

制浆漂白生物技术

zhìjiāng piáobái shēngwù jìshù

林 鹿 詹怀宇 编著



中国轻工业出版社

制浆漂白生物技术

林 鹿 詹怀宇 编著

 中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

制浆漂白生物技术/林鹿,詹怀宇编著. —北京:中国轻工业出版社,2002.4

ISBN 7-5019-3615-3

I.制… II.①林… ②詹… III.生物技术-应用-纸浆-漂白 IV.TS745

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 001833 号

责任编辑:林 媛

策划编辑:林 媛 责任终审:滕炎福 封面设计:赵小云

版式设计:丁 夕 责任校对:燕 杰 责任监印:吴京一

*

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

联系电话:010—65241695

印 刷:中国人民警官大学印刷厂

经 销:各地新华书店

版 次:2002年4月第1版 2002年4月第1次印刷

开 本:850×1168 1/32 印张:12.125

字 数:330千字 印数:1—1500

书 号:ISBN 7-5019-3615-3/TS·2167

定 价:40.00元

·如发现图书残缺请直接与我社发行部联系调换·

序 言

生物技术进入制浆漂白领域,由来已久。远在我国古代的造纸技术就是利用生物技术来制浆的。但是,由于当时科学技术知识的限制,只能是知其然而不知其所以然,更难以认识其制浆机理并进一步提高生物制浆的技术水平。直到 20 世纪中叶,随着现代制浆造纸科学与技术的进一步发展,利用生物技术进行手工纸制浆技术的研究,才明确了一些生物制浆的初步机理。到七八十年代才提出了木素酶制浆和半纤维素酶辅助漂白的机理研究。到 90 年代,这些研究日趋成熟,有些已在生产上应用。但是,要在生产上大规模地应用,还需进行更多的研究。

作者在 20 世纪 90 年代进行了制浆漂白生物技术方面的许多研究,并结合国内外的最新文献资料,编著了《制浆漂白生物技术》一书,该书在生物制浆漂白的酶学以及化学方面进行了详细的介绍和论述,并对二次纤维的生物脱墨和制浆造纸废水污染物质的生物降解作了理论和应用介绍。全书文句简练、图文并茂、可读性强,可作为有关专业本科生和研究生选修教材和工程技术及研究人员的参考书。

陈嘉翔

2001 年 11 月 12 日

前 言

制浆造纸工业是一个国家的基础性与支柱性产业之一。我国是制浆造纸工业大国。然而,传统制浆造纸工业是耗能和环境污染大户,如何消除污染,降低制浆漂白过程的能耗和化学药剂用量,是生物制浆化学产生的背景。自从 20 世纪 70 年代以来,国际上生物制浆化学的研究不断深入,发展极为迅速,形成了制浆造纸工业中的一个新的重大的研究开发领域,并逐渐进入产业化。

我国在 20 世纪 90 年代初期开始系统进行生物制浆化学的研究。多年来,国内许多高等院校和研究机构在降解木素的微生物菌种选育、木素降解的机理、草类纤维的生物制浆、废纸酶法脱墨、生物漂白化学、含氯漂白废水污染物的白腐菌降解以及韧皮纤维的生物制浆等方面做了很多研究,取得了显著的研究成果,并在国际上有相当的影响,占有一定的地位。据初步统计,国家自然科学基金、教育部博士点基金以及一些地方部门基金等对生物制浆领域研究的资助项目已超过 20 项,其中有多项重点资助项目。由此可见,国家和地方部门对生物制浆领域的研究是十分重视的。因此,结合国内外生物制浆研究领域的成果,编著本书,论述国内外相关研究的进展,提出一些新观点,具有特别的意义。

全书共分七章,第一章:木素生物降解的一般变化;第二章:木素生物降解的化学途径;第三章:木素生物降解的酶学机制;第四章:生物制浆化学;第五章:废纸的酶法脱墨;第六章:生物漂白化学;第七章:制浆造纸污染物质的生物降解。本书适合制浆造纸及相关行业的工厂与研究单位技术人员阅读,也适合作为有关高等院校的教学研究人员的参考书以及本科生、硕士研究生和博士研究生的课程用书。

本书的第一、二、三、四和七章是由林鹿副教授编写,第五、六章由詹怀宇教授编写,全书由陈嘉翔教授主审。在编写的过程中,邱玉桂教

授、黄干强教授、谢益民教授、张曾副教授、武书彬副教授对本书提出了有益的建议和热情的帮助。感谢国家自然科学基金和广东省自然科学基金等对本书有关研究的资助。我们希望本书的出版能够进一步推动生物制浆漂白领域研究的深入和拓展。

本书疏漏和不足之处,谨请各位读者批评指正。

编著者

2001年11月12日于广州

目 录

第一章 木素生物降解的一般变化	1
第一节 木素分子结构概述	1
第二节 降解木素的微生物类型	5
第三节 木素生物降解的形态变化	10
参考文献	16
第二章 木素生物降解的化学途径	23
第一节 木素大分子的降解途径	23
一、木素大分子的修饰和降解	23
二、低聚体木素分子的降解	28
第二节 木质纤维其他主要成分的降解	37
一、纤维素的降解	37
二、半纤维素的降解	43
三、木素降解和纤维素/半纤维素降解的关系	45
第三节 木素生物合成的控制	46
一、与木素合成控制有关的主要酶类型	49
二、木素生物合成的控制	53
参考文献	59
第三章 木素生物降解的酶学机制	69
第一节 直接催化木素大分子修饰与降解的主要酶类	69
一、木素过氧化物酶	69
二、锰过氧化物酶	70
三、漆酶	72
四、其他与木素生物降解直接有关的酶	72
第二节 白腐菌木素降解酶产生的典型模式	76
一、木素过氧化物酶 + 锰过氧化物酶型	76
二、锰过氧化物酶 + 漆酶型	78

三、木素过氧化物酶 + 漆酶型	82
四、其他酶型	82
五、不同类型白腐菌对 ¹⁴ C- 标记合成木素(DHP)的降解	83
第三节 木素降解酶的催化机制	84
一、木素过氧化物酶催化反应机制	84
二、锰过氧化物酶的催化反应机制	88
三、漆酶的催化机制	89
第四节 木素降解酶催化反应的调控因子	90
一、芳基醇	90
二、草酸	108
三、纤维二糖氧化还原酶——CBQ 和 CbO	116
四、Fenton 反应	123
第五节 木素酶基因工程与生物制浆	128
一、木素酶同工酶及其产生	128
二、木素酶基因表达	131
三、木素降解酶基因结构	132
四、木素降解酶基因工程与生物制浆	138
参考文献	143
第四章 生物制浆化学	152
第一节 生物化学制浆	152
一、韧皮纤维生物化学制浆	152
二、生物硫酸盐浆	154
三、生物亚硫酸盐制浆	156
第二节 生物机械制浆	157
第三节 生物 - APMF 制浆	162
第四节 纤维素酶对纸浆的作用	163
第五节 腐浆的形成及防止	166
第六节 木质纤维原料的霉变	167
参考文献	169
第五章 废纸的酶法脱墨	174
第一节 酶法脱墨的研究进展	174

第二节 酶法脱墨的机理	175
第三节 酶法脱墨的影响因素	177
一、酶的类型及酶用量	177
二、表面活性剂	179
三、pH 值	179
四、处理温度	180
五、反应时间	181
六、纸浆浓度	181
七、碎浆用白水质量	181
八、添加顺序	182
第四节 复合纤维素酶脱墨的实验室试验	182
一、复印废纸、化学浆废纸和机械浆废纸的酶法脱墨	182
二、混合办公废纸的酶法脱墨	184
三、废新闻纸的酶法脱墨	185
四、彩色胶印废新闻纸的酶法脱墨	188
第五节 复合纤维素酶脱墨的中间试验	192
第六节 复合纤维素酶脱墨的生产试验和工业化应用	194
一、废新闻纸酶法脱墨的工业生产试验	194
二、混合办公废纸酶法脱墨的生产试验和工业化应用	196
第七节 淀粉酶用于非接触印刷白色办公废纸脱墨	197
第八节 脂肪酶用于油基油墨印刷的废纸脱墨	201
参考文献	203
第六章 生物漂白化学	205
第一节 生物漂白的研究及其进展	205
一、半纤维素酶辅助漂白的研究	205
二、微生物漂白的研究	208
三、木素降解酶生物漂白的研究	209
第二节 生物漂白用酶及酶产生菌	213
一、半纤维素酶及酶产生菌	213
二、木素降解酶及酶产生菌	215
三、酶的活性	217
第三节 纸浆的半纤维素酶辅助漂白	217

一、半纤维素酶辅助漂白的原理	218
二、半纤维素酶辅助漂白的影响因素	219
三、硫酸盐木浆的半纤维素酶辅助漂白	222
四、亚硫酸盐法溶解浆的聚木糖酶漂白	239
五、草类纸浆的半纤维素酶漂白	241
第四节 化学浆的微生物漂白	260
一、针叶木硫酸盐浆和烧碱-AQ法浆的白腐菌漂白	260
二、阔叶木硫酸盐浆的白腐菌漂白	265
三、红麻皮烧碱-AQ法浆的白腐菌漂白	273
四、蔗渣烧碱法纸浆的白腐菌漂白	276
第五节 纸浆的木素降解酶漂白	280
一、纸浆的木素过氧化物酶漂白	280
二、纸浆的锰过氧化物酶漂白	287
三、纸浆的漆酶/介体系统(LMS)生物漂白	295
参考文献	330
第七章 制浆造纸污染物质的生物降解	338
第一节 废水好氧处理系统中的微生物	339
一、活性污泥中的微生物	339
二、生物膜系统中的微生物	348
三、藻菌共生系统	351
第二节 废水厌氧处理系统中的微生物	352
一、产酸细菌种类	353
二、甲烷细菌种类及产甲烷机制	354
第三节 制浆漂白废水污染物质的类型	356
第四节 制浆漂白污染物质的微生物降解途径	360
一、碳水化合物降解	361
二、脂肪酸与树脂酸的降解及树脂障碍的克服	365
三、芳香化合物的降解	368
四、含硫化合物的降解	371
参考文献	372

第一章 木素生物降解的一般变化

木质纤维是植物细胞壁的主要成分,主要由三部分组成,即木素、纤维素和半纤维素。制浆过程中需要尽可能除去木素成分。生物制浆化学的主要内容就是研究天然(制浆原料中)或经过修饰(纸浆中)的木素分子的生物降解规律^[1,2],并进一步和制浆造纸工艺结合。生物制浆化学是生物科学特别是微生物学与酶学和制浆造纸工艺技术结合、交叉和渗透的边缘学科,在改变制浆造纸过程对能源和化学药品的大量消耗以及对环境的严重污染方面具有极大的应用前景,这门学科正在蓬勃地向前发展。

由于木素单体组成、连接方式、含量测定以及木素大分子定量与定性化学分析不容易完成,并且由于生物降解过程中木素分子的结构及无规则的变化,因此,对木素生物降解的详细了解仍远远不够,正处于不断发展中。

第一节 木素分子结构概述

木素是由苯丙烷单元聚合形成的生物大分子,单体之间的结合键主要是烷基芳基醚键,分子结构的差异主要在于单体如对羟基(H)、愈创木基(G)和紫丁香基(S)类型不同及其相结合的相对比例,不同的细胞壁层(P、S₁、S₂和S₃层)、细胞、组织或植物种类,其单体结合方式有明显不同^[3~6]。图1-1显示木素分子单元的基本结构,这些单元体有对羟基(H)、愈创木基(G)、紫丁香基(S)、5-羟基愈创木基(HG)。

木素分子单元结合键大部分是 β -O-4和 α -O-4芳基烷基醚键,这类键称为非缩合型结构连接键;单元间也以 β -5、 β -1、5-5、4-O-5和 β - β 型键结合,这类键称为缩合型结构连接键(图

1-2)。

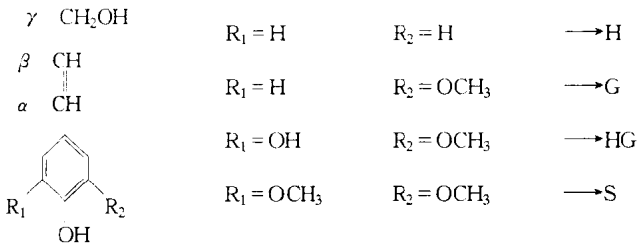
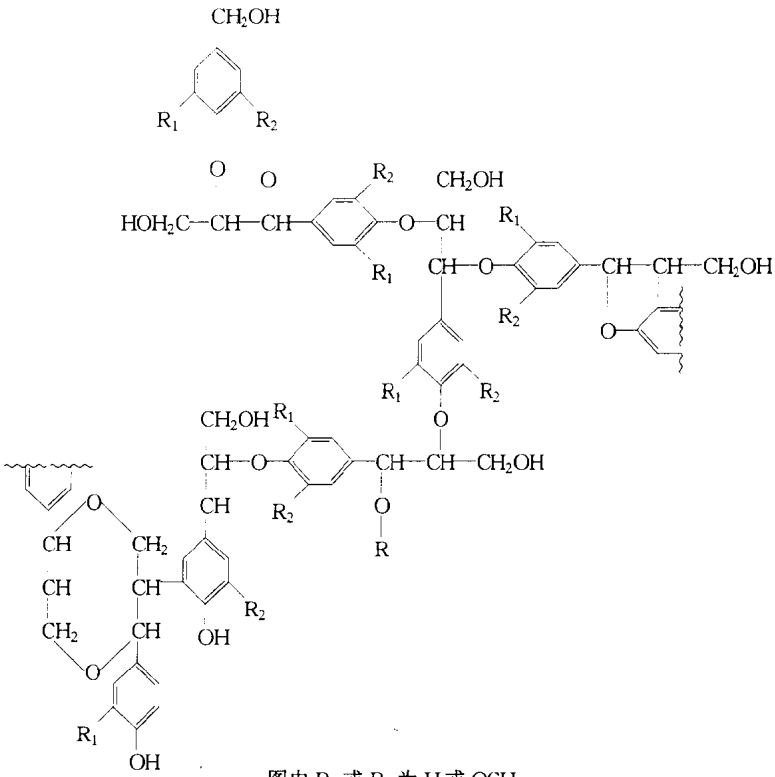


图 1-1 木素分子单体结构类型

H—对羟基苯基 G—愈创木基 S—紫丁香基 HG—5-羟基愈创木基



图中 R_1 或 R_2 为 H 或 OCH_3

图 1-2 木素大分子中单体的结合方式(示 $\beta-O-4$ 和 $\alpha-O-4$ 芳基烷基醚键以及 $\beta-5$ 、 $\beta-1$ 、 $5-5$ 、 $4-O-5$ 和 $\beta-\beta$ 连接键)

表 1-1 显示,在木素降解过程中,(H±G±S)总量中缩合型或非缩合型单元的出现频率有相当大的差异,由于烷基芳基醚键的高度专一性,磺化反应能产生非缩合型单体结构,这种结构是以 C_α-C_β 结构的苯丙烷单元而不是以 C-C 或者 C-O-C 连接的缩合型木素单元结构组成差异为特征的^[7]。

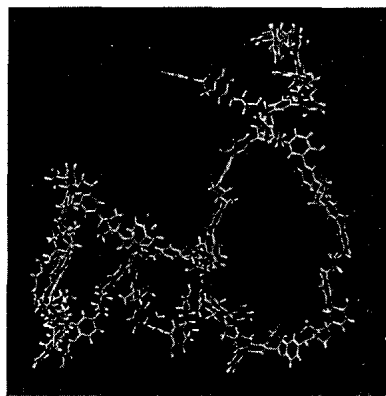
表 1-1 不同条件下木素合成反应时分子结构的变化

	单 体 类 型			
	A	B	C	D
非缩合型				
β, α-烷基醚键	620	700	770	1260
缩合型				
β-β	25	14	11	痕量
β-5	66	57	52	33
β-1	Trace	11	5	26
4-O-5	Trace	2	4	6
5-5	9	16	28	35

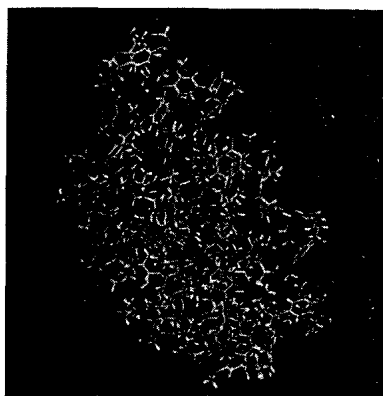
注:反应条件为磷酸盐缓冲液、pH 值 6~7、催化酶为 HRP,其中:A. 缓慢加入 H₂O₂; B. 加入 H₂O₂ 产生系统—葡萄糖/O₂/葡萄糖氧化酶; C. 松柏醇产生系统—松柏醛/葡萄糖氧化酶; D. 对照—云杉 MWL。产量为 μmol/g

此外,在植物细胞壁中还发现有一些特殊的木素单元结构^[8,9],如:A. 玉米和高粱茎秆中有 5-羟基愈创木素单元(5-OHG)的存在;B. 黄麻韧皮部和木质部 S±G 的比例是变化的;C. 松柏醇的脱氢聚合生物模拟实验表明,由过氧化物酶如辣根过氧化物酶催化的松柏醇聚合形成的分子结构(DHP)随催化反应的微环境不同而有很大的差异,这表明非缩合型或“缩合型”结构的二聚体结构特别是 β-β′、β-5′、β-1′、5-5′和 4-O-5′是变化的^[10~12]。底物与 H₂O₂ 产生系统(如葡萄糖氧化酶或松柏醇-葡萄糖氧化酶系统)的作用方式不同,产生的二聚体结构也有明显不同。单元及单元间连接方式的化学反应活性以及木素结构物理特性的差异增加了木素反应的复杂性^[13]。

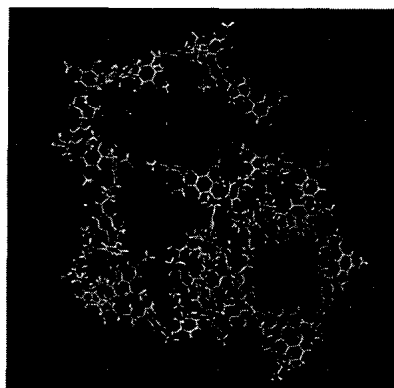
随着木素结构研究手段的改进, 色谱、质谱、核磁共振如 ^{13}C -NMR 和 HMQC 2D-NMR 等和电子自旋共振等方法的应用^[14~19], 对木素结构单元以及单元间的连接方式有了更多的接近于自然的了解, 并相继提出了 H 型、S 型和 G-S 型木素的结构模式^[20~25](图 1-3)。木素结构可随着植物生长环境以及基因变异而变化^[26~32]。



A. H 型木素结构模式



B. G-S 型木素结构模式



C. G- 型木素结构模式

图 1-3 不同类型木素的结构模式

第二节 降解木素的微生物类型

参与木质纤维降解的微生物有真菌、放线菌和细菌^[33~38],很多微生物都没有独立降解木质纤维的能力,真菌通过孢子或菌丝感染木质纤维,然后以特异性的酶进攻纤维细胞壁,造成木质纤维降解,表现为木质腐朽。根据木质纤维降解后外观不同,可将降解菌分为白腐菌(White-rot fungi)、褐腐菌(Brown-rot fungi)和软腐菌(Soft-rot fungi)。白腐菌和褐腐菌属于担子菌(*Basidiomycetes*),软腐菌属于子囊菌(*Ascomycetes*)和半知菌(*Fungi imperfecti*),其中褐腐菌只能攻击和降解细胞壁中的纤维素部分,而软腐菌仅作用于细胞中的半纤维素,白腐菌是自然界中惟一一类具有独立降解细胞壁木素成分能力的微生物(表1-2)。

20世纪80年代以来,有关白腐菌的生理学、形态学、发育生物学、酶学和分子生物学的研究报道已有较多的积累,对白腐菌降解木质纤维的研究已成为木材化学、制浆化学和生物学科等交叉渗透的范例^[39~41]。

尽管已发现的白腐菌有很多种类,但得到较详细研究的不多,其中黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)是研究得最多的,该菌生长快、无性孢子生成量大,具有较高的温度适应性,可以在无外源营养条件降解木质纤维中木素成分40%以上,降解酶体系的产生和其他白腐菌一样,只在次生代谢时期产生,培养条件如碳限制、氮限制、硫元素限制和充足氧的存在是白腐菌脱木素的基本条件。其他一些白腐菌例如糙皮侧耳菌(*Pleurotus ostreatus*)和杂色云芝(*Trametes versicolor*)也研究得比较多,这两种白腐菌对木素分子中和紫丁香基单元降解速度快,使紫丁香基/愈创木基或紫丁香基/对羟基苯基比率下降;同时,对木素分子中的肉桂酸也有较强的专一性降解作用,肉桂酸起连接木素和碳水化合物的作用,肉桂酸的降解有利于木素分子的溶出。从贝壳状革菌(*Panus conchatus*)对稻草的降解规律,发现该白腐菌有较强的选择性降解木素的能力,通氧培养29d时木素脱除率达到66%,而 α -

纤维素的聚合度没有明显变化^[42]。

表 1-2 能独立或参与降解木素的主要微生物类型

真 菌	细 菌
1. 白腐菌(White-rot fungi)	1. 放线菌(Actinomycetes)
黄孢原毛平革菌 <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	节杆菌 <i>Arthobacter</i> sp.
杂色云芝 <i>Trametes versicolor</i>	小单孢菌 <i>Micromonospora</i> sp.
粪生黑蛋巢菌 <i>Cythus stererreu</i> s	小双孢菌 <i>Microbispora</i> sp.
多年层孔菌 <i>Fomes annosus</i>	诺卡氏菌 <i>Nocardia</i> sp.
木灵芝 <i>Gandermia ostrale</i>	红球菌 <i>Rhodococcus</i> sp.
贝壳状革菌 <i>Panus conchatus</i>	链霉菌 <i>Streptomyces</i> sp.
糙皮侧耳菌 <i>Pleurotus ostreatus</i>	高温单孢菌 <i>Thermomonospora mesophila</i>
射脉齿菌 <i>Phlebia radiata</i>	2. 其他细菌
杂色栓菌 <i>Trametes versicolor</i>	不动杆菌 <i>Aconetobacter</i> sp.
2. 褐腐菌(Brown-rot fungi)	芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.
拟管革柄菌 <i>Lenzites trabea</i>	嗜木聚糖梭菌 <i>Clostridium xylanolyticum</i>
卧孔菌 <i>Poria placenta</i>	假单孢杆菌 <i>Pseudomonas</i> sp.
色孢皱孔菌 <i>Serpula lacrymans</i>	黄孢菌 <i>Xanthomerases</i> sp.
3. 软腐菌(Soft-rot fungi)	
柱黄曲霉 <i>Aspergillus flavus</i>	
球毛壳菌 <i>Cheatomium globosum</i>	
尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	
拟青霉 <i>Paecilomyces</i> sp.	

细菌对木素降解能力表现在它们对白腐菌降解木素的中间产物的利用,主要是放线菌和链霉菌^[43~46],放线菌以分支菌丝生长,与丝状真菌相似,能穿过木质纤维培养基;链霉菌在降解木素的同时也大量降解纤维素等碳水化合物,为其生长提供碳源^[47~49],与白腐菌不同的是,它们在初级代谢阶段,通过脱甲基、芳环断裂和木素单体侧链氧化等途径降解木素^[50~52];其他细菌如假单孢杆菌(*Pseudomonas* sp.)、不动杆菌(*Aconetobacter* sp.)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)和梭菌(*Clostridium* sp.)等也能降解木素,诺卡氏菌(*Nocardia* sp.)和黄单孢菌(*Xanthomerases* sp.)也

可以降解木素的中间代谢产物。细菌降解木素以对木素大分子或单元结构的修饰为主(图1-4),很少能直接使木素分子降解为 CO_2 ^[53~56]。下面介绍各类微生物对木质纤维降解的一般规律。

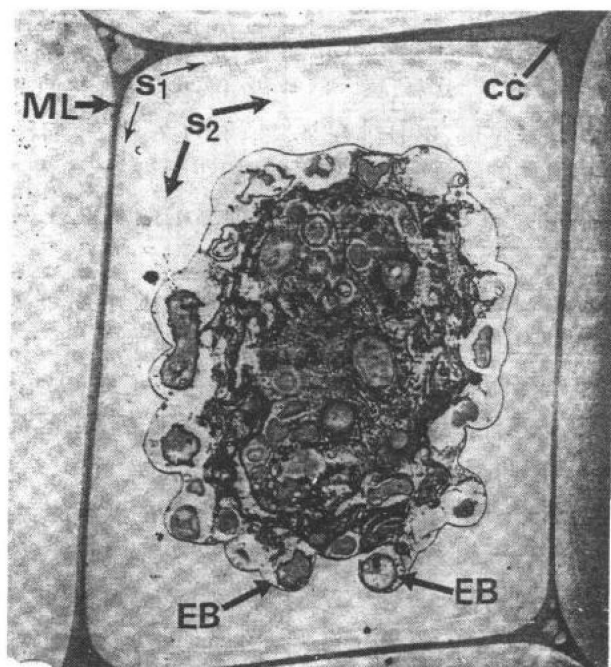


图 1-4 微生物对木质纤维降解的形态观察
ML—胞间层 CC—细胞角 S₁和S₂—次生细胞壁1层和2层
EB—微生物形成的泡囊结构

1. 细菌

电子显微镜特别是隧道电子显微镜 TEM 观察证明,细菌对木质纤维的降解模式有明显的特征,有3种攻击模式:钻孔(poring)、腐蚀(etching)和中空化(hollowing)。早期光学显微镜已观察到木质纤维素的典型降解模式。因为细菌能够同时降解纤维素,它们对木材细胞壁的作用有一种边缘效应,这是对未木质化组织如外皮细胞和气孔膜组织降解的结果。细菌可能克服不了木素和半纤维素对纤维素的保护作用,尽管这一