

摘要

本文主要研究了亚麻漂白工艺中用生物降解木质素来替代含氯漂白剂或化学法漂白对木质素的去除。通过对 12 个微生物菌株降解亚麻纤维中木质素的能力测定,筛选出菌株 5.132 和 5.776 去除木质素能力最强。

通过对实验结果的分析,我们发现白腐菌对亚麻纤维中木质素有降解能力,因此白腐菌生物降解亚麻布中木质素的工艺可以取代现有的含氯漂白的工艺过程。在降解亚麻中木质素的过程中,在选择菌种时应选择适应性强的 5.776。虽然 5.776 和 5.132 在降解过程中各有优势,但考虑到要将生物降解工业化则应选择对木质素降解效果比较好的菌体,因为在工业的连续化生产中工业条件有时不会达到实验室的条件。

微生物降解亚麻纤维中木质素的最优化工艺条件为:斜面激活时间为 72 小时,一级培养时间为 24 小时,微生物降解亚麻纤维的时间是 9 小时,堆放时间为 12 小时。

微生物降解木质素后,亚麻纤维的漂白最优化的漂白工艺为:NaOH 煮沸 1 小时;硫酸浸泡 4~5 分钟,40~50℃;堆放 1 小时;70℃过氧化氢漂白 1 小时。经上述处理,亚麻纤维的白度 87.60%,强度为 800N。

本文实现了亚麻织物漂白工艺全无氯,即用微生物预处理,降解木质素,再用过氧化氢漂白。这项研究填补了世界亚麻织物全无氯漂白的空白。

关键词 亚麻纤维;木质素;生物降解;全无氯漂白

Abstract

This research introduce the method that chloride bleaching or other chemical methods degrade the lignin was replaced by the biology degradation in linen fabric technology. We studied the biodegradation capability of twelve epiphytes for lignin. White rot fungi 5.132 and 5.776 have the best ability to degrade both the lignin and the cellulose.

We found that white rot fungi can degrade lignin in linen fabric in our experiment, so we thought that this technology could replace the existing chloride bleaching technology. During the biodegradation of lignin in linen fabric, the white rot fungi 5.776 had good adaptability and better degradation effect than 5.132. Therefore, we took white rot fungi 5.776 as the reagent.

The best technology condition of biodegradation lignin of linen fabric is that time of bio-reaction is 72 hours, the time of first culture is 24 hours, the time of biodegrading lignin of linen fabric is 9 hours and stacking time is 12 hours. After lignin is biodegraded, the best bleaching technology of linen fabric is that the time of boiling NaOH is an hour, and the time of dipping in vitriol is 4~5 minutes, stacking time is an hour and bleaching used H_2O_2 at $70^\circ C$ is an hour. All of above technologies make the white degree of linen fabric is 87.60% and strength is 800N.

There is no chloride during bleaching linen fabric, that is, in our study we use fungi to pretreatment and degrading lignin, and last use H_2O_2 to bleach it. This study filled the blank of total chloride free bleaching in the world weave industry.

Keywords Linen; Lignin; Biodegradation; Total Chlorine-Free bleaching

目 录

└─┬─文摘

└─┬─英文文摘

└─┬─哈尔滨理工大学硕士学位论文原创性声明及使用授权书

└─┬─第 1 章绪论

└─┬─┬─1.1 漂白剂

└─┬─┬─┬─1.1.1 含氯漂白剂

└─┬─┬─┬─1.1.2 含氧漂白剂

└─┬─┬─1.2 漂白工艺

└─┬─┬─┬─1.2.1 传统漂白工艺

└─┬─┬─┬─1.2.2 生物漂白工艺

└─┬─┬─1.3 木质素和纤维素

└─┬─┬─1.4 生物降解木质素的机理研究

└─┬─┬─┬─1.4.1 木质素的结构特点

└─┬─┬─┬─1.4.2 生物降解木质素的机理

└─┬─┬─1.5 漂白技术的现状及问题的提出

└─┬─第 2 章菌种筛选及漂白工艺

└─┬─┬─2.1 本章小结

└─┬─┬─2.2 实验材料及仪器

└─┬─┬─┬─2.2.1 实验材料

└─┬─┬─┬─2.2.2 实验仪器

└─┬─┬─2.3 实验内容

└─┬─┬─┬─2.3.1 斜面 and 液体培养基的制备

└─┬─┬─┬─2.3.2 其它试剂配制

└─┬─┬─2.4 菌种筛选

└─┬─┬─┬─2.4.1 斜面激活

└─┬─┬─┬─2.4.2 一级培养

└─┬─┬─┬─2.4.3 二级培养

└─┬─┬─┬─2.4.4 加亚麻布 (5×5) cm

└─┬─┬─┬─2.4.5 测量

└─┬─┬─2.5 带菌丝和菌胞与不带菌丝和菌胞的效果比较

└─┬─┬─┬─2.5.1 斜面激活

└─┬─┬─┬─2.5.2 一级培养

└─┬─┬─┬─2.5.3 二级培养

└─┬─┬─┬─2.5.4 加亚麻布 (5×5) cm

└─┬─┬─┬─2.5.5 测木质素的含量

└─┬─┬─2.6 对筛选出的菌株进行二次筛选

└─┬─┬─┬─2.6.1 斜面激活

└─┬─┬─┬─2.6.2 一级培养

└─┬─┬─┬─2.6.3 二级培养

└─┬─┬─┬─2.6.4 加入双氧水 (2~5 滴)

└─┬─┬─┬─2.6.5 加亚麻布 (35×35cm)

□2.7 白腐菌 5.776 和 5.132 降解木质素条件优化

□2.7.1 斜面激活

□2.7.2 一级培养

□2.7.3 二级培养

□2.7.4 加亚麻布(5×5cm)

□2.7.5 测量

□2.7.6 漂白工艺过程

□2.8 精优实验

□2.9 漂白工艺过程

□2.10 原漂白工艺实验室漂白(含氯漂白)

□第3章实验结果与讨论

□3.1 本章小结

□3.2 菌种筛选结果

□3.3 初筛培养时间

□3.4 酶的分泌状态作用

□3.5 处理亚麻的条件优化

□3.6 木质素脱除效率考察

□3.7 菌体离心与不离心对降解效率的影响

□3.8 含氯漂白剂的实验处理

□结论

□参考文献

□致谢

□个人简历

哈尔滨理工大学硕士学位论文原创性声明

本人郑重声明：此处所提交的硕士学位论文《亚麻纤维全无氯漂白工艺研究》，是本人在导师指导下，在哈尔滨理工大学攻读硕士学位期间独立进行研究工作所取得的成果。据本人所知，论文中除已注明部分外不包含他人已发表或撰写过的研究成果。对本文研究工作做出贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式注明。本声明的法律结果将完全由本人承担。

作者签名：付旭义

日期：2006年6月1日

哈尔滨理工大学硕士学位论文使用授权书

《亚麻纤维全无氯漂白工艺研究》系本人在哈尔滨理工大学攻读硕士学位期间在导师指导下完成的硕士学位论文。本论文的研究成果归哈尔滨理工大学所有，本论文的研究内容不得以其它单位的名义发表。本人完全了解哈尔滨理工大学关于保存、使用学位论文的规定，同意学校保留并向有关部门提交论文和电子版本，允许论文被查阅和借阅。本人授权哈尔滨理工大学可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文，可以公布论文的全部或部分内容。

本学位论文属于

保密 ☐，在 年解密后适用授权书。

不保密 ☒。

（请在以上相应方框内打√）

作者签名：付旭义

日期：2006年6月1日

导师签名：刘波

日期：2006年6月1日

第1章 绪论

白度是产品观赏性的重要指标,因而也是产品质量的重要指标,在亚麻中由于存在木质素而影响了亚麻产品的白度,漂白工艺,也影响了产品的质量。对亚麻纤维中木质素降解的目的就是提高漂白效果,提高产品的白度以增加亚麻产品观赏性,产品质量,进而增加其价值以及其在同种产品中的竞争力^[1]。

1.1 漂白剂

漂白是纸浆生产和纺织品加工中一个重要的工艺过程,因此受到国内外研究人员的广泛关注^[2-13]。在漂白药剂、漂白机理及漂白机理工艺等方面进行了大量的研究工作。目前,纺织行业使用的漂白药剂主要有两大类,含氯漂白剂和含氧漂白剂,由于在纺织中的漂白工艺中出现的一个关键因素就是怎样更有效的除去木质素,更有利于环保,对环境不造成污染,对人的身体健康,不产生有害的影响,更好地体现出产品的价值,使产品更加完美^[14]。

1.1.1 含氯漂白剂

对于目前的漂白药剂来说,含氯漂白剂主要品种有氯气、次氯酸盐、亚氯酸盐、二氧化氯以及氮氯键化合物。

氯和次氯酸盐价格便宜、使用方便、漂白和脱木质素能力很好,对纤维降解能力较小,是一类选择性较好的漂白剂,过去是人们常选的漂白剂,现在人们尽可能地不去用它。将来人们要禁止使用它^[15]。由于它们存在的最大问题是在漂白的同时生成了有机氯化物,也就是说在氧化脱色的同时发生了氧化反应,在氧化反应的作用下提高这类漂白剂的作用或是在不经意的情况下产生的副产物,正是这些副产物给人们带来危害。在1985年,美国科学家首先从漂白废液中检出了剧毒物质二噁英,至今已经检出的二噁英类物质达到200多种,另外含有一些强致癌物质,例如:三氯甲烷、卤代醛类等。以致于现在世界各国都在积极地研究不产生有机氯化物的漂白剂^[16]。

亚氯酸盐和二氧化氯的漂白效果以及除去木质素的程度都很好,而且对纤维的损伤也是很小,它们都是高选择性的漂白剂,效果比次氯酸强,也常被纺织物的漂白工艺采用,但是在使用中存在的最大问题是稳定性差、毒性更大^[17]。而二氧化氯是剧毒、爆炸性气体,对设备有较强的腐蚀性,加上工作环境

非常的恶劣，对环境造成了巨大的影响。至于亚氯酸盐，它在漂白过程中发生歧化反应，放出二氧化氯，所以在使用亚氯酸盐漂白时多存在二氧化氯的逸出问题，既影响环境，更给人制造出一个不安全的工作环境^[19]。

1.1.2 含氧漂白剂

含氧漂白剂主要有过氧化氢、有机过氧化物、臭氧等。其中过氧化氢使用量最大。过氧化物是一种强氧化剂，对织物中的色素有强烈的氧化作用，因而漂白效果很好，另外，它对纤维素的降解作用也较小，具有良好的选择性，它们的最大缺点是对木质素的去除作用极弱^[19]。因而只能用于含木质素较少纤维的漂白工序，而对亚麻这样含木质素较多的植物纤维，其漂白效果极差。

臭氧的氧化性比过氧化物更强，所以它既是良好的漂白剂又具有良好的去除木质素的作用，但限制它应用的因素是它的选择性极差，在织物的漂白中，对纤维素有很强的降解作用^[20]，从而影响了产品的质量，因此它只能用于织物的初级轻度漂白或说不能达到最完美的效果。

1.2 漂白工艺

1.2.1 传统漂白工艺

漂白技术研究的另一个方面是漂白工艺研究。在实际的漂白过程中，为了发挥各种漂白剂的特点，保证织物得到最佳的白度，经常采用多段漂白工艺，即多次漂白。每次用一种不同的漂白剂或不同的漂白条件，几次漂白组合成一种完整的漂白工艺。例如：国外目前一种典型的亚麻织物的漂白工艺为：碱煮、过氧化氢、二氧化氯、过氧化氢。显然，这种组合式漂白工艺可以使色素和木质素在不同的阶段被除掉。亚麻纤维的漂白由于其纤维组成的特殊性与棉纤维漂白有较大的差异。由于亚麻纤维中杂质含量比较大，其中木质素的含量高达 20%以上，经过沤麻以及亚麻纱的前期处理后，亚麻纤维的化学成分组成与棉纤维仍存在较大的差异^[21]，见表 1-1。

表 1-1 亚麻纤维与棉纤维化学成分组成对比

Table 1-1 The contrast between flax fiber composition and cotton fiber composition

	纤维素	半纤维素	果 胶	脂腊质	灰份	木质素	其它
亚麻 (%)	70-80	12-15	1.4-5.7	1.2-1.8	0.8-1.3	2.5-5.0	0.8-1.3
棉维 (%)	93-95	—	1.0-1.5	0.3-1.0	0.3-0.6	1.0-2.5	1.0-1.5

从表 1-1 可以看出, 亚麻织物中半纤维素和木质素含量明显高于棉织物, 其中木质素由于具有苯丙烷结构, 在漂白过程中难以去除。因此亚麻的漂白比棉织物的漂白要困难得多, 成为制约亚麻工业发展的障碍之一。这就要求一种对亚麻纤维较强的去除木质素的漂白工艺^[22]。现在棉纤维加工中使用的无氯漂白工艺大多是用过氧化物作为漂白剂, 而过氧化剂的最大缺点是对纤维素影响很大, 对木质素降解的能力很差, 所以不适用于亚麻纤维的漂白。目前国外亚麻纤维的漂白技术尚处于研究阶段, 生产中使用的则是产生有机氯化物较少的亚氯酸盐或二氧化氯漂白剂^[23], 而生物漂白技术尚处于研究阶段。

中国是仅次于独联体的世界第二亚麻资源大国, 黑龙江省又是我国的亚麻种植和纺织基地。亚洲最大的亚麻生产企业哈尔滨亚麻集团, 其产品 95%以上出口国外^[19]。特别是在我国进入 WTO 之后, 亚麻产品的出口将有更好的前景。显然, 亚麻漂白工艺技术是成为制约亚麻产品出口的障碍, 对亚麻制品在国际市场中的地位以及亚麻加工技术的开展有重要的经济意义和社会实效, 同时也将为我国的环境保护做出重要的贡献。

到目前为止, 亚麻织物的漂白还不能做到无氯漂白。但很多国家都在积极进行这方面的研究。大致研究路线有: 提高臭氧漂白的选择、选择性、选用非氧化性去除木质素的助剂来提高过氧化氢漂白对木质素的去除率。

亚麻纤维的漂白由于其纤维组成的特殊性与棉纤维漂白较大的差异。亚麻纤维中木质素含量高达 20%以上, 在经过沤麻以及亚麻的前处理之后, 木质素含量仍高达 5%以上 (棉纤维中木质素含量小于 1%)^[14]。这要求亚麻纤维的漂白必需有较强的除木质素的能力。现在棉纤维加工中使用的全无氯 (TCF, Total Chlorine Free) 漂白工艺大多是用过氧化物为漂白剂, 而过氧化物漂白最大的缺点就是去除木质素的能力很差, 所以不适用与亚麻纤维的漂白。目前国外亚麻纤维的漂白多采用无元素氯 (ECF) 技术^[24], 在生产中使用无氯漂白技术尚处于研究阶段, 至今尚未出见工业化水平的全无氯漂白技术用于亚麻纤维的报道。

1.2.2 生物漂白工艺

生物漂白技术是近 20 年发展起来的一种新技术, 由于对无污染漂白技术的近切需要而受到了广泛注意。各国科学家对数以百计的真菌, 细菌进行研究, 已经发现了几十种具有脱除植物纤维中非纤维素组分功能的菌株, 一些已经达到了工业化生产的水平。生物脱除木质素技术目前要应用于木浆的漂白前处理, 常用的菌株主要是白腐担子菌属(White-Rot Basidiomycete Fungi)中的一些菌株, 例如 *Phanerochaete chrysosporium* *Trametes versicolor*, *Phlebiaradiata* *Pleurotuseryngii* *Criolus versicolor* *Pycnoporus cinnabarinus* *Fomes fomentarius* 等。它们在生长过程中产生多种胞外酶, 其中包括半纤维素酶、木聚糖酶、木质素过氧化物酶等, 一些可以使纤维的非纤维部分, 特别是木质素得到有效的降解, 达到生物漂白的目的。

生物漂白技术目前存在的问题是生产效率低, 纤维强度损失较大, 因而在现行的木浆漂白中一般用作预处理工艺。欧洲和美国生物技术对纸浆漂白的前处理已经达到工业化应用程度^[25], 有数家公司销售木质素过氧化氢使木聚糖水解。今后的研究方向是提高降解木质素的强度, 减少对纤维素的损伤。国外对亚麻纺织物生物漂白技术尚处于研究阶段, 而中国是没有这方面的研究。

1.3 木质素和纤维素

木质素生物合成的无规则过程又使得各种植物以及同种植物的不同部位中的木质素的化学组成及各组分的含量均不完全相同。

下图 1-1 是未聚合的三种木质素的结构单元^[19]。

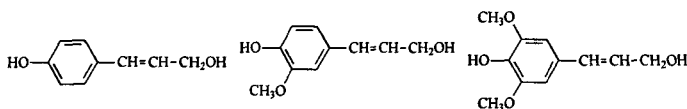


图 1-1 组成木质素的结构单元

Fig. 1-1 Radicle of the structure of lignin

纤维素是植物残体中最丰富的部分, 它是由 β (1-4) 键的葡萄糖单元所组成的长链状大分子。通常一条链中含有 1000 多个葡萄糖分子, 其葡萄糖亚基排列紧密有序, 形成类似晶体的不透水的网状结构, 以及分子间结合不甚紧密、

排列不整齐的无定形区域^[21]。纤维素易与半纤维素、木质素等难分解的物质相复合,因此纤维素不溶于水。木质素与纤维素的结合形式可能是通过木质素结构中苯环上的取代基与纤维素中葡萄糖单体上的羟基相结合,脱水形成醚键,各种键相互交错形成立体网状结构。由于木质素和纤维素的这种结合方式增大了对纤维素中木质素的去除难度。

木质素执行植物生长所必需的功能:在木质化细胞起粘剂作用,赋予植物细胞以刚性,使植物能抵抗冲击、压缩和变曲,使植物内部能正常输送水分、营养液和代谢物,并能有效地阻隔微生物对植物细胞壁的攻击。

木质素的性质:是无定型的粉末状物质,其颜色随着分离方法的不同有淡奶油色、灰黄色以至褐色等。极大的影响了亚麻漂白的白度。

下图 1-2 所示为纤维素的结构示意图。

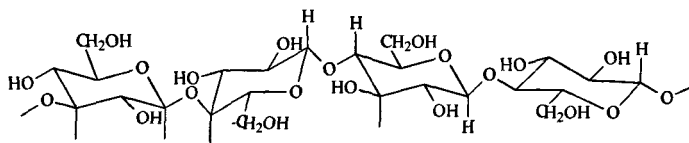


图 1-2 纤维素的结构示意图

Fig. 1-2 Structure of cellulose

1.4 生物降解木质素的机理研究

1.4.1 木质素的结构特点

木质素是由苯丙烷单元($\text{C}_6\text{H}_4\text{—CH}_2\text{—CH}(\text{OH})\text{—CH}_2\text{—}$)通过醚键和碳碳键接的复杂的无定形高聚物,难以被酸水解,是天然高聚物中最难搞清楚的一个领域。其原因有两个方面,一是木质素的结构单元之间除醚键群接外还有 C—C 键;另一方面是不可能把整个木质素分子以其完整状态分离出来。典型木质素是由松柏醇(Coniferyl alcohol),芥子醇(Sinapyl alcohol)和对一香豆醇(p-Coumaril alcohol)这 3 种不同的醇作为先体结构物质组成基本的结构单元。这三种结构单元的结构

式在前面已经介绍了。这些木质素结构单元常常以它们的糖苷形式贮存在细胞中,一旦需要合成木质素,它们便从这些糖苷中释放出来。这些木质素结构单元之间主要是通过醚键和碳碳键的方式联接。醚键包括酚醚键、烷醚键和二芳醚键。在酚醚键中愈创木基-甘油- β -芳基醚键(β -O-4)数量最多,占酚醚键的1/2左右,其次是愈创木基-甘油- α -芳基醚键(α -O-4)。而木质素的C-C键的连接类型主要有 β -5, β - β , β -O-4,和 α -O-4等形式^[21],如图1-3所示。

由于木质素的结构特点使得组成木质素的各个结构单元之间形成紧密的化学键的同时,再与纤维素形成醚键进而形成立体网状结构,这就更加加大了降解木质素同时尽量小的破坏纤维素的难度。

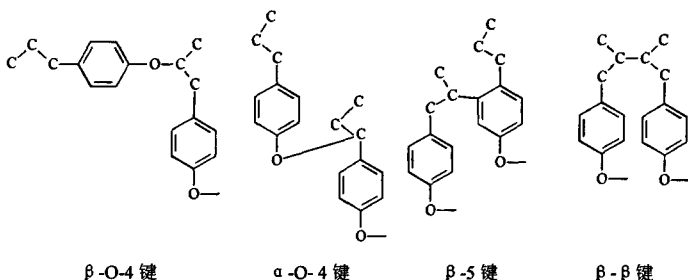


图 1-3 木质素 C-C 键的连接类型
Figure1—3 Type of C-C bond of lignin

1.4.2 生物降解木质素的机理

由于木质素分子间键多为醚键或 C—C 键,非常稳定,其连结单元不易水解,所以木质素的降解过程与一般生物多聚物酶催化的水解反应明显不同,是一系列酶催化和非酶催化的非特异性的氧化还原过程。木质素结构复杂,其降解酶类的合成需由水解碳水化合物提供能量,木质素的包被作用又阻碍着纤维素的降解。所以木质素降解构成自然界碳素循环的限速步骤。白腐菌是自然界中木素最有效降解者。70 年代确定了白腐菌在实验室条件下降解木素营养需求;80 年代发现了菌的两种重要酶系,木素过氧化物酶系(Lip)和锰过氧化物酶系(Mnp);90 年代展开了对以上酶系催化特征、分子生物学的研究,同时在生物制浆、生物漂白以及制浆废水的白腐菌处理等领域也蓬勃开展起来^[26-27]。

白腐菌降解木素有三个特点^[28]:

1. 底降解木素生成 CO_2 ，而细菌至多将 20% 木素碳转化成 CO_2 ;
2. 降解主要是氧化反应，产物中不出现木素单体;
3. 素降解本身不提供菌生长和维持所需的碳源和能源，需要提供另外的碳源和能源供菌降解木素。

白腐菌降解木素产物所含碳、甲氧基、氢比相应原木素少，而含较多氧、羰基，芳香性降低 α 、 β 不饱和链烃增加，但分子量近似于原木素。在白腐菌降解木质素过程中会产生很多酶系，到目前为止研究得最多并且认为最有效得木质素降解酶有 3 种，即木质素过氧化物酶(Lignin peroxidases/Lip)，锰依赖过氧化物酶(Manganese peroxidases/MnP)和漆酶(Laccase)。

木质素的降解酶系是非常复杂的一个体系，很多问题至今还不十分清楚，除了上述 3 种重要的酶外，其它的一些酶如芳醇氧化酶(AAO)、酚氧化酶、葡萄糖氧化酶、过氧化氢酶及一些还原酶、甲基化酶和蛋白酶等都参与或对木质素的降解产生一定的影响。

Lip 和 MnP 都是带有糖基的胞外血红素蛋白。又称血红素过氧化物酶(Heme Peroxidase)，它们在反应中从苯酚或非酚类的苯环上夺取一个电子而使后者形成一个阳离子基团，从而导致木质素分子中主要键的断裂。Lip 主要是氧化苯酚使之成为苯氧残基。MnP 主要是从 Mn^{2+} 和 H_2O_2 的氧化中得到 Mn^{3+} ，然后 Mn^{3+} 氧化苯酚使之成为苯氧残基。而每种酶在木质素降解中的具体作用还不甚清楚。

漆酶(Laccase)是含铜的多酚氧化酶，主要来源于生漆和真菌。由于 Laccase 的含糖量高，难得到 X-衍射分析用的漆酶单晶，它的三维空间结构尚不清楚。但已经证实，漆酶中的铜离子在催化氧化反应中起决定作用。

漆酶在木质素降解过程的机制和作用至今人们还不完全清楚。作为一种多酚氧化酶，它可催化氧化酚类或芳胺类等多种底物。氧化酚或芳胺先失去一个电子生成自由基，后者发生一系列非酶反应，氧化成醌，在有 O_2 存在时，还原态漆酶被氧化， O_2 还原成水。底物自由基不稳定，可进一步发生键的断裂或生成，导致裂解或聚合反应^[29]。因此，底物分子可进一步聚合生成复杂的产物，也可催化芳香环支链 $\text{C}-\text{C}$ 键断裂。

由于白腐菌降解木质素的机理还没有完全清楚，因此推测上述 3 种酶的作用机理如下：

1.4.2.1 Lip 催化木质素模型物降解的化学机制

通过单电子转移机制，Lip 可氧化非酚型富含电子的芳香化合物，并形成

正离子自由基，正离子自由基接着发生一系列反应，主要包括 $C_\alpha-C_\beta$ 断裂，藜芦醇及其衍生物的氧化。

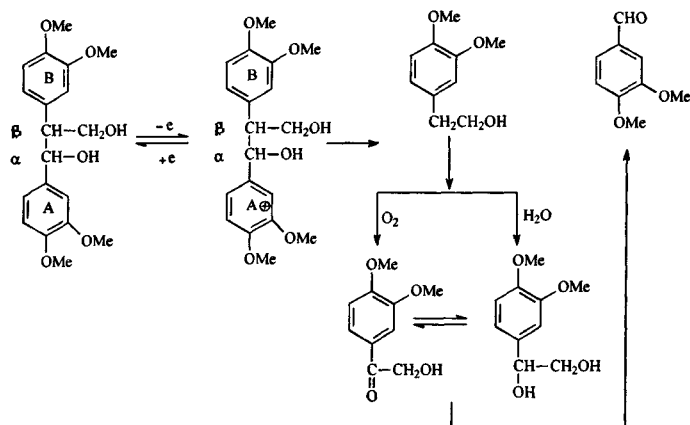


图 1-4 木质素模型化合物的 $C_\alpha-C_\beta$ 断裂图

Fig. 1-4 The rupture of $C_\alpha-C_\beta$ of the compounds of lignin model

以上反应生成的藜芦醇经过以下反应进一步氧化成其它化合物^[31]。

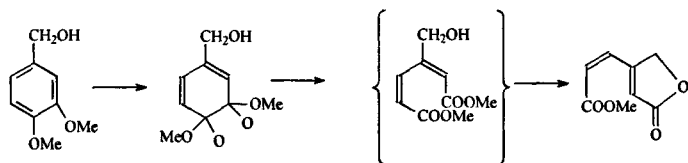


图 1-5 藜芦醇的氧化反应

Fig. 1-5 The oxidation reaction of hellebore alcohol

1.4.2.2 MnP 的催化机制

在白腐菌的木质素降解系统中，除了 LiP 外还有其他一些酶，MnP 就是其

中一类。MnP 也是一系列含血红素的同功酶, 在 $\text{Mn}(\text{II})$ 和 H_2O_2 存在时它能氧化酚型木质素和木质素模型物。 $\text{Mn}(\text{II})$ 作为还原剂能还原 MnP 生成 $\text{Mn}(\text{III})$, $\text{Mn}(\text{III})$ 反过来又氧化酚型化合物, 并保护 MnP 不受反应活性自由基的破坏。图 1-5 为推论的 MnP 的作用机理。MnP 可在 $\text{Mn}(\text{II})$ 及一种螯合物存在下(如乳酸)催化由苯基上夺取氢质子的反应, 这与 Lip 催化的正离子自由基反应机制有根本区别。近来由于对 MnP 研究的日益深入, 它在木质素降解过程中的作用越来越受到重视。

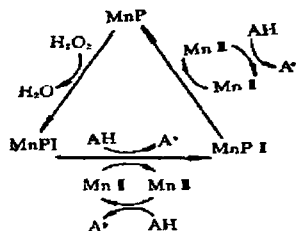


图 1-6 MnP 的催化机制

Fig. 1-6 Catalyze mechanism of MnP

1.4.2.3 漆酶的催化机制

漆酶是一类含铜的酶, 在氧气存在下它能够催化苯酚经单电子氧化生成苯氧自由基, 最后将 4 个电子传给 O_2 。下图表示的是漆酶催化木质素氧化的典型途径。这些反应包括脱甲氧基, 脱羟基, $\text{C}-\text{C}$ 键断裂等。由于漆酶的催化过程不需要 H_2O_2 参与, 因此它在催化木质素降解时有一定的优越性^[32]。下图 1—7 为漆酶的催化机制。

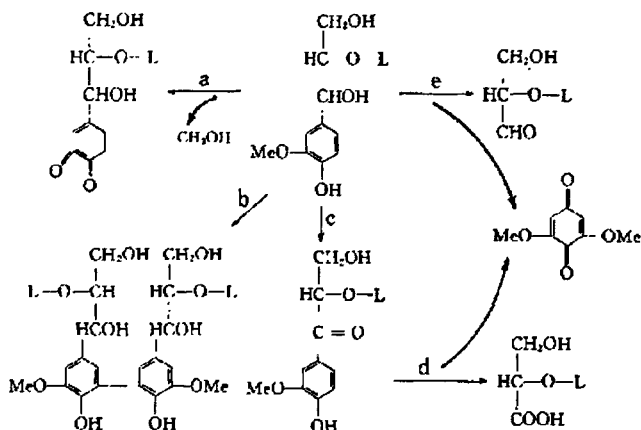


图 1-7 漆酶催化酚型木质素末端氧化的途径

Fig. 1-7 Route on laccase oxygenate hydroxybenzene-like lignin tips

通过以上对 3 种酶作用机理的探讨大致能推断出其作用过程,但是到目前为止,各种酶的具体的详细的作用机理和过程以及伴随这些过程所发生的化学反应还没有完全清楚,要更清楚的掌握其机理还需要人们不断的努力。

1.5 漂白技术的现状及问题的提出

长期以来,人们对漂白技术进行过大量的研究工作,开发了多种漂白剂和漂白工艺。但由于技术和经济因素的限制^[33],目前,特别是我国,主要使用的漂白剂是含氧化态氯系列产品(其中包括氯气、次氯酸盐、亚氯酸盐、二氧化氯等)和过氧化物系列产品(其中包括双氧水、有机过氧酸、无机过氧酸等)。近年来,国内外一些学者还研究了臭氧化过程对木质素的降解问题,但经研究发现,其效果也不是很好,只能达到 38%左右^[34]。由于含氯系列漂白剂对木质素有良好的去除作用,同时对纤维素降解度较小,所以是织物和低浆漂白的首选漂白剂。然而在使用时也带来严重的环境污染问题,其主要原因是含氯漂白剂在漂白的同时与植物中的很多化合物发生氯化反应,得到有机氯化物,如三氯甲烷、多氯代苯并二恶英、多氯化苯并呋喃等。在漂白废液中已检出的有机

氯化物种类已达几百种,其中相当一部分具有致癌性、致畸变性、致突发性及多发性脑神经病变等,并且具有积累毒性^[35-36]。影响了产品的形象性以致于降低了产品的价值。如果不解决这个问题,将严重影响我国亚麻产品在国际竞争中的地位。为了改变我国亚麻织物漂白技术的落后状态,该项研究工作将解决我国在降解亚麻木质素过程中给环境带来严重的污染。污染是直接影响到人体身体健康的,健康是生命的保证,没有了污染或减少到最低的污染,就是对生命的保证,在国外技术发达的国家,特别是西方国家在经历了二恶英对食物的污染风波后,纷纷制定了严格的环境法规,以致于都限制了含氯漂白剂的使用,把漂白废液中的有机氯含量作为了一个重要的控制标准。在这种形势下,西方国家在纸浆生产、棉织物等领域已经大量使用无氯漂白技术或对有机物氯化作用较小的二氧化氯漂白技术,同时也不断的在寻求更好的无氯漂白工艺^[37]。在中国这方面的技术欠缺,也影响了中国的对外贸易,例如欧洲共同体已经开始限制中国亚麻产品的进口,明确要求我国亚麻织物改用无环境污染的漂白技术^[38]。因此,要解决这些问题就需要发展一种对亚麻的无氯漂白。

本文主要研究了亚麻漂白工艺中用生物降解木质素来替代含氯漂白剂或化学法漂白对木质素的去除。亚麻纤维全无氯漂白是当今世界纺织行业的研究热点,是国家 863 引导项目资助课题。我们筛选了 12 个菌株对亚麻纤维中木质素的降解效率,其中白腐菌对木质素有相当好的降解作用。经过进一步的优化实验,得出白腐菌降解木质素的最优反应时间,进而又优化了漂白工艺。实现了亚麻织物漂白工艺全无氯^[39],即用微生物预处理,降解木质素,再用过氧化氢漂白。

第2章 菌种筛选及漂白工艺

2.1 本章小结

通过实验,选出较好的菌种为 5.776,选出较好的各种处理亚麻布的参数分别为:斜面激活时间为:72h;一级培养时间:24h,一级培养时间的确定根据不同的培养时间时对亚麻布处理效果确定。方法为将亚麻布放入培养时间不同的培养液中,处理相同的时间后比较处理的效果,从而得到最佳一级培养时间;二级培养时间为:72h 和 96h。

麻布处理时间为:8~12h,将亚麻布同时放入培养液中每两小时取样一次,处理后用白度计测定其白度,从而得到亚麻布的最佳处理时间。

2.2 实验材料及仪器

2.2.1 实验材料

亚麻布:由哈尔滨亚麻基团漂染分公司提供的 101[#]亚麻原布。

菌种:由中科院微生物研究所提供八株对木浆中木质素有降解能力的菌株:

白腐菌	5.776
紫椴栓菌	5.25
变色栓菌	5.48
木质层孔菌种	5.132
多毛栓菌	5.60
粉红头抱	3.2803
葱色串孢	3.3753
黄曲霉	3.2823
贝壳状草耳	5.154

葡萄糖, KH_2PO_4 , MgSO_4 , 琼脂, VB_1 , H_2SO_4 , NaOH 化学试剂均为市售分析纯试剂。

2.2.2 实验仪器

洁净工作台	上海博迅实业有限公司医疗设备厂
全自动立式电热压力蒸汽灭菌器	上海博迅实业有限公司医疗设备厂
高速离心机	日本 Hitachi Koki 有限公司
HZO-X100 振荡培养箱	哈尔滨东联电子技术开发有限公司
DHP-9162 型电热恒温培养箱	上海一恒科技有限公司。

2.3 实验内容

2.3.1 斜面 and 液体培养基的制备

以上九种菌体中白腐菌(5.776)、紫椴栓菌(5.25)、变色栓菌(5.48)、木质层孔菌种(5.132)、多毛栓菌(5.60)、贝壳状草耳(5.154)所用培养基为综合马铃薯培养基即培养基 17, 粉红头孢(3.2803)、葱色串孢(3.3753)所用培养基为 PDA 培养基即培养基 14, 黄曲霉(3.2823)所用培养基为 Czapek's 琼脂即培养基 15。下面是三种培养基的配制方法^[40]:

2.3.1.1 综合马铃薯培养基 (培养基 17)

土豆 200g, 加水 1 升, 稳火 30min, 冷却后挤出汁液即得马铃薯提取液, 在汁液中加入葡萄糖 20g, KH_2PO_4 3g, $\text{MgSO}_4 \cdot 1.5\text{g}$, 琼脂 15g 和微量 VB_1 , 加热溶解后定容至 1000ml, 用 H_2SO_4 或 NaOH 调节 $\text{PH}=6$, 按照以下方法处理: 将液体倒入试管中 (试管的 1/4 高度为宜), 高压灭菌 $P=0.1\text{MPa}30\text{min}$, 取出后制成斜面, 得到斜面培养基。以上配方中若不加琼脂则得到液体培养基, 将液体倒入锥形瓶里, 250ml 锥形瓶中倒入 100ml 培养液, 500ml 锥形瓶中倒入 250ml 培养液, 高压灭菌 $P=0.1\text{MPa}30\text{min}$, 取出即得到液体培养基。

2.3.1.2 PDA 培养基 (培养基 14)

马铃薯提取液 1 升, 葡萄糖 20.0g, 琼脂 15.0g, 加热溶解定容至 1000ml, 按照以下方法处理: 倒入试管中 (试管的 1/4 高度为宜), 高压灭菌 $P=0.1\text{MPa}30\text{min}$, 取出后制成斜面, 即得到斜面培养基。以上配方中若不加琼脂则得到液体培养基, 将液体倒入锥形瓶里, 250ml 锥形瓶中倒入 100ml 培养液, 500ml 锥形瓶中倒入 250ml 培养液, 高压灭菌 $P=0.1\text{MPa}30\text{min}$, 取出即得到液体培养基。

2.3.1.3 Czapek's 琼脂(培养基 15)

蔗糖 30.0g, NaNO_3 3.0g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, KCl 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, KH_2PO_4 1.0g, 琼脂 15.0g, 加热溶解后定容至 1000ml, 用 H_2SO_4 或 NaOH 调节 $\text{PH} = 6.0 \sim 6.5$, 按照以下方法处理: 倒入试管中 (试管的 1/4 高度为宜), 高压灭菌 $P = 0.1\text{MPa}$ 30min, 取出后制成斜面, 即得到斜面培养基。以上配方中若不加琼脂则得到液体培养基, 将液体倒入锥形瓶里, 250ml 锥形瓶中倒入 100ml 培养液, 500ml 锥形瓶中倒入 250ml 培养液, 高压灭菌 $P = 0.1\text{MPa}$ 30min, 取出即得到液体培养基。

2.3.2 其它试剂配制

碱煮炼液配制: 取 NaOH 18g、 Na_3PO_4 5g、 Na_2CO_3 7g、助剂 10g, 加水至 1000ml。

酸洗液配制: 将 2.7ml 硫酸缓慢加入 1000ml 水中。

漂白液配制: NaOH 3g, 30% H_2O_2 15ml (20ml), 加水定容至 1000ml。

2.4 菌种筛选

2.4.1 斜面激活

把实验菌株 5.776, 5.25, 5.48, 5.60, 5.132, 3.2803, 3.3753, 3.3823, 5.154 分别接到相应的固体斜面培养基上, 放入培养箱中进行培养, 温度是 $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 。

2.4.2 一级培养

从斜面培养基上挑取菌株一环, 接种到含 100ml 的 250ml 的锥形瓶中, 每个菌株接 5 株, 放入振荡培养箱中培养, 控制培养温度在 $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 。

2.4.3 二级培养

从一级培养中取 20ml 菌液, 加入含 100ml 的二级培养液的 250ml 的锥形瓶中, 控制培养温度在 $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 。

2.4.4 加亚麻布 (5×5) cm

加入原白度值为 60.69 的亚麻布, 放入振荡培养箱中控制温度在 $25 \sim 28$

℃，处理 48h 后取出，倒掉菌体继续在锥形瓶中堆放 48h 后取出洗净，氧漂，凉干。

2.4.5 测量

用测色色差计测量处理后亚麻布的白度

2.5 带菌丝和菌胞与不带菌丝和菌胞的效果比较

2.5.1 斜面激活

实验步骤同 2.3.1

2.5.2 一级培养

实验步骤同 2.3.2

2.5.3 二级培养

实验步骤同 2.3.3

2.5.4 加亚麻布 (5×5) cm

实验步骤同 2.3.4。从二级培养菌液中离心出菌丝和菌胞后，加入原木质素含量 3.86% 的亚麻布，放入震荡培养箱中，用酶降解亚麻中木质素，温度是 25~28℃。直接往二级培养菌液中加入原木质素含量 3.86% 的亚麻布，放入振荡培养箱中，控制温度 25~28℃。

2.5.5 测木质素的含量

2.6 对筛选出的菌株进行二次筛选

选择白腐菌 5.48, 5.776, 5.154, 5.132。

2.6.1 斜面激活

实验步骤同 2.3.1。

2.6.2 一级培养

实验步骤同 2.3.2。

2.6.3 二级培养

从一级培养菌液中取 40ml 菌液，加入含 250ml 的 500ml 的锥形瓶中，放入震荡培养箱中，温度是 25~28℃。

2.6.4 加入双氧水(2~5 滴)

2.6.5 加亚麻布(35×35cm)

原木质素的含量 3.86%，强度 1000N。从二级培养菌液离心出菌丝和菌胞后加亚麻布两片，在两片亚麻布中，一片是原麻，一片是碱煮后堆放在室温中，温度是 22~26℃直接往二级培养菌中加入亚麻布两片，一片是原麻，一片是碱煮后亚麻布，放入振荡箱中处理一定时间，温度控制在 25-28℃

2.7 白腐菌 5.776 和 5.132 降解木质素条件优化

2.7.1 斜面激活

把实验菌株 5.776, 5.25, 5.48, 5.60, 5.132, 3.2803, 3.3753, 3.3823, 5.154 分别接到相应的固体斜面培养基上，放入培养箱中进行培养，温度是 25-28℃。

2.7.2 一级培养

从斜面培养基上挑取菌株一环，接种到含 100ml 的 250ml 的锥形瓶中，每个菌株接 5 株，放入震荡培养箱中培养，控制培养温度在 25-28℃。

2.7.3 二级培养

从一级培养中取 20ml 菌液，加入含 100ml 的二级培养液的 250ml 的锥形瓶中，控制培养温度在 25-28℃。

2.7.4 加亚麻布 (5×5cm)

向培养液中加入亚麻布，在相同的条件下处理相同的时间，每两小时向外取出一块布，倒掉其中菌液，堆放 12h，洗净，氧漂凉干，得到一系列处理后的亚麻布。

2.7.5 测量

用测色色差计（型号：WSC-S,上海精密科学仪器有限公司）测量处理后亚麻布的白度。

通过以上白度的测定可以比较出两种菌对亚麻纤维中的木质素的降解程度，从而筛选出较好的菌体已进行下一步实验。

2.7.6 漂白工艺过程

碱煮：1000ml 碱煮溶液中加 250g 亚麻布，当碱溶液沸腾后煮一个小时，用水溶液去碱液。

酸洗：把生物降解后的亚麻布放入 40~50℃的酸洗溶液中 4~5min，轧干后室温下堆放 1 小时，用水洗净酸液。

氧漂：用现配的氧漂溶液对亚麻布漂白，当温度升到 70℃，计时 1 小时后结束，控制温度在 70~80℃。

2.8 精优实验

选出较好的菌种 4 号，选出较好的培养菌种的时间。

1. 斜面激活时间 (72h);
2. 一级培养时间 (72h);
3. 二级培养时间 (72h 和 96h);
4. 加入双氧水或 Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} 溶液(2~3 滴);
5. 加入亚麻布时间(1.5~3h);

6. 从二级培养菌液离心出菌丝和菌胞后，加亚麻布两片，在两片亚麻布中，一片是先碱煮的，一片是原麻。加布后放在室温堆放(20~24℃)；
7. 直接往二级培养菌中加入两片亚麻布，一片是先碱煮的，一片是原麻，加布后放在室温堆放(20~24℃)。

2.9 漂白工艺过程

1. 碱煮 → 生物降解 → 酸洗 → 氧漂；
 2. 生物降解 → 碱煮 → 酸洗 → 氧漂；
- 注：氧漂中 H_2O_2 6-8g / L。

2.10 原漂白工艺实验室漂白(含氯漂白)

- 1、碱煮---酸洗---亚氯酸钠 2~3g/L，23~25℃浸（2min）后，堆放 1h---氧漂
注：氧漂液 H_2O_2 6-8g / L。
- 2、碱煮---酸洗---亚氯酸钠（2~3g/L），23~25℃液浸 1h---氧漂
注：氧漂液 H_2O_2 6-8g / L。

第3章 实验结果与讨论

3.1 本章小结

通过对实验结果的分析,可得出以下结论:

1. 白腐菌对亚麻纤维中木质素有降解能力,因此白腐菌对亚麻布中木质素的生物降解这一工艺可以取代现有的含氯漂白的工艺过程。
2. 在降解亚麻中木质素的过程中,在选择菌种时应选择适应性强的 5.776。虽然 5.776 和 5.132 各有优势,但考虑到要降生物降解工业化则应选择对木质素降解效果比较好的菌体,因为在工业的连续化生产中工业条件有时不会达到实验室的条件。
3. 根据酶的分泌状态,选择二级培养时间,二级培养时间为 72~96h。
4. 在一级培养时间不同的情况下,用菌液处理亚麻布 12 小时然后堆放与直接用菌液处理亚麻布 24 小时的曲线变化不大。
5. 白腐菌 5.132 离心出菌体酶降解与不离心出的菌体酶降解的能力没有明显的区别。

3.2 菌种筛选结果

八个菌种在不同的一级培养时间的白度差别见表 3-1。

表 3-1 不同菌种不同培养时间对亚麻布处理效果比较

Table 3-1 Comparison of the treatment effect of linen under the conditions of different bacterium seeds with different cultivate time

	5.776	5.132	5.60	5.25	5.48	3.2803	3.3753	3.2823
一级培养 72h	89.14	84.08	68.93	67.79	64.57	61.02	63.27	61.58
一级培养 96h	84.75	84.45	73.72	69.98	65.26	65.15	65.86	64.30
一级培养 120h	85.90	84.54	78.46	76.25	67.59	68.47	69.15	67.49
一级培养 144h	86.70	85.53	76.37	75.30	73.42	70.05	71.23	72.37
一级培养 168h	83.41	84.53	80.00	62.40	78.18	73.51	74.51	74.19

由表 3-1 结果可知：白腐菌对亚麻纤维中木质素有降解能力，是由于白腐菌在生长过程中分泌出酶，而这些酶有分解木质素降解木质素的能力，提供菌体生长或代谢过程中后需要的 C 源。于是白腐菌对亚麻布中木质素的生物降解这一工艺可以取代现有的含氯漂白的工艺过程。同时通过表(3-1)还可以看出各菌种对于时间的变化情况。只从白度角度看，其中，5.776 和 5.132 两种菌对于亚麻布的处理情况比较好，都能达到工业对于亚麻布的要求，并且随着时间的延长，5.776 随着时间的增长白度呈下降趋势，5.132 对于时间则不敏感。

由表 3-2 可知，从亚麻纤维中木质素的含量看，5.132 和 5.776 对亚麻布的处理效果都是理想的。剩余的菌种对于亚麻布的处理效果就不是很理想，虽然随着时间的延长，其白度值呈上升趋势，但是速度缓慢，不能达到工业对于亚麻布的要求。

由表数据结果可以筛选出白腐菌中的 5.776 和 5.132 两个菌种。

表 3-2 不同菌种不同培养时间对亚麻布处理木质素含量的比较

Table3-2 Comparison of the lignin content which has been treated by linen under the conditions of different bacterium seeds with different cultivate time

	5.776	5.48	5.154	5.132
二级培养 0h	1.39	--	--	--
二级培养 24h	1.90	2.00	1.89	1.55
二级培养 48h	1.82	3.09	1.28	1.65
二级培养 72h	1.93	2.30	1.11	1.60
二级培养 96h		2.65	1.10	1.63
备注	斜面激活 72h，一级培养 24h，除 5.776 处理原麻 40h 外都是 16h。			

3.3 初筛培养时间

经过筛选后得到 5.776 和 5.132 两个菌种，为了更系统的了解它们各自对于亚麻布的处理效果，设计了如下实验方案：将 5.776 和 5.132 各接种 12 株，放入振荡培养箱中培养 24 小时后，同时向菌液中加入预处理过的亚麻布，然后，按顺序每两小时取出一块亚麻布后倒掉菌液放置在原锥形瓶中堆放 12 小

时,将得到的亚麻布洗净,凉干后,用新配置的氧漂液按照第二章 2.4 节中的方法进行漂白,将漂白后的一系列亚麻布凉干后用测色色差计测量其白度得到图 3-1。

通过图 3-1 可以看出 5.776 在对亚麻布的处理过程中,开始 6 小时前白度增长缓慢,6~10 小时增长明显,大概在 9 小时时白度达到 80,随后随着时间的延长白度增长缓慢。由于白腐菌对木质素的降解能力的大小取决于菌种分泌酶的速度和多少,因此可得出,5.776 在对木质素的降解过程中初期分泌酶的量少,随着时间的延长和菌胞的不断生长,分泌的酶越来越多,因此对木质素的降解效果也越来越好,当时间继续延长时,木质素的降解速度下降,说明随着时间的延长,酶的分泌速度在下降,可能的原因是一部分菌体死亡导致菌体数量下降,也可能是因为锥形瓶的空间有限,阻碍了菌体对亚麻布的作用^[41-43]。从上图还可得出,5.776 对于亚麻布得处理效果很好,大约在 13 小时时亚麻布得白度为 87%左右。

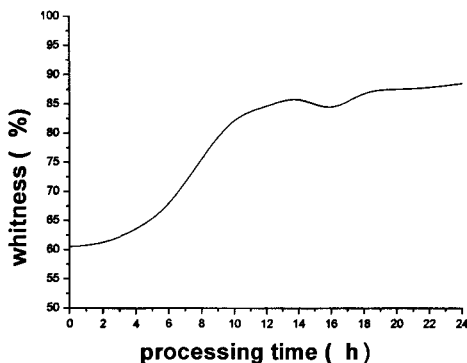


图 3-1 5.776 对亚麻布处理白度与时间图

Figure3-1 5.776 of the white and time of the treatment effect of linen fabric

下面就另一种白腐菌 5.132 对亚麻布的情况做以下讨论:

通过图 3-2 可以看出白腐菌 5.132 对亚麻布中木质素的降解随时间的关系。图 3-2 中显示,与 5.776 相反 5.132 在对亚麻布中木质素降解的过程中开

始的降解速度很快,大约在6小时时白度达到80,但是后来的处理过程对于木质素的降解作用不是很明显,对木质素的降解速度也明显慢于前段,至24小时其白度也没有超过85。这说明,5.132在对亚麻中木质素的降解过程中,开始阶段的酶分泌速度很快,因此显示在图中前6小时曲线较陡,但是随着时间的延长,酶的分泌速度急剧下降,导致对木质素的降解速度也下降,表现在图中的6小时后的部分。

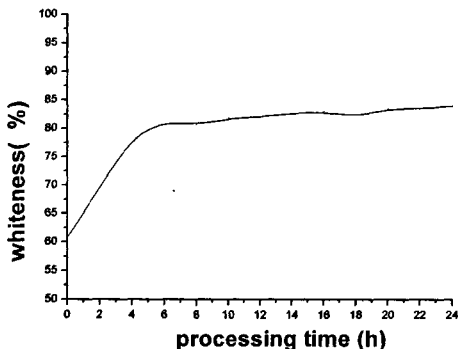


图 3-2 5.132 对亚麻布处理白度与时间图

Figure3-2 5.132 of the white and time of the treatment effect of linen

造成这种现象的原因可能是,5.132 的繁殖能力较弱,在开始时菌体生长速度快,随着酶的不断分泌,菌体开始老化死亡,而新生的菌体速度变慢,从而影响了其对木质素的进一步降解,当然,培养基中营养物质的浓度由于消耗而变低也可能降低菌体的生长速度和酶分泌的速度。

通过以上两图对比可发现,虽然 5.776 对木质素的降解效果比较好,但是它的缺点是处理的时间比较长,而 5.132 对于木质素的降解效果不如 5.776 好,但是在达到相同的白度 80 时,它所用的处理时间要比 5.776 短。

在降解亚麻中木质素的过程中,5.776 和 5.132 各有优势,但考虑到要将生物降解工业化则应选择对木质素降解效果比较好的菌体,因为在工业的连续化生产中工业条件有时不会达到实验室的条件,所以在选择菌种时应选择适应性

强的 5.776。而在以前做同一个实验时得出结论是 5.132 效果要好于 5.776，但是 5.132 的条件是处理时间在 4 小时内，处理时间过短，从而错过了 5.776 的最佳处理时间，从图 2 中也可以看出，即使是 5.132 其最佳处理时间也不是 1.5~4 小时，而是 6 小时。

3.4 酶的分泌状态作用

表 3-3 酶的分泌状态作用

Table3-3 Function of the state of the enzymatic perspire

	5.776	5.132	备注
二级培养 48h	2.12	1.51	
二级培养 72h	2.35	1.62	出现大量菌胞
二级培养 96h	2.11	1.92	出现大量菌胞
备注	斜面激活 120h，一级培养 72h，处理原麻 16h		

由表 3-3 结果可知，白腐菌 5.776、5.132 在培养的时间过长时，菌体老化分泌出的酶的量减少，可能是生长的空间所影响，由于酶的量减少直接影响了对木质素降解的作用，使得降解的能力略下降，由于以上情况，可以选择二级培养时间，二级培养时间为 72~96h。

3.5 处理亚麻的条件优化

表 3-4 处理亚麻布条件

Table 3-4 Condition of the treatment of linen

	5.776	5.132
二级培养 48h	1.78	1.89
二级培养 72h	1.80	1.51
二级培养 96h	1.48	1.62
备注	斜面激活 120h，一级培养 72h，除 5.776 处理原麻 18h 外都是 5h。	

由表 3-4 结果可知：白腐菌 5.132 对木质素的降解效果很好，由于菌体老化，当消耗了酶，菌体就不能再分泌酶，由于这样的性质，就可以离心出菌丝和菌胞，对亚麻布做室温堆放处理和减少对亚麻布的灭菌处理工艺过程。而且可以进一步地优化，提高降解木质素的能力，减少处理亚麻布的时间，更进一步地适应工厂生产工艺条件。

3.6 木质素脱除效率考察

这里所说的木质素降解酶含量持续增加处理是指将亚麻布放入菌液中连续处理一段时间后将取出，洗净凉干的过程。

所谓浸润酶液处理则是指将亚麻布放入菌液中处理一段时间后，将菌液倒掉再将亚麻布放入锥形瓶放置一段时间的处理方法。

用 5.776 对亚麻布进行处理后所得的结果，处理的方法为：

向两组不同的锥形瓶中，在不同时间里向菌液中放入亚麻布，处理一段时间后，将第一组锥形瓶中的亚麻布取出后倒掉菌液，继续放置与第二组锥形瓶中亚麻布处理相同时间。将处理后的布洗净，凉干，测量白度，得到图 3-3。

图中：曲线 1 所代表的就是用菌液对亚麻布进行连续处理所得到的白度与处理时间的关系。曲线 2 所代表的则是对亚麻布进行堆放处理所得到的结果。

从图中可以看出，在一级培养时间不同的情况下，用菌液处理亚麻布 12 小时然后堆放与直接用菌液处理亚麻布 24 小时的曲线变化不大，基本吻合，这说明在亚麻布的处理过程中，处理一段时间后，堆放的效果与用菌液处理的效果差不多。其中可能的原因是，亚麻布经过一定时间处理后，由于菌体生长迅速从而菌体分泌的酶的量很大，同时菌液中生长的菌体有一部分附着在亚麻布的表面上，当将亚麻布取出并倒掉菌液后，这部分菌体仍然存在，因此可以继续对木质素的降解。虽然有菌液时菌液中的菌体量多于无菌液时菌体的量，但是由于亚麻布的表面附着一层菌体，阻碍了周围菌体分泌酶对木质素的降解，而堆放过程中虽然没有菌液作用，但是附着在亚麻布表面的菌体仍然起作用，从而导致上述结果的产生^[44-48]。

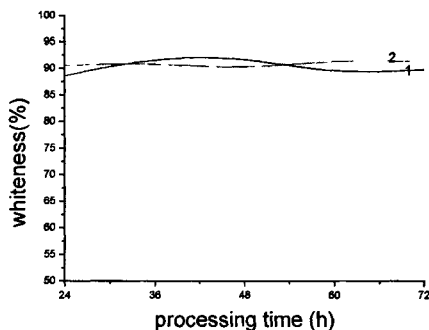


图 3-3 连续处理与堆放处理比较图

Figure 3-3 Comparison between continuous treatment and stack treatment

3.7 菌体离心与不离心对降解效率的影响

菌体离心是指将菌体培养后用离心机将菌体离心除去，留下菌液，用菌液处理亚麻布的处理方法。该方法的原理是将菌体离心除去后，利用菌液中菌体分泌的酶对亚麻布进行处理。所得结果见表 3-5。

由表 3-5 可知：白腐菌 5.132 离心出菌体酶降解与不离心出的菌体酶降解的能力没有明显的区别。其效果略差于白腐菌 5.776，但是也适合作工厂生产中。

因为利用菌体对木质素降解的原理就是利用菌体分泌的各种酶降解亚麻布中的木质素，因此经过离心后菌液中含有的酶的量是一定的，而菌液中的菌体又被离心掉，因此随着酶的消耗，木质素的降解速度也下降，因此影响了对木质素的降解^[49-50]。

表 3-5 带菌体与不带菌体对比
Table3-5 Comparison between thalli and non-thalli

	5.776		5.132	
	离心	不离心	离心	不离心
二级培养 48h	2.95	2.67	2.58	2.05
二级培养 72h	2.31	2.01	1.88	2.15
二级培养 96h	2.05	2.08	1.98	2.09
备注	斜面激活 120h, 一级培养 72h, 除 5.776 处理 16h 外都是 3.5h, 离心 3000 转/min, 少量菌丝倒入处理亚麻布的酶液中, 但没有发现被污染的症状。			

3.8 含氯漂白剂的实验处理

1. 碱煮酸浸 (40~50℃) 堆放 1h (室温) 亚氯酸钠 (2~3g/l) 处理 (浸透的堆放 23~25℃) 氧漂。

白度: 76.54% 强度: 730N

2. 碱煮酸浸 (40~50℃) 堆放 1h (室温) 亚氯酸钠 (2~3g/l) 处理 (浸泡 23~25℃) 氧漂。

白度: 77.42% 强度: 900N

由上数据结果可得: 生物处理比含氯处理的漂白效果更好, 解决了无污染的生物技术, 取代了有污染含氯、氧漂白剂的一项技术。解决了无氯漂白这一重要难题。给人们在生物漂白技术方面提供了一例。

结论

通过对上述工作的分析,可得出如下的几点结论:

1. 亚麻织物的生物漂白是一项环保工程技术。通过对 12 个微生物菌株降解亚麻纤维中木质素的能力测定,筛选出菌株 5.132 和 5.776 去除木质素能力最强。

2. 白腐菌 5.776 更符合工业化生产的要求。

3. 微生物降解亚麻纤维中木质素的最优化工艺条件为:斜面激活时间为 72 小时,一级培养时间为 24 小时,微生物降解亚麻纤维的时间是 9 小时,堆放时间为 12 小时。

4. 微生物降解木质素后,亚麻纤维的漂白最优化的漂白工艺为:NaOH 煮沸 1 小时;硫酸浸泡 4~5 分钟,40~50℃;堆放 1 小时;70℃过氧化氢漂白 1 小时。

5. 经上述处理,亚麻纤维的白度 87.60%,强度为 800N。

参考文献

- 1 林云琴, 周少奇. 白腐菌降解纤维素和木质素的研究进展. 环境技术, 2003, 4(29): 28~30
- 2 Michael A Sieron, Steven T. Haywood. New technologies in oxygen bleaching for virgin and recycled fibre. *Appita*, 1996, 49(1): 16
- 3 M. Petrasz, Evaluation methods of nightguard teeth bleaching with opalescence (ultradent) based on clinical and experimental tests, *Ann. Acad. Med. Stetin*. 2003, (49): 321~333
- 4 T. A. McGrath, G. W. Smith, Comparisons of the 1995 and 1998 coral bleaching events on the patch reefs of San Salvador Island, Bahamas. *Rev. Biol. Trop.* 2003, 51(Suppl4): 67~75
- 5 A. T. Banaszak, B. N. Ayala-Schiaffino, A. Rodriguez-Roman, S. Enriquez, R. Iglesias-Prieto. Response of *Millepora alcicornis* (Milleporina: Milleporidae) to two bleaching events at Puerto Morelos reef, Mexican Caribbean. *Rev. Biol. Trop.* 2003, 51(Suppl4): 57~66
- 6 K. Karpinia, I. Magnusson, M. L. Barker, R. W. Gerlach, Clinical comparison of two self-directed bleaching systems, *J. Prosthodont.* 2003, 12(4): 242~248
- 7 D. J. White, K. M. Kozak, J. R. Zoladz, H. J. Duschner, and H. Goetz. Impact of Crest Night Effects bleaching gel on dental enamel, dentin and key restorative materials. In vitro studies, *Am. J. Dent.* 2003, 16 Spec No: 22B~27B
- 8 C. Mahony, M. L. Barker, T. M. Engel, G. L. Walden. Peroxide degradation kinetics of a direct application percarbonate bleaching film, *Am. J. Dent.* 2003, 16 Spec No: 9B~11B
- 9 A. Certosimo, F. Robertello, M. Dishman, R. Bogacki, M. Wexel, The effect of bleaching agents on mercury release from spherical dental amalgam, *Gen. Dent.* 2003, 51(4): 356~359
- 10 L. D. de Oliveira, C. A. Carvalho, E. Hilgert, I. R. Bondioli, M. A. de Araujo, and M. C. Valera. Sealing evaluation of the cervical base in intracoronal bleaching, *Dent. Traumatol.* 2003, 19(6): 309~313
- 11 W. M. Bengel. Digital photography and the assessment of therapeutic results after bleaching procedures, *J. Esthet. Restor. Dent.* 2003, 15(Suppl1): S21~S32

- 12 W. D. Browning. Use of shade guides for color measurement in tooth-bleaching studies, *J. Esthet. Restor. Dent.* 2003, 15(Suppl1): S13~S20
- 13 J. F. Song, D. R. Pan, H. M. Chang, et al., Peroxymonosulfuric acid and amixed peracid as bleaching agents, *Proceedings of 7th ISWPC*, Beijing, 1993, 3: 34~43
- 14 王菊生, 孙锐. 染整工艺原理 (第一册). 纺织工业出版社, 1982: 116~134
- 15 李淑华, 黄晶, 高洪清. 浅谈我国亚麻纺织工业的基本现状与发展趋势. *纺织科学研究*, 1997, 10(4): 1~5
- 16 吴宏仁. 对世界化纤工业生产的回顾与展望(下). *纺织科学研究*, 1998, (1): 15~17
- 17 吴宏仁. 对世界化纤工业生产的回顾与展望(下). *纺织科学研究*, 1998, (2): 26~28
- 18 赵建. 无元素氯漂白速生桉木硫酸盐浆. 纸和造纸, 1997(3): 43~44
- 19 高洁, 鲍禾, 李忠正. 木质素的化学—基础与应用. 轻工业出版社, 1988, 339~343
- 20 王伟, 陈嘉翔. 生物漂白的研究现状及应用前景. *国际造纸*, 1994, 13(6): 31~33
- 21 吴坤, 朱显峰. 木质素生物降解研究进展. *河南农业大学学报*, 2000, (4): 34~35
- 22 C. Cellerstedt, J. Pranda, M. Lindfors, Structural and molecular properties of residual birch kraft lignins, *J. Wood Chemistry and Technology*, 1994, 14(4): 467~482
- 23 M. Allan, Springer, *Industrial Environmental Control Pulp and Paper Industry*. Second edition, Atlanta Georgia: Tappi press, 1993, (2): 288~291
- 24 J. Basta, L. Hoitinger, P. Lundgren, *International Pulp Bleaching Conference.3*, Stockholm, Sweden, 1991: 25~27
- 25 陈嘉川. 湿地松硫酸盐浆完全无氯漂白的研究. 华南理工大学博士论文, 1994
- 26 卢雪梅, 刘紫鹃, 高培基. 木质素生物降解的化学反应机制. *林产化学与工业*, 1996, (16): 2
- 27 徐海娟, 梁文芷. 白腐菌降解木素酶系及其作用机理. *环境污染治理技术与设备*, 2000, (1): 3
- 28 R. L. Crawford, *Lignin Biodegradation and Transformation*, 1981: 42~47

- 29 武红艳. Lyocell 纤维的纺织生产性能和发展前景. 纺织科学研究, 1999, (1): 18~19
- 30 J. G. Kuchker, Papier, 1993, (2): 53~55
- 31 P. Anthony, M. Johnson, Fitting together the ECF-TCF jigsaw, Appita., 1994, 47(3): 243~251
- 32 周学飞, 刘伯林, 李元禄. 制浆漂白技术新进展. 纤维素科学与技术, 1999, 7(3): 54~58
- 33 罗益锋. 步入大发展时期的世界高科技纤维. 纺织科学研究, 1997, (1): 50~52
- 34 Y. Ping, A. Gorenflor, F. H. Frimmel, Ozonation and biodegradability of lignin in water, Journal of Beijing Institute of Technology, 2002, (11): No.3
- 35 T. G. Welker, M. Schmitt, A basic investigation in origins of AOX-substances in paper sludges, Wat. Res., 1997, 31(4): 805~815
- 36 曹朴芳, 江曼霞. 我国造纸工业污染防治概况. 中国造纸, 1994, (5): 60~65
- 37 周学飞. 硫酸盐浆生物酶预处理全无氯漂白及其机理的研究. 华南理工大学博士论文, 1998
- 38 周凤飞. 环保纤维素纤维 Lenzing Lyocell 的研究与开发. 纺织科学研究, 1997, (3): 82~85
- 39 雷同宝. Lyocell 纤维~21 世纪的环保型纤维. 纺织科学研究, 1998, (3): 105~107
- 40 范秀容, 沈萍. 微生物学实验. 高等教育出版社, 1980, 20~34
- 41 P. ALedoux, R. Detroz, E. D. Buyl, et al., Tappi 1993 Pulping Conference Proceedings, Atlanta: Tappi press, 1993: 1057
- 42 J. S. Tolan, B. E. Foody, International Pulp Bleaching Conference Papers, Montreal, CPPA, 1994: 263
- 43 U. Germgard, S. Norden, Proceedings of International Pulp Bleaching Conference. Vancouver B C, 1994: 53
- 44 仇如全. 二甲基二环氧乙烷脱木素性能的研究. 广东造纸, 1997: 5~6, 7~10, 54
- 45 詹怀宇. 针叶木硫酸盐浆含酶预处理的无元素氯和全无氯漂白. 纸和造纸, 1997, (3): 41~42
- 46 S. Ruben, L. D. Suckling, M. Richard, Mechanism of cyanamide activation of peroxide bleaching, PAPRO, Report No. B199, 1996

- 47 王伟. 桉木蔗渣硫酸盐浆生物漂白的研究. 华南理工大学博士论文, 1995
- 48 陈嘉川. 木聚糖酶在麦草浆漂白中的应用. 中国造纸学报, 1997, (12): 47~51
- 49 陈嘉川. 耐碱性木聚糖酶漂白烧碱-AQ 麦草浆的研究. 中国科学院纤维素化学开放研究实验室年报, 1996: 84~85
- 50 黄峰. 木聚糖酶及氧化还原酶与 H_2O_2 协同漂白硫酸盐浆的研究. 华南理工大学博士论文. 1998

致谢

本论文是在刘波教授的精心指导下完成的。在此向刘老师表示最衷心的感谢。刘老师渊博的知识、雄厚的理论功底、严谨的治学态度、求实的科研作风，令我受益匪浅。

衷心感谢张辉教授在我学习期间，给予的支持和帮助。

作者感谢孙晓君教授、何云龙教授和张柱玲教授等在攻读硕士学位期间的支持和帮助。

作者感谢硕士同学程俊波、潘琪等三年来给予的无私的帮助和鼓励。

最后，我还要感谢我的父母和亲人多年来对我的培养、关心和鼓励；感谢我的爱人对我的理解和支持。

个人简历

付旭义，男，1971年8月25日出生。2000年—2005年6月就任于远达药业集团，任市场管理部经理、商务部经理。2005年7月至今在哈尔滨罗斯法姆科技发展有限公司工作。

在1990年—1993年期间就读于哈尔滨市财贸职工大学，财务会计专业学习，2002年毕业于哈尔滨理工大学质量管理专业（本科），获学士学位。2003年5月以来在哈尔滨理工大学在职研究生（工程硕士）材料工程专业学习。联系地址：哈尔滨市道里区经纬街250号211信箱 邮编：150010，电话号码：13359995386，传真：0451-84603263，电子信箱：fu825@163.com。