [Dmitrieva, M.V., Shishov, I.N., Shmalii, S.V., Myazin, V.D., Bazhenov, A.Yu., Gerasimova, E.V., and Zolotukhina, E.V., Kinetics of Mediated Bioelectrocatalytic Oxidation of Glucose by Protein Extracts of *Escherichia coli*, *Russ. J. Electrochem.*, 2020, vol. 56, p. 938.]
10. Ortiz-Martínez, V.M., Salar-García, M.J., De Los Ríos, A.P., Hernández-Fernández, F.J., Egea, J.A., and Lozano, L.J., Development in microbial fuel cell modeling, *Chem. Engineering J.*, 2015, vol. 271, p. 50.
11. Tayhas, G., Palmore, R., and Whitesides, G.M. *Microbial and Enzymatic Biofuel Cells*, Department of Chemistry, Harvard University, 1994. p. 271.
12. Penteado, E.D., Fernandez-Marchante, C.M., Zaiat, M., Gonzalez, E.R., and Rodrigo, M.A., On the effects of ferricyanide as cathodic mediator on the performance of microbial fuel cells, *Electrocatalysis*, 2017, vol. 8, no. 1, p. 59.
13. Adebule, A.P., Aderiye, B.I., and Adebayo, A.A., Improving bioelectricity generation of microbial fuel cell (MFC) with mediators using kitchen waste as substrate, *Ann. Appl. Microbiol. Biotechnol. J.*, 2018, vol. 2, no. 1, p. 1008.
14. Parkash, A., Aziz, S., and Soomro, S.A., Utilization of sewage sludge for production of electricity using mediated salt bridge based dual chamber microbial fuel cell, *J. Bioprocessing and Biotechniques*, 2015, vol. 5, no. 8, p. 1.
15. Park, D.H. and Zeikus, J.G., Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore, *Appl. and environmental microbiol.*, 2000, vol. 66, no. 4, p. 1292.
16. Wang, C.T., Chen, W.J., and Huang, R.Y., Influence of growth curve phase on electricity performance of microbial fuel cell by *Escherichia coli*, *Internat. J. hydrogen energy*, 2010, vol. 35, no. 13, p. 7217.

17. Delaney, G.M., Bennetto, H.P., Mason, J.R., Roller, S.D., Stirling, J.L., and Thurston, C.F., Electron-transfer coupling in microbial fuel cells. 2. performance of fuel cells containing selected microorganism–mediator–substrate combinations, *J. chem. technol. and biotechnol. Biotechnology*, 1984, vol. 34, no. 1, p. 13.
18. Wei, L., Han, H., and Shen, J., Effects of cathodic electron acceptors and potassium ferricyanide concentrations on the performance of microbial fuel cell, *Internat. J. hydrogen energy*, 2012, vol. 37, no. 17, p. 12980.
19. Ferenci, T., Adaptation to life at micromolar nutrient levels: the regulation of *Escherichia coli* glucose transport by endoinduction and cAMP. *FEMS microbiology reviews*, 1996, vol. 18, no. 4, p. 301.
20. Notley-McRobb, L., Death, A., and Ferenci, T., The relationship between external glucose concentration and cAMP levels inside *Escherichia coli*: implications for models of phosphotransferase-mediated regulation of adenylate cyclase, *Microbiology*, 1997, vol. 143, no. 6, p. 1909.
21. Han, M.J. and Lee, S.Y., The *Escherichia coli* proteome: past, present, and future prospects, *Microbiol. and molecular biol. rev.*, 2006, vol. 70, no. 2, p. 362.
22. Olden, K. and Goldberg, A.L., Studies of the energy requirement for intracellular protein degradation in *Escherichia coli*, *Biochim. et Biophys. Acta (BBA)-General Subjects*, 1978, vol. 542, no. 3, p. 385.
23. Atlas, R.M., *Principles of Microbiology*, 2nd ed.; Wm. C. Brown: Dubuque, IO, 1997, p. 109.