

*На правах рукописи*

ЕМЕЛЬЯНОВА Марина Викторовна

**ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ОБЕССМОЛИВАНИЕ  
ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И МЕХАНИЧЕСКОЙ МАССЫ**

05.21.03 – Технология и оборудование химической  
переработки биомассы дерева; химия древесины



**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Архангельск - 2007

Работа выполнена на кафедре биотехнологии Архангельского государственного технического университета

Научный руководитель: доктор технических наук,  
профессор Новожилов Е.В.

Официальные оппоненты: доктор технических наук,  
профессор Канарский А.В.  
кандидат химических наук,  
доцент Майер Л.В.

Ведущая организация: ОАО «ЦНТИИБ»

Защита диссертации состоится 24 мая 2007 г. в 10<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д.212.008.02 в Архангельском государственном техническом университете по адресу: 163002, г. Архангельск, наб. Северной Двины, 17.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Архангельского государственного технического университета.

Автореферат разослан 20 апреля 2007 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

канд. хим. наук, доцент



Т.Э. Скребец

2007А  
9315

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### *Актуальность темы.*

К одной из развивающихся сфер применения ферментов в целлюлозно-бумажной промышленности относится борьба со смоляными затруднениями, возникающими при производстве целлюлозы и бумаги. Смоляные затруднения при варке и отбелке целлюлозы и в производстве бумаги возникают из-за присутствия липофильных компонентов смолы древесины, которые в процессе ее переработки в целлюлозу, бумагу и картон претерпевают различные физико-химические изменения и образуют липкие отложения на рабочих поверхностях оборудования, снижая его производительность. Существующие способы борьбы с вредными отложениями: выдерживание древесины, оптимизация технологических факторов, качественная промывка целлюлозы, регулирование pH и температуры, использование талька и диспергаторов не решают в полной мере проблемы смоляных затруднений.

Ферментативная обработка - это новый и перспективный подход к решению проблемы вредной смолы в целлюлозно-бумажном производстве. Для обессмоливания и снижения смоляных затруднений в производстве механических масс в Японии, Китае и Северной Америке успешно используется фермент липаза, действие которого направлено на разрушение эфиров жирных кислот (жиров) - основного компонента смоляных отложений вредной смолы. Компанией «Новозаймс» (Дания) предложен препарат липазы под торговой маркой Resinase A2X<sup>®</sup>. При наличии в научной литературе информации о деструкции смолы сульфитной и сульфатной целлюлозы под действием этого препарата, сведения о промышленном использовании липазы для обработки различных видов технической целлюлозы отсутствуют.

Новый процесс ферментативного контроля содержания смолы относится к разряду высококласных технологий и представляет большой интерес для ЦБП России.

*Цель и задачи исследования.* Целью настоящей работы является оценка эффективности применения липазы для обессмоливания различных волокнистых полуфабрикатов.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- изучить обессмоливание липазой механической массы и целлюлозы;
- исследовать основные закономерности каталитического действия липазы в присутствии целлюлозы;
- оценить характер взаимодействия липазы с химикатами, добавляемыми для стабилизации и фиксации смолы в производстве блененой целлюлозы;



- провести сравнение различных методов, характеризующих действие липазы на эмульгированную смолу и смолу, содержащуюся в целлюлозных материалах;
- разработать технологию ферментативной обработки технической целлюлозы липазой.

### ***Научная новизна***

Установлено, что гидрофобные свойства целлюлозы обусловлены в значительной мере присутствием в ней компонентов смолы, главным образом жиров. Показано, что при ферментативном обессмоливании волокнистых полуфабрикатов основным фактором, определяющим эффективность действия липазы, является доступность смолы. Раскрытие структуры волокна сульфатной целлюлозы при действии ксиланазы способствует последующей деструкции смолы липазой. Обоснована оптимальная последовательность стадий подготовки сульфатной лиственной целлюлозы к отбелке: обработка ксиланазой, липазой и щелочная обработка.

Установлено, что при обработке сульфатной лиственной целлюлозы снижение активности липазы происходит в большей степени, чем при взаимодействии с хвойной сульфитной целлюлозой, что связано с неспецифической сорбцией фермента на целлюлозные волокна. Показано, что поверхностно-активные вещества (ПАВ), применяемые в производстве сульфатной целлюлозы для снижения смоляных затруднений, инактивируют липазу. Установлено эмульгирующее действие на смолу гликозидов растительного происхождения (сапонинов) без снижения активности липазы.

### ***Практическая ценность***

Внедрение стадии обработки липазой в схему подготовки сульфатной лиственной целлюлозы к отбелке позволит снизить содержание смолы в небеленой массе в 1,5...2 раза. Рекомендовано использование липазы для обессмоливания лиственной ХТММ.

Предложен способ оценки эффективности действия различных ПАВ с использованием криоскопического метода. В качестве альтернативы производственным ПАВ рекомендованы гликозиды растительного происхождения.

***Автором выносятся на защиту следующие основные положения диссертационной работы:***

- результаты обработки липазой лиственной ХТММ;
- результаты оценки активности липазы в присутствии сульфитной и сульфатной целлюлозы;

- результаты определения гидрофобных свойств целлюлозы по сорбции паров гексана;
- данные о стабилизирующем действии на смолу производственных образцов ПАВ и сапонинов и их совместимости с липазой;
- технологическая схема подготовки лиственной сульфатной целлюлозы к отбелке с включением стадии обработки липазой.

#### *Апробация работы*

Основные положения диссертационной работы докладывались и получили положительную оценку на международной научно-технической конференции, посвященной 75-летию АЛТИ-АГТУ «Современная наука и образование в решении проблем экономики Европейского Севера» (Архангельск, 2004 г.); II всероссийской научно-технической конференции студентов и аспирантов (Екатеринбург, 2006г.); всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ» (Сыктывкар, 2006г.), а также на ежегодных научно-технических конференциях Архангельского ГТУ (2005-2007гг.).

*Публикации.* По теме диссертации опубликовано 5 работ.

*Структура и объем диссертации.* Диссертация включает в себя: введение; аналитический обзор; методическую часть; экспериментальную часть, включающую 6 разделов; общие выводы и список использованных источников. Содержание работы изложено на 118 страницах, включая 32 рисунка и 29 таблиц, библиография содержит 190 наименований.

### **КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

*В обзоре литературы* приведены данные о содержании и составе смолистых веществ целлюлозы, полученной сульфатным и сульфитным способами. Рассмотрен состав вредной смолы и показана роль жиров, как наиболее липкого компонента смолы целлюлозы. Описаны существующие методы определения вредной смолы и оценки ее состояния. Изложены способы предотвращения смоляных затруднений. Показана эффективность использования липазы на примере зарубежных заводов по производству механической массы из высокосмолистой древесины сосны. Приведены данные, что использование липазы Resinase A2X значительно снижает проявление вредной смолистости за счет удаления жиров. Представлены основные сведения по механизму действия липаз и направлениям их использования.

Наибольшие смоляные затруднения возникают в производстве хвойной сульфитной и лиственной сульфатной целлюлозы. Отмечено отсутствие сведений о промышленном использовании липазы для обработки технических видов целлюлозы и сделан вывод о необходимости проведения исследований в

данном направлении. На основе анализа литературных данных сформулированы цель и задачи работы.

*В методической части* представлены характеристики объектов, материалов и методик исследования. В работе использовались образцы небеленой лиственной сульфатной и сульфитной целлюлозы, полученных по режимам Архангельского и Котласского ЦБК, химико-механической массы (ХММ) Сокольского ЦБК и химико-термомеханической массы (ХТММ) Сясьского ЦБК; диспергаторы и фиксаторы марок Vimex и Infinity; органические биоразлагаемые продукты (компания ООО «Микроклеточная технология», г. Москва); липаза Resinase A2X® (“Novozymes”, Дания) и ксиланазы: Pulpzyme HC (“Novozymes”, Дания), Esculp TX 200C (OY BANMARK AB, Финляндия). Обработку целлюлозы ферментами и отбелку массы проводили по технологическим режимам предприятий. Анализ целлюлозы проводился в соответствии со стандартными методиками ГОСТ.

Действие липазы на смолу, выделенную из древесины и целлюлозы, определяли микроскопическим методом с использованием программно-аппаратного комплекса, состоящего из видекамеры, микроскопа, компьютера и соответствующего программного обеспечения. Активность липазы в модельной системе проверяли титриметрическим методом по отношению к трибутирину-триглицериду масляной кислоты. Оценку стабильности смоляной эмульсии в присутствии различных видов ПАВ проводили микроскопическим методом с использованием установки, разработанной на кафедре биотехнологии АГТУ. Гидрофобность целлюлозы определяли по сорбции паров гексана.

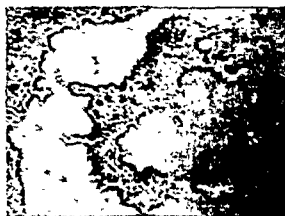
*Экспериментальная часть* состоит из 6 разделов.

### **1. Действие липазы Resinase A2X на смолу, выделенную из древесины и целлюлозы**

Экстракцией этанолом были выделены образцы смолы древесины хвойных и лиственных пород, небеленой сульфитной хвойной и сульфатной лиственной целлюлозы. Ход ферментативной реакции гидролиза жиров под действием липазы оценивали, используя визуальный микроскопический анализ. Деструкцию смолы под действием липазы наблюдали в специально изготовленной термостатируемой ячейке при 40°C, фиксируя ход процесса непрерывно в течение 20...30 мин.

Быстрое уменьшение объема и растворение смоляных частиц свидетельствовало об эффективном действии липазы на смолу, выделенную как из древесины, так и из целлюлозы. Липаза способна разрушать смолу,

оставшуюся в целлюлозе, в большей степени смолу сульфитной, в меньшей – сульфатной целлюлозы.



а) начало реакции



б) 8 мин реакции

Рисунок 1 - Действие липазы Resinase A2X на смолу, выделенную из хвойной сульфитной целлюлозы

Судя по составу смолы, действие липазы в случае с сульфитной целлюлозой связано с гидролизом жиров. При сульфатной варке жиры разрушаются в значительно большей степени и наблюдаемые изменения смолы под действием липазы связаны с частичной деструкцией наиболее устойчивых в условиях щелочной варки этерифицированных компонентов смолы: стеринных эфиров и восков. Было отмечено, что после обработки липазой, при внешне незначительной степени деструкции, смола сульфатной целлюлозы легко распадалась на отдельные фрагменты, что свидетельствовало о снижении ее липкости. Полученные результаты создают предпосылки для дальнейшего изучения использования липазы для обессмоливания технической целлюлозы.

## 2. Использование липазы для обессмоливания волокнистых полуфабрикатов высокого выхода

Было проверено действие липазы Resinase A2X на хвойную ХММ Сокольского ЦБК и осиновою ХТММ Сясьского ЦБК. Обработку механических масс липазой проводили в условиях: рН 7,0, температура 60°C, концентрация массы 8%, время обработки 2 ч.

Обработка липазой хвойной ХММ не привела к снижению суммарного содержания экстрактивных веществ, что может быть объяснено невысоким содержанием жиров в древесине ели и пихты (табл.1), а также тем, что продукты гидролитического действия липазы при выделении растворителем остаются в составе экстрактивных веществ.

Предварительная обработка липазой осиновою ХТММ с последующей отбелкой  $H_2O_2$  обеспечивает уменьшение содержания смолы в беленой массе на 14...35 % и может быть рекомендована для снижения смоляных затруднений при производстве лиственной ХТММ.

Таблица 1 – Эффективность обессмоливания механических масс липазой

Вид механической массы	Расход липазы, кг/т	Показатели массы после отбелки $H_2O_2$	
		Экстрактивные вещества, %	Белизна, %
<i>Хвойная</i>			
Исходная ХММ	-	0,86	65,4
ХММ, обработанная липазой	0,3	0,87	65,0
ХММ, обработанная липазой	0,6	0,88	64,3
<i>Лиственная</i>			
Исходная ХТММ	-	0,88	73,9
ХТММ, обработанная липазой	0,3	0,76	74,1
ХТММ, обработанная липазой	0,6	0,57	73,5

Часть смолы в процессе получения волокнистых полуфабрикатов переходит в раствор и присутствует в эмульгированном состоянии. Ранее было установлено, что обработка нейтрально-сульfitным щелоком (НСЩ) приводит к увеличению выхода небеленой сульфатной целлюлозы за счет сорбции гемицеллюлоз и лигнина. Однако при этом наблюдались затруднения при промывке массы, что было связано с осаждением компонентов смолы на волокна целлюлозы. Осаждение смолы НСЩ на небеленую сульфитную целлюлозу оказалось значительно ниже, чем на сульфатную целлюлозу, что указывает на их различную сорбционную способность (рис.2).

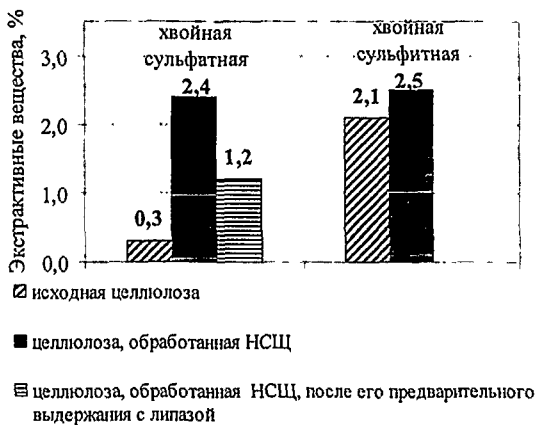


Рисунок 2 – Осаждение смолы НСЩ на целлюлозу

Проведенные эксперименты показали, что после предварительной обработки НСЩ липазой содержание пересаженных компонентов смолы в сульфатной целлюлозе уменьшилось в 2 раза (рис.2). Это является доказательством того, что именно наличие жиров в составе смолы придает ей высокую липкость и способность к осаждению.

Таким образом, липаза эффективно действует на жиры, содержащиеся в малоизмененной смоле полуфабрикатов высокого выхода и в смоле, находящейся в эмульгированной форме в отработанных щелоках и фильтрах. Однако при обработке липазой фракции мелкого волокна, характеризующегося



высоким содержанием внутриклеточной смолы –17,2%, степень обессмоливания составила всего 5%. На основе полученных результатов можно сделать вывод, что важную роль играет не только состав смолы, но и ее доступность для действия липазы.

### 3. Изучение активности действия липазы в присутствии целлюлозы

Каталитическую активность липазы определяли титриметрическим методом, основанным на титровании образующейся в процессе гидролиза трибутирина масляной кислоты щелочью. Условия определения активности: концентрация эмульсии трибутирина 1...2%, концентрация препарата липазы в растворе 0,0002%, продолжительность реакции 10 минут, pH 7, температура 30°C. Снижение остаточной активности липазы в фильтрате после взаимодействия с целлюлозой на 82...98% свидетельствует об осаждении липазы на целлюлозных волокнах (табл. 2).

Таблица 2 – Остаточная активность липазы в процессе ферментативной обработки целлюлозы

Вид целлюлозы	Расход липазы, KLU/г целлюлозы	Остаточная активность липазы, %
сульфитная хвойная	2,4	18
сульфатная лиственная	2,4	20
	48	2

Несомненно, что сорбция фермента на этерифицированных компонентах смолы, расположенных в волокне, является необходимым условием формирования фермент-субстратного комплекса для каталитического действия липазы. Однако при использовании предварительно проэкстрагированной сульфатной лиственной беленой целлюлозы также происходило значительное снижение активности фермента в растворе. Причиной этого являлась неспецифическая сорбция липазы на волокно, сопровождавшаяся конформационными изменениями ее молекулы и блокированием активных центров фермента.

При добавке сульфитной целлюлозы снижение активности липазы незначительное - всего на 6%, в то время как в присутствии сульфатной целлюлозы активность липазы по отношению к трибутирину уменьшалась в 2...3 раза. Это проявилось и при определении активности липазы, иммобилизованной на образцах сульфатной небеленой целлюлозы и целлюлозы после стадий отбелки, которые имели различное содержание лигнина и смолы. Липаза как фермент, имеющий гидрофобный субстратный центр, подобно эмульгированной смоле, на целлюлозе после кислой обработки осаждается в большей степени, чем на целлюлозе после щелочной обработки (рис.3).

Таким образом, сорбция на сульфатном волокне вызывает изменения, приводящие к частичной инактивации фермента. Учитывая развитую микрокапиллярную структуру сульфатной целлюлозы, снижение активности липазы может быть отчасти связано с потерей мобильности сорбированного фермента в результате более глубокого проникновения в волокно.

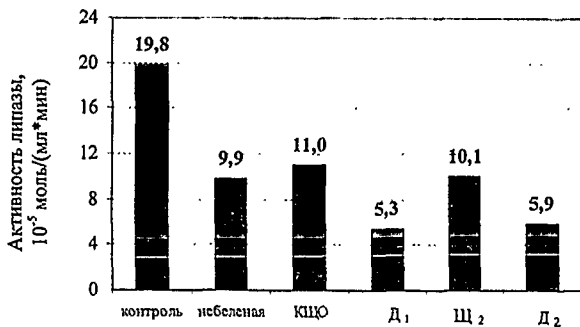


Рисунок 3 — Активность липазы, иммобилизованной на сульфатной лиственной целлюлозе после варки и различных степеней отбелки

Результаты проведенных экспериментов показывают, что при взаимодействии липазы с целлюлозой происходит сорбция фермента на субстрат, а также наблюдается неспецифическая сорбция на волокно, обусловленная наличием гидрофобного субстратного центра у этого фермента. При этом каталитическое действие липазы, имеющей высокую молекулярную массу (более 20 кДа), ограничено той частью этерифицированных компонентов смолы, которые доступны и находятся близко к поверхности волокна.

#### 4. Влияние компонентов смолы на гидрофобные свойства целлюлозы

Присутствие компонентов смолы придает определенную гидрофобность целлюлозным волокнам. Для оценки гидрофобных свойств целлюлозы нами предложен метод, основанный на сорбции паров гексана. В экспериментах использовали образцы воздушно-сухой целлюлозы.

С увеличением расхода трибутирина, использованного в качестве аналога жиров, гидрофобность небеленой сульфатной целлюлозы пропорционально возрастает (рис.4). В случае добавки олеиновой кислоты это происходит в меньшей степени. При гидролитической деструкции осажденного на волокна трибутирина липазой гидрофобность целлюлозы снижается в 8 раз (рис.5), в то время как при обработке щелочью - всего в 1,4 раза. При сорбции на волокна растительного жира гидрофобность целлюлозы также возрастает, но в меньшей степени, чем при осаждении трибутирина. После деструкции растительного масла липазой гидрофобность целлюлозы уменьшилась почти в 3 раза, но, тем не менее, из-за образовавшейся при гидролизе олеиновой кислоты, сохранилась

на достаточно высоком уровне. Таким образом, жиры обладают значительно большей гидрофобностью, чем входящие в их состав жирные кислоты.

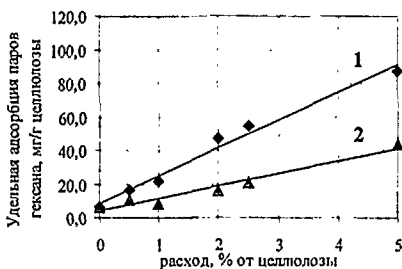


Рисунок 4 - Влияние расхода трибутирина (1) и олеиновой кислоты (2) на гидрофобность небеленой сульфатной целлюлозы

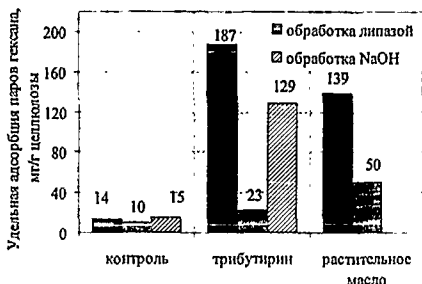


Рисунок 5 - Влияние гидролитического распада жиров на гидрофобность небеленой сульфатной целлюлозы

Гидрофобность производственных образцов целлюлозы, отобранных после варки и всех ступеней отбелики, убывает по ходу отбелики как для хвойной сульфитной, так и для лиственной сульфатной целлюлозы (рис.6).

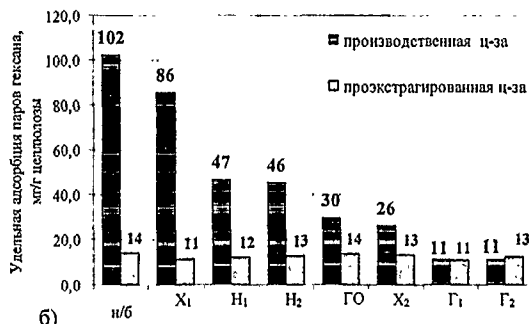
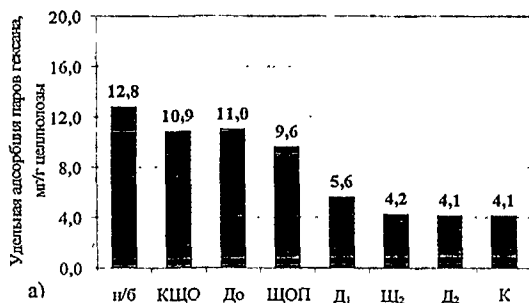


Рисунок 6 - Гидрофобность небеленой целлюлозы и целлюлозы в процессе отбелики: а) лиственная сульфатная; б) хвойная сульфитная

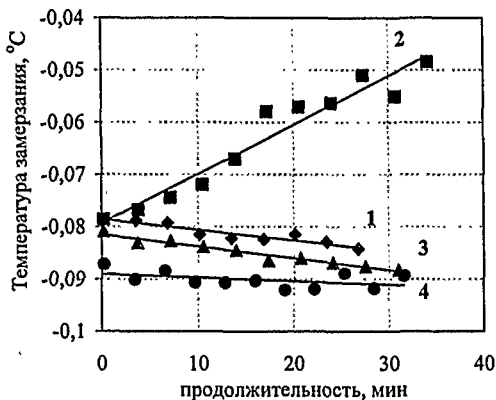
Гидрофобность сульфитной целлюлозы до отбелики и на первых ступенях отбелики в 8...10 раз превышает такую для сульфатной лиственной целлюлозы, что объясняется более высоким содержанием смолы, в том числе жиров в сульфитной целлюлозе. Этерифицированные стеринны и воски сульфатной целлюлозы менее гидрофобны, поэтому сорбция паров гексана ниже. По сравнению с полисахаридами более гидрофобным веществом является остаточный лигнин целлюлозы, однако его вклад невелик.

При удалении смолы в пробах проэкстрагированной сульфитной целлюлозы гидрофобность оказалась практически на одном уровне вне зависимости от содержания лигнина и стадии отбелки (рис. 6 б).

Результаты этих исследований позволяют предполагать, что гидрофобность по отношению к гексану характеризует свойства целлюлозы, связанные с содержанием в ней компонентов смолы, основной вклад из которых вносят жиры. Данный метод дает возможность проследить изменение компонентного состава и свойств поверхностной смолы, что в определенной степени связано с характеристикой «вредности» смолы.

### 5. Влияние различных ПАВ на эффективность действия липазы

На производстве применяются различные химикаты для снижения смоляных затруднений: диспергаторы для стабилизации эмульгированной смолы и фиксаторы для связывания смолы и осаждения ее на волокна целлюлозы. Для сравнения действия различных ПАВ использовали криоскопический метод, оценивая при их добавке стабильность диспергированных частиц трибутирина в растворе. Увеличение числа молекул в результате медленной деструкции



трибутирина характеризуется понижением температуры замерзания с определенной скоростью реакции -  $20 \cdot 10^{-5}$  моль/мин (рис.7). В присутствии фиксатора повышение температуры замерзания указывает на снижение числа растворенных частиц и их коагуляцию. При добавке диспергатора скорость разложения трибутирина осталась на том же уровне, стабильного состояния системы не было достигнуто.

Рисунок 7 – Оценка стабильности эмульсии трибутирина при добавке: 1-контроль, 2- фиксатора, 3- диспергатора, 4 – сапонина.

Таким образом, предложенный криоскопический метод позволяет проследить изменение агрегативной устойчивости смоляной эмульсии. С его помощью была проведена сравнительная оценка действия химикатов разных марок, применяемых в производстве (табл.3). При этом активность липазы по

отношению к трибутирину в присутствии химических ПАВ снижается, что свидетельствует об их плохой совместимости.

Таблица 3 - Сравнение влияния добавок различных видов ПАВ

Марка ПАВ	Характеристика	Скорость разложения трибутирина, $\cdot 10^{-5}$ моль/мин	Активность липазы в присутствии ПАВ, $\cdot 10^{-5}$ моль/(мл $\cdot$ мин)
контроль		20	22,0
<i>Химикаты, применяемые на варке</i>			
Infinity DA 2610	Диспергатор	37	1,6
Infinity DA 2723	Диспергатор	37	-
<i>Химикаты, применяемые при отбелке</i>			
Bimex AP 1711	Диспергатор	37	-
Infinity PK 4401	Фиксатор	-112	7,4
Bimex FX 5160	Фиксатор	-167	-
<i>Сапонины</i>			
№ 1054	Эмульгатор	19	22,1
№ 6510	Эмульгатор	6	21,2
№ 9800 CSP	Эмульгатор	11	27,3

В качестве альтернативы химическим ПАВ нами были проверены сапонины или гликозиды растительного происхождения. Проверка поверхностно-активных свойств сапонинов различных марок показала их высокое стабилизирующее действие на эмульсию трибутирина, скорость разложения которой ниже, чем в случае с диспергатором (табл. 3). Кроме того, сапонины, в отличие от химических ПАВ, не ингибируют липазную активность, а некоторые из них оказывают активирующее действие на фермент.

Как показывают результаты определения активности липазы в модельной системе «целлюлоза-трибутирин», в присутствии сульфатной целлюлозы фиксатор практически полностью инактивирует липазу (табл. 4). Его добавка при расходе 0,3 кг/т целлюлозы приводит к осаждению липазы на волокно, сопровождающемуся блокированием активных центров фермента. При выбранном расходе фиксатор препятствует действию липазы даже при дополнительном введении фермента при сравнительно большой дозировке.

Таблица 4 - Влияние ПАВ на активность липазы в присутствии сульфатной целлюлозы

Добавки к трибутирину	Каталитическая активность липазы, $10^{-5}$ моль/(мл $\cdot$ мин)	
	по отношению к трибутирину	после дополнительного введения липазы
сульфатная целлюлоза	22,2	38,0
целлюлоза + фиксатор	1,5	1,5
целлюлоза + диспергатор	1,5	50,6

Ингибирующее действие на липазу оказывают и диспергаторы, образующие мицеллы с молекулами липазы, что приводит к экранированию активных центров на поверхности фермента. Однако, в отличие от фиксатора, при равном расходе 0,3 кг/т целлюлозы диспергатор не блокировал повторно введенную липазу, что при избытке трибутирина привело к значительному увеличению активности фермента.

Для сульфитной целлюлозы влияние диспергатора и фиксатора на эффективность действия липазы проявляется в меньшей степени (табл.5). С уменьшением концентрации диспергатора до 0,003 г/л активность липазы возрастает, на основании чего можно сделать вывод о необходимости снижения дозировки диспергатора. Отрицательное действие диспергаторов на каталитическую активность липазы по сравнению с фиксаторами проявляется в меньшей степени и может быть преодолено за счет снижения расхода ПАВ.

Таблица 5 – Влияние различных ПАВ в присутствии сульфитной целлюлозы

Добавки к трибутирину	Концентрация ПАВ, г/л	Активность липазы, $10^{-5}$ моль/(мл*мин)
контроль	-	18,2
сульфитная целлюлоза	-	17,1
диспергатор	0,60	1,6
диспергатор	0,15	1,4
диспергатор	0,03	15,4
диспергатор + целлюлоза	0,03	13,4
диспергатор + целлюлоза	0,003	16,4
фиксатор + целлюлоза	0,003	11,5
сапонины + целлюлоза	0,03	21,8

Таким образом, те виды ПАВ, которые применяются в производстве для снижения смоляных затруднений, в целом оказывают инактивирующее действие на липазу, блокируя реакционную поверхность фермента. Добавка сапонинов, обладающих высоким эмульгирующим действием на смолу, в отличие от химических ПАВ, не приводит к снижению активности липазы в присутствии целлюлозы и совместима с каталитическим действием фермента.

#### **6. Разработка технологии использования липазы для обессмоливания сульфатной лиственной целлюлозы перед отбелкой**

Исследования, связанные с разработкой технологии использования липазы Resinase A2X для обессмоливания сульфатной лиственной целлюлозы, в производстве которой сталкиваются со значительными смоляными затруднениями, были проведены применительно к условиям Архангельского ЦБК. Технологическая схема подготовки целлюлозы к процессу отбелки, характерная для большинства предприятий России, включает следующие стадии:

выдерживание в башне высокой концентрации (БВК), разбавление массы и выдерживание в бассейне низкой концентрации (БНК), после чего массу промывают и направляют на отбелку (рис.8).

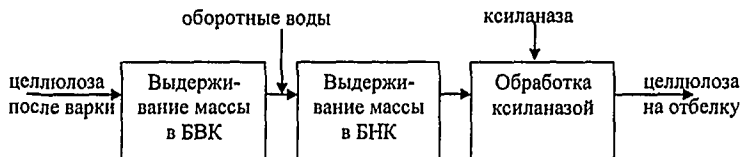


Рисунок 8 – Блок-схема действующей технологии подготовки сульфатной целлюлозы к отбелке

На ряде предприятий, в том числе на АЦБК, используется обработка ксиланазой, способствующая делигнификации целлюлозы перед отбелкой.

В процессе ксиланазной обработки растворяется часть ксилана и лигнина, происходит раскрытие структуры волокна, смола становится более доступной,

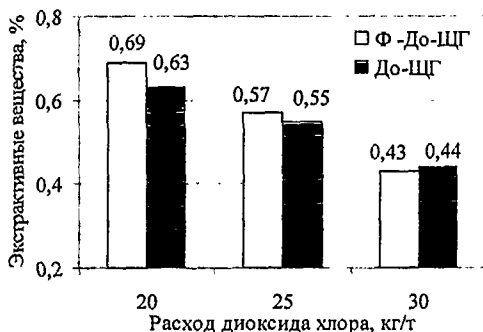


Рисунок 9 - Влияние обработки ксиланазой на обессмоливание сульфатной лиственной целлюлозы при различных расходах диоксида хлора

однако это не приводит к ее дополнительному удалению. Как видно из рис. 9, содержание смолы в целлюлозе после начальных стадий отбелки До-ЩГ снижается с увеличением расхода диоксида хлора, но при равном расходе химикатов количество смолы в контрольной пробе и пробе с предварительной ферментативной обработкой остается на том же уровне.

В отдельной серии опытов было показано, что после действия ксиланазы щелочная обработка способствует удалению смолы, снижая ее остаточное содержание на 35%, до уровня 0,4%, при расходе NaOH 10...15 кг/т целлюлозы.

Оптимальные условия взаимодействия ксиланазы с целлюлозой примерно такие же, какие необходимо создать для действия липазы Resinase A2X, поэтому проверялась возможность введения липазы совместно с ксиланазой Pulprzyme HC. Использовали небеленую сульфатную лиственную целлюлозу после варки с содержанием смолы 0,99 (по этанолу) и числом Каппа 10,8.

Предварительная обработка целлюлозы включала выдерживание в условиях БВК (концентрация массы 8%, продолжительность 2 ч, температура 70°C), далее без промывки – выдерживание в условиях БНК (концентрация

массы 4%, продолжительность 40 мин, температура 55...60°C), после чего следовала ферментативная обработка (концентрация массы 3,5...4%, pH 7...8, температура 50...55°C, расход Resinase A2X - 0,3 кг/т, Pulpzyme HC - 0,5 кг/т целлюлозы).

Обработка целлюлозы после действия ксиланазы щелочью (5 кг/т целлюлозы) обеспечила дополнительное удаление смолы на 20...30%, наблюдалось также снижение числа Каппа полубеленой целлюлозы (табл.7). При обработке липазой совместно с ксиланазой число Каппа целлюлозы после отбелки по схеме До-Щ оказалось несколько больше, возможно из-за того, что липаза, осаждаясь на волокна, может в некоторой степени затруднять процесс делигнификации. О сорбции липазы свидетельствовало увеличение содержания общего азота в целлюлозе на 67%.

Таблица 7 - Обработка лиственной сульфатной целлюлозы ферментами Pulpzyme HC и Resinase A2X

Обработка целлюлозы ферментами	Содержание экстрактивных веществ в целлюлозе, %		Число Каппа целлюлозы после стадий До-Щ
	после обработки ферментами	после стадий До-Щ	
Pulpzyme	0,61	0,54	4,0
Pulpzyme / Щ	0,39	0,43	3,8
Pulpzyme + Resinase	0,61	0,47	4,2
(Pulpzyme+Resinase) / Щ	0,27	0,29	4,0

Содержание смолы после ступеней отбелки До-Щ, определяемое при экстракции этанолом, обычно находится на уровне 0,5...0,7%. Точность определения составляет 0,10%. Добавка липазы совместно с ксиланазой в БНК в сочетании со щелочной обработкой обеспечивает содержание остаточной смолы на уровне 0,27...0,29% (табл.7).

В следующей серии опытов исследовали вариант отдельной обработки целлюлозы: сначала ксиланазой Escorulp в течение 20...40 мин, а затем липазой Resinase A2X еще в течение 20...40 мин с последующим щелочением. Даже при использовании более жесткой целлюлозы с высоким содержанием экстрактивных веществ такая последовательность стадий обеспечила снижение содержания смолы в небеленой целлюлозе до уровня 0,18...0,24% (табл.8). Отличительной особенностью предлагаемой схемы является деструкция остаточной смолы в результате действия липазы и разрушение этерифицированных веществ смолы, которые стали доступными для фермента после раскрытия структуры волокна. Заключительная щелочная обработка обеспечивает эмульгирование и удаление деструктированных компонентов смолы, а также снижение числа Каппа.



Таблица 8 - Обработка лиственной сульфатной целлюлозы ферментами Escorulp и Resinase A2X

Обработка целлюлозы ферментами	Целлюлоза после ферментной обработки		Число Каппа после Ф-До-Щ
	Число Каппа	ЭВ., %	
БВК→ БНК→ Escorulp 2 ч 40 мин 20+60 мин	11,3	0,96	5,3
БВК→ Escorulp (БНК) → Resinase / Щ 2 ч 40 мин 40 / 40 мин	11,2	0,18	5,5
БВК→ БНК→Escorulp→ Resinase / Щ 2 ч 40 мин 20 40 / 20 мин	11,0	0,24	5,5
БВК→Escorulp (БНК)→Resinase / (Щ+ПАВ) 2 ч 40 мин 40 / 40 мин	11,1	0,57	5,7

Наглядным показателем эффективности предлагаемой схемы является достигнутый уровень содержания остаточной смолы в небеленой и полубеленой целлюлозе в 1,5...2 раза ниже по сравнению с обычной технологией.

На АЦБК разработанную схему можно осуществить, если начинать обработку ксиланазой в БНК, затем продолжать ее в массном бассейне, а липазу вводить или в массный бассейн или перед колонкой предварительной подготовки. Во всех случаях целесообразно завершать ферментативную обработку стадией обработки щелочью, которую можно провести в башне № 1.

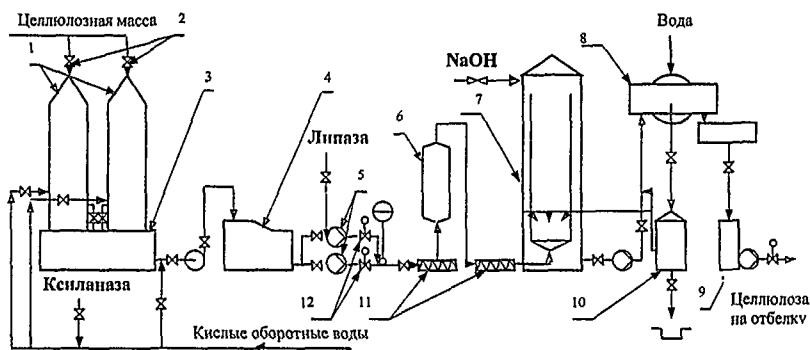


Рисунок 10 – Предлагаемая схема подготовки сульфатной лиственной целлюлозы к отбелке: 1 – БВК; 2 – задвижка; 3 – БНК; 4 – уравнильный бассейн; 5 – центробежный насос; 6 – колонка предварительной подготовки; 7 – башня №1; 8 – вакуум-фильтр; 9 – насос средней концентрации; 10 – бак фильтрата; 11 – шнек; 12 – регулирующий клапан.

Эта технология подготовки лиственной сульфатной целлюлозы к отбелке предлагается к опытно-промышленным испытаниям.

После включения в схему стадии обработки целлюлозы липазой целесообразно частично сократить расход диспергаторов. Экономические расчеты показывают, что за счет экономии ПАВ можно снизить себестоимость примерно на 30 руб/т целлюлозы. Кроме того, за счет исключения части химических ПАВ, негативно влияющих на дальнейшую биологическую очистку, улучшится качество очистки сточных вод.

## ВЫВОДЫ

1. Показано, что липаза разрушает смолу волокнистых полуфабрикатов при обеспечении ее доступности для фермента. В наибольшей степени деструктируется смола сульфитной целлюлозы, в меньшей – смола сульфатной лиственной целлюлозы. Установлена эффективность использования липазы для разложения смолы лиственной ХТММ и смолы, находящейся в растворе в эмульгированном состоянии.

2. Выявлено различие в сорбции липазы на волокна хвойной сульфитной и лиственной сульфатной целлюлозы. Использование трибутирина как аналога жиров позволило установить, что иммобилизация липазы на волокна сульфатной целлюлозы снижает ее активность в 2...3 раза, тогда как сорбированная на сульфитном волокне липаза практически не теряет активность.

3. Для определения гидрофобности целлюлозы предложен метод, основанный на сорбции паров гексана. Установлена связь гидрофобных свойств целлюлозы с содержанием компонентов смолы, в большей степени жиров. Их ферментативная деструкция снижает липкость смолы и уменьшает гидрофобность целлюлозы.

4. Предложено использование для оценки действия ПАВ криоскопического метода. Выявлена плохая совместимость липазы с химическими ПАВ, применяемыми в настоящее время в производстве сульфатной лиственной целлюлозы для снижения смоляных затруднений. В качестве альтернативы предложены сапонины - гликозиды растительного происхождения, стабилизирующие смоляную эмульсию и не снижающие активность фермента.

5. Установлено, что раскрытие структуры волокна сульфатной целлюлозы при обработке ксиланазой способствует последующей деструкции смолы. Предложена технологическая схема подготовки сульфатной лиственной целлюлозы к отбелке, включающая последовательную обработку ксиланазой, липазой и щелочную обработку, что позволяет в 2 раза снизить остаточное содержание смолы в целлюлозе.

**Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:**

1. Емельянова, М.В. Действие фермента Resinase A2X на смолу древесины и целлюлозы [Текст] / М.В. Емельянова, Е.В. Новожилов, Д.Г. Чухчин // Современная наука и образование в решении проблем экономики европейского севера: материалы Международной научно-технической конференции, посвященной 75-летию АЛТИ-АГТУ. – Архангельск: Изд-во АГТУ, 2004. – С.209–211. – ISBN 5-261-00166-8.

2. Емельянова, М.В. Совместное применение ксиланазы и липазы в схеме отбелки сульфатной лиственной целлюлозы [Текст] / М.В. Емельянова, Е.В. Новожилов // Наука – Северному региону. сборник научных трудов.– Архангельск: Изд-во АГТУ, 2005. – Вып.62. – С.72–74.

3. Емельянова, М.В. Использование криоскопии для оценки эффективности действия ПАВ, применяемых в целлюлозно-бумажном производстве [Текст] / М.В. Емельянова, П.А. Тупин, Е.М. Арзянцева // Материалы II всероссийской научно-технической конференции студентов и аспирантов.– Екатеринбург: УГЛТУ, 2006. – С. 253–255.

4. Емельянова, М.В. Оценка активности фермента липазы в присутствии лиственной сульфатной целлюлозы [Текст] / М.В. Емельянова, Е.В. Новожилов // Химия и технология растительных веществ. тезисы докладов IV Всероссийской научной конференции. – Сыктывкар.– 2006. – С.362. – ISBN 5-89606-270-2.

5. Емельянова, М.В. Перспективы использования липазы в целлюлозно-бумажном производстве [Текст] / М.В. Емельянова, Е.В. Новожилов, Д.Г. Чухчин // Лесной журнал. 2007. – №1. – С.110–118. (Изв.высш.учеб.заведсний). – ISSN 0536-1036.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах с заверенными гербовой печатью подписями просим направлять по адресу:

163002, г. Архангельск, наб. Северной Двины, 17, АГТУ,  
диссертационный совет Д.212.008.02

2007А

9315

№ - 9315

Сдано в произв. 17.04.2007. Подписано в печать 17.04.2007.  
Формат 60×84/16. Бумага писчая. Гарнитура Таймс. Усл.печ.л. 1,0.  
Уч.-изд. л. 1,0. Заказ № 81. Тираж 100 экз.

---

Отпечатано в типографии Архангельского  
государственного технического университета

163002, г. Архангельск, наб. Северной Двины, 17