

УДК 502.3:504.5:547.281.1

**СИСТЕМА ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ОЧИСТКИ ВОЗДУХА****Жигальский О.А., Скапкарева В.О.***ГУ «Институт экологии растений и животных» УрО РАН, Екатеринбург,  
e-mail: zig@ipae.uran.ru*

Показано, что пероксидаза может значительно ускорять процесс окисления формальдегида и ароматических соединений пероксидом водорода, сначала до муравьиной кислоты, а затем до углекислого газа и воды. В качестве субстанции, содержащей пероксидазу, использован сок капусты белокочанной. Использование соков растительного происхождения, содержащих пероксидазу, оказалось эффективным даже при невысоких температурах (30С). В растительных и животных соках присутствует так же каталаза, которая разрушает пероксид водорода, замедляя процесс окисления формальдегида. Предложен способ значительно снижения активности каталазы СВЧ-облучением растительных соков, при этом активность пероксидазы остается на прежнем уровне, значительно увеличивая эффективность разрушения формальдегида.

**Ключевые слова:** ферментативная очистка воздуха, пероксидаза, каталаза, способ снижения активности каталазы

**SYSTEM ZYMOGENIC AIR CLEARINGS****Zhigalskii O.A., Skapkareva V.O.***Institute of Plant and Animal Ecology UB RAS, Ekaterinburg, e-mail: zig@ipae.uran.ru*

It is shown, that peroxidase can accelerate considerably process of oxidation of formaldehyde and aromatic connections by hydrogen peroxide, at first to formic acid, and then to carbonic gas and water. As a substance containing peroxidase, cabbage juice is used. Use of juice of the psychogenesis containing peroxidase, has appeared effective even at low temperatures (30C). In animal and vegetable juices present in the same catalase, which destroys hydrogen peroxide, delaying the oxidation of formaldehyde. The way of considerable decrease in activity catalase is offered by the SHF of vegetative juice, thus activity peroxidase remains at former level, considerably increasing efficiency of destruction of formaldehyde.

**Keywords:** zymogenic air clearings, peroxidase, a method of reducing the activity of catalase

Экологические проблемы XXI века стали поистине глобальными. Загрязнение атмосферы, литосферы, гидросферы стали опасными для всех живых существ и ставит человечество на грань выживания. Очевидно, что необходимо не только констатировать наличия тех ли иных экологических проблем, но и искать пути их решения. В настоящее время всё более широкое применение в различных отраслях производства находят биотехнологии, которые, основываясь на достижениях молекулярной биологии и биохимии, предлагаются ферментные системы как эффективное средство получения самых различных экологически чистых продуктов. Важнейшее достоинство этих методов состоит в том, что биологические катализаторы почти не производят побочных продуктов (в отличие от химических катализаторов) и поэтому не создают экологических загрязнителей. Кроме того системы очистки воздуха, основанные на использовании ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции, не требуют сложного дорогостоящего оборудования, а поэтому значительных материальных затрат. Ферментативные установки по очистке воздуха могут иметь самые разные размеры, от небольших домашних

до больших промышленных реакторов. Исключительно важным свойством ферментов является то, что они работают в мягких условиях. Использование ферментов позволяет снизить затраты времени и энергии на превращение вредных веществ в безопасные, а в идеале даже полезные вещества. Процессы окисления и окислительной конденсации являются экзотермическими. Можно создать условия, при которых реактор почти не будет терять тепло (термос). В таком случае поддержание оптимальных температур (36–400 °С) для работы ферментов не потребует, а поэтому не требуются значительные затраты энергии.

Известно, что ферменты есть во всех тканях биологического происхождения. Однако более 36% материалов растительного и животного происхождения рассматриваются как отходы производства и утилизируются. Вместе с тем соки животного и растительного происхождения, обладают окислительно-восстановительной ферментативной активностью и их можно использовать для обезвреживания многих органических соединений.

Ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции, имеют общее название – оксидоредуктазы [3].

Именно эти ферменты играют решающую роль в обезвреживании многих органических веществ, представляющих опасность для живых организмов [3,5]. Известно также, что многие оксидоредуктазы могут проявлять и долго сохранять активность и вне организма, например, в почве [4]. Это особенно важно, так как предполагает возможность применения окислительно-восстановительных ферментов в промышленных масштабах [2].

Важным свойством многих оксидоредуктаз является их способность катализировать окислительные процессы, протекающие при участии не одного вещества, а целого ряда органических соединений. Глубокое окисление на наш взгляд – перевод органических веществ в продукты без образования экологических загрязнителей. Мы предполагаем, что окисление в ряде случаев можно заменить реакцией окислительной конденсации, суть которой сводится к соединению молекул загрязняющего вещества в полимерные соединения. Окисление при этом также происходит, но как параллельный процесс. Сочетание реакций ферментативной окислительной конденсации и окисления приводят к образованию биологически неопасных высокомолекулярных соединений, которые могут служить субстратом для микроорганизмов, обитающих в почве или водоёмах [5].

Процессы окисления и окислительной конденсации являются экзотермическими. Построение систем очистки воздуха, основанных на использовании ферментов, не требует использования сложного дорогостоящего оборудования, а поэтому и значительных материальных затрат.

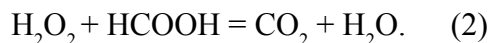
Цель работы: разработать эффективную методику обезвреживания формальдегида и ароматических соединений в атмосферном воздухе путем его окислительно-восстановительного ферментативного окисления пероксидом водорода в среде пероксидазы, полученной из растительных соков. Разработать метод снижения активности каталазы растительных соков, сохранив при этом активность пероксидазы на прежнем уровне.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Каталитическое окисление формальдегида пероксидом водорода в присутствии пероксидазы.

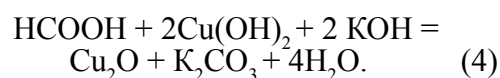
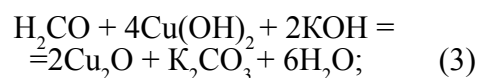
Скорость окисления формальдегида до муравьиной кислоты пероксидом водорода в естественных условиях очень низка:



Последующее за этим окисление муравьиной кислоты до углекислого газа и воды пероксидом водорода также очень медленный процесс:



В современной химии существует гипотеза о том, что пероксидаза может ускорять эти процессы. Для ее проверки были проведены эксперименты, в которых было показано, что пероксидаза значительно ускоряет оба процесса. В качестве субстанции, содержащей пероксидазу, использован фильтрованный (бумажный фильтр; синяя полоса) сок капусты белокочанной, разбавленный в 20 раз. В два химических стакана (опыт и контроль) были внесены по 10 мл а 0,5% водного раствора формальдегида. В контрольную емкость 2 мл. воды, а в опыте 2 мл. сока капусты белокочанной. Через 5 минут в обеих ёмкостях определялось наличие формальдегида. Обнаружить формальдегид (а также муравьиную кислоту) можно реакцией с гидроксидом меди в щелочной среде, которая протекает при нагревании.



При наличии в растворе формальдегида муравьиной кислоты наблюдается образование красного осадка оксида меди. В ёмкости, которая не содержала сок капусты (пероксидазу) быстро образовывался осадок оксида меди. В ёмкости, в которую мы добавляли пероксидазу, красный осадок не образовывался.

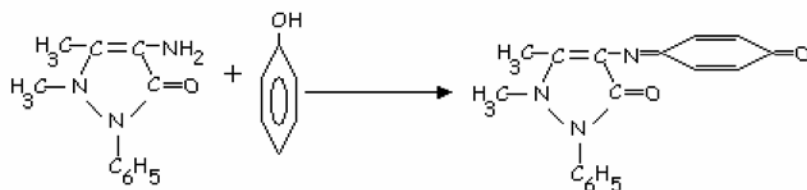
Нами была проведена серия экспериментов по выявлению нижнего предела активности пероксидазы в каталитическом окислении формальдегида пероксидом водорода. Оказалось, что даже при температуре 3 °С в опыте формальдегид успешно окисляется за 11–12 минут. Тогда как в ёмкости, не содержащей фермента (при одинаковых концентрациях формальдегида и пероксида водорода), проба с гидроксидом меди не давала красного осадка лишь спустя 56 часов.

Этот результат мы считаем удовлетворительным потому, что в эксперименте

создавалась концентрация формальдегида в растворе на порядок больше той, которая реально может быть в процессе очистки воздуха «мокрым способом». Суть «мокрого способа» состоит в том, что загрязнённый формальдегидом воздух с помощью компрессора прогоняется через воду, в которой растворяется формальдегид. Далее растворённый формальдегид окисляется пероксидом водорода в присутствии фермента пероксидазы. Проведённые эксперименты свидетельствуют о том, что прямое окисление формальдегида пероксидом водорода (без фермента) протекает чрезвычайно медленно и вряд ли может применяться для очистки воздуха от формальдегида «мокрым способом». Использование соков растительного происхождения, содержащих пероксидазу, может оказаться эффективным даже при невысоких температурах. Проба с гидроксидом меди показывает, что окисление формальдегида не заканчивается на стадии образования муравьиной кислоты, а протекает вплоть до образования углекислого газа, который покидает реакционную массу, не загрязняя её. Обнаруженные нами явления могут иметь большое практическое значение. Возможность проведения ферментативного окисления при температуре 3°C открывает перспективу использования предложенного метода в холодное время года в ёмкостях не требующих значительного подогрева.

ления практически прекращается. Наличие каталазы в растительных соках делает их не эффективными для очистки растворов, содержащих формальдегиды. Большая часть пероксида водорода разлагается без видимого результата. В принципе можно использовать очищенную пероксидазу, но это достаточно дорого и сводит на нет преимущества биологической очистки над физико-химическими методами.

Молекула каталазы имеет молекулярную массу большую, по сравнению с пероксидазой и структурно организована иначе. Исходя из этого, мы предположили, что, возможно, каталаза может оказаться более чувствительной к физическим воздействиям, а именно к излучениям высоких частот и высоких энергий. Мы остановились на СВЧ-излучателе. Была проведена серия экспериментов, в ходе которых СВЧ-облучению подвергались соки растительного происхождения, а также ткани растений. В ходе опытов менялась мощность и продолжительность облучения. В результате опытов было установлено, что в 50 мл фильтрованного сока капусты белокочанной при облучении мощностью 100 Вт в течение 180 секунд активность каталазы резко снижается (об активности каталазы можно судить по интенсивности выделения кислорода), а активность пероксидазы при этом сохраняется на высоком уровне. Активность пероксидазы мы оценивали с помощью цепной реакции:



Известны другие ферменты (например, альдегидоксидаза молока), которые окисляют формальдегид именно до муравьиной кислоты. Кислота накапливается в реакционной массе (происходит снижение рН) и тормозит процесс окисления. В соках растительного происхождения наряду с «полезной» пероксидазой непременно присутствует каталаза, которая разрушает пероксид водорода до водорода и кислорода. Каталаза разрушает пероксид водорода настолько быстро, что пероксидазе остаётся лишь небольшая его часть и процесс окис-

В результате реакции окислительной конденсации (окислитель – пероксид водорода; фермент – пероксидаза) развивается хорошо заметное красное окрашивание. В отсутствие пероксидазы реакция идёт очень медленно (заметная окраска развивается лишь через 18-20 часов). Реакция осуществляется при значениях водородного показателя 6-7. Таким образом, мы практически удалили каталазу, сохранив при этом высокую активность пероксидазы в соке растительного происхождения.

### Окислительная конденсация фенолов и аминов в системе $\text{Fe}^{2+}$ , $\text{H}_2\text{O}_2$ , пероксидаза

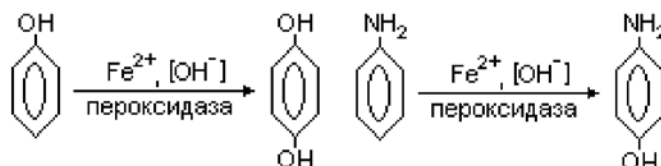
По данным литературы спектр реакций окисления органических веществ, которые способна ускорять пероксидаза весьма обширен. Мы применили этот фермент для окисления ароматических аминов и фенолов. Эти загрязнители атмосферы промышленных предприятий весьма опасны.

Реакция окисления ароматических аминов и фенолов пероксидом водорода идёт не достаточно быстро. Можно применять неорганические катализаторы (такие как ионы железа), но в этом случае образуется смесь продуктов, часть из которых могут не уступать фенолам и ароматическим аминам по экологической опасности. Проведённые нами опыты по окислению фенолов и аминов неорганическими катализаторами не позволили нам получить малорастворимые, легко отделяемые от воды продукты. Окисление фенолов и ароматических аминов пероксидом водорода, хотя и медленно, но неизбежно приводило к образованию нерастворимых в воде веществ, окрашенных в тёмно-коричневые и чёрные цвета. По данным литературы в ходе этих реакций образуются полимерные соединения, обладающие к тому же ионообменными свойствами. Продукты окисления фенолов и ароматических аминов не только не представляют экологической опасности,

оксидоредуктазами, например, анилин, 1-нафтиламин, пирокатехин, гидрохинон; трудно окисляемые оксидоредуктазами, например, *N,N*-диэтилнафтиламин-2, фенол, резорцин. Наиболее целесообразно соединения из второй группы превращать в соединения, относящиеся к первой группе. Более перспективным мы считаем сочетание двух стадий в одном процессе: 1. химическое превращение трудно окисляемых ароматических аминов, фенолов и нафтолов (окисление и гидроксילирование) в легко окисляемые соединения. 2. ферментативное окисление (окисление, окислительная конденсация) образующихся на химической стадии веществ, в ходе которого образуется осадок высокомолекулярных соединений.

Сложность решения этой задачи состоит в том, что технологически целесообразно, чтобы химическая и ферментативная стадии очистки происходили в одном реакторе, при одних и тех же условиях. Нам удалось найти решение этой задачи. Ферментативные реакции характеризуются большой скоростью. Необходимо сделать химическую стадию реакции сходной по скорости с ферментативной. Это возможно, если использовать эффективные катализаторы [5].

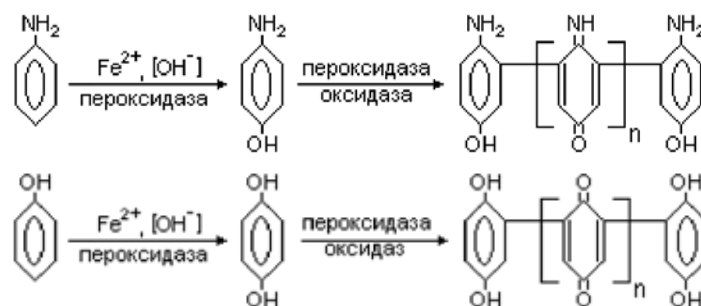
В химии известна реакция гидроксילирования замещённых фенолов в полифенолы и ряд родственных соединений пероксидом водорода в присутствии катализатора (соли  $\text{Fe}^{2+}$ ) с участием пероксидаз [5].



но и могут найти применение для улавливания ионов тяжёлых металлов. В наших опытах мы наблюдали высокую степень хемосорбции катионов свинца, кадмия, ртути. Известно также, что продукты окисления фенолов и ароматических аминов пероксидом водорода обладают свойствами гуминовых соединений. Таким образом, их можно применять для улучшения свойств почв. Поэтому можно утверждать, что в опытах по окислению пероксидом водорода фенолов и ароматических аминов мы превращаем вещества экологически опасные в полезные соединения.

Ароматические соединения можно разделить на две группы: легко окисляемые

В водный раствор ( $V=50$  мл), содержащий около 1% ароматического вещества, добавляли 6 мл 2,5%-го раствора перекиси водорода, 5 капель 6%-го раствора  $\text{FeSO}_4$ , 2 капли 10% раствора гидроксида натрия (до значения  $\text{pH} = 8-8,4$ ), сок растительного или животного происхождения, содержащий пероксидазу. Наблюдали быстрое развитие желто-красной окраски (5-6 минут), которая в течение последующих 10-15 минут переходит в красно-коричневую, а затем в течение 10-15 минут образуется осадок тёмно-коричневого цвета. Фильтрат не обнаруживает реакции на анилин (при действии хлорной извести не развивается синяя окраска), фенол (нитропруссид натрия не даёт цветной реакции).



Полученный осадок исследовали на предмет его способности адсорбировать из загрязнённой растворимыми соединениями ртути и свинца. Из 5мл 1% раствора полученный нами осадок массой 2,31 грамма извлекал ионы свинца, ртути и хрома до значений, не обнаруживаемых качественными химическими реакциями. Таким образом, нами в результате реакции окислительной конденсации получен осадок, обладающий свойствами катионита. В результате окислительной конденсации образуются полиядерные, богатые кислородом вещества, которые являются предшественниками гуминовых кислот, фульвокислот. Эти вещества могут повышать плодородие почв [1, 5]. Таким образом, получаемые в результате ферментативного окисления ароматических соединений вещества можно применять в качестве удобрений.

### Выводы

Экспериментально проверена возможность очистки атмосферного воздуха от формальдегида, фенолов и ароматических аминов с помощью окислительно-восстановительных ферментов, содержащихся в растительном сырье (отходы переработке сельскохозяйственных растений).

Выявлена возможность дезактивации фермента каталазы микроволновым излучением. Это открывает перспективы использования не очищенного фермента перокси-

дазы из растительных соков, содержащих этот энзим для очистки атмосферного воздуха от формальдегидов.

Разработана и испытана опытная установка, позволяющая вести комплексную очистку воздуха, подобраны оптимальные значения температуры и pH для её работы.

Осадок, полученный в результате окислительной конденсации и окисления фенолов и ароматических аминов, может применяться в качестве катионита для извлечения из водных растворов ионов тяжёлых металлов, а также ионов редкоземельных элементов из морской воды. Можно применять этот осадок и для улучшения свойств почв.

Предлагаемые методы очистки воздуха не требуют сложного и дорогого оборудования, больших энергетических затрат и могут использоваться на базе уже существующих на производствах систем очистки.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биссвангер Х. Практическая энзимология. – М.: Бинном, 2010. – 328 с.
2. Волова Т.Г. Биотехнологии. – Новосибирск: Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. – 252 с.
3. Диксон М., Узбб Э. Ферменты. – М.: Мир, 1982. Т. 2. – 392 с.
4. Ферменты. Лабораторный практикум: Учебное пособие / В.С. Гамаюрова, М.Е. Зиновьева – СПб.: Проспект Науки, 2011. – 256 с.
5. Фершт Э. Структура и механизм действия ферментов. – М.: Мир, 1980. – 432 с.