

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN  
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 920609 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS  
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG  
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE  
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 920609

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification  
D21C 9/147  
C12S 3/08

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 13.08.1990

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 13.02.1992

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 13.02.1992

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

(86) Kansainvälinen hakemus - 13.08.1990 PCT/FI1990/000194  
Internationell ansökan - International  
application

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

14.08.1989 US 393716 P

(71) Hakija - Sökande - Applicant

**1 • Genencor International Europe Oy**, Kyllikinportti 2, 00241 Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1 • Kruus, Ilkka**, Espoo, SUOMI - FINLAND, (FI)

**2 • Laine, Jaakko**, Kantvik, SUOMI - FINLAND, (FI)

**3 • Koljonen, Marja**, Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Kolster Oy Ab**, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Massan happivalkaisuun liittyvä parannus**

**Förbättring beträffande syreblekning av massa**

(83) Mikro-organismitalletus - Deposition av mikroorganism - Deposit of microorganism

53812 ATCC

## Massan happivalkaisuun liittyvä parannus

### Keksinnön ala

5 Tämä keksintö koskee massan happivalkaisuun liittyvää parannusta käsittelemällä massaa entsyymillä. Tämä keksintö koskee erityisesti hemiselluloosaa hydrolysoivan entsyymin käyttöä, jonka sellulaasiaktiivisuus on vähäinen tai olematon.

### Keksinnön tausta

10 Massan happivalkaisu eri muodoissaan on tunnettu ja kuvattu esim. julkaisussa Singh R.P.: The Bleaching of Pulp, Tappi Press 1979, s. 159 - 209.

Energian hinnan kasvu ja vaatimukset ympäristön suojelemiseksi ovat synnyttäneet tarpeen korvata massan kemialliset valkaisu prosessit vähemmän energiaa vaativilla prosesseilla, jotka lisäksi mahdollistavat valkaisimoista tulevan jäteliemen polton kokonaisuudessaan tai ainakin suurimmaksi osaksi alkalikeiton tavanomaisessa polttoprosessissa. Monilla paperitehtailla käytetään nykyään happivalkaisua natriumhydroksidin tehokkaana alkalina välittömästi keiton jälkeen. Tämä prosessi mahdollistaa valkaisimossa käytettyjen klooripitoisten aineiden ja natriumhydroksidin määrän vähentämisen ja valkaisupäästöjen sisältämästä kuiva-aineesta noin puolen uudelleenkierrätyksen ja polton. Mutta voimaperäinen happivalkaisu depolymeroi liiaksi hiilihydraatteja, mikä huonontaa massan paperiominaisuuksia. Tähä saakka ei ole pystytty selvittämään kysymystä, miten massan delignifiointia voidaan parantaa käyttämällä vähäisempiä määriä klooria, natriumhydroksidia ja happea ja miten voidaan polttaa mahdollisimman suuri osa valkaisujäteliemistä.

15  
20  
25  
30

### Keksinnön yhteenveto

Tämän keksinnön kohteena on massan happivalkaisun parantaminen entsyymikäsittelyllä. Keksintö tunnetaan sii-

tä, että happivalkaisuprosessiin lisätään hemiselluloosaa hydrolysoivaa entsyymiä tai entsyymivalmistetta.

Hemisellulaasientsyymi tai entsyymivalmiste ei edullisesti ole sellulaasiaktiivinen.

5 Hemisellulaasientsyymejä käytetään keksinnön mukaisesti happikäsittelyn ohella vähentämään massan valkaisu- prosesseissa käytettävien klooripitoisten aineiden ja natriumhydroksidin määrää. Entsyymikäsittely voidaan suorittaa ennen happivaihetta, sen jälkeen tai sen aikana.

#### 10 Keksinnön kuvaus

Tämä keksintö pohjautuu havaintoon, jonka mukaan puhtaita hemiselluloosaa hydrolysoivia entsyymejä tai hemiselluloosaa hydrolysoivia entsyymejä sisältäviä entsyymivalmisteita voidaan käyttää massan tavanomaisen happivalkaisun ohella vähentämään prosessin aikana käytettävien klooripitoisten ja alkalisten aineiden määrää.

Entsyymivalmisteita, jotka edullisimmin sisältävät hemisellulaasia, käytetään vakiovalkaisumenettelyn kera. On eduksi, että käytetyssä hemisellulaasientsyymissä tai  
20 -valmisteessa ei olennaisesti ole sellulaasia. Tässä patenttihakemuksessa käytettynä sanonnalla sellulaasit tarkoitetaan entsyymejä, jotka pystyvät liuottamaan kiteistä selluloosaa ja vapauttamaan siitä sokereita tai oligosakkarideja. Tällaisen entsyymin hyvänä esimerkkinä on hemisellulaasi, joka saadaan kannasta *Chainia* sp. NCL 82-5-1 (ATCC nro 53 812). Tämän kannan, joka on US-patenttihakemuksen sarjanumero 224 590 kohteena, tuottamassa hemisellulaasissa on pienimolekyyllipainoinen, aktiivinen ksyla-naasiyksikkö, joka tunkeutuu hyvin puukuituihin, joissa se  
25 pystyy hajottamaan selektiivisesti ksylaania. Muita hemisellulaasientsyymejä, jotka myös ovat tekniikan tasolla tunnettuja, voidaan saada esim. aktinomykeeteista (kuten *Streptomyces olivochromogenes*), bakteereista kuten *Bacillus* sp. ja sienistä kuten *Penicillium steckii*. Kek-  
30 sinnön mukainen entsyymi voidaan myös saada siten, että

Trichoderma longibrachiatumin tuottama sellulaasi/hemisellulaasivalmiste puhdistetaan poistamalla sellulaasiaktiivisuus kokonaan tai suurimmaksi osaksi.

5        Sopiva, ksylanaasiksi laskettu entsyymiannostus on n. 0,1 - 100 yksikköä (U) per gramma massan kuiva-ainesta (ka). Edullinen entsyymipitoisuus on 0,5 - 25 U/g massan ka.

Entsyymivalmisteen ksylanaasiaktiivisuus määritetään seuraavasti:

10        1 ml:aan ksylaaniiliuosta (1 %, Sigma nro X-0376, valmistettu 50 °C mM Na-sitraattipuskuriin, pH 5,3), lisättiin 1 ml entsyymiä, joka on sopivasti laimennettu samalla puskurilla. Liuosta inkuboitiin 50°C:ssa vesihautteessa 30 minuuttia. Reaktio keskeytettiin lisäämällä 3 ml  
15        DNS-reagenssia (3,5-dinitrosalisylaattireagenssia) ja väri kehitettiin keittämällä näytettä 5 minuuttia. Absorbanssi mitattiin aallonpituudella 540 nm. Yksi entsyymiyksikkö vapauttaa yhden mikromoolin pelkistävää sokeria laskettuna ksyloosiksi per yksi minuutti määritysolosuhteissa.

20        Entsyymivalmisteiden sellulaasiaktiivisuus määritettiin suodatinpaperiaktiivisuutena (Ghose, T.K. ja muut, Symposium of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose Bailey, M., Enari, T.M., Linko, M., toim. (SITRA, Aulanko, Finland, 1975, s. 111 - 136) seuraavasti:

25        Pala suodatinpaperia (Whatman 1, 50 mg) lisättiin 1 ml:aan asetaattipuskuria (0,05 M NaAc, pH 4,8). Lisättiin 1 ml sopivasti laimennettua entsyymiliuosta. Liuosta inkuboitiin yksi tunti 50°C:ssa. Reaktio keskeytettiin lisäämällä 3 ml DNS-reagenssia ja väri kehitettiin ja mitattiin kuten ksylanaasin määrittämisessä. Yksi aktiivisuus-  
30        yksikkö vapauttaa yhden mikromoolin pelkistäviä sokereita laskettuna glukooksi per yksi minuutti.

      Hemisellulaasientsyymi tai entsyymivalmiste voidaan lisätä ennen happikäsittelyä, sen aikana tai sen jälkeen  
35        ja edullisimmin se lisätään ennen happivalkaisuvaihetta.

Käsittely voidaan suorittaa pH-alueella n. 2 - n. 10, edullisesti n. 4 - n. 8 esim. hemisellulaasientsyymin alkuperästä tai ominaisuuksista riippuen. Käsittelyaika riippuu entsyymiannoksesta ja käsittelyolosuhteista ja se voi olla alueella 10 minuutista yhteen vuorokauteen, edullisesti 30 minuutista 8 tuntiin. Lämpötila entsyymikäsittelyn aikana voi vaihdella alueella n. 10 - n. 90°C, edullisesti n. 25 - 70°C.

Seuraavat esimerkit valaisevat keksinnönmukaista menetelmää. Esimerkkien tehtävänä ei ole rajoittaa keksintöä, vaan osoittaa tämän keksinnön eräiden suoritusmuotojen toimivuus.

#### Esimerkit

Esimerkkien 1 ja 2 entsyymi valmistettiin kannan Chainia sp. NCL 82-5-1 avulla. Tämä kanta talletettiin 27.7.1988 ATCC:hen numerolla 53812. Kannan Chainia sp. NCL 82-5-1 itiöitä säilöttyinä PDA-elatusvinoalustoille siirrettiin steriiliin elatusalustaan (esim. 5 % vehnänleseitä, 1 % hiivauutetta, pH 7,0).

Elatusalustaa viljeltiin ravistelukolveissa n. 3 - 5 vrk 30°C:ssa voimakkaasti sekoittaen (50 - 100 ml nestettä 250 ml:n kolveissa, 200 kierr/min). Neste suodatettiin tai sentrifugoitiin kirkkaaksi. Käytettäessä vehnänleseitä muodostui n. 10 U/ml ksylanaasia ja käytettäessä puhdasta ksylaania muodostui enemmän ksylanaasia (vähintään 25 U/ml). Näin muodostuneessa entsyymissä ei olennaisesti ollut sellulaasia.

Esimerkissä 3 käytetty entsyymi valmistettiin aktinomykeetin Streptomyces olivochromogenes avulla käyttäen menetelmää, joka on kuvattu lähteessä Evaluation of Different Microbial Xylanolytic Systems, Poutanen, K., Ratto, M., Puls, J. ja Viikari, L., Journal of Biotechnology, 6 (1987) s. 49 - 60; entsyymien aktiivisuus: ksylanaasi 2 500 U/g, sellulaasi 0 U/g.

Esimerkeissä 4 ja 5 käytetty entsyymi oli Multifect K (Cultor Ltd.), (jota tuottaa sieni *Trichoderma longibrachiatum*. Valmisteen ksylanaasiaktiivisuus oli 5 200 U/ml ja sellulaasiaktiivisuus 4 U/ml.

5           **Esimerkki 1**

Koivumassan happivalkaaisu I

Valkaistiin suomalaista koivusulfaattimassaa; massan alkuperäinen kappaluku oli 20,5. Valkaisusekvenssi oli O<sub>2</sub>-D-E-D-E-D. Käytetty klooridioksidi sisälsi n. 8 % klooria.

Kontrollimassa valkaistiin tavalliseen tapaan, mutta olosuhteiden saamiseksi mahdollisimman samanlaisiksi kuin entsyymikäsittelyssä pidettiin kontrollimassaa neljä tuntia 55 °C:ssa ja pH:ssa 6.

15           Massaa käsiteltiin entsyymillä ennen valkaisua seuraavissa olosuhteissa:

|    |                  |                  |
|----|------------------|------------------|
|    | Lämpötila        | 55°C             |
|    | Aika             | 4 tuntia         |
| 20 | pH               | 6                |
|    | Sakeus           | 10 %             |
|    | Entsyymiannostus |                  |
|    | ksylanaasina     | 25 U/g massan ka |

25           Entsyymikäsittelyn (tai kontrollimassan inkuboinnin) jälkeen massa pestiin ja suoritettiin normaali happivalkaaisu. Happivaiheessa käytettiin seuraavia olosuhteita:

|    |                |              |
|----|----------------|--------------|
|    | Lämpötila      | 90°C         |
| 30 | Aika           | 30 minuuttia |
|    | O <sub>2</sub> | 3 bar        |
|    | Sakeus         | 10 %         |
|    | NaOH           | 2 %          |

Ensimmäisessä klooridioksidivaiheessa käytettiin aktiiviklooriannostusta 0,2 x massan kuiva-aineksen kappa-%. Neljässä viimeisessä vaiheess kemikaaliannostus oli seuraava: E1, 0,1 x massan kuiva-aineksen kappa-%; D1, 2,5 % massan kuiva-aineksesta; E2, 0,8 % massan kuiva-aineksesta; D2, 1,0 % massan kuiva-aineksesta. Kokeiden tulokset ilmenevät taulukosta 1.

Taulukko 1

## Valkaisukokeita/happivalkaaisu I/koivumassa

|                                               | Kontrolli | Entsyymikäsittely |
|-----------------------------------------------|-----------|-------------------|
| 10 Kappaluku entsyymikäsittelyn jälkeen       | 20,3      | 18,3              |
| Kappaluku happivaiheen jälkeen                | 14,8      | 12,2              |
| 15 Vaaleus %                                  | 90,3      | 92,1              |
| Viskositeetti kg/dm <sup>3</sup>              | 1080      | 1170              |
| TCI mg/kg                                     | 573       | 500               |
| Saanto entsyymikäsittelyn + valkaisun jälkeen | 91,0      | 90,7              |
| 20                                            |           |                   |

Siitä huolimatta, että entsyymikäsittelyn aika oli kohtuullinen (4 tuntia), massan vaaleus kasvoi huomattavasti eli 1,8 prosenttiyksikköä, vaikka massan alkuperäinen vaaleus oli yli 90 %. Lisäksi ei ilmennyt saannon hukkaa.

## Esimerkki 2

## Koivumassan happivalkaaisu II

Valkaistiin suomalaista koivusulfaattimassaa; alkuperäinen kappaluku oli 20,5. Käytettiin valkaisuusekvenssiä O<sub>2</sub>-entsyymi-D/C-E-D-E-D. Klooridioksidin määrä oli 90 % ja kloorin määrä 10 % laskettuna aktiiviklooriksi D/C-vaiheessa.

Happivaihe toteutettiin seuraavissa olosuhteissa:

|   |                |              |
|---|----------------|--------------|
|   | Lämpötila      | 90 °C        |
|   | Aika           | 30 minuuttia |
| 5 | O <sub>2</sub> | 3 bar        |
|   | Sakeus         | 10 %         |
|   | NaOH           | 2 %          |

- 10 Happivaiheen jälkeen massa jaettiin kahteen osaan. Kontrollimassa valkaistiin normaalitavalla, mutta käsitte-  
ly olosuhteiden saamiseksi mahdollisimman samanlaisiksi  
kuin entsyymikäsittelyssä pidettiin kontrollimassaa neljä  
tuntia 55 °C:ssa ja pH:ssa 6.

- 15 Massan entsyymikäsittely suoritettiin happivalkai-  
sun jälkeen, mutta ennen D/C-vaihetta käyttäen seuraavia  
olosuhteita:

|    |                  |                  |
|----|------------------|------------------|
|    | Lämpötila        | 55 °C            |
|    | Aika             | 4 tuntia         |
| 20 | pH               | 6                |
|    | Sakeus           | 10 %             |
|    | Entsyymiannostus |                  |
|    | ksylanaasina     | 25 U/g massan ka |

- 25 Entsyymikäsittelyn (tai kontrollimassan vertailukä-  
sittelyn) jälkeen massa pestiin ja suoritettiin lopullinen  
valkaisu käyttäen yllä mainittua sekvenssiä. D/C-vaiheessa  
käytettiin aktiiviklooriannostusta 0,2 x massan kuiva-ai-  
neksen kappa-%.

- 30 Neljässä viimeisessä vaiheessa kemikaaliannostus  
oli seuraava: E1, 0,1 x massan kuiva-aineksen kappa-%;  
D1, 2,5 % massan kuiva-aineksesta; E2, 0,8 % massan kuiva-  
aineksesta, D2, 1,0 % massan kuiva-aineksesta.

Kokeiden tulokset ilmenevät taulukosta 2.

## Taulukko 2

## Valkaisukokeita/happivalkaaisu II/koivumassa

|                                  | Kontrolli | Entsyymikäsitelty |
|----------------------------------|-----------|-------------------|
| 5                                |           |                   |
| Kappaluku happikäsit-            |           |                   |
| telyn jälkeen                    | 14,6      | 14,6              |
| Kappaluku entsyymikä-            |           |                   |
| sittelyn jälkeen                 | 13,6      | 11,7              |
| Vaaleus %                        | 89,6      | 92,1              |
| Viskositeetti kg/dm <sup>3</sup> | 1015      | 1045              |
| 10                               |           |                   |
| TCl mg/kg                        | 291       | 252               |
| Saanto entsyymikäsitte-          |           |                   |
| lyn + valkaisun jälkeen          | 91,8      | 90,9              |

15 Siitä huolimatta, että entsyymikäsitteilyn aika oli kohtuullinen (4 tuntia), massan vaaleus kasvoi 2,5 prosenttiyksikköä, vaikka alkuperäinen vaaleus oli melkein 90 %. Lisäksi saannon hukka ei ollut merkitsevä.

## Esimerkki 3

## Koivumassan happivalkaaisu III

20 Valkaistiin suomalaista koivusulfaattimassaa esimerkin 1 mukaisesti sillä erolla, että käytettiin kannasta Streptomyces olivochromogenes valmistettua entsyymiä ja entsyymikäsitteilyaika oli 8 tuntia. Kokeiden tulokset ilmenevät taulukosta 3.

## 25 Taulukko 3

## Valkaisukokeita/happivalkaaisu III/koivumassa

|                                  | Kontrolli | Entsyymikäsitelty |
|----------------------------------|-----------|-------------------|
| 30                               |           |                   |
| Kappaluku entsyymi-              |           |                   |
| käsittelyn jälkeen               | 19,9      | 18,0              |
| Kappaluku happikä-               |           |                   |
| sittelyn jälkeen                 | 14,7      | 12,0              |
| Vaaleus %                        | 90,2      | 91,1              |
| Viskositeetti kg/dm <sup>3</sup> | 1080      | 1010              |
| TCl mg/kg                        | 560       | 510               |
| 35                               |           |                   |
| Saanto entsyymikäsitte-          |           |                   |
| lyn + valkaisun jälkeen          | 91,5      | 87,7              |

**Esimerkki 4****Koivumassan happivalkaisu IV**

5 Valkaistiin suomalaista koivusulfaattimassaa (alkuperäinen kappaluku 20,8) entsyymikäsittelyn jälkeen ja vertailun vuoksi ilman entsyymikäsittelyä (kontrollimassa) käyttäen valkaisuusekvenssiä O<sub>2</sub>-D-E-D-E-D. Käytetty klooridioksidi sisälsi n. 8 % klooria.

10 Kokeessa käytettiin entsyymivalmisteena Multifact K:ta, jota tuottaa sieni *Trichoderma longibrachiatum*.  
Entsyymikäsittelyssä ennen tavanomaista valkaisua käytetyt reaktioolosuhteet olivat seuraavat:

|    |                  |                 |
|----|------------------|-----------------|
|    | Lämpötila        | 45 °C           |
|    | Aika             | 4 tuntia        |
| 15 | pH               | 5               |
|    | Sakeus           | 10 %            |
|    | Entsyymiannostus |                 |
|    | ksylanaasina     | 5 U/g massan ka |

20 Kontrollimassaa käsiteltiin ennen valkaisua samoissa olosuhteissa kuin entsyymikäsittelyssä, mutta seokseen ei lisätty entsyymiä.

Entsyymikäsittelyn (tain kontrollimassan inkuboinnin) jälkeen massa pestiin ja happivalkaisu suoritettiin  
25 esimerkissä 1 kuvatulla tavalla.

Kokeiden tulokset ilmenevät taulukosta 4.

**Taulukko 4**  
**Valkaisukokeita/happivalkaaisu IV/koivumassa**  
**Kontrolli      Entsyymikäsittely**

|    |                                  |      |      |
|----|----------------------------------|------|------|
|    | Kappaluku entsyymikä-            |      |      |
| 5  | sittelyn jälkeen                 | 20,5 | 19,5 |
|    | Kappaluku happivaiheen           |      |      |
|    | jälkeen                          | 14,9 | 12,9 |
|    | Vaaleus %                        | 90,1 | 91,5 |
|    | Viskositeetti kg/dm <sup>3</sup> | 1080 | 1120 |
| 10 | TCl mg/kg                        | 570  | 500  |
|    | Saanto entsyymikäsitte-          |      |      |
|    | lyn + valkaisun jälkeen          | 91,1 | 90,9 |

15 Siitä huolimatta, että entsyymikäsittelyn aika oli kohtuullinen (4 tuntia), massan vaaleus kasvoi huomattavasti eli 1,4 prosenttiyksikköä, vaikka massan alkuperäinen vaaleus oli yli 90 %. Lisäksi ei ilmennyt saannon hukkaa.

**Esimerkki 5**

20 **Koivumassan happivalkaaisu V**

Valkaistiin suomalaista koivusulfaattimassaa (alkuperäinen kappaluku 20,8). Käytettiin valkaisusekvenssiä O<sub>2</sub>-entsyymi-D/C-E-D-E-D ja vertailumassalle O<sub>2</sub>-D/C-E-D-E-D. Klooridioksidin ja kloorin suhde D/C-vaiheessa oli 90:10 laskettuna aktiiviklooripohjalta.

25 Happivaihe toteutettiin esimerkissä 2 kuvatulla tavalla.

Happivaiheen jälkeen massa jaettiin kahteen osaan. Toista osaa hapella käsitelystä massasta käsiteltiin ennen D/C-vaihetta entsyymillä käyttäen seuraavia reaktioolosuhteita:

30

|   |                  |                 |
|---|------------------|-----------------|
|   | Lämpötila        | 45°C            |
|   | Aika             | 4 tuntia        |
|   | pH               | 5               |
|   | Sakeus           | 10 %            |
| 5 | Entsyymiannostus |                 |
|   | ksylanaasina     | 5 U/g massan ka |

Käsittelyssä käytettiin entsyyminä Multifect K:ta, jota tuottaa sieni *Trichoderma longibrachiatum*.

- 10 Toista osaa hapella käsiteltyä massaa (kontrolli-massaa) käsiteltiin ennen D/C-vaihetta käyttäen samoja olosuhteita kuin entsyymikäsittelyssä, mutta seokseen ei lisätty entsyymiä.

- 15 Entsyymikäsittelyn (tai kontrollimassan vertailukäsittelyn) jälkeen massa pestiin ja lopullinen valkaisu suoritettiin esimerkissä 2 kuvatulla tavalla.

Kokeiden tulokset ilmenevät taulukosta 5.

#### Taulukko 5

##### Valkaisukokeita/happivalkaisu V/koivumassa

|    |                                  |           |           |
|----|----------------------------------|-----------|-----------|
| 20 |                                  | Kontrolli | Käsitelty |
|    | Kappaluku happivai-              |           |           |
|    | heen jälkeen                     | 14,8      | 14,8      |
|    | Kappaluku entsyymi-              |           |           |
|    | käsittelyn jälkeen               | 13,7      | 12,0      |
| 25 | Vaaleus %                        | 89,3      | 91,3      |
|    | Viskositeetti kg/dm <sup>3</sup> | 1015      | 1020      |
|    | TCI mg/kg                        | 280       | 270       |
|    | Saanto entsyymikäsitte-          |           |           |
|    | lyn + valkaisun jälkeen          | 91,7      | 91,1      |

30

Siitä huolimatta, että entsyymikäsittelyn aika oli kohtuullinen (4 tuntia), massan vaaleus kasvoi 2,0 %, vaikka alkuperäinen vaaleus oli melkein 90 %. Lisäksi saannon hukka ei ollut merkitsevä.

**Esimerkki 6****Mäntykraftmassan happivalkaaisu**

Suomalaista happidelignifioitua mäntykraftmassaa (alkuperäinen kappa 17,2) valkaistiin entsyymikäsittelyn jälkeen ja vertailun vuoksi ilman entsyymikäsittelyä (kontrolli) käyttäen valkaisusekvenssiä D-E1-D1-E2-D2. Muut olosuhteet olivat samat kuin esimerkissä 1.

Kokeessa käytettiin entsyymivalmisteena Multifect K:ta (Cultor Ltd.), jota tuottaa sieni *Trichoderma longibrachiatum*.

Entsyymikäsittelyssä ennen tavanomaista valkaistua käytetyt reaktio-olosuhteet olivat seuraavat:

|                  |                                  |
|------------------|----------------------------------|
| Lämpötila        | 45°C                             |
| Aika             | 2 tuntia                         |
| pH               | 5,7                              |
| Sakeus           | 10 %                             |
| Entsyymiannostus | 5 ksylanaasiyksikköä/g massan ka |

Kontrollimassaa käsiteltiin ennen valkaistua käyttäen samoja olosuhteita kuin entsyymikäsittelyssä, mutta seokseen ei lisätty entsyymiä.

Tulokset ilmenevät taulukosta 6.

| Taulukko 6                                              |           |             |
|---------------------------------------------------------|-----------|-------------|
| Valkaisukokeita/happivalkaaisu/delignifioitu mäntymassa |           |             |
|                                                         | Kontrolli | Trichoderma |
| Entsyymiannostus (ksylanaasiyksikköä/g massaa)          | 0         | 5           |
| Vaaleus (%)                                             | 87,6      | 88,7        |

Entsyymikäsittely parantaa happidelignifioitun massan valkaistavuutta siinäkin tapauksessa, että ensimmäisessä valkaisuvaiheessa käytetään pelkästään klooridioksi-

dia. Happidelignifioidun massan vaaleutta on vaikea lisätä valkaisemalla suurilla klooridioksidimäärillä ensimmäisessä välttämättömässä vaiheessa. Suuret klooridioksidimäärät ovat tarpeen ensimmäisessä vaiheessa haluttaessa vähentää kloorattujen orgaanisten yhdisteiden syntymistä valkaisun aikana.

Erityisesti esimerkeistä 1 ja 2 voidaan päätellä, että käyttämällä tämän keksinnön mukaista entsyymiä happivalkaisun ohella on mahdollista jättää pois vaiheet E2 ja D2. Uutta valkaisimoa rakennettaessa tämä voisi johtaa huomattaviin investointisäästöihin.

Esimerkeistä voidaan myös päätellä, että tavoitevaaleus 85 - 90 % voidaan saavuttaa ilman ensimmäistä D/C-vaihetta tavanomaisessa valkaisussa, jos massaa käsitellään entsyymeillä ennen happikäsittelyä tai sen jälkeen. Toimittaessa tällä tavoin lopullinen valkaisu entsyymikäsittelyn ja happivaiheen jälkeen (tai happivaiheen ja entsyymikäsittelyn jälkeen) olisi seuraava: E-D-E-D. Tämä tarkoittaa sitä, että voitaisiin polttaa enemmän valkaisuprosessissa liuennutta materiaalia, koska E1-vaiheessa liunneen materiaalin polttoon ei liittyisi mitään varjopuolia.

**Patenttivaatimukset**

1. Menetelmä massan happivalkaisemiseksi, t u n -  
n e t t u siitä, että massaa käsitellään hemiselluloosaa  
5 hydrolysoivalla entsyymillä tai entsyymivalmisteella, joka  
on peräisin organismista Trichoderma tai Chainia sp. ATCC  
53812.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että hemiselluloosaa hydrolysoiva  
10 entsyymi tai entsyymivalmiste lisätään valkaisumenetelmäs-  
sä ennen happivalkaisuvaihetta.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että hemiselluloosaa hydrolysoiva  
entsyymi tai entsyymivalmiste lisätään valkaisumenetelmäs-  
15 sä happivalkaisuvaiheen jälkeen.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että sellulaasiaktiivisuus on  
hemiselluloosaa hydrolysoivassa entsyymissä alle 0,5 %  
(eli 1/200).

20 5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että hemiselluloosaa hydrolysoiva  
entsyymi on pienimolekyyllipainoinen ksylanaasi, jota tuot-  
taa Chainia sp. ATCC 53812.

25 6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että ksylanaasi on oleellisesti  
vapaa selluloosaa hydrolysoivasta entsyymistä.

7. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että ksylanaasi lisätään määränä  
noin 0,1 - 100 U/g laskettuna massan kuiva-aineksesta.

30 8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että ksylanaasi lisätään määränä  
noin 0,5 - 25 U/g laskettuna massan kuiva-aineksesta.

9. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että ksylanaasikäsittely suorite-

taan pH-alueella noin 2 - 10 lämpötilassa noin 10 - 90 °C ja entsyymikäsittelyn aika on noin 10 min. - 24 tuntia.

10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ksylanaasikäsittely suoritetaan lämpötilassa noin 25 - 70 °C noin 0,5 - 8 tunnin aikana ja pH-alueella noin 4 - 8.

**Patentkrav:**

1. Förfarande för förbättring av syreblekningen av massa, k ä n n e t e c k n a t därav, att massan behand-  
5 las med ett hemicellulosahydrolyserande enzym eller enzym-  
preparat.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att det hemicellulosahydrolyserande  
enzymet eller enzympreparatet tillsätts före syreblek-  
10 ningsprocessen i blekningsförfarandet.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att det hemicellulosahydrolyserande  
enzymet eller enzympreparatet tillsätts efter syreblek-  
ningssteget i blekningsförfarandet.

4. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -  
15 t e c k n a t därav, att det hemicellulosahydrolyserande  
enzymet innehåller mindre än 0,5 % (t.ex. 1/200) cellulas-  
aktivitet.

5. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -  
20 t e c k n a t därav, att det hemicellulosahydrolyserande  
enzymet framställs genom en art som hör till släktet  
Streptomyces eller Trichoderma.

6. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att det hemicellulosahydrolyserande  
25 enzymet är ett xylanas med låg molekylvikt, vilket produ-  
cerats av Chainia sp. ATCC 53812.

7. Förfarande enligt patentkravet 6, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att xylanaset är väsentligen fritt  
från cellulosahydrolyserande enzym.

8. Förfarande enligt patentkravet 6, k ä n n e -  
30 t e c k n a t därav, att xylanaset tillsätts i en mängd  
av ca. 0,1 - 100 U/g, beräknat på massans torrsubstans-  
innehåll.

9. Förfarande enligt patentkravet 8, k ä n n e -  
35 t e c k n a t därav, att xylanaset tillsätts i en mängd

av ca. 0,5 - 25 U/g, beräknat på massans torrsubstansinnehåll.

5        10. Förfarande enligt patentkravet 6, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att xylanasbehandlingen utföres i  
pH-området ca. 2 - 10 vid ca. 10 - 90 °C, varvid tiden för  
enzymbehandlingen uppgår till från ca. 10 min. till  
24 timmar.

10       11. Förfarande enligt patentkravet 10, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att xylanasbehandlingen utföres vid  
en temperatur av från ca. 25 °C till ca. 75 °C under en  
tid av från ca. 0,5 till ca. 8 timmar vid ett pH-område  
från ca. 4 till ca. 8.

## Patentti- ja innovaatiolinja

# TUTKIMUSRAPORTTI

|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| PATENTTIHAKEMUS<br>NRO<br><br>920609 | LUOKITUS |
|--------------------------------------|----------|

|                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TUTKITTU AINEISTO</b>                                                                  |
| <b>Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat</b> |
| <b>Tiedonhaut ja muu aineisto</b>                                                         |

| VIITEJULKAISUT                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                          |                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------|
| Kategoria*)                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Julkaisun tunnistetiedot | Koskee vaatimuksia |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | F1-B 86896               |                    |
| <p>*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna<br/> Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu<br/> A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este</p> |                          |                    |
| Päiväys                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Tutkija                  |                    |