

**АКТИВНІСТЬ 2,2-АЗИНО-БІС(3-ЕТИЛБЕНЗТІАЗОЛІН-6-СУЛЬФОНОВОЇ) КИСЛОТИ ЯК МЕДІАТОРА ЛАККАЗИ *TRAMETES VERSICOLOR***

Плешингер Т. С., Бураков І. М., Цяпало О. С., Лесишина Ю. О., Шендрік О. М.

Донецький національний університет імені Василя Стуса

ju.lesyshyna@donnu.edu.ua

Фермент лаккази розповсюджений у багатьох видах грибів і може каталізувати окиснення різноманітних ароматичних і фенольних сполук. У природі грибні лаккази приймають участь у деградації лігніну, що дозволяє використовувати ці ферменти у промислових процесах делігніфікації. Через те, що до складу лігніну входять високо потенційні сполуки нефенольної природи, процеси делігніфікації за участі лакказ ускладнюються і потребують застосування редокс-медіаторів – низькомолекулярних сполук, що значно підсилюють дію ферменту. Серед відомих редокс-медіаторів 2,2'-азино-біс-(3-етилбензотіазолін-6-сульфонова) кислота (АБТС), 2,2,6,6-тетраметилпiperидин-1-оксил (радикал ТЕМПО), віолурова кислота, N-гідроксифталеймід, N-гідроксиацетанилід, поліоксокомплекси металів тощо.

Мета даної роботи полягала в оцінці здатності АБТС підсилювати дію лаккази *Trametes versicolor* в реакції окиснення модельної сполуки лігніну – вератрового спирту (ВС, 3,4-диметоксибензилового спирту).

Кінетику реакції вератрового спирту з окисленою формою АБТС досліджували методом циклічної вольтамперометрії (ЦВА), а кінетику реакції вератрового спирту з АБТС у присутності лаккази вивчали методом *UV-VIS* спектрофотометрії. Каталізоване лакказою окиснення вератрового спирту проводили в цитратній буферній системі (рН 4.5) за атмосферного тиску та температури 35 °С.

Таким чином, спочатку методом ЦВА було вивчено кінетику взаємодії окисленої форми медіатора (АБТС<sup>2+</sup>), отриманої в результаті електрохімічної реакції, з вератровим спиртом, і визначено константу швидкості реакції другого порядку між АБТС<sup>2+</sup> і ВС, яка дорівнює  $k_{cat} = 282.7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$ .

Методом *UV-VIS*-спектрофотометрії були визначені спектральні характеристики розчинів вератрового спирту, лаккази, АБТС та катіон-радикала АБТС<sup>•+</sup> у водно-органічному середовищі (через низьку розчинність вератрового спирту у воді для приготування його водного розчину використовували невелику кількість ацетонітрилу). Для підтвердження здатності лаккази каталізувати реакцію окиснення АБТС з утворенням катіон-радикала АБТС<sup>•+</sup>, який потім буде безпосередньо витрачатися на окиснення вератрового спирту, досліджували кінетику реакції витрачання молекулярної форми АБТС при 342 нм, та накопичення катіон-радикала АБТС<sup>•+</sup> при 730 нм.

Аналіз одержаних кінетичних кривих показав, що існує залежність швидкості реакції лакказного окиснення вератрового спирту у присутності медіатора АБТС від концентрації вератрового спирту: чим більше концентрація вератрового спирту, тим вище швидкість реакції.

На жаль, використовуючи тільки спектрофотометричний метод аналізу, не можна довести, що вератровий спирт окиснюється саме до альдегіду, оскільки смуги поглинання в УФ-спектрах вератрового спирту та його альдегіду перекриваються. Тому подальші дослідження оцінки здатності АБТС підсилювати дію лаккази в реакції окиснення вератрового спирту потребують використання інших методів.