

L 987/91

11421

135

Eljárás cellulóz enzimes fehéritésére

Dr. CALL Hans-Peter, Übach-Palenberg, NSZK

64119

A nemzetközi bejelentés napja: 1991. 03. 19.

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP91/00540

N 9205: D210 9/10

Közzétételi szám: WO 91/14823

A előbbi napja: 1990. 03. 20

~~Az előbbi napja: 1990. 03. 20~~ (P 40.08.8936.) DE

K I V O N A T

A találmány tárgya enzimes eljárás cellulóz fehéritésére. Az eljárásra jellemző, hogy

a) a vizes, cellulóz-tartalmú oldathoz oxidáló és redukálószer, sókat és komplexképzőket adagolva az oldat redox-potenciálját 200 és 500 mV közötti értékre állítják,

b) lignolitikus enzim adagolásával a fehéritést beindítják és

c) a reakciót keverés közben 15 perctől 12 óráig terjedő időn keresztül fenntartják.

2077.C

608

2582/92

11421/93

Képviselő:

Danubia Szabadalmi és Védjegy Kft

PIRÁTI

64119

NSZK D21C 9/10

Eljárás cellulóz enzimes fehéritésére

Dr. CALL Hans-Peter, Übach-Palenberg, NSZK

Feltaláló: azonos a bejelentővel

A nemzetközi bejelentés napja: 1991. 03. 19.

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP91/00540

Közzétételi szám: WO 91/14823

A bejelentés elsőbbsége: 1990. 03. 20.

Az elsőbbségi értelem: DE P 40. 08. 493. 6.

75726-5965 To

A találmány tárgya eljárás cellulóz enzimes fehérítésére.

A cellulóz előállítására eddig ismert biológiai eljárások során mikroorganizmusokat, főleg gombákat alkalmaznak. A 3 110 117 sz. német szabadalmi leírás például olyan eljárást ismertet, amely során cellulózt nyernek fából vagy egyéb növényi rostanyagból oly módon, hogy a lignocellulózt fehérrothadásgombákkal lebontják. A mikroorganizmusok alkalmazásának azonban lényeges hátrányai vannak, például mindegyideig a lignin és kísérőpolimerjének (a cellulóz) szétválasztását nem sikerült megoldani úgy, hogy a mikroorganizmus ne nőjön, ne okozzon veszteséget a cellulóz-hozamban. A lebontási időigen hosszú, több hetet is tarthat a lebontás.

A fenti problémák miatt az utóbbi években inkább az elkülönített enzimrendszerek felhasználási lehetőségeit vizsgálták. Főleg a fehérrothadásgomba (*Phanerochaete chrysosporium*) enzimjeit kutatták és sok részletet tisztáztak. Ismertté vált (Biotechnology in the Pulp and Paper Industry 3. International Conference, Stockholm 1986), hogy a lignin lebontásakor a reakció egyensúlya a polimerizáció oldalán van, azaz a sejtmentes rendszerek nem bontják a lignint, hanem inkább polimerizálják.

Mióta a *Phanerochaete chrysosporium* fehérrothadás-gomba lignolitikus enzimjeit ismerik, cellulóz fehérítésére irányuló enzimes eljárásokat is dolgoztak ki, amelyek vagy élő gombával, vagy sejtmentes rendszerrel dolgoznak. Hem-rendszerekkel is próbálkoztak fehéríteni, de a reakcióidő

meghaladja a 12 órát. Az összes ismert rendszerre jellemző a nagy időigényesség és a magas költség. Ez különösen a tiszta hem-rendszerekre jellemző.

Jelenleg a cellulóz fehéritését több lépcsőben, tisztán kémiai, klór adagolásával végzik. A klórós fehérités azonban erősen terheli a környezetet. Általában a fehérités abban áll, hogy a lignin eltávolítása céljából végzett forralás során a maradék ligninből keletkező kromofor kondenzációs termékeket eltávolítják, azaz a kappa-számot (a lignintartalmat) csökkentik.

A találmány feladata cellulóz fehéritésére alkalmas enzimes eljárás kidolgozása volt, amely a fent részletezett hátrányoktól mentes.

A fenti feladatot olyan eljárással oldottuk meg, amelynek során

a) a vizes, cellulóz-tartalmú oldathoz oxidáló és redukálószer, sókat és komplexképzőket adagolva az oldat redox-potenciálját 200 és 500 mV közötti értékre állítjuk,

b) lignolitikus enzim adagolásával a fehéritést beindítjuk és

c) és a reakciót keverés közben 15 perctől 12 óráig terjedő időn keresztül fenntartjuk. E körülmények között a lignin visszapolimerizálódását kizárjuk, lebontását elősegítjük.

A redox-potenciál előnyösen 250 és 450 mV közötti. A találmány szerinti eljárás során a redox-potenciált redox-elektrodával folyamatosan mérhetjük, szabályozó és szabályo-

zó tag segítségével a teljes reakcióidő alatt oxidálószer, redukálószer, sók és fenol jellegű vegyületek adagolásával állandó értéken tarthatjuk.

Oxidálószerként előnyösen hidrogénperoxidot, oxigént vagy ózont alkalmazunk. Redukálószerként aszkorbinsav, ditionit és nátriumhidrogén-szulfid jöhet számításba.

Sóként a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz réz(II)-szulfátot adunk. Járulékosan még az alábbi sókat alkalmazhatjuk: mangán(II)szulfát, mangán(III)acetát, vas(II)szulfát, titán(III)klorid, cérium(III)nitrát és cérium(IV)ammóniumnitrát. A cink, antimon és ólom sói szintén számításba jönnek. A vizes, cellulóz-tartalmú oldathoz adott esetben fenol jellegű vegyületeket is adagolhatunk, ilyenként főleg a veratrilalkoholok váltak be.

A vizes, cellulóz-tartalmú oldathoz továbbá zsírsavat, például olajsavat, vagy hem-vegyületet, például hemoglobint, fehérítő reagenst, például nátrium-perborátot adhatunk. Ezen túlmenően utófehérítést végezhetünk a szokásos fehérítőszerekkel, például nátrium-hipokloriddal, oxigénnel, klór-dioxiddal, ózonnal, hidrogén-peroxiddal vagy nátrium-tionittal.

A találmány szerinti eljárás során a komplexképző adagolása nagyon fontos. Komplexképzőként előnyösen etiléndiamin-tetraecetsavat (EDTA) vagy dietilén-triamin-pentaecetsavat (DTPA) alkalmazunk. Ha a megfelelő redoxpotenciált beállítottuk, a fehérítés folyamata viszonylag gyorsan elkezdődik, és néhány perc elteltével már be is feje-

zódhet, bár akkor a kappaszám alig csökken, míg több órás kezelés után - a cellulóz-tartalomtól függően - a kappaszám akár 90 %-os csökkenése érhető el.

A felsorolt anyagokon túlmenően a vizes, cellulóz-tartalmú oldathoz még az alábbiakat adagolhatjuk: nátrium-hipoklorid, nátriumperborát, detergenssek, tenzidek és poliszacharidek, így glukán vagy xantán.

Enzimként a találmány szerinti eljárásban előnyösen lignolitikus enzimet alkalmazunk. Ide tartoznak például a fenoloxidáz-, lakkáz- és peroxidáz-enzimek. Az eljárás hatékonyságát pektináz és/vagy hemicelluláz adagolásával még fokozhatjuk. Különösen alkalmasak a *Phanerochaete chrysosporium* fehérrothadásgomba lignolitikus enzimek. Ezeknek az enzimeknek az alkalmazása ismert a 4 692 413, 4 690 895 és 4 687 741 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásokból, amelyek szerint azonban a *Phanerochaete chrysosporum* meghatározott mutánsaiból nyert enzimet alkalmaznak fehérítésre. A találmány értelmében erre nincs szükség, ellenkezőleg: a fent részletezett feltételek betartása esetén tetszőleges lignolitikus enzim alkalmazható. Az ismert és a találmány szerinti eljárás fő különbségét az adagolt redukáló és oxidáló anyagok funkciójában kell látni. Ezek az anyagok ugyanis fogják a gyököket, így megakadályozzák a lignin visszapolimerizálódását, ill. elősegítik a lignin lebontását az említett rövid reakcióidő alatt.

A találmány szerinti eljárás során a pH-értéket általában 2 és 5 között tartjuk, különösen előnyös a 3 körüli

- 6 -

pH. A hőmérséklet 20 °C és 60 °C közötti, előnyösen 40 °C. Ha ezeket a feltételeket betartjuk, az említett anyagok adagolása révén 200 mV és 500 mV közötti redoxpotenciál alakítható ki. A redoxpotenciált az adagolt anyagok mennyiségi aránya határozza meg. Az oxidáló és redukálószer, sók és adott esetben fenol jellegű anyagok adagolásának megfelelő mérése és szabályozása révén a redoxpotenciált az egész reakcióidő alatt állandó értéken tartjuk.

A fenti eljárással első ízben sikerült a cellulóz fehérítése igen rövid idő alatt (15 perc - 2 óra), fiziológias hőmérsékleten (40 °C), nyomás nélkül és minimális vegyszer adagolásával, alacsony költséggel és környezetbarát módon. A találmány szerinti eljárás további előnye, hogy folyamatosan is kivitelezhető.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példával közelebbről ismertetjük.

Példa

50 g atro-cellulóz (szulfát-cellulóz) 1 t%-os vizes szuszpenzióját 40 °C-on 50 perc⁻¹ fordulatszám mellett keverjük. A pH-értéket 1n sósav-oldattal 3-ra állítjuk. Cellulózra vonatkoztatva 0,1-1,5 t% hidrogén-peroxidot, mintegy $2 \times 10^{-5} \dots 2 \times 10^{-3}$ t% veratrilalkoholt, 0,1 t% EDTA-t vagy DTPA-t és 0,001...0,01 t% réz(II)szulfátot adagolunk. 500 - 5000 NE lignolitikus enzim (1 NE = percenként 1 nmol veratrilalkoholt veratrilaldehiddá oxidálja) adagolása után beindítjuk a fehérítést hidrogén-peroxid és nátriumhidrogén-szulfit egyidejű adagolásával. Közben a kb. 400 mV-os

- 7 -

redoxpotenciált végig fenntartjuk, és a fehéritést 2 órán át folytatjuk. A folyamat vezetése és szabályozása redox-elektrodával és szivattyúval történik.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás cellulóz enzimes fehéritésére, azzal jellemezve, hogy
 - a) a vizes, cellulóz-tartalmú oldathoz oxidáló és redukálószer, sókat és komplexképzőket adagolva az oldat redox-potenciálját 200 és 500 mV közötti értékre állítjuk,
 - b) lignolitikus enzim adagolásával a fehéritést beindítjuk és
 - c) a reakciót keverés közben 15 perctől 12 óráig terjedő időn keresztül fenntartjuk.
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 250 és 450 közötti redoxpotenciált állítunk be.
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy oxidálószerként hidrogénperoxidot, oxigént vagy ózont alkalmazunk.
4. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy redukálószerként aszkorbin-savat, ditionitot vagy nátrium-hidrogén-szulfítot alkalmazunk.
- 5- Az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy lignolitikus enzimként ligninperoxidát és lakkázt alkalmazunk.
6. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy sóként réz(II)szulfátot alkalmazunk.
7. Az 1-6. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a réz(II)szulfát mellett még mangán(II)-szulfátot, mangán(III)-acetátot, vas(II)-szulfátot, ti-

tán(III)-kloridot, cérium(III)-nitrátot és/vagy cérium(IV)-ammóniumnitrátot adagolunk.

8. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz a redoxpotenciál beállításához járulékosan fenol jellegű vegyületeket adagolunk.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy fenol jellegű vegyületként veratrilalkoholt alkalmazunk.

10. Az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a lignolitikus enzim mellett pektinázt és/vagy hemicellulázt adagolunk.

11. Az 1-10. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 2 és 5 közötti pH értéket állítunk be.

12. Az 1-11. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a pH-értéket 3-ra állítjuk be.

13. Az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 20 °C és 60 °C közötti hőmérsékleten végezzük a fehéritést.

14. Az 1-13. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy 40 °C-on végezzük a fehéritést.

15. Az 1-14. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a reakcióelegyhez nátrium-hipokloridot adagolunk.

16. Az 1-15. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy komplexképzőként etiléndiamin-tetra-

ecetsavat (EDTA) vagy dietiléntriamin-pentaecetsavat (DTPA) adagolunk.

17. Az 1-16. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz poliszacharidot adagolunk.

18. A 17. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy poliszacharidként glukánt és/vagy xantánt adagolunk.

19. Az 1-18. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz detergenst adunk.

20. Az 1-19. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz tenzidet adunk.

21. Az 1-20. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz zsírsavat adagolunk.

22. Az 1-21. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz hem-vegyületet adunk.

23. Az 1-22. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a cellulóz-tartalmú vizes oldathoz járulékosan fehérítőszert adunk.

24. A 23. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy fehérítőszerként nátriumperborátot alkalmazunk.

25. Az 1-24. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a reakció befejeztével nátrium-

- 11 -

hidroxid-oldattal és/vagy kénsavval extraháljuk az elegyet.

26. Az 1-25. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy ismert fehérítőszerrel utófehérítést végzünk.

27. A 26. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az utófehérítéshez nátriumhipokloritot, klórt, klór-dioxidot, oxigént, ózont, hidrogénperoxidot vagy nátrium-ditionitot alkalmazunk.

A meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
9.

Dehno Iporu

At

2008. 10. 14.