

1993
中国造纸展览会
学术报告会
论文集

(上)

1993年11月2—3日

北京 中国国际展览中心

主办单位: 美国制浆造纸技术协会 (TAPPI)

赞助单位: 中国造纸学会 (CTAPI)

翻译出版: 中国造纸学会

生物技术与制浆造纸工业

H-m.Chang, Professor
Dept.of Wood and Paper Sc.
North Carolina State Univ.
Raleigh, NC 27695

T.K.Kirk, Director
Institute of Biotechnology
Forest Products Laboratory
US Dept.of Agriculture
Madison, WI 53705

A.M.Stomp, Associate Professor
Dept.of Forestry
North Carolina State Univ.
Raleigh, NC 27695

绪言

生物技术的应用可直溯至古文明时期，那时发酵技术已应用在饮料和食品制造上。应用在制浆造纸上也不是新的技术；嫌气和好气废水处理，以及亚硫酸盐制浆废液的发酵工艺已被应用多年，可是近年来生物技术在其他科技领域中突飞猛进的发展却大大地刺激了生物技术在制浆造纸工艺上的应用。另一方面造纸工业界也期望有较少环境污染和较合经济效益的新制造工艺，因而加速推动了近几年来生物技术在制浆造纸工艺上的新发展。虽然这些新技术大部分还在研究发展阶段，有一些技术已在前所未有的短期中被采用在造纸工艺上，除此之外，一些还在发展中的技术一旦成功的话，对未来制浆造纸技术将有非常深远的影响。

本文将介绍目前生物技术在制浆造纸工艺上的新发展及对未来的展望。其目的并不在于介绍所有此一领域中已发表的有关文献，而是选择一些具代表性的文献来凸显生物技术在制浆造纸工艺应用上的多方面性，以及其对将来技术和工艺的影响。文中也将指出适合于中国采用的新技术。本文将介绍下面三个领域：降解木质素的真菌体系及其利用，降解多糖类体系及其

利用和利用其他体系的生物技术。

降解木质素的真菌体系及其应用

当木材在自然界中腐朽时，木素和木材中其他主成分被分解，生成二氧化碳和水。这个腐朽过程主要是由生长在木材或森林地覆盖物的担子菌类真菌来完成，且此过程是地球上碳循环的中心。木素的降解在这自然界的循环过程中是最重要的；很多具有纤维素和半纤维素降解酶的微生物如 *T. reesei* 和细菌 *C. fini*，都不能降解木材中之纤维素，因为它们无法突破木质的阻挡。过去十年中对担子菌类如何降解木素的了解有了很大的进步，同时，人们也致力于利用此新知识在生产工艺上。本节将介绍木素降解体系及其应用潜力的探讨。

木素降解酶体系

大部分研究木素生物降解的工作都是利用真菌 *P. chrysosporium*，因它具有与其他真菌不同的一些特性，较适合于实验室的研究(1)，此真菌的菌丝分泌二种胞外酶，用以降解木素。

被降解的木素分解物再被吸收进入菌丝体内，最后被氧化而生成二氧化碳和水。此真菌所分泌之二种胞外酶——木素过氧化物酶和锰过氧化物酶，都需要过氧化氢 (H_2O_2) 才能起作用，而过氧化氢是由另一胞外酶，乙二醛氧化酶供给，也有可能由其他胞内酶供给的(2)，还有一真菌的次生代谢物 *Veratryl alcohol* 也参与在木素降解反应中。至于 *Veratryl alcohol* 和这些胞外酶如何相互作用而分解木素在其他文献中有详细的叙述(2、3)。图1中显示 *P. chrysosporium* 木素分解酶体系，图中指出三价锰是锰过氧化物酶分解木素的主成分，但比起此体系内之其他成分，我们对锰过氧化物酶作用的了解是比较不完全的，木素过氧化物酶/ H_2O_2 /*Veratryl alcohol* 和锰过氧化物酶/ H_2O_2 / Mn^{+2} 这两个系统都已被证实能在菌体外分解木素(5)。

上述的木素分解酶体系也在其他木素降解真菌中被发现，但也有其他能降解木素的真菌并没有分泌木素过氧化物酶。虽然它们都分泌锰过氧化物酶。大部分的真菌也分泌另一氧化酚的体外酶——漆酶。目前有数个实验室单位正在研究此类真菌的胞外酶如何分解木素。不过尽管人们对木素生物降解的了解并不十分完全，但利用此一体系应用在制浆造纸上已有相当的进展。

木素分解酶の利用

木素过氧化物酶被发现不久之后，就有人利用从*P. chrysosporium*分泌没有净化的胞外酶混合液（内除含木素过氧化物酶外，尚含有锰过氧化物酶和Veratryl alcohol）来漂硫酸盐木浆及处理漂白废水的颜色。这些尝试以及后来再进行的研究除下述一例外，都没有成功(6)。事实上，利用这些胞外酶来分解单离的木素，直到最近才知其结果是木素再聚合而非降解，近来采用小心控制的实验步骤，已证实这些胞外酶能够分解木素(4, 5)。这些结果也建议我们应重新探讨木素分解酶利用上的潜力。

最近发表的一篇研究成果，大大地提高了实际上利用这些木素降解酶的期望。Fukui等(7)的报告利用木素降解酶来处理脱墨后的旧报纸浆，去除了一部分的木素，因而增强了脱墨浆的强度和吸水性。直接利用真菌*P. chrysosporium*来处理脱墨浆，也可以得到相同的结果，但是由于真菌本身会分泌一种水溶性的色素（可能是Melanim）因而使脱墨浆的白度降低很多，利用胞外酶处理可避免白度降低的问题。

利用木素降解真菌做环境污染之生物补救

由木素化学构造上看来，即可预见真菌降解木素酶必须是不具特性的(对木素或反应物构造而言)，至于到底不具特殊性到何程度，可由这些真菌可降解硫酶盐蒸煮后之木素和氯化物而得知(8)。也由于此观察结果而导至利用真菌来降解漂白厂所产生的氯化木素，并已发展出两个实验室用的生物反应器来处理漂白废水(9, 10)。一个是MyCor的技术，是将*P. chrysosporium*固定在旋转的生物接触盘(RBC)上。另一技术是将真菌固定多孔的塑胶粒上，再装入一长管中，传统的生物处理法并无法降解氯化木素，但如利用真菌处理木素效果却很好。虽然如此，目前制浆造纸厂对漂白厂所产生污染问题的处理主要以变更漂白工艺为主。利用无氯的漂白技术如臭氧，氧漂和聚木醣酶等来解决。利用聚木醣漂白之技术下面另作介绍。

在研究真菌降解氯化木素时，我们发现在漂白废水中的低分子量的氯化芳香核化合物也很容易被降解(11)。更惊奇的发现是此真菌也可分解许多与木素在化学构造上毫无类同的人造化合物，如表一所示(3)。此发现促进数个研究单位进一步探讨

利用木素降解真菌来补救环境污染的可行性。美国林产研究所和北卡州立大学在美国国家环保局的资助下，从事利用此真菌来补救被污染的土壤之研究已有八年。还有其他的研究单位也在做此方面之研究。在美国林产研究所，主要研究对象是木材防腐剂，如五氯酚和Creosote，这两药剂污染了很多木材防腐厂附近的土壤。P. chrysosporium的一些品系和生长于林地覆盖物的另一真菌P. ordida对处理土壤中污染药剂特别有效。真菌是生长在木片上再与土壤混合，真菌就会扩张到附近的土壤，并分解污染的化合物(图2)。现场试验结果和实验室一样成功，详细的基础研究成果及应用方面的报告均已发表(12)。最近一期的美国化学和化工新闻(美国化学学会，七月十二日，1993，22—29页)报道了利用真菌来补救污染土壤已接近商业应用阶段。

生物制浆法

应付环境污染最佳对策当然是避免污染的产生。利用木素降解真菌取代化学药品来制浆是其中一个例子。过去六年来在美国林产研究所和威斯康辛大学合作下所进行的生物制浆法研究工作曾受到相当的重视。此研究计划并得到数个国家的纸业

界和其相关的企业公司之赞助。生物制浆就是在制浆前利用降解木素的真菌先处理木片。此研究计划除了考虑到化学机械制浆法所产生的污染外，还牵涉到另外两个问题：1) 机械木浆法所需的高电能，和2) 机械木浆所造成纸的低强度。

这六年的生物制浆法研究，主要致力于生物机械制浆法，就是在机械浆前，先用真菌预处理木片，实验室的研究结果已证实生物制浆法之可行性。利用真菌预处理可节省25—50% 的电能，并大大地提高了浆的强度(表2)。在数百种真菌中，研究者发现有一种不常见，也没有被研究过的真菌 *Ceriporiopsis subvermispora* 对针叶树和阔叶树都有最佳的效果，*P. chrysosporium* 对阔叶树(杨木)也很有效。研究结果也判断真菌预处理时最要紧的两个条件将是如何于处理木片时有足够的通气和如何减少木片堆中原有的微生物群。初步经济效益评估认为是有效益的。有关生物制浆法之研究报告已发表多篇，详情可参阅最近发表的两篇综合报告(13, 14)。目前的研究着重于真菌菌体生产和大型实验时的工程参数。

上述的生物制浆法是用在木片上，但如果用在其他制浆原料上也许比用在木片上更为有效。Yu等曾报道，利用木素降解真菌 *Panus Conchatus* 对稻草脱木素有良好效果。

降解聚糖类的体系及其利用

与木素降解体系不同之处是纤维素和半纤维素降解酶在自然界是很普遍的。很多微生物包括所有降解木素的真菌都分泌纤维素和半纤维素水解酶。这些水解酶可在市场购得，且其在食品工业上的应用已是众所周知的。过去几年中，有多篇报告介绍这些水解酶在制浆造纸工艺上的应用，其中重要的是利用半纤维素水解酶来增进硫酸盐木浆之漂白。

半纤维素降解酶的漂白

在1986年国际造纸工艺生物技术研讨会中，芬兰的科学家报导了聚木糖水解酶预处理未漂硫酸盐浆可以增进其漂白性(6)。这一报道激发了在这方面的研究与发展，包括许多在世界各国所做的厂内实验(16)。今日，此一技术已成熟到可于厂内应用，而且聚木糖水解酶也有数家公司在销售。

这一新技术在短期内发展成功是前所未闻的，而这很大部分要归功于制浆厂本身期望减低漂白浆厂废水中有机氯化物的排放量如表3所示(17)，利用聚木糖水解酶处理阔叶树未漂硫酸盐木浆可增进其漂白性，因而可取代传统五段漂白CEoDED中

第一段而达到同样的白度。此酶预处理使漂白厂不用元素氯漂白 (ECF) 因而大大地减低了有机氯化物的排放。更重要的是此酶处理可以在未漂浆洗浆机和高浓缩储浆槽间很简单的进行如图3(18)。制浆厂因而可投入很少的资金而达到无氯元素漂白之目的。但是要成功的应用此一新技术, 应注意下列三点:

1、聚木糖水解酶必须不含有纤维素水解酶以维持浆之强度和得率。

2、聚木糖水解酶必须能在较高的 PH(8—9) 下操作, 否则未漂浆需加酸处理后才能进行酶处理。

3、聚木糖水解酶必须能在高温操作, 因未漂浆的温度一般高达60—70℃。

以上三个因素都可以对聚木糖水解酶生产的微生物以选种或遗传因子操纵的方法来解决(16)。现已有数家厂商可供应 PH6.5—7.5温度65—75℃下可操作的聚木糖酶, 且这些酶都不含纤维素水解酶。

在漂针叶树硫酸盐浆时, 无元素氯漂到高白度是无法达到的, 除非多加一段氧漂前处理。即使用了氧漂前处理和酶前处理ECF漂白到高白度必须增加大量的二氧化氯使用量如表4所示(17)。可是比起不同酶处理的漂白, 酶处理是可以达到相当高

的白度。如欲再减少二氧化氯的使用量或许可利用下面两个方法：

1、应用氧化碱碎，将氧和/或过氧化氢加在碱碎段中，或者

2、在酶处理中，混合应用聚木糖水解酶和聚甘露糖水解酶(19)。

特别值得注意的是聚甘露糖水解酶并不象聚木糖水解酶一样可以在市场上购得。另外值得注意的是这一、二年所做很多的厂试主要是针叶树浆为主，且只用聚木糖水解酶。

总而言之，利用聚木糖水解酶来增进漂白性的技术可以用很少资金投入而被采用，同时此技术对聚木糖含量较高的阔叶树浆效果较好。基于此两点，利用聚木糖水解酶来漂草浆应可在大量利用草浆的开发中国家如中国等试行推广。目前一般草浆利用一到三段漂白如H，HH或CEH漂至白度低于80%，应用聚木糖水解酶做前处理，应可增加漂后白度，使其达到80%以上，同时或可增加浆的强度，增进草浆的滤水性及减少污染。

利用酶处理再生纸浆

OW及其同事是第一个利用酶来处理旧报纸及白色高级废纸(20, 21)。他们利用纤维素水解酶在悬浮脱墨前处理再生浆,不但使其脱墨结果较传统方法良好,且浆的游离度也增高,强度亦增强,亦因利用中性或弱酸性而使脱墨浆的白度也较高。Pasad(22)等利用含有不同比例的纤维素和聚木糖水解酶之酶产品来处理不同印刷工艺所印的旧报纸(22, 23),也获得相同的结果。最近的实验结果也显示纤维素水解酶处理可助复印纸的脱墨(24)。

聚木糖水解酶和纤维素水解酶都曾以单独或混合使用方式来处理再生浆。以使其从角质化复原(25),或增进滤水性(26)或增加强度(25, 26, 27)。在利用纤维素水解酶时,成功的要诀是控制酶的使用量及控制处理条件,使其达到使用目的而不影响浆的强度(27)。另外,也可利用不含纤维素酶的聚木糖水解酶。事实上,它的结果一般都比使用纤维素水解酶好。

纤维素水解酶和半纤维素水解酶之其他利用

纸张的抗张强度及顶破强度都可利用机械磨浆来增加帚化和纤维间之结合力。早期的研究结果已证实利用纤维素水解酶

处理化学浆(28)或棉绒浆(29)，可增强纸的强度并减少磨浆的能耗。在这方面的应用也与上述一样，酶的使用量及控制处理条件是很重要的，最近结果显示，利用不含纤维素水解酶的聚木糖水解酶之结果较佳(30, 31)。

很多阔叶树含有大量的道管和薄壁细胞，这些在成纸时，在纸张表面上的结合强度较弱，导致印刷时被油墨吸离纸张而造成所谓Picking问题。这个问题可利用纤维素水解酶处理阔叶树浆而减低(32)。聚木糖水解酶亦被采用来去除溶解浆中残留之聚木糖(33, 34)。

利用纤维素水解酶和半纤维素水解酶处理浆可增进滤水性，减少磨浆能耗，增加帚化，因而，利用这些酶来处理非木材浆应在中国探讨其可行性。

利用其他体系的生物技术

在这一节中，我们将介绍与上述两体系毫无关系的三种生物技术。其中利用真菌或酶控制树脂障碍，已在工业上应用，而另外二种新的生物技术——利用遗传工程做林木育种和利用林木做污染补救，虽然还在研究发展阶段。但最近几年有快速

的进展，并且如果成功，将会对制浆造纸工业有深远的影响。

利用真菌和酶控制树脂障碍

在制浆前利用真菌去除木片中树脂是一种与利用真菌脱木素相类似的新技术。它在最近被工业化，也证实了在工业生产上大量利用真菌的可行性。树脂是脂肪酸，松香酸，Sterols，脂肪酸甘油三脂和其他脂肪与蜡的混合物，且一般定义是泛指能溶于二氯甲烷、乙醚或其他不带极性的溶剂中的木材组成成分而言。树脂在制浆造纸工艺上引起主要障碍，包括纸机上断纸，减低纸的强度，增加废水的毒性和阻塞工艺设备等等。

利用真菌控制树脂障碍(35)，是根据久为众所周知的办法，它就是长期储存木片可以减少树脂障碍。这是由于一种真菌 *Ophiostoma piliferum* 能够去除树脂，此真菌并不含腐朽木材，也不能降解任何木材的主要成分。它只能利用木材中的树脂，并且产生一种蓝色的色素，导致木片久存后变成黑色。利用选择方法在其真菌的群族中分离出一不带色素生产能力的真菌品系。

目前工业上应用的是由此品系所发展真菌孢子与其他杂质混合的粒状物。此孢子可与水混合后直接喷到木片储存场上，

孢子在木片上发芽，真菌因而生长在木片中，利用树脂成分为生长养分。木片储存到二周后，木片中树脂成分因被转成 CO_2 与水而降低，利用真菌处理后树脂含量如表5所示(35)。

第二个控制树脂障碍的生物技术，是利用甘油三脂水解酶(又称lipase)，它是由*Aspergillus oryzae*分离出来的(36, 37)。在纸机上树脂障碍发生时，树脂的主成分为甘油三脂，在纸机槽里加入250—500ppm之甘油三脂水解酶，可使大部分之甘油三脂水解，因而减少树脂障碍，检测机所测之树脂含量如图4所示。甘油三脂水解酶可在PH4—7，温度40—60℃下使用。

这两个利用真菌或酶来控制树脂障碍的生物技术都已被采用于工业生产上，这二种新技术都可在中国利用松做原料的机械木浆或亚硫酸木浆厂中使用。

遗传工程改善来改善原料

植物的木质组织是制浆的原料，木质细胞的化学结构和成分决定制浆工艺之化学和能耗。因为木质组织的构成和成份是受遗传控制的。因此利用育种或遗传工程的方法来操纵遗传因子是可以改善制浆造纸的工艺技术。本段将介绍用来改善造纸原料的基本遗传方法，并简介目前努力于操纵木素含量的研究

情况。

大约有上打以上的针叶树和阔叶树种的育种工作都在二十世纪的后半期开始的。利用族群平均的移转来改善林木树种是既慢又昂贵的。这是因为林木的传宗接代时间很长，且需要大面积做实验，而开始的树种都是野生，未曾改良过的品系。生物技术可以缩短及改善某一特殊机能的时间，因为生物技术可供改善植物遗传蓝图中任何特殊因子的工具和信息。

虽然树木遗传工程的研究起步较迟，但第一篇有关此方面的研究报告于1987年发表后(38)，即有快速的进展。许多应用在其他植物的技术常常没有经过修改就直接应用到林木树种上，例如脱氧核糖核酸分离，基因鉴别，遗传基因图制作，基因之克隆和操纵等。分子生物学的研究，目前集中在下列的树种：杂交杨树(39, 40)，美洲杨(41)，火炬松(42, 43)，放射松(44)，*Robinia pseudoacacia*(45)，枫香(46)，鹅掌楸(47)，云杉(48)和桉树树种(49)。并且已有很好的分子生物学方法发展出来。

组织培养和基因移转的技术在发展任何植物遗传工程系统时，是必要的且二者不可分离的，遗传工程技术如果没有高效率的体外增殖和基因移转方法是无法发展的。在发展树木和单子叶植物遗传工程时，主要的障碍在发展有效的组织培养方法