

водоросли, характерные для полисапробной зоны (загрязненная вода). Это указывает на резкое ухудшение качества воды водохранилища как водоисточника [2].

Важный момент, определяющий периодичность массового появления водорослей – присутствие в воде различных биогенных веществ. Виды, обитающие в загрязненной органикой воде, аммонийным и нитратным азотом, железом, медью вызывают «цветение» воды и приводят к ухудшению ее качества: *Chlamydomonas speciosa*, *Scenedesmus quadricauda*, *Microcystis pulverea*, *Anabaena flos-aquae*, *Aphanizomenon flos-aquae*.

Максимальная численность и биомасса фитопланктона наблюдалась в летне-осенний период, что привело к «цветению» воды.

В среднем за многолетний период исследования по эколого-санитарной классификации качество воды Вольнецовского водохранилища относится к 4 классу «вода загрязненная», к разряду  $\alpha$ -мезосапробной зоны «вода умеренно загрязненная».

### Литература

1. Збірка доповідей XX Всеукраїнської наукової конференції аспірантів і студентів. «Охорона навколишнього середовища та раціональне використання природних ресурсів». Т.1., Донецьк, 2010 р.

2. Збірка доповідей XXI Всеукраїнської наукової конференції аспірантів і студентів. «Охорона навколишнього середовища та раціональне використання природних ресурсів». Т.2., Донецьк, 2011 р.

УДК 577.152.321+663.11

## ДИНАМІКА ЕНДОГЛЮКАНАЗНОЇ АКТИВНОСТІ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФІЛЬТРАТУ ШТАМУ *K-1 IRPEx LACTEUS (FR.) FR* В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ДЖЕРЕЛА ВУГЛЕЦЮ ТА ЙОГО КОНЦЕНТРАЦІЇ В ЖИВИЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

*К. В. Кузнецова, Древаль К. Г.*

**Резюме.** В якості джерела вуглецю використані: мікрокристалічна целюлоза, глюкоза, сахароза, сорбіт, мальтоза, лактоза та фільтрувальний папір в концентраціях 2, 4, 6, 8 та 10 г/л. Додавання вказаних речовин до живильного середовища достовірно впливає на активність ендоглюканаз. Найвищі загальна та питома ендоглюканазні активності по відношенню до ГЕЦ встановлено у культури *K-1 I. lacteus* при культивуванні на фільтрувальному папері (4 г/л). Максимум загальної ендоглюканазної активності КФ по відношенню до Na-КМЦ зафіксовано при використанні в якості єдиного джерела вуглецю мальтози (4 г/л), а максимум питомої ендоглюканазної активності по відношенню до Na-КМЦ - при використанні фільтрувального паперу (4 г/л).

В даний час гостро постає проблема виснаження запасів викопної вуглеводної сировини. У зв'язку з цим все більший інтерес викликає використання альтернативних джерел сировини і енергії. Лігноцелюлозна біомаса є найбільш поширеною і легкодоступною сировиною на нашій планеті для отримання різноманітних корисних продуктів. Целюлозовмісні відходи накопичуються у великих кількостях в лісопереробній, целюлозно-паперовій, сільськогосподарській і харчовій промисловостях [1, 2, 3, 4].

В даний час деградація рослинної біомаси здійснюється під дією целюлазних і геміцелюлазних ферментних комплексів. Ефективність деструкції рослинної біомаси залежить від збалансованості складу целюлазних і геміцелюлазних комплексів. Ферменти, що здійснюють біодеградацію целюлози в природі, продукуються в основному мікроскопічними грибами і бактеріями [5, 6, 7].

Цукри, що отримуються, можуть бути перетворені в спирти (моторне паливо, наприклад етанол) і органічні кислоти, які надалі можуть бути трансформовані в різноманітні корисні продукти, включаючи полімерні матеріали, продукти для фармацевтичної промисловості, харчові і кормові добавки [8, 9, 10].

Ендоглюканазам належить найважливіша роль у дії поліферментних систем, оскільки вони першими атакують нативну целюлозу [4, 5, 6]. Характерними властивостями ендоглюканаз є абсолютна специфічність до конфігурацій розщеплюваного глікозидного зв'язку, до розміру окисного циклу моносахаридного залишку, що відщеплюється, а також нездатність гідролізувати полісахариди, що містять об'ємний замісник у  $C_6$  атома вуглецю та дисахариди. Слід зазначити також можливість розщеплювати 1,3- і 1,6-глікозидні зв'язки, що чергуються зі «своїм» специфічним 1,4-зв'язком. Дія ендоглюканаз характеризується різким зменшенням ступеня полімеризації (СП) полісахаридних субстратів (зменшення в'язкості розчинних похідних целюлози) [4, 5].

Мета роботи – визначити ендоглюканазну активність культуральних фільтратів штаму *K-1 I. lacteus* по відношенню до Na-карбоксиметилцелюлози та гідроксиетилцелюлози в залежності від джерела вуглецю в живильному середовищі та його концентрації. Дослідження проводились на кафедрі фізіології рослин біологічного факультету Донецького національного університету.

В якості об'єктів дослідження було обрано штам вищого дереворуйнівного гриба *K-1 Irpex lacteus (Fr.) Fr.*, який належить до відділу *Basidiomycota*, класу *Basidiomycetes*, порядку *Aphyllphorales*.

Культивування грибу *K-1 I. lacteus* проводили на мінеральному середовищі Чапека з наступними сполуками в якості джерела вуглецю: мікрокристалічна целюлоза, глюкоза, сахароза, сорбіт, мальтоза, лактоза та фільтрувальний папір в концентраціях 2, 4, 6, 8 та 10 г/л. Активність ендоглюканаз визначали по відношенню до Na-карбоксиметилцелюлози (Na-КМЦ) та гідроксиетилцелюлози (ГЕЦ). У контрольній і дослідній пробах

вміст редуруючих цукрів (РС) визначали за методом Шомодь-Нельсона [11]. За одиницю активності приймали таку кількість ферменту, яка утворювала 1 мкМ редуруючих цукрів за 1 хвилину (рН=4,8; t=40°C). Вміст білка у культуральному фільтраті визначали спектрофотометричним методом. Для статичної обробки використовували дисперсійний аналіз, порівняння середніх проводили за Дунканом [12].

Дослідження ендоглюканазної активності КФ штаму K-1 *I. lacteus* по відношенню до Na-КМЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації графічно зображено на рисунку 1. Загальна ендоглюканазна активність по відношенню до Na-КМЦ низька при використанні сахарози в якості єдиного джерела вуглецю в концентрації 2 г/л, але значно зростала при збільшенні її концентрації до 4 г/л (13,89±1,21 IU/ml). В подальшому, при збільшенні концентрації до 6 та 8 г/л спостерігалось зниження активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ (мінімум зафіксовано при концентрації сахарози 10 г/л (0,830±0,78 IU/ml).

При використанні глюкози в якості джерела вуглецю при різних концентраціях її в живильному середовищі активність ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ не проявлялась

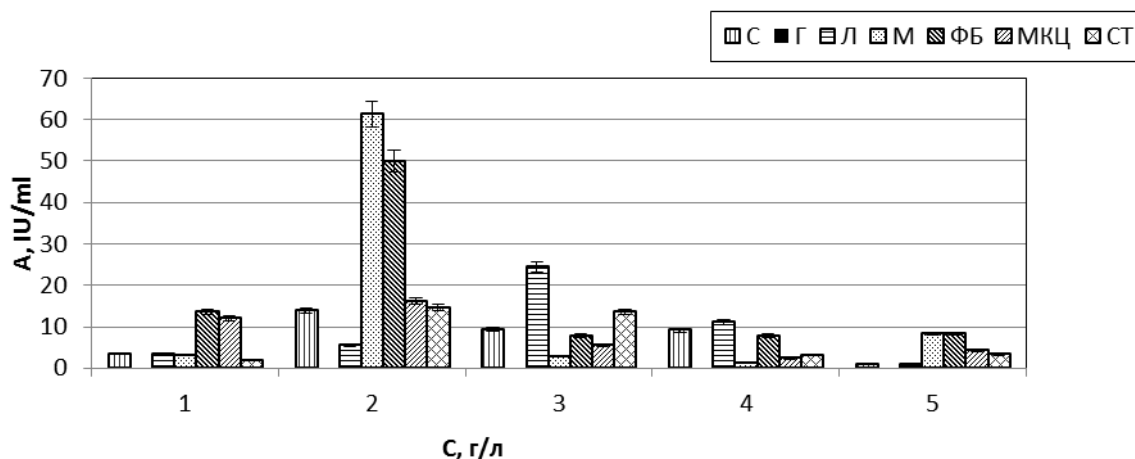


Рис 1. Ендоглюканазна активність штаму K-1 *I. lacteus* по відношенню до Na-КМЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації (С-сахароза, Г-глюкоза, Л-лактоза, М-мальтоза, ФБ-фільтрівальний папір, МКЦ-мікрокристалічна целюлоза, СТ- сорбіт)

Активність ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ у штаму K-1 *I. lacteus* досягла свого максимуму за використання лактози в якості джерела вуглецю при її концентрації 6 г/л (24,44±1,17 IU/ml). При подальшому збільшенні концентрації лактози спостерігався спад активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ

Ізолят K-1 *I. lacteus* виявив максимум загальної активності ендоглюканаз при використанні мальтози в якості джерела вуглецю в концентрації 4 г/л (61,25±2,34 IU/ml). При використанні мальтози в інших концентраціях (2, 6, 8 та 10 г/л) ендоглюканазна активність була низькою.

Ендоглюканазна активність по відношенню до Na-КМЦ у культури K-1 *I. lacteus* при культивуванні з фільтрувальним папером в якості джерела вуглецю була високою при концентрації 2 г/л та досягла максимуму при концентрації 4 г/л (50,00±3,47 IU/ml). В подальшому при збільшенні концентрації фільтрувального паперу спостерігалось зниження загальної активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ .

Штам K-1 *I. lacteus* мав пікові значення активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ при додаванні при культивуванні мікрокристалічної целюлози в концентраціях 2 та 4 г/л (12,08±2,23 та 16,11±3,45 IU/ml відповідно). При подальшому збільшенні концентрації МКЦ спостерігався спад загальної активності ендоглюканаз.

При використанні сорбіту в якості джерела вуглецю в концентрації 2 г/л активність ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ була низькою (1,94±1,34 IU/ml), а при збільшенні до 4 та 6 г/л значно зростала і досягала пікових значень (14,58±2,45 IU/ml та 13,61±3,31 IU/ml відповідно). Активність ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ знижувалась при подальшому збільшенні концентрації сорбіту до 10 г/л.

Дослідження питомої ендоглюканазної активності КФ ізоляту K-1 *I. lacteus* по відношенню до Na-КМЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації графічно зображено на рисунку 2.

Ізолят K-1 *I. lacteus* виявив максимум питомої активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ при використанні сахарози в якості єдиного джерела вуглецю в концентрації 4 г/л (83,88±2,28 IU/mg). При використанні сахарози в інших концентраціях (2, 6, 8 та 10 г/л) ендоглюканазна активність високих значень не досягла.

Глюкоза в якості джерела вуглецю при різних її концентраціях проявляла репресуючий ефект на питому активність ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ у штаму K-1 *I. lacteus*.

Питома ендоглюканазна активність по відношенню до Na-КМЦ у культури K-1 *I. lacteus* при використанні лактози як джерела вуглецю зростала при збільшенні її концентрації до 6 г/л (96,62±3,87 IU/mg) та знижувалась при збільшенні до 10 г/л (2, 12±0,89 IU/mg).

При використанні в якості джерела вуглецю мальтози в концентрації 4 г/л було зафіксовано максимум питомої активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ (128,00±5,66 IU/mg). При збільшенні концентрації мальтози до 10 г/л під час досліду було встановлено зниження питомої активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ.

Питома ендоглюканазна активність по відношенню до Na-КМЦ була висока при використанні фільтрувального паперу в якості єдиного джерела вуглецю в концентрації 2 г/л ( 59,02±4,56 IU/mg) та максимальна при концентрації 4 г/л (167,42±8,53 IU/mg), але знижувалась при збільшенні концентрації до 10 г/л.

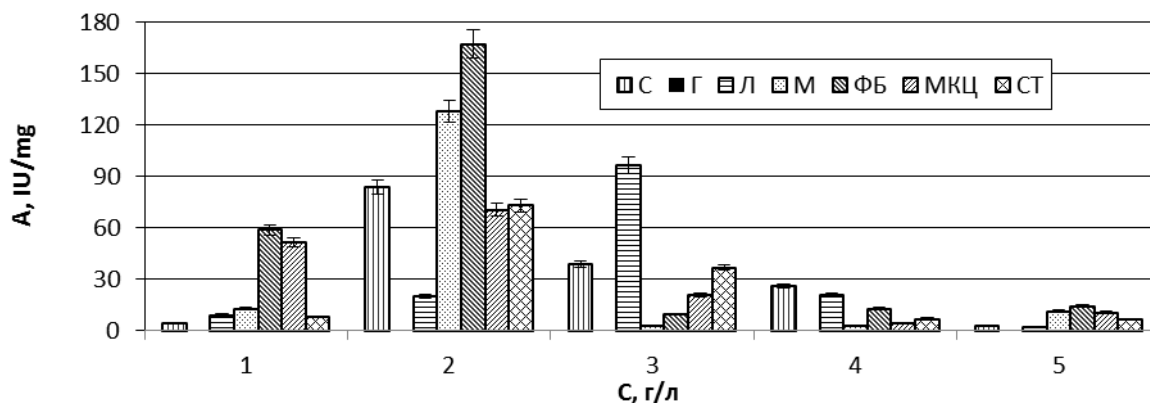


Рис 2. Дослідження питомої ендоглюканазної активності КФ штаму *K-1 I. lacteus* по відношенню до Na-КМЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації (С-сахароза, Г-глюкоза, Л-лактоза, М-мальтоза, ФБ-фільтрувальний папір, МКЦ-мікрокристалічна целюлоза, СТ.- сорбіт)

Штам *K-1 I. lacteus* мав пікове значення питомої активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ при додаванні при культивуванні мікрокристалічної целюлози в концентрації 2 г/л (51,74±3,11 IU/mg). Максимум питомої ендоглюканазної активності по відношенню до Na-КМЦ зафіксовано при концентрації МКЦ 4 г/л (70,58±4,17 IU/mg). При подальшому збільшенні концентрації МКЦ спостерігався спад питомої активності ендоглюканаз по відношенню до Na-КМЦ.

При використанні в якості джерела вуглецю сорбіту максимум питомої ендоглюканазної активності по відношенню до Na-КМЦ прийшовся на концентрацію 4 г/л (73,21±4,67 IU/mg). В подальшому при дослідженні спостерігали поступове зниження загальної ендоглюканазної активності при збільшенні концентрації до 10 г/л.

Паралельно з визначенням ендоглюканазної активності по відношенню до Na-КМЦ визначали динаміку активності ендоглюканаз по відношенню до ГЕЦ.

Дослідження ендоглюканазної активності КФ штаму *K-1 I. lacteus* по відношенню до ГЕЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації графічно зображено на рисунку 3.

Ендоглюканазна активність по відношенню до ГЕЦ з сахарозою в якості єдиного джерела вуглецю мала високе значення при концентрації 4 г/л (16,25±1,26 IU/ml), та досягла свого максимуму при концентрації 4 г/л (22,08±1,29 IU/ml). При використанні сахарози в інших концентраціях активність ендоглюканаз по відношенню до ГЕЦ високих значень не мала.

Загальна ендоглюканазна активність по відношенню до ГЕЦ при використанні глюкози в якості єдиного джерела вуглецю не зафіксована.

Культура *K-1 I. lacteus* досягла максимуму загальної ендоглюканазної активності по відношенню до ГЕЦ при використанні лактози в якості єдиного джерела вуглецю в концентрації 2 г/л і склала 80,28±4,26 IU/ml. При подальшому збільшенні концентрації лактози спостерігалось зниження активності.

Максимум загальної ендоглюканазної активності по відношенню до ГЕЦ при використанні мальтози, як єдиного джерела вуглецю прийшовся на концентрацію 4 г/л і склав 33,33±2,98 IU/ml. В подальшому при збільшенні концентрації мальтози зниження загальної ендоглюканазної активності. Мінімум спостерігали при концентрації 10 г/л (0,83±0,1 IU/ml).

Пікове значення загальної ендоглюканазної активності по відношенню до ГЕЦ при використанні фільтрувального паперу в якості джерела вуглецю спостерігали при концентрації 2 г/л (72,78±4,44 IU/ml), а максимум активності ендоглюканаз по відношенню до ГЕЦ зафіксовано при концентрації 4 г/л (91,11±5,56 IU/ml). В подальшому спостерігалось стрімке зниження загальної ендоглюканазної активності у зв'язку зі збільшенням концентрації фільтрувального паперу.

Максимум активності ендоглюканаз по відношенню до ГЕЦ при використанні мікрокристалічної целюлози зафіксовано при її концентрації 2 г/л. При подальшому дослідженні загальної ендоглюканазної активності спостерігався її спад.

При використанні в якості джерела вуглецю спирту сорбіту максимум загальної активності по відношенню до ГЕЦ прийшовся на концентрацію 2 г/л (20, 693 IU/ml). В подальшому при дослідженні спостерігали поступове зниження загальної ендоглюканазної активності при збільшенні концентрації до 10 г/л.

Дослідження питомої ендоглюканазної активності КФ ізоляту К-1 *I. lacteus* по відношенню до ГЕЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації графічно зображено на рисунку 4.

Питома ендоглюканазна активність по відношенню до ГЕЦ з сахарозою в якості єдиного джерела вуглецю досягла свого максимуму при концентрації 4 г/л ( $99,55 \pm 4,58$  IU/mg). При концентрації сахарози 6 та 8 г/л питома ендоглюканазна активність по відношенню до ГЕЦ була високою ( $46,52 \pm 2,28$  IU/mg та  $63,18 \pm 3,59$  IU/mg відповідно), а при збільшенні концентрації до 10 г/л спостерігалось значне зниження активності.

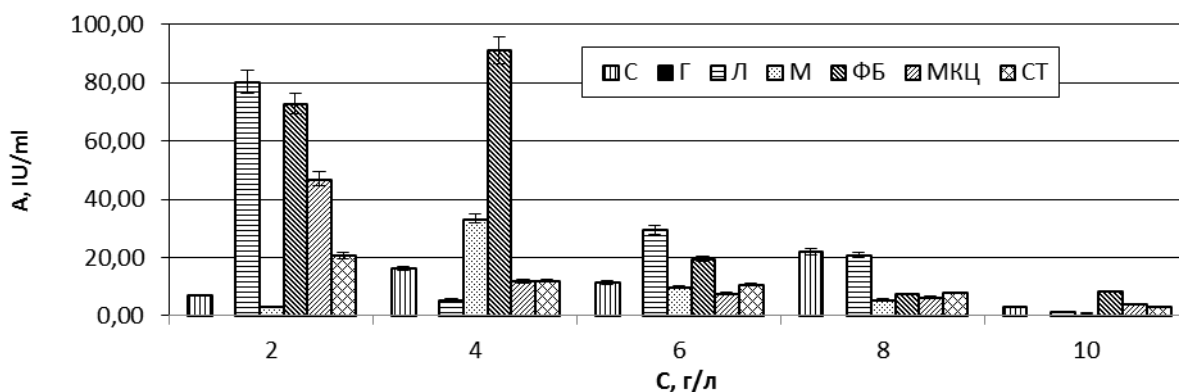


Рис 3. Дослідження ендоглюканазної активності КФ штаму К-1 *I. lacteus* по відношенню до ГЕЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації (С-сахароза, Г-глюкоза, Л-лактоза, М-мальтоза, ФБ-фільтрівальний папір, МКЦ-мікрокристалічна целюлоза, СТ.- сорбіт)

При використанні в якості джерела вуглецю глюкози питома ендоглюканазна активність по відношенню до ГЕЦ не проявилась.

Максимум питомої ендоглюканазної активності по відношенню до ГЕЦ при використанні лактози, як єдиного джерела вуглецю прийшовся на концентрацію 2 г/л і склав  $243,63 \pm 9,69$  IU/mg. Пікове значення питомої ендоглюканазної активності по відношенню до ГЕЦ встановлено при концентрації лактози 6 г/л ( $116,42 \pm 5,67$  IU/mg).

Культура К-1 *I. lacteus* досягла максимуму питомої ендоглюканазної активності по відношенню до ГЕЦ при використанні мальтози в якості єдиного джерела вуглецю в концентрації 4 г/л і склала  $89,85 \pm 9,69$  IU/mg. При подальшому збільшенні концентрації мальтози спостерігалось зниження активності.

Питома активність ендоглюканазни по відношенню до ГЕЦ у штаму К-1 *I. lacteus* досягла пікового значення з фільтрівальним папером в якості джерела вуглецю при його концентрації 2 г/л ( $265,55 \pm 7,47$  IU/mg) та максимуму при його концентрації 4 г/л ( $307,58 \pm 9,41$  IU/mg). В подальшому спостерігалось зниження активності по відношенню до ГЕЦ при збільшенні концентрації фільтрівального паперу.

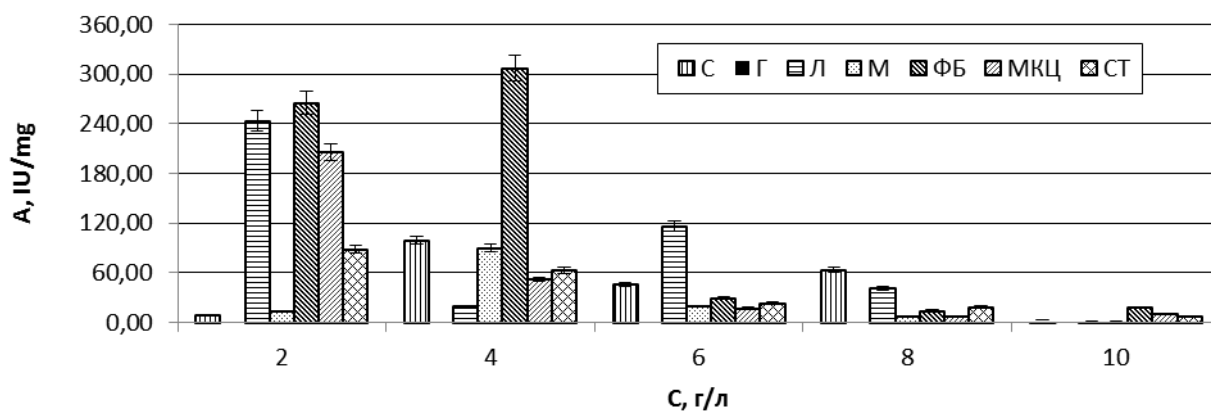


Рис 4. Дослідження питомої ендоглюканазної активності КФ штаму К-1 *I. lacteus* по відношенню до ГЕЦ в залежності від джерела вуглецю та його концентрації (С-сахароза, Г-глюкоза, Л-лактоза, М-мальтоза, ФБ-фільтрівальний папір, МКЦ-мікрокристалічна целюлоза, СТ.- сорбіт)

При використанні в якості джерела вуглецю мікрокристалічної целюлози максимум питомої активності по відношенню до ГЕЦ прийшовся на концентрацію 2 г/л ( $205,89 \pm 8,22$  IU/mg). В подальшому при дослідженні спостерігали поступове зниження питомої ендоглюканазної активності при збільшенні концентрації до 10 г/л.

Штам К-1 *I. lacteus* виявив максимум питомої активності ендоглюканазы при використанні сорбіту в якості єдиного джерела вуглецю в концентрації 2 г/л ( $82,90 \pm 4,29$  IU/mg). Високе значення питомої ендоглюканазної активності по відношенню до ГЕЦ при використанні сорбіту встановлено при концентрації 4 г/л ( $63,08 \pm 3,19$  IU/mg), а при інших концентраціях (6, 8 та 10 г/л) ендоглюканазна активність була низькою.

В результаті проведених досліджень було визначено, що найвища загальна ендоглюканазна активність по відношенню до ГЕЦ встановлена у культури К-1 1 *I. lacteus* при використанні фільтрувального паперу в концентрації 4 г/л ( $91,11 \pm 5,56$  IU/ml). Найвищу питому ендоглюканазну активність по відношенню до ГЕЦ встановлено у штаму К-1 1 *I. lacteus* при використанні фільтрувального паперу в якості єдиного джерела вуглецю в концентрації 4 г/л ( $307,58 \pm 9,41$  IU/mg). Максимум загальної ендоглюканазної активності КФ по відношенню до Na-КМЦ зафіксовано при використанні в якості єдиного джерела вуглецю мальтози в концентрації 4 г/л ( $61,25 \pm 2,34$  IU/ml). Для штаму К-1 1 *I. lacteus* максимум питомої ендоглюканазної активності по відношенню до Na-КМЦ встановлено при використанні фільтрувального паперу як єдиного джерела вуглецю в концентрації 4 г/л ( $167,42 \pm 8,53$  IU/mg).

### Література

1. Анкудимова Н. В. Биохимические и физико-химические свойства ключевой топологической эנדоглюканазы целлюлазно-комплекса *Chaetomium celluliticum*: дис. кандидата хімічних наук: 2000/ Наталия Владимировна Анкудимова. - 2000. - 116 с.
2. Билай В.И. Термофильные грибы и их свойства / В.И. Билай. - Киев: Наукова Думка, 1985. - 172 с.
3. Рабинович М.Л. Прогресс в изучении целлюлолитических ферментов и механизм биодegradации высокоупорядоченных форм целлюлозы // М.Л. Рабинович, М.С. Мельник. - институт биохимии им. А.Н. Баха, 2000. - 266 с.
4. Сеницын А.П. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов / А.П. Сеницын, А.В. Гусаков, В.М. Черноглазов. - М.: изд-во МГУ, 1995. - 222 с.
5. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии / [ Дудка И. А., Вассер С. П., Элланская И. А. и др. ] : под ред. В. И. Билая. - К.: Наукова Думка, 1982. - 551 с.
6. Даниляк Н.И. Ферментные системы высших базидиомицетов / Н.И. Даниляк, В.Д. Семичаевский, Л.Г. Дудченко, И.А. Трутнева; под ред. Н.И. Даниляк. - Киев: Наук. Думка, 1989. - 280 с.
7. Заикина Н.В. Основы биотехнологии высших грибов: учеб. пособие для студ. обуч. по напр. Биология / Н.В. Заикина. - М.: Проспект науки, 2007. - 336 с.
8. Мухин В.А. Древоразрушающая активность некоторых грибов в естественных условиях / В.А. Мухин, Н.Т. Степанова // Микология и фитопатология. - 1975. - С. 267
9. Низковская О.П. Белки, ферменты и стеринь базидиальных грибов (методы исследования) / О.П. Низковская, Г.Н. Антик. - Ленинград: Наука, 1979. - 72 с.
10. Морозов А.И. Современное промышленное грибоводство / А.И. Морозов. - М.: АСТ, Сталкер, 2007. - 224 с.
11. Nelson N. A. Photometric Adaption of the Shomogyi Method for the Determination of Glucose. // *Jornal of Biological Chemistry*. - 1944. - V.153, №2. - p. 375-379.
12. Приседський Ю. Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів. / Ю. Г. Приседський. - Донецьк: Кассипея, 1991. - 210 с.

УДК 54.057 : 546(32 + 742 + 786)

### СИНТЕЗ КАЛІЙ ГЕТЕРОПОЛІГЕКСАВОЛЬФРАМОНІКОЛАТУ (II)

Н.О. Мельник, С.В. Радіо

*Резюме.* Встановлено умови синтезу  $K_4[Ni(OH)_6W_6O_{18}] \cdot 4H_2O$  за прямою реакцією взаємодії стехіометричних кількостей  $K_2WO_4$ ,  $HNO_3$  та  $Ni(NO_3)_2$ , що значно спрощує та прискорює процес одержання калій гетерополігексавольфрамоніколату (II) та дозволяє одержати кінцевий продукт без домішок інших фаз. Показано, що термоліз  $K_4[Ni(OH)_6W_6O_{18}] \cdot 4H_2O$  за  $500^\circ C$  приводить до руйнування гетерополіаніону та кристалізації фази  $K_4NiW_6O_{21}$  з кубічною гранецентрованою структурою типу пірохлору  $K_{8/7}Ni_{12/7}W_{12/7}O_6$ . Встановлено, що подальший термоліз  $K_4NiW_6O_{21}$  ( $800^\circ C$ ) супроводжується руйнування фази з утворенням  $NiWO_4$ ,  $K_2W_6O_{19}$  та  $K_{0,333}W_{0,944}O_3$ .

*Ключові слова:* гетерополісполука, Нікол, термоліз, ІЧ-спектроскопія

**Вступ.** Поліоксометалати (ізополі- та гетерополісполуки) – великий клас координаційних сполук, що має різноманітні області застосування завдяки своїй будові й електронним властивостям (реагенти в аналітичній хімії, біології та медицині, гетерогенні та гомогенні каталізатори) [1-5]. Як відомо, гетерополіаніон структури Андерсона може бути записаний як  $[H_m X M_6 O_{24}]^{n-}$ , в якому гетероатом X займає центральну октаедричну порожнину всередині «корони», побудованої з шести з'єднаних ребрами октаєдрів  $MO_6$  ( $M = Mo$  або  $W$ ). У 1998 році Wery A.S.J. і співр. [6] класифікували аніони структури Андерсона на три групи: А ( $m = 0$ ), В ( $m = 6$ ) та С ( $m = 0 \sim 5$ ), відповідно до числа некіслотних протонів, приєднаних до центрального октаєдру  $XO_6$ . Метою даного дослідження є встановлення умов утворення калій гетерополігексавольфрамоніколату (II)