

тей почвы. Таким образом, предлагаемый способ сопряженной интерпретации результатов анализа состава гумуса в почвах и иле позволяет получить дополнительную информацию о состоянии и формах связи органического вещества.

УДК 631.417.2+582.28

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛАККАЗЫ С ГУМИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

В.Н. Давидчик¹, Н.А. Куликова², Е.В. Степанова¹,
Е.А. Цветкова³, Е.Ю. Беляева², О.В. Королева¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, davidchik@inbi.ras.ru,

²МГУ им. М.В. Ломоносова,

³Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского

В связи с возрастающей техногенной нагрузкой на окружающую среду все большую актуальность приобретают проблемы рекультивации загрязненных территорий. Одним из наиболее перспективных путей является разработка новых биотехнологических подходов на основе микробных ферментов. Лакказы (ЕС 1.10.3.2) – внеклеточная оксидоредуктаза, присутствующая в почве в активном состоянии практически в любое время года. Стабильность фермента, т. е. способность сохранять каталитическую активность на высоком уровне, определяется структурой белка и характером его взаимодействия с компонентами окружающей среды, главным образом, гуминовыми кислотами (ГК). Данные о взаимодействии ГК с ферментами крайне ограничены и практически отсутствуют для оксидоредуктаз. Целью работы являлось исследование образования комплексов между ГК и лакказой и изучение механизма данного взаимодействия. Образование комплексов ГК-лакказы проводили путем их совместной инкубации в фосфатном буфере при pH 5.0 и 6.5, моделируя благоприятные и неблагоприятные для лакказы условия, соответственно. Изучение образовавшихся комплексов проводили методами эксклюзионной гель-хроматографии и изоэлектрофокусирования (ИЭФ). Было установлено, что при совместном инкубировании лакказы с ГК на хроматограммах происходит появление дополнительного пика, соответствующего веществу с молекулярной массой, превышающей молекулярные массы как ГК, так и лакказы. При этом в указанном пике было обнаружено более 80% от общей ферментативной активности раствора. Это свидетельствует об образовании ферментативно активного комплекса ГК-лакказы в изучаемых условиях. Методом ИЭФ была показана нестабильность комплекса в условиях

электрофореза, что свидетельствует о его нековалентной природе. На основании полученных результатов было высказано предположение, что ассоциация ГК с лакказой происходит по механизмам слабых взаимодействий, таких как гидрофобные, ван-дер Ваальсовы, π - π и др.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 04-04-49679).

УДК 631.417

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ПОЧВ – ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

В.В. Демин¹, Ю.А. Завгородняя², Н.Г. Каршкова², О.Н. Бирюкова²

¹Институт почвоведения МГУ-РАН, vvd@ps.msu.ru

²МГУ им. М.В.Ломоносова, zyu99@mail.ru

Интенсивное использование для изучения гуминовых веществ почв современных физических и химических методов (различные варианты спектроскопии, хроматографии, электронной микроскопии) наряду с несомненными достижениями породило и ряд серьезных проблем. Ряд авторов полагают, что это вызвано такими причинами, как нечеткость номенклатуры, несовершенство методов выделения гуминовых веществ и анализа их молекулярных параметров и некоторыми другими. На наш взгляд, источники этих проблем лежат в несколько иной плоскости. Это 1) нечеткое представление исследователей об объекте – органическом веществе почв, его составе и организации, 2) некорректное использование авторами самих методов (как в методическом плане, так и при последующей интерпретации результатов).

Примером является использование ЯМР-спектроскопии для анализа органических соединений почв *in situ*. Сигнал от ароматических соединений, обнаруживаемый в спектре, авторы зачастую приписывают гуминовым веществам, хотя аналогичные структуры могут существовать в лигнинах и меланинах грибов или их производных, присутствующих в почве. Даже если удастся выделить сигнал от фенилпропановых структур, являющихся мономерами лигнина, остается неясным вопрос – фрагментами каких соединений они являются. При исследовании препаратов гуминовых кислот, выделенных из почв стандартными методами, возникают те же проблемы. Так, например, нами было показано, что в образцах «чистых» гуминовых кислот может присутствовать до 30% лигниноподобных соединений (Каршкова и др, 2004). Аналогичные проблемы возникают при хроматографическом анализе гуминовых веществ и интерпретации полученных результатов.