

КІНЕТИКА ВИТРАЧАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСНЮ В РЕАКЦІЇ ЛАККАЗНОГО ОКИСНЕННЯ ПОХІДНИХ КУМАРИНУ

*Сергєєва Ю. Ю.*¹, Цяпало О. С.¹, Лєсїшина Ю. О.¹, Фрасїнюк М. С.², Шендрїк О. М.¹

¹Донецький національний університет імені Василя Стуса

²Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
serheieva.yu@donnu.edu.ua

В роботі методом амперометричної киснетрії досліджено кінетику витрачання кисню у каталізованому лакказою *Trametes versicolor* процесі ферментативного окиснення вперше синтезованих похідних кумарину – 7,8-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину (7,8-ДГ-4-ГМК), 6,7-дигідрокси-4-гідроксиметилкумарину (6,7-ДГ-4-ГМК) та 6,7-дигідрокси-4-метилкумарину (6,7-ДГ-4-МК).

Ферментативне окиснення похідних кумарину проводили в цитратному буферному розчині за pH = 4,5, температури 308 К та тиску 740 ± 3 мм.рт.ст. Концентрацію молекулярного кисню, розчиненого в реакційному середовищі, визначали за допомогою термооксиметру «Експерт-001», обладнаного електродом Кларка. Вміст ферменту становив 58 мг/мл; концентрація похідних кумарину варіювалась в діапазоні (0.95÷2.9)×10⁻⁴ М.

Типові кінетичні криві витрачання кисню у процесі лакказного окиснення кумаринів, на прикладі 7,8-ДГ-4-ГМК, представлені на рисунку. Після їх апроксимації поліномом за величину початкової швидкості реакції приймали коефіцієнт при першому ступені часу. Максимальну швидкість (V_{max}) та константу Міхаеліса (K_M) розраховували за допомогою рівняння Міхаеліса-Ментен, ліанеаризованого у подвійних обернених координатах Лайнуївера-Берка. Результати наведені в таблиці.

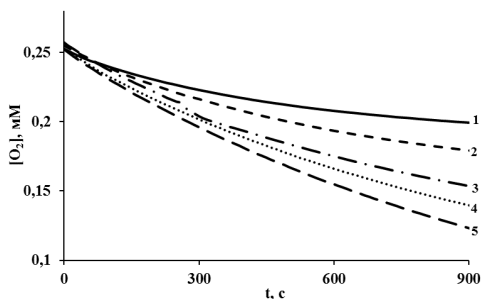


Рис. Кінетичні криві витрачання кисню в реакції лакказного окиснення 7,8-ДГ-4-ГМК за його різних вихідних концентрацій.

[7,8-ДГ-4-ГМК] = 0.095 мМ (1); 0,14 мМ (2); 0,19 мМ (3); 0,24 мМ (4); 0,29 мМ (5)

Таблиця. Кінетичні параметри лакказного окиснення похідних кумарину

Субстрат	V_{max} , нМ·с ⁻¹	K_M , мМ
7,8-ДГ-4-ГМК	569	814
6,7-ДГ-4-ГМК	162	168
6,7-ДГ-4-МК	72	179

Таким чином, показано, що досліджені кумарини ефективно окислюються молекулярним киснем у присутності лаккази *Trametes versicolor*, що можна зафіксувати методом амперометричної киснетрії. Одержані результати співвідносяться з кінетичними параметрами цих реакцій, визначеними спектрофотометричним методом.