

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«МЕЖДУНАРОДНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А. Д. САХАРОВА»

УДК 66.099.73.098:[604.4+542.943-92'7]:547.269.1

ФЛЮРИК
ЕЛЕНА АНДРЕЕВНА

**ФЕРМЕНТАТИВНО-ХИМИЧЕСКАЯ ДЕЗОДОРАЦИЯ ОБЪЕКТОВ,
ЗАГРЯЗНЕННЫХ МЕРКАПТАНАМИ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.00.16 – Экология

Минск 2009

Работа выполнена в Учреждении образования «Белорусский государственный технологический университет», г. Минск

Научный руководитель **Леонтьев Виктор Николаевич**, кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет»

Официальные оппоненты: **Киселев Петр Андреевич**, доктор химических наук, заведующий лабораторией механизмов и кинетики ферментативных процессов ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»;

Курченко Владимир Петрович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией прикладных проблем биохимии биологического факультета Белорусского государственного университета

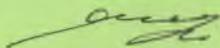
Оппонирующая организация Учреждение образования «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»

Защита состоится «06» ноября 2009 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 02.28.01 при Учреждении образования «Международный государственный экологический университет имени А.Д. Сахарова» по адресу: 220070, г. Минск, ул. Долгобродская, 23, в аудитории 312; e-mail: info@iseu.by, тел.: +375-17-230-69-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения образования «Международный государственный экологический университет имени А.Д. Сахарова».

Автореферат разослан «01» октября 2009 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат технических наук



Лысухо Н.А.

ВВЕДЕНИЕ

Защита окружающей среды от техногенного загрязнения является одной из самых серьезных задач экологии. Задача требует неотложного решения, поскольку уровень накопления поллютантов в биосфере очень высок. Одним из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды является сырая нефть и продукты ее переработки. Эффективная ликвидация данных загрязнений возможна методами биоремедиации [Волченко, 2005].

Серосодержащие органические соединения, к которым относятся и меркаптаны, попадая в объекты окружающей среды, также создают серьезные экологические проблемы. Их решение возможно физическими, химическими и биологическими методами, в зависимости от объекта. Для ремедиации почв и водных сред наиболее применимым является биологический метод, основанный на использовании ферментных систем микроорганизмов, грибов и растений. Такие биотехнологии очистки окружающей среды основаны на скрининге высокоактивных штаммов микроорганизмов-деструкторов, разработке методов активации их ферментных систем, создании новых биопрепаратов на основе современных рецептур, включающих стимуляторы роста, биогенные добавки, активаторы ферментов и индукторы их биосинтеза [Бойкова, 2005; Акопова, 2008].

С такими ксенобиотиками, как меркаптаны, основная масса людей сталкивается в быту при использовании природного газа. Природный газ не имеет запаха и цвета, что затрудняет его обнаружение в случае утечки, поэтому газ перед подачей потребителю одоризируют на газораспределительных станциях (ГРС) меркаптанами, дисульфидами или другими соединениями. Благодаря хорошей адсорбции меркаптанов на различных поверхностях они прочно и долго удерживаются и являются причиной стойкого неприятного запаха.

Одорант на ГРС хранится в емкостях объемом от 2 до 10 м³, которые необходимо утилизировать после истечения срока их безопасной эксплуатации. Однако до настоящего времени методы их утилизации не разработаны ввиду отсутствия надежных способов дезодорации.

В связи с ускоренной газификацией населенных пунктов в соответствии с Программой развития газификации Республики Беларусь на период 2006–2010 гг., включенной в Программу деятельности Правительства Республики Беларусь на 2006–2010 гг., к настоящему времени уже создано более 200 ГРС. На каждой из станций имеются более пяти емкостей хранения одоранта, которые необходимо дезодорировать.

Не решены также задачи экстренной дезодорации почвы, спецодежды, газового оборудования, инструмента и других поверхностей, загрязненных меркаптанами.

1609 ар



Проблема устранения неприятного запаха этих соединений касается не только ГРС, но и целлюлозно-бумажных комбинатов, мясокомбинатов [Майоров, 2006], заводов по производству синтетического каучука и др. [Шагинурова, 2005], где отходящие газы и сточные воды загрязнены меркаптанами.

Дезодорация загрязненных объектов в настоящее время разработана не достаточно, хотя и находят применение адсорбционные и абсорбционные методы, а также методы химического окисления [Hartikainen, 2002; Широкова, 2007]. Практически отсутствуют сведения о биотехнологическом решении этой проблемы. Биотехнологический подход предполагает использование ферментов биологических систем, причем, с технологической и экономической точек зрения, наиболее эффективным является использование микроорганизмов.

В связи с тем, что с увеличением степени окисления атомов серы в органических соединениях интенсивность запаха резко снижается, в основу как ферментативной, так и химической дезодорации меркаптанов должны быть положены реакции окисления.

Таким образом, актуальными являются исследования, направленные на поиск и выделение из окружающей среды тиолокисляющих микроорганизмов, создание на их основе ферментного препарата, предназначенного для дезодорации загрязненных меркаптанами поверхностей, а также на разработку химического (каталитического) метода окисления остаточных меркаптанов в емкостях хранения одоранта на ГРС. Поскольку дезодорация загрязненных меркаптанами объектов является комплексной экологической проблемой, то ее решение может быть обеспечено с помощью ферментативно-химического метода.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами. Диссертационная работа выполнена на базе кафедры биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет» в рамках научно-исследовательской работы «Разработка методики дезодорации подземных емкостей хранения одоранта, деталей одоризационных установок и адсорберов на газораспределительных станциях» (ХД 24–022, № госрегистрации 20071606), кафедральной темы «Разработать технологические аспекты получения и методы структурно-функционального анализа БАВ и ферментных препаратов для различных отраслей промышленности и сельского хозяйства (2006–2010 гг.)» (ГБ 23–06) и договора о сотрудничестве между Учреждением образования «Белорусский государственный технологический университет» и ЗАО «Дестбел».

Тема диссертационной работы соответствует пунктам: № 8 «Экологическая безопасность, охрана окружающей среды, полезные ископаемые и недра

Беларуси, эффективное использование и возобновление природных ресурсов, предупреждение и ликвидация последствий чрезвычайных ситуаций» (8.4. Методы мониторинга окружающей среды, прогнозирования и предупреждения чрезвычайных ситуаций техногенного и природного характера), № 3 «Физические, химические, биологические и генетические методы и технологии получения новых веществ, материалов, модифицированных биологических форм, наноматериалы и нанотехнологии» (3.9. Физиолого-биохимические и генетические основы использования микроорганизмов, растительных и животных клеток в биотехнологических процессах и 3.16. Биотехнология для промышленности, сельского хозяйства, медицины и охраны окружающей среды) перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2006–2010 гг., утвержденному постановлением Совета Министров Республики Беларусь 17.05.2005 г. № 512; а также приоритетному направлению научно-технической деятельности пункт № 6 «Промышленные биотехнологии» (Селекция высокоактивных штаммов микроорганизмов и разработка на их основе импортозамещающей продукции) указа Президента Республики Беларусь от 06.07.2005 г. № 315.

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы явилась разработка метода ферментативно-химической дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами, на основе каталитического окисления этих соединений, для его практической реализации в области защиты объектов окружающей среды.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) выделить из почв, загрязненных меркаптанами, и осуществить скрининг микроорганизмов по тиолоксидазной активности;
- 2) разработать метод качественного и количественного определения тиолоксидазной активности;
- 3) определить технологические параметры культивирования отобранного штамма-продуцента внеклеточной тиолоксидазы;
- 4) изучить свойства внеклеточной тиолоксидазы и разработать ферментный препарат на его основе, предназначенный для дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами;
- 5) синтезировать катализатор для химического окисления меркаптанов и изучить его физико-химические свойства;
- 6) изучить реакции окисления β -меркаптоэтанола и этилмеркаптана, катализируемые тиолоксидазой и бис (N, N-диэтилдитиокарбаматом-S, S') меди и разработать метод ферментативно-химической дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами.

Объекты исследования – штамм-продуцент внеклеточной тиолоксидазы, тиолоксидаза и катализатор химического окисления меркаптанов.

Предмет исследования – ферментативные и химические реакции окисления меркаптанов, лежащие в основе дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами.

Положения, выносимые на защиту.

1. Штамм мицелиального гриба *Trichoderma viride* Ф-84, выделенный из образцов почв, загрязненных меркаптанами, – новый продуцент внеклеточной тиолоксидазы, катализирующей реакцию окисления меркаптанов до дисульфидов.

2. Внеклеточная тиолоксидаза (КФ 1.8.3.2 тиол : кислородоксидоредуктаза), продуцируемая штаммом *Trichoderma viride* Ф-84, является тетрамером с молекулярной массой 48 кДа, индуктором ее биосинтеза выступает β-меркаптоэтанол.

3. Технология получения ферментного препарата «АНТИ-ОДОР», предназначенного для дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами, основанная на глубинном культивировании гриба *Trichoderma viride* Ф-84 в натуральной питательной среде с аэрацией, фильтровании полученной культуральной жидкости с последующим добавлением стабилизатора, антисептика и отдушки.

4. Новый катализатор реакции окисления меркаптанов гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом в водно-щелочной среде до солей сульфоновых кислот – бис (N, N-диэтилдитиокарбамат-S, S') меди.

5. Ферментативно-химический метод дезодорации загрязненных объектов, заключающийся в окислении меркаптанов на открытых поверхностях молекулярным кислородом с помощью ферментного препарата «АНТИ-ОДОР» до дисульфидов и в закрытых емкостях гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом с помощью катализатора бис (N, N-диэтилдитиокарбамата-S, S') меди до солей сульфоновых кислот.

Личный вклад соискателя. Диссертация является самостоятельной законченной научной работой, обобщающей результаты теоретических и экспериментальных исследований. Автором диссертации изучены и обобщены литературные данные, научно аргументированы направления исследований, осуществлена постановка задач, спланированы эксперименты и получены все основные результаты, которые были представлены в статьях и докладах на конференциях. Соавторами публикаций соискателя являются научный руководитель и сотрудники кафедры биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет».

Автор произвел наработку опытной партии ферментного препарата, им разработана технология получения ферментного препарата.

Полученные научные положения и выводы, приведенные в диссертационной работе, являются результатом исследований, выполненных с применением современного научно-исследовательского оборудования и взаимодопол-

няющих физико-химических методов анализа, таких как ИК-спектроскопия, полярография, электронная спектроскопия, термогравиметрия, ионнообменная ВЭЖХ, электронная микроскопия с системой химического анализа, рентгеноструктурный анализ и др. Исследования проводились на экспериментальной базе Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет» с использованием статистических методов, что делает положения диссертации достоверными.

Апробация результатов диссертации. Основные положения работы были представлены на Международной научно-технической конференции «Новейшие достижения в области импортозамещения в химической промышленности и производстве строительных материалов» (Минск, 26–28 ноября 2003 г.), на Международной конференции «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии» (Минск, 26–28 мая 2004 г.), на Международной научно-технической конференции «Новые технологии рециклинга отходов производства и потребления» (Минск, 24–26 ноября 2004 г.), на Международной научно-практической конференции «Перспективы и проблемы развития биотехнологии в рамках единого экономического пространства стран содружества» (Минск – Нарочь, 25–28 мая 2005 г.), на Республиканской научно-технической конференции студентов и аспирантов «НИРС – 2005», (Минск, 14–16 февраля 2006 г.), на Международной научно-технической конференции «Техника и технология защиты окружающей среды» (Минск, 5–7 декабря 2006 г.), на Международном конгрессе по управлению отходами и природными технологиями «ВэйстТэк – 2007» (Москва, Россия, 29 мая – 1 июня 2007 г.), на III, IV Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии» (Гродно), на Международной научно-практической конференции «Техника и технологии: инновации и качество» (Барановичи, 23–24 ноября 2007 г.), на Международной конференции молодых ученых «Молодежь в науке – 2007» (Минск, 23–26 октября, 2007 г.), на 68, 70, 72-ой научно-технической конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов (Минск), на Международной научно-технической конференции «Новые технологии рециклинга отходов производства и потребления» (Минск, 28–29 мая 2008 г.), на Всероссийской конференции «Химия твердого тела и функциональные материалы – 2008» (Екатеринбург, 21–24 октября 2008 г.) и др.

Опубликованность результатов диссертации. По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 6 статей в научных рецензируемых журналах (1,9 авторских листа), 9 – в материалах республиканских и международных научных конференций, 5 тезисов докладов научных конференций. Общий объем опубликованных материалов составляет 3,2 авторских листа.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из

перечня условных обозначений, введения, общей характеристики работы, обзор литературы (глава 1), описания объектов и методов исследования (глава 2), изложения полученных результатов и их обсуждения (главы 3, 4, 5), заключения, списка использованных источников (214 наименований на 18 страницах), списка публикаций соискателя (20 наименований на 3 страницах), 14 приложений на 25 страницах. Материал диссертации изложен на 161 страницах машинописного текста, содержит 44 рисунка на 24 страницах, 10 таблиц на 5 страницах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Скрининг продуцентов внеклеточной тиолоксидазы проводили в два этапа. На первом, – по результатам качественной оценки тиолоксидазной активности культуральной жидкости (КЖ), из образцов почвы, загрязненных меркаптанами, и водного затвора емкости хранения одоранта было выделено 22 бактериальных и 4 грибных штамма, на втором этапе – по уровню синтеза тиолоксидазы (для дальнейших исследований) был отобран один штамм мицелиального гриба. Скрининг микроорганизмов по тиолоксидазной активности проводили по методике, основанной на полярографическом измерении скорости потребления кислорода в ходе ферментативной реакции окисления меркаптанов (Леонтьев и др., 2004). Для идентификации отобранного штамма использовали стандартные методики в соответствии с определителями (Литвинов, 1967; Watanabe, 1994; Саттон, 2001).

Структурную организацию и особенности биосинтеза тиолоксидазы изучали методами: гель-хроматографии, ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии, SDS-электрофореза по методу Леммли (Laemmli, 1970).

Ферментативные активности препаратов «ODOR-X» (импортный) и «АНТИ-ОДОР» (Леонтьев и др., 2004) определяли: целлюлазную – по методу Миллера (Miller, 1960), эстеразную – по уровню гидролиза сложноэфирной связи в *N*-бензоил-*L*-тирозинэтиловом эфире с помощью электронной спектроскопии по разработанной нами методике, тиолоксидазную – полярографическим методом (Флюрик, 2008).

Эффективность дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами, изучали методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) по степени превращения этилмеркаптана в диэтилдисульфид (Леонтьев и др., 2004).

Катализатор бис (*N*, *N*-диэтилдитиокарбамат-*S*, *S'*) меди (II) получали взаимодействием *N*, *N*-диэтилдитиокарбамата натрия с сульфатом меди (II) в водной среде (выход 91 %). Структуру катализатора подтверждали методами

ИК-спектроскопии, термогравиметрии, рентгеноструктурного и энергодисперсионного анализа. Удельную поверхность катализатора определяли по изотермам адсорбции-десорбции газообразного азота с помощью ВЕТ-метода.

Кинетику каталитического окисления β -меркаптоэтанола в щелочной среде изучали методом ГЖХ, а окисление этилмеркаптана – с помощью измерения показателя химического потребления кислорода (ХПК).

В работе использовали отечественные реактивы квалификации не ниже х.ч. или импортные, этилмеркаптан – промышленный одорант (хроматографически чистый) и следующее оборудование: полярограф POLAROGRAPHIC ANALYZER PA2 (Чехословакия); центрифугу MPW-310 (Польша); установку для выращивания микроорганизмов в условиях аэрации Environmental Shaker-Incubator ES-20 («BioSan», Латвия); ферментатор (3,0 дм³) с автоматической регулировкой pH, температуры и расхода воздуха (Россия); спектрофотометр SPECORD M40 (Carl Zeiss, ГДР); жидкостной хроматограф «Shimadzu LC-10» (Япония), оснащенный ионообменной колонкой 75×7,5мм BIO-Gel® TSK DEAE-5 PW; ИК-Фурье спектрометр NEXUS X700 («Thermo Nicolet», США) с приставкой Avatar Multi-Bounce HATR («Thermo Nicolet», США); термоанализатор TA-4000 (модуль TG-50) (Mettler Toledo STAre System, Швейцария); сканирующий электронный микроскоп JSM-5610 LV с системой химического анализа EDX JED-2201 JEOL (Япония); прибор для определения удельной поверхности NOVA 2200 (Quantachrome, США); хроматограф HP 4890D (Hewlett Packard, США). Обработку экспериментальных данных проводили на ПЭВМ с использованием табличного процессора Microsoft Excel 2003 и математической системы Statistica 6.0.

ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ОКИСЛЕНИЕ МЕРКАПТАНОВ

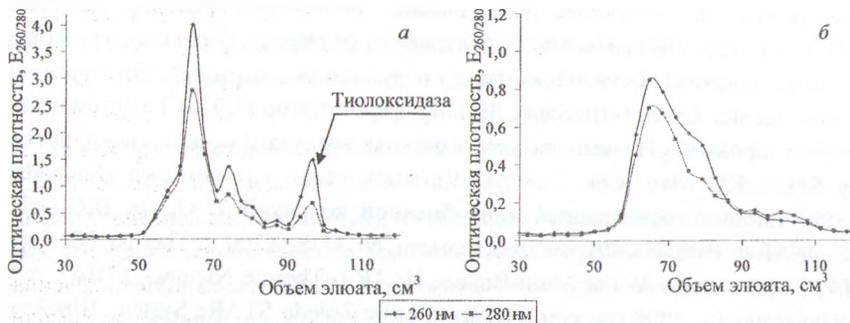
В результате скрининга по тиолоксидазной активности из образцов почвы, загрязненных меркаптанами, и водного затвора емкости хранения одоранта был отобран штамм мицелиального гриба с наивысшей тиолоксидазной активностью. Активность определяли полярографическим методом с помощью электрода Кларка.

Анализ результатов исследований позволил определить таксономическую принадлежность отобранного штамма – *Trichoderma viride*.

По результатам токсикологических испытаний культуры *T. viride* Ф-84, проведенных в НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии, установлено, что в метаболитах гриба отсутствуют дерматотоксические и дерманекротические компоненты. Благодаря наличию внеклеточной тиолоксидазы штамм может быть использован для создания ферментного препарата, предназначенного для дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами.

Индукцию биосинтеза внеклеточной тиолоксидазы у штамма *T. viride* Ф-84 β-меркаптоэтанолом выявляли при культивировании глубинным способом в разных питательных средах с аэрацией и без аэрации.

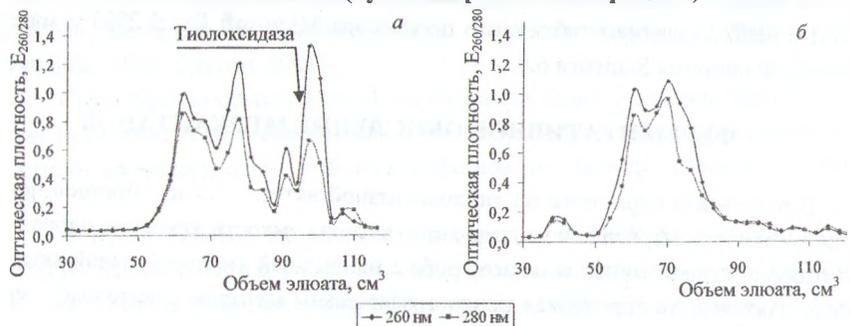
Анализ экспериментальных данных показал, что в отсутствие β-меркаптоэтанола биосинтез внеклеточной тиолоксидазы не происходит. Определение тиолоксидазной активности во фракциях хроматографических пиков позволило установить, что фермент элюируется с колонки (1,2×91 см, с TOYOPEARL HW-55) в объеме 97,0 см³ (рисунки 1 и 2).



а – натуральная питательная среда с β-меркаптоэтанолом;

б – натуральная питательная среда без β-меркаптоэтанола

Рисунок 1 – Профили элюирования внеклеточных белков КЖ *T. viride* Ф-84 (культивирование с аэрацией)



а – натуральная питательная среда с β-меркаптоэтанолом;

б – натуральная питательная среда без β-меркаптоэтанола

Рисунок 2 – Профили элюирования внеклеточных белков КЖ *T. viride* Ф-84 (культивирование без аэрации)

Наиболее интенсивный биосинтез внеклеточной тиолоксидазы наблюдали при глубинном способе культивирования в ферментаторе (3,0 дм³) в течение 120–144 ч, в питательной среде – сусло-бульон, концентрации индуктора – 0,2 об.%, аэрации воздухом – 1 м³/м³ питательной среды в мин и рН среды – 5,2–5,6.

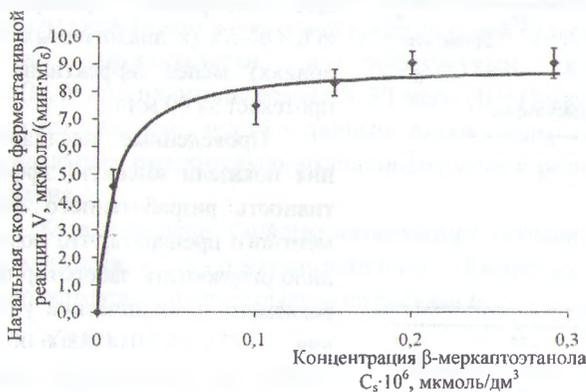
Для исследования кинетики тиолоксидазной реакции разработали методику, основанную на полярографическом методе определения концентрации кислорода. Ферментативная реакция протекает по уравнению:



где R-SH – первый субстрат,

O₂ – второй субстрат.

Кинетические кривые потребления кислорода регистрировали при разных концентрациях β-меркаптоэтанола, определяли начальные скорости реакции, на основании которых строили график зависимости начальных скоростей ферментативной реакции, отнесенных к единице массы внеклеточного белка от концентрации β-меркаптоэтанола. Результаты представлены на рисунке 3. Полученная зависимость описывается уравнением Михаэлиса-Ментен.



**Рисунок 3 –
Зависимость
начальной скорости
ферментативной
реакции от
концентрации
β-меркаптоэтанола**

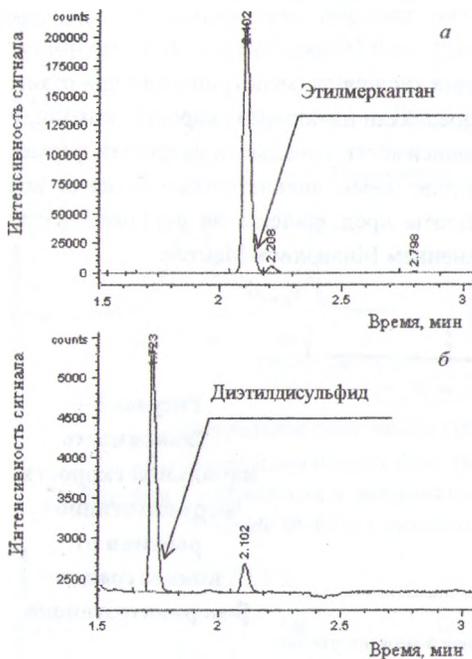
Используя линеаризацию уравнения Михаэлиса-Ментен по Лайнуиверу-Бэрку определили, что K_m реакции окисления β-меркаптоэтанола внеклеточной тиолоксидазой штамма *T. viride* Ф-84 составляет 10,0 мкмоль/дм³, а V_{max} – 8,93 мкмоль/(мин·мгб).

При анализе структурной организации фермента методом гель-хроматографии установили, что молекулярная масса нативного фермента составляет 48 кДа, а поскольку на SDS-электрофореграмме денатурированной тиолоксидазы наблюдалась одна электрофоретическая полоса, соответствующая белку с молекулярной массой около 13 кДа, был сделан вывод, что тиолоксидаза представляет собой тетрамер, состоящий из одинаковых субъединиц.

Внеклеточная тиолоксидаза эффективно окисляет меркаптаны до дисульфидов, которые легче десорбируются с поверхностей объектов, загрязненных меркаптанами. Это свойство было положено в основу разработанного фермент-

ного препарата «АНТИ-ОДОР» на основе КЖ мицелиального гриба *T. viride* Ф-84 продуцента внеклеточной тиолоксидазы.

Для определения эффективности дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами, была разработана методика, основанная на определении изменения соотношения концентраций меркаптан/дисульфид в газовой фазе герметичного реактора методом ГЖХ (рисунок 4).



а – начальный момент дезодорации;
б – 20 мин от начала дезодорации

Рисунок 4 – Ферментативное окисление этилмеркаптана в диэтилдисульфид

Образцы х/б ткани массой (2,86 ± 0,05) г, загрязненные этилмеркаптаном, обрабатывали ферментным препаратом «АНТИ-ОДОР» (в количестве 1,0 см³). Этилмеркаптан полностью превращался в диэтилдисульфид за 25 мин. Дезодорация импортным препаратом «ODOR-X» (в аналогичных условиях) менее эффективна и протекает за 40 мин.

Проведенные исследования показали высокую эффективность разработанного ферментного препарата, что позволило разработать лабораторный регламент и технические условия (ТУ РБ 101478806.001 – 2004) на производство ферментного препарата «АНТИ-ОДОР».

Наработана опытная партия препарата, эффективность

которого подтверждена опытно-промышленными испытаниями на ГРС ОАО «Белтрансгаз».

Токсико-гигиеническая оценка ферментного препарата «АНТИ-ОДОР», выполненная в ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены», показала, что препарат экологически безопасен, не обладает кожно-раздражающим, ирритативным действием, патогенными свойствами по отношению к теплокровным животным и относится к IV классу опасности.

Вышеизложенное свидетельствует, что ферментный препарат «АНТИ-ОДОР» является импортозамещающей продукцией.

ХИМИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ МЕРКАПТАНОВ

Проведен синтез катализатора бис (N, N-диэтилдитиокарбамата-S, S') меди (II), структура подтверждена данными ИК-спектроскопии ($\nu_{C-N} = 1274 \text{ см}^{-1}$; $\nu_{C-S} = 997 \text{ см}^{-1}$; $\nu_{Cu-S} = 600 \text{ см}^{-1}$), энергодисперсионного анализа (C = 37,19 %; O = 4,07 %; S = 40,32 %; Cu = 18,42 %), рентгеноструктурного анализа.

Структура катализатора представлена на рисунке 5.

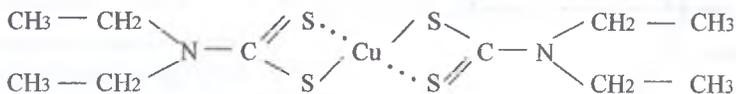


Рисунок 5 – Структурная формула катализатора бис (N, N-диэтилдитиокарбамата-S, S') меди (II)

Установлено, что окисление меркаптанов гипохлорит ионами и молекулярным кислородом в щелочной среде до солей сульфоновых кислот протекает только каталитически и эффективным катализатором является бис (N, N-диэтилдитиокарбамат-S, S') меди (II). Показано, что данный процесс является сложным, многостадийным, включающим в себя радикальные, ион-радикальные, окислительно-восстановительные и реакции электрофильного замещения.

Каталитические свойства катализатора изучали в реакциях окисления – этилмеркаптана и β -меркаптоэтанола. Кинетическая кривая окисления β -меркаптоэтанола представлена на рисунке 6.

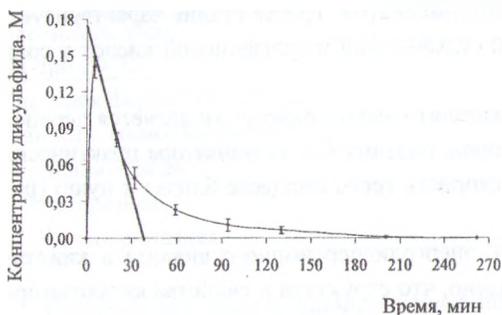
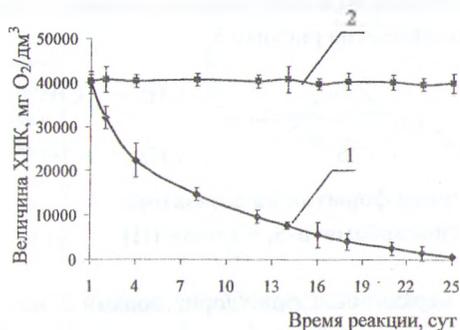


Рисунок 6 – Кинетическая кривая окисления β -меркаптоэтанола (по дисульфиду)

Быстрая начальная стадия реакции, соответствующая образованию первого продукта окисления β -меркаптоэтанола в дисульфид, протекает в течение первых 5 мин. Вторая часть кинетической кривой характеризует окисление дисульфида в тиосульфат и тиосульфат.

Некаталитическое окисление β -меркаптоэтанола гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом при тех же условиях реакции не приводит к образованию дисульфида или других продуктов окисления, что свидетельствует об эффективном действии катализатора.

Кинетику окисления этилмеркаптана изучали в лабораторном реакторе, по своим геометрическим пропорциям соответствующем промышленной емкости хранения одоранта на ГРС (масштаб 1:1000). О степени окисления этилмеркаптана, характеризующей дезодорацию, судили по величине ХПК, полученные результаты представлены на рисунке 7.



1 – каталитическое окисление;
2 – некаталитическое окисление

Рисунок 7 – Изменение величины ХПК в процессе окисления этилмеркаптана

На полученной кривой 1 можно выделить три кинетические зоны. Первая – до 4 сут, вторая – до 16 сут, третья – до 25 сут. Каждой из зон соответствуют определенные реакции окисления этилмеркаптана. Самая высокая скорость начального участка кинетической кривой обусловлена радикальными реакциями, инициаторами которых являются супероксид анион радикал и тиольный радикал, образующиеся на поверхности катализатора бис (N, N-диэтилдитиокарбамата-S, S') меди (II). Вторая более медленная стадия обусловлена тем, что здесь преобладают реакции обмена, гидролиза, разложения, направленные на дальнейшее окисление интермедиатов. Третья стадия характеризуется медленным превращением солей сульфеновой и сульфеновой кислот в соли сульфоновой кислоты.

Лимитирующей стадией в некаталитическом окислении является перенос электрона с тиолят-аниона на кислород, поэтому без катализатора практически отсутствует радикальная стадия и скорость всего процесса близка к нулю (рисунок 7, кривая 2).

Методами ИК-спектроскопии, энергодисперсионного анализа и кинетическими исследованиями подтверждено, что структура и свойства катализатора оставались неизменными в ходе катализа.

Выполненные исследования показали, что окисление меркаптанов гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом в щелочной среде может быть осуществлено только каталитически, при этом бис (N, N-диэтилдитиокарбамат-S, S') меди является эффективным катализатором этого процесса.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА «АНТИ-ОДОР» И ПРОМЫШЛЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНО-ХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЕЗОДОРАЦИИ ОБЪЕКТОВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ МЕРКАПТАНАМИ

В результате проведенных исследований была предложена принципиальная технологическая схема получения ферментного препарата на основе отобранного штамма *T. viride* Ф-84, включающая базовые биотехнологические этапы:

- приготовление питательной среды;
- получение посевного материала;
- глубинное культивирование;
- приготовление ферментного препарата;
- фасовка, упаковка и маркировка готового продукта;
- обезвреживание некондиционного посевного материала и нестерильной питательной среды.

Характеристика разработанного ферментного препарата (ТУ РБ 101478806.001 – 2004) представлена в таблице.

Таблица – Характеристика ферментного препарата «АНТИ-ОДОР»

Наименование показателя	Норма
Внешний вид, цвет, запах	прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость от желтого до светло-коричневого цвета, с запахом отдушки
Плотность, г/см ³	1,04 ± 0,01
pH при 20 °С	5,2–5,6
Удельная ферментативная активность, мкмоль/(мин·мг)	
- целлюлазная	260,80 ± 0,30
- эстеразная	189,80 ± 0,35
- тиолоксидазная	0,90 ± 0,06

Проведенные опытно-промышленные испытания ферментного препарата «АНТИ-ОДОР» показали, что препарат устраняет запах этилмеркаптана со спецодежды, кожи рук, оборудования, инструментов через 10 мин после аэрозольного нанесения. Дезодорация протекает за счет реакции ферментативного окисления меркаптана кислородом воздуха до дисульфидов, которые десорбируются с поверхности загрязненного объекта.

Внутренние поверхности загрязненных объектов, таких как емкости хранения одоранта, не могут быть дезодорированы ферментным препаратом из-за

высокой концентрации меркаптана, вызывающего субстратное ингибирование фермента. Поэтому был предложен ферментативно-химический метод дезодорации загрязненных объектов, заключающийся в окислении меркаптанов на открытых поверхностях молекулярным кислородом с помощью ферментного препарата, а в закрытых емкостях – гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом в водно-щелочной среде с помощью катализатора бис (N, N-диэтилдитиокарбамата-S, S') меди.

Принципиальная схема ферментативно-химической дезодорации представлена на рисунке 8.

Основным этапом схемы является стадия «Дезодорация», заключающаяся в том, что в емкость хранения одоранта загружаются растворы гипохлорита натрия, гидроксида натрия и суспензия катализатора.

Для предотвращения попадания в атмосферу газообразного этилмеркаптана, выделяющегося за счет увеличения объема жидкой фазы в емкости хранения одоранта, а также за счет увеличения испарения этилмеркаптана в процессе экзотермических стадий дезодорации, использовали водно-щелочной затвор.

Контроль за дезодорацией осуществляли с помощью определения величины ХПК в периодически отбираемых пробах. Для утилизации отработанной дезодорирующей смеси ее нейтрализовали раствором серной кислоты до pH 8,0–9,0. По этому показателю и концентрациям загрязняющих веществ нейтрализованная дезодорирующая смесь соответствовала значениям допустимым для сброса в коммунальную хозяйственно-фекальную канализацию.

В соответствии с разработанной методикой «Химико-биологическая дезодорация поверхностей и емкостей загрязненных меркаптанами» на ГРС была проведена ферментативно-химическая дезодорация загрязненной этилмеркаптаном емкости хранения одоранта. Испытания показали высокую эффективность разработанной методики и позволили создать «Опытно-промышленный

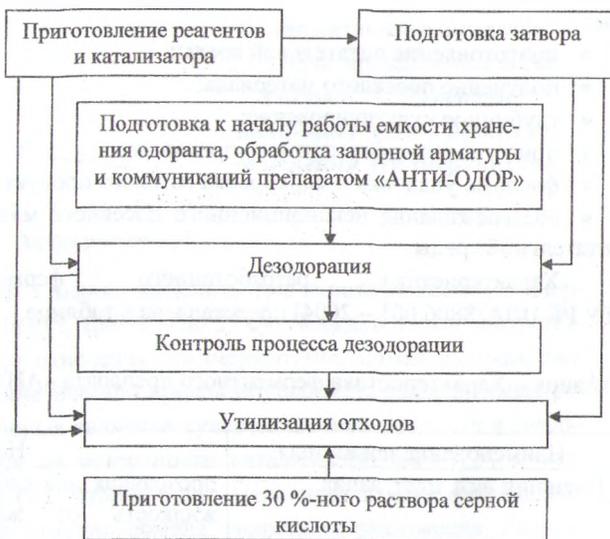


Рисунок 8 – Принципиальная схема ферментативно-химической дезодорации

регламент на процесс дезодорации подземных емкостей хранения одоранта, деталей одоризационных установок и адсорберов на газораспределительных станциях».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Из почв, загрязненных меркаптанами, и водного затвора емкости хранения одоранта отобрано 10 штаммов микроорганизмов, обладающих тиолоксидазной активностью. В результате скрининга установлено, что штамм *Trichoderma viride* Ф-84 проявляет наивысшую тиолоксидазную активность [4, 5, 6].

2. Разработан чувствительный полярографический метод определения тиолоксидазной активности, основанный на определении скорости потребления молекулярного кислорода в реакции окисления меркаптана в жидкой среде, а также оригинальная методика анализа степени ферментативной дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами, с помощью метода ГЖХ по скорости превращения этилмеркаптана в диэтилдисульфид [1, 5, 6].

3. Выявлено новое свойство мицелиального гриба *Trichoderma viride* Ф-84 окислять меркаптаны до дисульфидов молекулярным кислородом с помощью внеклеточного фермента – тиолоксидаза (КФ 1.8.3.2 тиол : кислородоксидоредуктаза). Установлено, что фермент является индуцибельным, индуктором биосинтеза выступает – β -меркаптоэтанол. Штамм *Trichoderma viride* Ф-84 не является ни патогенным, ни аллергенным и может использоваться для производства ферментного препарата «АНТИ-ОДОР», предназначенного для дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами [5, 6].

4. Определены режимы культивирования штамма *Trichoderma viride* Ф-84, позволяющие достичь максимального выхода внеклеточного фермента. Разработана технология получения нового ферментного препарата «АНТИ-ОДОР» на основе культуральной жидкости мицелиального гриба *Trichoderma viride* Ф-84. Технологический процесс является периодическим и состоит из следующих стадий: приготовление питательной среды, получение посевного материала, культивирование в производственном ферментаторе, фильтрование культуральной жидкости, внесение добавок, упаковка готового продукта. Установлено, что ферментный препарат не токсичен, относится к IV классу опасности и не обладает кожно-раздражающим и ирритативным действием [10].

5. Опытные-промышленные испытания ферментного препарата «АНТИ-ОДОР» показали, что он устраняет запах меркаптанов со спецодежды, кожи рук, оборудования, инструментов за счет реакции ферментативного окисления

меркаптанов кислородом воздуха до дисульфидов, которые легко десорбируются с загрязненных объектов [10, 14, 18].

6. Впервые показано, что эффективным катализатором реакции окисления меркаптанов гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом в водно-щелочной среде до солей сульфокислот является бис (N, N-диэтилдитиокарбамат-S, S') меди. Изучены его физико-химические свойства и проведены кинетические исследования реакции [3, 4, 13, 20].

7. Разработан ферментативно-химический метод дезодорации загрязненных объектов, заключающийся в окислении меркаптанов на открытых поверхностях молекулярным кислородом с помощью ферментного препарата «АНТИ-ОДОР» до дисульфидов и в закрытых емкостях гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом с помощью катализатора бис (N, N-диэтилдитиокарбамата-S, S') меди до солей сульфоновых кислот [3, 4, 12, 18].

Рекомендации по практическому использованию результатов

К практическому применению рекомендуется *Trichoderma viride* Ф-84 – штамм-продуцент внеклеточной тиолоксидазы, использованный для создания ферментного препарата «АНТИ-ОДОР».

Разработаны и утверждены технические условия на ферментный препарат ТУ РБ 101478806.001 – 2004 «Препарат ферментный «АНТИ-ОДОР», разработан «Лабораторный регламент на получение ферментного препарата», проведены токсико-гигиенические испытания препарата. Полученные результаты и разработанные документы могут быть использованы для организации производства ферментного препарата «АНТИ-ОДОР», являющегося импортозамещающим товаром. Ферментный препарат может найти применение не только в газовой отрасли, но и на нефтеперерабатывающих, целлюлозно-бумажных и др. предприятиях, в технологических процессах которых образуются или используются меркаптаны.

Разработаны методика «Химико-биологическая дезодорация поверхностей и емкостей, загрязненных меркаптанами» и «Опытнo-промышленный регламент на процесс дезодорации подземных емкостей хранения одоранта, деталей одоризационных установок и адсорберов на газораспределительных станциях».

Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре биотехнологии и биоэкологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет», на кафедре общей экологии и методики преподавания биологии Белорусского государственного университета, а также могут быть использованы в учебном процессе других высших учебных заведений биологического профиля.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах:

1. Скрининг тиолоксиляющих микроорганизмов / В.Н. Леонтьев, Е.А. Флюрик, И.М. Бурак, И.В. Свиридова // Тр. Белорус. гос. технол. ун-та. Сер. 4, Химия и технология органических веществ. – 2004. – Вып. 12. – С. 184–186.

2. Флюрик, Е.А. Свойства тиолоксиляющих ферментов / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев, И.В. Свиридова // Тр. Белорус. гос. технол. ун-та. Сер. 4, Химия и технология органических веществ. – 2004. – Вып. 12. – С. 187–188.

3. Флюрик, Е.А. Химические и ферментативные методы дезодорации меркаптанов / Е.А. Флюрик, О.Г. Лазарева, В.Н. Леонтьев // Тр. Белорус. гос. технол. ун-та. Сер. 4, Химия и технология органических веществ. – 2006. – Вып. 14. – С. 159–160.

4. Флюрик, Е.А. Ферментативный и химический катализ окисления низкомолекулярных тиолов / Е.А. Флюрик // Молодежь в науке – 2007 : прил. к журн. «Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі» : [материалы междунар. науч. конф. молодых ученых, Минск, 23–26 окт. 2007 г.] : в 4 ч. – Минск, 2008. – Ч. 3 : Серия физико-математических наук ; Серия физико-технических наук ; Серия химических наук. – С. 326–331.

5. Флюрик, Е.А. Индукция биосинтеза внеклеточного фермента тиолоксидазы микроорганизмами / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // Тр. Белорус. гос. технол. ун-та. Сер. 4, Химия и технология органических веществ. – 2008. – Вып. 16. – С. 177–180.

6. Флюрик, Е.А. Тиолоксидазная активность микроорганизмов / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // Докл. НАН Беларуси. – 2008. – Т. 52, № 6. – С. 70–75.

Материалы конференций:

7. Флюрик, Е.А. Разработка методов дезодорации меркаптанов / Е.А. Флюрик // 54-я студенческая научно-техническая конференция : материалы конф., Минск, 19–24 мая 2003 г. : в 2 ч. / Белорус. гос. технол. ун-т. – Минск, 2003. – Ч. 2. – С. 81–82.

8. Леонтьев, В.Н. Разработка дезодоранта меркаптанов / В.Н. Леонтьев, Е.А. Флюрик // Новейшие достижения в области импортозамещения в химической промышленности и производстве строительных материалов : материалы

междунар. науч.-техн. конф., Минск, 26–28 нояб. 2003 г. / Беларус. гос. технол. ун-т ; редкол.: И.М. Жарский (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2003. – С. 407–409.

9. Леонтьев, В.Н. Разработка ферментного препарата для дезодорации меркаптанов / В.Н. Леонтьев, Е.А. Флюрик // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии : материалы междунар. конф., Минск, 26–28 мая 2004 г. / НАН Беларуси, Ин-т микробиологии ; отв. ред.: А.Г. Лобанок, Р.В. Михайлова. – Минск, 2004. – С. 308–310.

10. Новая технология дезодорации меркаптанов в газовой промышленности / В.Н. Леонтьев, Е.А. Флюрик, И.В. Свиридова, О.Г. Лазарева // Новые технологии рециклинга отходов производства и потребления : материалы междунар. науч.-техн. конф., Минск, 24–26 нояб. 2004 г. / Беларус. гос. технол. ун-т ; редкол.: И.М. Жарский (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2004. – С. 478–480.

11. Леонтьев, В.Н. Ферментный препарат для устранения запаха меркаптанов, применяемых в газовой промышленности / В.Н. Леонтьев, Е.А. Флюрик // Перспективы и проблемы развития биотехнологии в рамках единого экономического пространства стран содружества : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск – Нарочь, 25–28 мая 2005 г. / Беларус. гос. ун-т [и др.] ; сост. и общ. ред. А.Н. Евтушенкова. – Минск, 2005. – С. 124–125.

12. Флюрик, Е.А. Комплексный химико-биологический метод дезодорации меркаптанов / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // Техника и технология защиты окружающей среды : материалы междунар. науч.-техн. конф., Минск, 5–7 дек. 2006 г. / Беларус. гос. технол. ун-т ; редкол.: И.М. Жарский (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2006. – С. 137–138.

13. Флюрик, Е.А. Каталитическое окисление меркаптанов / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // Техника и технологии: инновации и качество : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Барановичи, 23–24 нояб. 2007 г. / М-во образования Респ. Беларусь, Баранович. гос. ун-т ; редкол.: В.И. Кочурко (гл. ред.) [и др.]. – Барановичи, 2007. – С. 368–370.

14. Флюрик, Е.А. Биотехнологический метод удаления меркаптанов с загрязненных поверхностей / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // Новые технологии рециклинга отходов производства и потребления : материалы Междунар. науч.-техн. конф., Минск, 28–29 мая 2008 г. / Беларус. гос. технол. ун-т ; редкол.: И.М. Жарский (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2008. – С. 71–72.

15. Флюрик, Е.А. Роль внеклеточной тиолоксидазы микроорганизмов в защите окружающей среды от меркаптанов / В.Н. Леонтьев, Е.А. Флюрик // Актуальные проблемы экологии : материалы IV междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 29–31 окт. 2008 г. / Гродн. гос. ун-т ; редкол.: И.Б. Заводник (отв. ред.), Н.П. Канунникова, В.Н. Бурдзь. – Гродно, 2008. – С. 239–242.

Тезисы докладов:

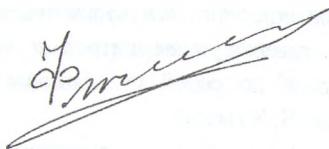
16. Флюрик, Е.А. Изучение свойств фермента – тиолоксидазы / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // НИРС – 2003 : тез. докл. VIII Респ. науч.-техн. конф. студентов и аспирантов, Минск, 9–10 дек. 2003 г. : в 7 ч. / Беларус. нац. техн. ун-т ; редкол.: Б.М. Хрусталева [и др.]. – Минск, 2003. – Ч. 7 : Информационные технологии, компьютерные сети и системы. Математика. Биология. Медицинские и фармацевтические науки. – С. 124–125.

17. Флюрик, Е.А. Химические и ферментативные методы дезодорации меркаптанов / Е.А. Флюрик, О.Г. Лазарева, В.Н. Леонтьев // НИРС – 2005 : сб. тез. докл. X Респ. науч. конф. студентов и аспирантов высш. учеб. заведений Респ. Беларусь, Минск, 14–16 февр. 2006 г. : в 3 ч. / Беларус. гос. ун-т [и др.]; редкол.: С.К. Рахманов [и др.]. – Минск, 2005. – Ч. 2. – С. 287.

18. Леонтьев, В.Н. Ферментативная дезодорация меркаптанов / В.Н. Леонтьев, Е.А. Флюрик, О.Г. Лазарева // ВэйстГэк – 2007 : сб. докл. Пятого Международного конгресса по управлению отходами и природоохранными технологиями, Москва, 29 мая–1 июня. 2007 г. / СИБИКО ; редкол.: Н.Ф. Абрамов – М., 2007. – С. 333–334.

19. Флюрик, Е.А. Экзогенная тиолоксидаза в решении проблемы дезодорации меркаптанов / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // Актуальные проблемы экологии – 2007 : тез. докл. III Междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 21–23 нояб. 2007 г. / Гродн. гос. ун-т ; редкол.: Н.П. Канунникова (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2007. – С. 87.

20. Флюрик, Е.А. Катализатор процесса окисления меркаптанов / Е.А. Флюрик, В.Н. Леонтьев // Химия твердого тела и функциональные материалы – 2008 : тез. докл. Всерос. науч. конф., Екатеринбург, 21–24 окт. 2008 г. / Урал. отд-ние Рос. акад. наук ; редкол.: Г.П. Швейкин [и др.]. – Екатеринбург, 2008. – С. 379.



РЕЗЮМЕ

Флюрик Елена Андреевна Ферментативно-химическая дезодорация объектов, загрязненных меркаптанами

Ключевые слова: меркаптан, одорант, дезодорация, внеклеточная тиолоксидаза, ферментный препарат, катализатор, каталитическое окисление.

Объект исследований: штамм-продуцент внеклеточной тиолоксидазы, тиолоксидаза и катализатор химического окисления меркаптанов.

Предмет исследования: ферментативные и химические реакции окисления меркаптанов, лежащие в основе дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами.

Цель исследования: разработка метода ферментативно-химической дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами, на основе каталитического окисления этих соединений, для его практической реализации в области защиты объектов окружающей среды.

Результаты исследования и их новизна: из почвы, загрязненной меркаптанами, выделен штамм мицелиального гриба *Trichoderma viride* Ф-84, являющийся продуцентом внеклеточной тиолоксидазы. Тиолоксидаза (КФ 1.8.3.2 тиол : кислородоксидоредуктаза) катализирует окисление меркаптанов до дисульфидов молекулярным кислородом. Фермент является индуцибельным, индуктором биосинтеза выступает β -меркаптоэтанол. Разработана технология получения нового ферментного препарата «АНТИ-ОДОР», устраняющего запах меркаптанов со спецодежды, кожи рук, оборудования, инструментов.

Разработаны чувствительный полярографический метод определения тиолоксидазной активности, основанный на измерении скорости потребления молекулярного кислорода в реакции окисления меркаптана, и методика анализа степени дезодорации объектов, загрязненных меркаптанами, с помощью метода ГЖХ по скорости превращения этилмеркаптана в диэтилдисульфид.

Впервые показано, что эффективным катализатором реакции окисления меркаптанов гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом в водно-щелочной среде до солей сульфоновых кислот является бис (N, N-диэтилдителиокарбамат-S, S') меди.

Разработан метод ферментативно-химической дезодорации, заключающийся в окислении меркаптанов на открытых поверхностях молекулярным кислородом с помощью ферментного препарата «АНТИ-ОДОР» и в закрытых емкостях гипохлоритом натрия и молекулярным кислородом с помощью катализатора бис (N, N-диэтилдителиокарбамата-S, S') меди.

Область применения: экологическая биотехнология, энзимология, экологическая химия, газовая отрасль.

РЭЗЮМЭ

Флюрык Алена Андрэўна Ферментатыўна-хімічная дэзадарацыя аб'ектаў, забруджаных меркаптанамі

Ключавыя словы: меркаптан, адарант, дэзадарацыя, пазаклеткавая тыёлаксідаза, ферментны прэпарат, каталізатар, каталітычнае акісленне.

Аб'ект даследавання: штамп-прадукт пазаклеткавай тыёлаксідазы, тыёлаксідаза і каталізатар хімічнага акіслення меркаптанаў.

Прадмет даследавання: ферментатыўныя і хімічныя рэакцыі акіслення меркаптанаў, якія ляжаць ў аснове дэзадарацыі аб'ектаў, забруджаных меркаптанамі.

Мэта даследавання: распрацоўка метаду ферментатыўна-хімічнай дэзадарацыі аб'ектаў, забруджаных меркаптанамі, на аснове каталітычнага акіслення гэтых злучэнняў, для яго практычнай рэалізацыі ў галіне аховы аб'ектаў навакольнага асяроддзя.

Вынікі даследавання і іх навізна: з глебы, забруджанай меркаптанамі, вылучаны штамп міцэліяльнага грыба *Trichoderma viride* Ф-84, які з'яўляецца прадуктам пазаклеткавай тыёлаксідазы. Тыёлаксідаза (КФ 1.8.3.2 тыёл : кіслародаксідарэдуктаза) каталізуе акісленне меркаптанаў да дысульфідаў малекулярным кіслародам. Фермент з'яўляецца індцыбельным, індуктарам біясінтэзу выступае β-меркаптаэтанол. Распрацавана тэхналогія атрымання новага ферментнага прэпарата «АНТИ-ОДОР», які ліквідуе пах меркаптанаў са спецвопраткі, скуры рук, абсталявання, інструменту.

Распрацаваны адчувальны паляраграфічны метадавызначэння тыёлаксідазнай актыўнасці, заснаваны на вызначэнні хуткасці спажывання малекулярнага кіслароду ў рэакцыі акіслення меркаптану, і метадыка аналізу ступені дэзадарацыі аб'ектаў, забруджаных меркаптанамі, з дапамогай метаду ГВХ па хуткасці ператварэння этилмеркаптану ў дыэтылдысульфід.

Упершыню паказана, што эфектыўным каталізатарам рэакцыі акіслення меркаптанаў гіпахларытам натрыю і малекулярным кіслародам у водна-шчолачным асяроддзі да соляў сульфакіслот з'яўляецца біс (N, N-дыэтылдытыякарбамат-S, S') медзі.

Распрацаваны метадавызначэння ферментатыўна-хімічнай дэзадарацыі, які заключаецца ў акісленні меркаптанаў на адкрытых паверхнях малекулярным кіслародам з дапамогай ферментнага прэпарата «АНТИ-ОДОР» і ў зачыненых ёмістасцях гіпахларытам натрыю і малекулярным кіслародам з дапамогай каталізатара біс (N, N-дыэтылдытыякарбамата-S, S') медзі.

Галіна выкарыстання: экалагічная біятэхналогія, энзімалогія, экалагічная хімія, газавая галіна.

SUMMARY

Flyurik Elena Andreevna

Enzymatic-chemical deodorization of objects, polluted with mercaptans

Keywords: mercaptan, odorant, deodorization, extracellular thioloxidase, enzymatic agent, catalyst, catalytic oxidation.

Research object: a strain-producer of extracellular thioloxidase, a thioloxidase and a catalyst of chemical oxidation of mercaptans.

Research subject: enzymatic and chemical reactions of oxidation of mercaptans underlying deodorization of the objects, polluted with mercaptans.

Purpose of research work: to develop a method for enzymatic-chemical deodorization of objects polluted with mercaptans, based on the catalytic oxidation of these compounds, to be employed in the field of environmental protection.

Results of research and their novelty: a strain of filamentous fungi *Trichoderma viride* Ф-84, an active producer of the extracellular thioloxidase, has been isolated from the soil, contaminated with mercaptans, allocated. Thioloxidase (EC 1.8.3.2. thiol : oxygenoxidoreductase) catalyzes the oxidation of mercaptans to disulphides with molecular oxygen. This ferment is inducible and β -mercaptoethanol is the inductor of the biosynthesis. The technology for obtaining the new enzymatic agent «АНТИ-ОДОР», eliminating mercaptan odor from working clothes, hands, equipment and instruments, has been developed.

A sensitive polarographic method for determination of thioloxidase activity, based on measurement of the molecular oxygen consumption rate in the reaction of mercaptan oxidation, and a method for analysis of the deodorization degree of objects polluted with mercaptans by GLC using the conversion rate of ethylmercaptan to diethyldisulphide, have been developed.

It was shown for the first time that bis (N, N-diethyldithiocarbamate-S, S') copper is effective catalyst for the reaction of mercaptan oxidation to sulfonic acid salts with sodium hypochlorite and molecular oxygen in the aqueous-alkaline medium.

An enzymatic-chemical method of deodorization has been developed, which consists in oxidation of mercaptans on open surfaces by molecular oxygen with the aid of the «АНТИ-ОДОР» enzymatic agent and in closed spaces – with sodium hypochlorite and molecular oxygen aided by bis (N, N-diethyldithiocarbamate-S, S') copper as a catalyst.

Field of application: environmental biotechnology, enzymology, environmental chemistry, gas industry.