

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАЦИИ ЛАККАЗЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ИНДУКТОРОВ

Батуринац А.А., Горшина Е.С., Бирюков В.В.

Московский государственный университет инженерной экологии

Лакказа является одним из основных ферментов лигнолитического комплекса дереворазрушающих грибов, осуществляющим в природе важную функцию деградации лигнина. Это медьсодержащий фермент класса оксидоредуктаз, катализирующий окисление широкого круга органических и неорганических субстратов молекулярным кислородом. Высокопотенциальная лакказа может использоваться в различных областях промышленности, в том числе, в тонком органическом синтезе, например, для синтеза электропроводящего полианилина, в текстильной, кожевенной и пищевой промышленностях и т.д.

В настоящее время в МГУИЭ разработана рентабельная промышленная технология получения высокопотенциальной лакказы, однако процесс интенсификации этой технологии остается актуальным.

Проведены исследования по изучению влияния нерастворимых лигноцеллюлозных индукторов на повышение активности лакказы. Для исследований использовали культуральную жидкость базидиального гриба *Trametes hirsuta* 56 (Wulfen) Pilat. – продуцента лакказы, получаемую методом глубинного культивирования на специально разработанной питательной среде с мукой.

Индукторы предварительно стерилизовали в сухом виде в пробирках в автоклаве под давлением 1 ати в течение 60 мин и повторно через сутки при том же режиме. Режим стерилизации выбирали по предварительному опыту с кострой льна. Индукторы вносили в колбы со стерильной средой при засеве в количестве 2 г/л. Активность культурального фильтрата определяли на 3,4,5,6,7 и 10 сутки опыта на спектрофотометре SHIMADZU UVmini 1240 (Япония) при 410 нм с использованием пирокатехина (10^{-2} М) в качестве субстрата в 0,1 М цитратно-фосфатном буфере (рН 4,5).

В качестве лигноцеллюлозных индукторов в опыте сравнивали дубовые, березовые и сосновые опилки, костру льна и подсолнечную лузгу. Все индукторы приводили к повышению оксидазной активности, но наибольшая активность фермента зафиксирована при использовании дубовых опилок. Оксидазная активность в этом случае была на 33% выше активности среды с сосновыми опилками, на 31% выше активности среды с березовыми опилками, на 56% - среды с подсолнечной лузгой и на 65% - среды с кострой льна.

Проведены также опыты по изучению влияния концентрации и крупности частиц костры льна на активность фермента. При внесении частиц костры льна крупностью 1, 2 и 3 мм, полученных фракционированием на ситах, наилучший результат позволяет получить использование более мелкой фракции – активность повышается на 180% по сравнению с контрольной (регламентной) средой. В то же время внесение костры льна в исходном (не измельченном) виде приводит к повышению активности на 207%, что объясняется наличием в исходной костре льна наиболее тонкой фракции.

Повышение концентрации костры льна с 2 г/л до 4 г/л позволяет повысить активность на 15%.

Таким образом, использование лигноцеллюлозных отходов в качестве индукторов при синтезе лакказы позволяет интенсифицировать процесс и снизить энергозатраты.