

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1]. Влияние первой ступени сульфитно-фосфорнокислой варки на показатели целлюлозы и отработанного щелока / Ю.Г. Бутко, Р.Е. Смирнов, Т.Б. Глобина и др. // Целлюлоза, бумага, картон. - 1992. - № 2. - С. 13. [2]. Сульфитно-фосфорнокислая варка целлюлозы / Р.Е. Смирнов, Ю.Г. Бутко, С.А. Вакуленко и др. // Лесн. журн. - 1990. - № 1. - С. 86-90. - (Изв. высш. учеб. заведений). [3]. Сульфитно-фосфорнокислая варка целлюлозы из осинової древесины / Ю.Г. Бутко, Р.Е. Смирнов, С.В. Булгаков и др. // Целлюлоза, бумага, картон. - 1994. - № 3-4. - С. 28.

Поступила 25 мая 1995 г.

УДК 676.164.022:661.7.062

Г.П. АЛЕКСАНДРОВА, М.И. БУРЯЧЕНКОВ, С.А. МЕДВЕДЕВА,
А.Н. ЗАКАЗОВ, В.А. БАБКИН

Иркутский институт органической химии СО РАН

ОРГАНОСОЛЬВЕНТНАЯ ДЕЛИГНИФИКАЦИЯ ДРЕВЕСИНЫ С ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКОЙ

Показано, что предварительная биологическая деструкция древесины осины грибом *Ph. sanguinea* увеличивает селективность органосольвентной варки и позволяет получить целлюлозный полуфабрикат с жесткостью на 5 ... 9 ед. Каппа меньше.

It has been shown that biological pre-destruction of aspen wood by the fungus *Ph. sanguinea* increases selectivity of organosolvent cooking and makes it possible to obtain pulp with a degree of cooking by 5 ... 9 Kappa units lesser.

В последние годы в связи с обострением экологической обстановки интенсивно ведутся работы по совершенствованию существующих и разработке новых способов производства целлюлозы. Варка в органических растворителях дает возможность использовать в качестве сырья древесину и хвойных, и лиственных пород, а также получать гемицеллюлозы и химически активный лигнин, пригодные для дальнейшей переработки. Использование органических растворителей позволяет исключить серосодержащие токсичные выбросы в окружающую среду и создать замкнутый технологический цикл.

Исследование кинетических закономерностей процесса водно-этанольной делигнификации в присутствии кислотных катализаторов показало, что при варке наблюдаются две кинетические стадии, описываемые уравнениями реакции псевдопервого порядка [2]. На первой (быстрой) кинетической стадии (60 ... 150 мин) в зависимости от концентрации добавляемой кислоты (0,1 ... 0,4 % HCl) удаляется от 35 до 90 % лигнина. На второй стадии скорость делигнификации снижается в 2 – 5 раз. Следовательно, чтобы достичь достаточно высокой степени делигнификации в процессе органосольventной варки (ОСВ) (например 10 ед. Каппа) необходимо либо использовать высокие концентрации катализатора, либо увеличивать продолжительность варки. Оба пути приводят к большой гидролитической деструкции целлюлозы. При этом выход целлюлозы снижается на 3 ... 5 % и почти в 2 раза уменьшается средняя степень полимеризации (СП).

Как показано ранее [5], воздействие грибов белой гнили на древесину приводит к деструкции лигнина, сопровождающейся окислительными реакциями, что может способствовать более легкой последующей делигнификации. Эта особенность действия микроорганизмов может быть использована для улучшения технологии получения целлюлозы органосольventным способом.

Цель данной работы – изучить условия повышения селективности ОСВ за счет стадии микробиологической и ферментативной обработки.

Культуры грибов *Trametes (Coriolus) villosus* (Lloyd) Kreisel 0276 (ВНПО Гидролизпром), *Phanerochaete chrysosporium* ATCC 24725 (БИН), *Phanerochaete sanguinea* (Fr) Pouz ВКМФ 2487D (ЛТА) поддерживали на сусло-агаре. Грибы выращивали на средах, описанных в работах [3,4], соответственно при температуре 33, 38 и 26 °С в течение 7 и 14 сут. Древесину осины в виде спичек с содержанием целлюлозы и лигнина 50,5 и 18,5 % инокулировали либо мицелием гриба, либо бесклеточным культуральным фильтратом (4 ... 10 мл фильтрата на 1 г древесины). В первом случае продолжительность инкубирования варьировали от 15 до 60 сут, во втором – от 3 до 12 сут. Ферментативную обработку при помощи *Trametes villosus* осуществляли при $t = 33$ °С. Биологически обработанную древесину (навеска 15 г абс. сухой древесины) загружали в автоклав, заливали 75 мл водного раствора этилового спирта (этанол : вода = 55 : 45 об. %), содержащего 0,2 % HCl к массе абс. сухой древесины, и автоклав опускали в глицериновую баню, нагретую до $t = 165$ °С. Продолжительность варки 180 мин. После варки щелок отбирали, целлюлозу экстрагировали 0,25 %-м раствором гидроксида натрия. Продолжительность экстракции 30 мин при $t = 70$ °С. После экстракции целлюлозу промывали водой; выход массы волокнистого полуфабриката определяли весовым методом, жесткость – по ГОСТ 10070 – 74; СП рассчитывали по вязкости растворов [3].

В выбранных условиях получили целлюлозу с выходом 52 ... 53 % и жесткостью 19 ... 20 ед. Каппа (табл. 1).

Таблица 1

Влияние предварительной биообработки древесины осины на свойства целлюлозы, получаемой при последующей водно-этанольной варке

Микроорганизм	Продолжительность биообработки, сут	Потеря массы древесины, %	Выход целлюлозы, %	Жесткость, ед. Каппа	Степень полимеризации
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	0	0	52,5	19,8	770
	15	8,5	50,7	12,9	480
	30	16,4	47,4	15,6	440
	60	27,3	44,5	15,9	400
<i>Phanerochaete sanguinea</i>	0	0	52,3	19,3	760
	15	1,7	52,4	14,9	670
	30	6,4	49,7	10,5	530
	60	10,9	46,8	10,5	480
<i>Trametes villosus</i>	0	0	52,7	19,7	780
	15	4,8	52,8	15,1	770
	30	5,2	52,1	14,8	780
	60	13,2	50,0	10,4	770

Предварительная биологическая обработка древесины грибами позволила при последующей водно-этанольной варке уменьшить жесткость целлюлозы на 6 ... 9 ед. Каппа, т. е. получить целлюлозу с жесткостью 10 ... 13 ед. Каппа.

Степень делигнификации и выход целлюлозы зависят от продолжительности биообработки грибами. При невысокой продолжительности культивирования (15 ... 30 сут) скорость роста лигниноразрушающей способности превышает скорость роста целлюлозоразрушающей способности гриба *Ph. sanguinea* [4], в результате чего деструкция древесины происходит в значительной степени за счет биодеструкции лигнина, и жесткость получаемой при ОСВ целлюлозы уменьшается. При более высокой продолжительности биообработки (60 сут) скорость деструкции целлюлозы опережает скорость делигнификации, поэтому жесткость образцов целлюлозы повышается. Таким образом, наиболее приемлемой оказывается продолжительность биообработки 15 ... 30 сут.

Среди сравниваемых микроорганизмов лучшие результаты получены при использовании гриба *T. villosus*, продуцирующего ферментный комплекс, обеспечивающий наибольшую селективность деструкции лигнина. Целлюлоза из древесины, инкубированной с *T. villosus*, имела достаточно высокий выход (50 ... 52 %), низкую жесткость (10 ... 15 ед. Каппа) и среднюю СП (770 ... 780), т. е. она менее деструктирована. Необходимо отметить, что попытка получить целлюлозу с подобной жесткостью (10 ед. Каппа) за счет увеличения расхода катализатора в 2 раза (концентрация HCl 0,4 %) привела к падению выхода целлюлозы на 6 % и уменьшению СП в 2 раза. Это сравнение свидетельствует о положительном влиянии стадии биологической обработки на последующую ОСВ.

Однако использование грибного мицелия в технологическом процессе сопряжено со значительными трудностями, так как требует создания специальных ферментеров для инкубирования древесины с грибами, сохранения стерильности процесса в течение длительного времени. Неприемлемыми оказываются и длительные сроки биообработки. В связи с этим нами изучена возможность биоделигнификации щепы перед варкой секреторным комплексом ферментов *T. villosus*, с культурой которого получены лучшие результаты.

Как показано ранее [1], бесклеточные культуральные фильтраты (КФ) обладают лигниназной, лакказной, арил- β -глюкозидазной, ксиланазной и целлюлазной активностью. Активность того или иного фермента зависит от возраста культуры, поэтому можно выбрать период инкубирования гриба, за который КФ окажется обогащенным определенным ферментом.

Для эксперимента был выбран семисуточный КФ, имеющий максимальную активность лигниназы (0,75 ед./ мг). В этом же препарате были тестированы лакказа (0,35 ед./ мг) и ксиланаза (0,09 ед./ мг). Им обработали древесину осины и подвергли ее водно-этанольной варке.

В ходе исследования выявлено, что выход целлюлозы и глубина ее делигнификации зависят от активности использованного КФ и продолжительности обработки (в табл. 2 представлены данные при продолжительности обработки 6 сут, контроль – без обработки). Естественная диффузия КФ в сосуды и полости клеток вдоль волокон от границ торцевых поверхностей к середине образца происходит в течение довольно длительного времени. Адсорбируясь на целлюлозе, ферменты в первую очередь гидролизуют рядом расположенные участки субстрата, и это приводит к их дальнейшему проникновению в глубь древесной матрицы. Если обрабатывать древесину осины КФ (соотношение 1 : 4) в течение 5 ... 13 сут, то наиболее приемлемые результаты (выход целлюлозы 48,7 %, жесткость 17,4 ед. Каппа) можно получить на шестые сутки. Поэтому именно при 6-суточной обработке подобраны оптимальная активность и соотношение культурального фильтрата и субстрата. При таких условиях получена целлюлоза с выходом 50 % и жесткостью 12 ед. Каппа.

Таблица 2
Свойства органосольventной целлюлозы из
древесины осины, обработанной ферментным
комплексом *Trametes villosus*

Номер опыта	Активность (лигниназа: лакказа:кси-ланаза), ед./г древесины	Выход целлюлозы, %	Жесткость, ед. Каппа
Контроль	—	53,7	25,7
1	8,0:3,0:1,0	49,7	17,1
2	14,0:5,3:1,8	52,1	17,2
3	20,0:7,5:2,5	50,0	12,0
4	28,0:10,5:3,5	49,0	10,1

В другой серии опытов выявлено, что ферментативная обработка позволяет сократить продолжительность водно-этанольной варки для получения полуфабрикатов той же степени делигнификации. Например, при варке, выполненной в течение 180 мин, жесткость целлюлозы составила 35,6 ед. Каппа. Если же ввести стадию биообработки, то целлюлозу с жесткостью 30,3 ед. Каппа можно получить за 90 мин варки. Кроме того, биообработкой с последующей варкой без использования катализатора можно достичь большей степени проварки, причем избирательность делигнификации при ОСВ биологически обработанной древесины несколько выше.

Таким образом, предварительная биологическая деструкция древесины осины грибами позволяет уменьшить жесткость целлюлозы на 8 ... 9 ед. Каппа (при сохранении выхода) в процессе последующей органосольвентной варки за счет повышения селективности. Культура *T. villosus* увеличивает селективность ОСВ в наибольшей степени и позволяет получать целлюлозу с выходом на 2 % выше контрольного образца при одинаковой жесткости. Установлено, что использование культурального фильтрата с определенной ферментативной активностью более эффективно, чем применение инкубирования древесины непосредственно с грибной культурой. Определяющим фактором при ферментативной обработке является время, необходимое для диффузии фермента в глубь древесной матрицы. Ферментативная обработка позволяет сократить продолжительность водно-этанольной варки для получения целлюлозы с той же степенью делигнификации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1]. Александрова Г.П., Медведева С.А., Бабкин В.А., Белик Ю.В. Внеклеточные ферменты лигнинолитических базидиомицетов рода *Trametes* // Химия древесины. - 1994. - № 2. [2]. Буряченков М.И., Заказов А.Н., Бабкин В.А. Исследование кинетики водно-этанольной делигнификации древесины осины в присутствии кислотных катализаторов // Исследования в области химии древесины: Тез. докл. 6-й Межреспубл. семинара. - Рига, 1991. - С. 9. [3]. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. - М.: Экология, 1991. - 320 с. [4]. Оптимизация процесса биоделигнификации лигноцеллюлозных материалов грибами *Phanerochaete sanguinea* / Г.П. Александрова, С.А. Медведева, Г.К. Балахчи и др. // Химия древесины. - 1989. - № 6. - С. 81-83. [5]. Пат. РФ 93-0194/12 от 14.04.93. Способ получения целлюлозы / Г.П. Александрова, М.И. Буряченков, С.А. Медведева, А.Н. Заказов, И.В. Волчатова, В.А. Бабкин.

Поступила 13 апреля 1995 г.