

ВПЛИВ СЕРЕДОВИЩА НА КАТАЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ЛАККАЗИ *TRAMETES VERSICOLOR*

О. С. Цяпало, Ю. О. Лесишина, О. М. Шендрік

Лакказа – фермент, що знайшов застосування в біотехнології, зокрема в паперово-целюлозній, текстильній, косметичній промисловості, в тонкому органічному синтезі та знешкодженні фосфорорганічних речовин. Лакказа *Trametes versicolor* має високий окислювальний потенціал і відносно низьку субстратну специфічність. Тому число субстратів, які фермент може використовувати як відновники кисню, є значним. Пошук нових субстратів лаккази розширює можливості її застосування в різних технологічних процесах. Число субстратів також можна розширити шляхом підбору медіаторів, окислені форми яких утворюються в активному центрі ферменту і можуть регенеруватися за рахунок окислення речовин, не здатних з ним зв'язуватися.

Субстрати лакказ (феноли, бензилові спирти, лігніни і т.і.) і їх медіатори являються, як правило, ліпофільними. Сам же фермент, навпаки, розчиняється і проявляє каталітичну активність у воді. Це значно обмежує можливості практичного застосування лакказ і потребує спеціального вивчення проблеми створення прийнятної для реалізації процесів лакказного окислення органічних субстратів водно-органічного середовища.

Крім цього, як і більшість ферментів, лакказа чутлива до рН середовища.

Виходячи із сказаного, метою роботи було дослідження впливу факторів середовища (рН, склад розчинника) на кінетику реакції окиснення субстратів молекулярним киснем за участю лаккази. Об'єкт дослідження – лакказа *Trametes Versicolor*. Субстрати окислення: гідрохінон, кверцетин, 7,8-діокси-4-оксиметилкумарин. Лакказне окиснення фенолів проводили в цитратній буферній системі (рН 3÷6) за атмосферного тиску та температури 308 К. Як органічну складову середовища використовували етанол, ацетонітрил, диметилсульфоксид (ДМСО). Метод дослідження кінетики реакції – UV-Vis - спектроскопія.

Вплив факторів середовища на активність лаккази оцінювали виходячи зі зміни величин кінетичних параметрів ферментативного окислення субстратів – максимальної швидкості V_{max} та константи Міхаеліса K_m . Розрахунок початкової швидкості V_0 ферментативної реакції проводили за початковою прямолінійною ділянкою кінетичної кривої.

Показано, що швидкість окислення органічних субстратів за участі лаккази залежить від рН середовища. Залежність V_{max} від рН має класичний дзвіноподібний характер. Отримані дані свідчать, що оптимум активності лаккази *Trametes Versicolor* по відношенню до досліджених субстратів знаходиться в межах рН 4÷4.7.

Додавання органічних розчинників у реакційну суміш зменшує початкову швидкість окислення фенолів. Отримані дані свідчать, що за однакового вмісту органічного розчинника, вплив останніх на активність лакказного окислення зменшується в ряду етанол>ацетонітрил>ДМСО. Отже, при вмісті органічного розчинника до 20 % в реакційному середовищі каталізованого лакказою окислення доцільним є використання саме ДМСО.

Отримані дані були використані в подальших дослідженнях окислювальних лакказо-медіаторних системах.