

**рН-ОПТИМУМ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ  
«LACCASE FROM TRAMETES VERSICOLOR»**

*Конкіна Я. С., Лесишина Ю. О., Цяпало О. С., Шендрик О. М.*  
Донецький національний університет імені Василя Стуса  
konkina.i@donnu.edu.ua

Лакказы (КФ 1.10.3.2, *n*-дифенол: кисень оксидоредуктаза) входить до складу лігнолітичного ферментного комплексу дереворуйнуючих грибів. Особливі каталітичні властивості і широка субстратна специфічність лакказы зумовлюють її застосування у різноманітних біотехнологічних процесах. На сьогоднішній день промисловість випускає комерційні препарати лакказы різного ступеню очищення та концентрування, що в свою чергу може відобразитись у відмінностях фізико-хімічних властивостей ферменту (його рН-оптимуму, термолабільності, термостабільності тощо).

Мета даної роботи полягала у визначенні рН-оптимуму комерційного ферментного препарату «*Laccase from Trametes versicolor*» (фірми «Sigma», Німеччина).

Вплив рН середовища на активність ферменту досліджували, вивчаючи кінетику реакції лакказного окиснення гідрохінону (ГХ) молекулярним киснем в діапазоні рН 3,0–5,6 одиниць з кроком 0,2 за допомогою методу *UV-VIS*-спектрофотометрії. Реакцію проводили у цитратній буферній системі, яку одержували змішуванням різних об'ємів 0,1 М розчину лимонної кислоти та 0,1 М тринатрієвої солі лимонної кислоти. ГХ попередньо очищали методом сублимації. Розчини ГХ і лакказы змішували безпосередньо в кюветі спектрофотометру; концентрації ГХ в реакційній суміші в початковий момент часу змінювали в інтервалі від  $10^{-5}$  до  $10^{-4}$  М, концентрація ферменту була постійною і становила 60 мг/л. Зміну концентрації ГХ визначали за зменшенням максимуму поглинання внаслідок окиснення субстрату при 290 нм ( $\epsilon_{290}$  (ГХ) = 2947 л/моль·см) за атмосферного тиску та температури 35 °С протягом 900 сек.

Початкову швидкість реакції окиснення ГХ визначали як тангенс кута нахилу початкової прямолінійної ділянки кінетичної кривої; максимальну швидкість ( $V_{max}$ ) та константу Міхаеліса розраховували, виходячи з рівняння Міхаеліса-Ментен, лінеаризованого у подвійних обернених координатах Лайнуівера–Берка.

Залежність  $V_{max}$  реакції лакказного окиснення ГХ молекулярним киснем від рН реакційної суміші представлена на рисунку:

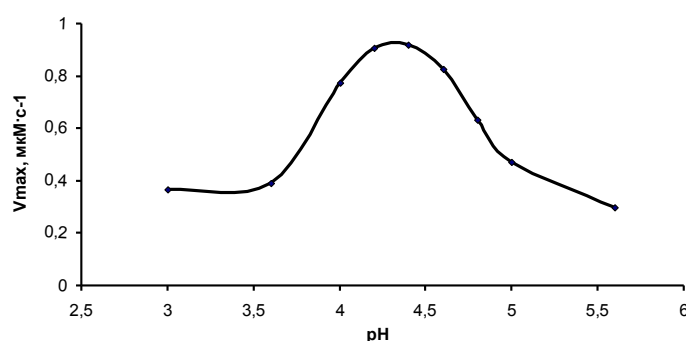


Рис. Залежність максимальної швидкості лакказного окиснення ГХ молекулярним киснем від рН середовища ( $T = 35$  °С)

Як видно з рисунку, крива залежності швидкості лакказного окиснення ГХ молекулярним киснем від рН має дзвоноподібний вигляд, що відповідає літературним даним. рН-оптимум ферментного препарату «*Laccase from Trametes versicolor*» в реакції окиснення ГХ знаходиться в інтервалі 4,2–4,6.