

Diss. ETH Nr. 7367

**Biokonversion von
Lignin und Polysacchariden aus
alkalisch behandelte Lignocellulose**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
THOMAS HALTMEIER
dipl. Natw. ETHZ
geboren am 20. April 1951
von Oberuzwil (SG)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. A. Fiechter, Referent
Prof. Dr. H. Sahn, Korreferent

ADAG Administration & Druck AG

Zürich 1983

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt den mikrobiellen und enzymatischen Abbau von Polysacchariden und Lignin nach der Natronlaugebehandlung von Weizenstroh. Die Studie gibt Auskunft über Produkte, Ausbeuten und Charakteristiken des biologischen Abbaus der betreffenden Polymere. Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag bei der Verwertung von Lignin aus der alkalischen Ablauge, wobei als zweites Testsubstrat Sulfatlignin aus der Föhrenholzkochung zur Zellstoffherstellung verwendet wurde.

Die alkalische Behandlung unter erhöhter Temperatur und Druck erwies sich als eine effiziente Vorbehandlungsmethode. Cellulose und Hemicellulose von behandeltem Stroh konnten mit cellulolytischen Pilzen oder Cellulase von Trichoderma reesei vollständig abgebaut werden. Die Verwendung von NaOH-behandeltem Stroh zur Herstellung von Cellulase mit T. reesei induzierte eine Pectinase, die im cellulolytischen Enzymsystem, hergestellt auf reiner Cellulose, fehlte. Der Vergleich der beiden Enzympräparate erbrachte nur eine geringfügige Verbesserung der Hydrolyse von Stroh bei der Verwendung des pectinasehaltigen Cellulasekomplexes.

Die Hydrolyse von Cellulose in behandeltem Stroh zu Glucose zeigte eine vorübergehende Akkumulation von Cellobiose, als Folge der relativ schwachen β -Glucosidaseaktivität von T. reesei. Die Hydrolyseprodukte aus Hemicellulose lagen zuerst als oligomere Abbauprodukte vor, bevor sie zu monomeren reduzierenden Zuckern, hauptsächlich Xylose, gespalten wurden.

Als Nachteil der Natronlaugebehandlung erwies sich die Bildung von wasserlöslichen, aromatischen und aliphatischen Abbauprodukten, die als heterogenes Gemisch im Behandlungsabwasser vorlagen.

Der Abbau von Lignin wurde anhand von isolierten und fraktionierten Ligninpräparaten, aus alkalischen Kochungen von Stroh und Föhrenholz (Indulin AT), untersucht. Dabei wurden folgende Pilze verwendet: Phanerochaete chrysosporium, Chaetomium cellulolyticum, Pleurotus ostreatus, Aspergillus wentii, Humicola fuscoatra, Sporotrichum thermophile. Jeder der obgenannten Pilze war in der Lage, Lignin aus Stroh abzubauen, während das Ligninpräparat aus Föhrenholz nur von P. chrysosporium signifikant abgebaut wurde.

Untersuchungen mit P. chrysosporium zeigten, dass das lignolytische System nur in Standkulturen induziert werden konnte, dabei konnte ein Zusammenhang zwischen der Neubildung einer unterschiedlichen Mycelstruktur und dem Auftreten der lignolytischen Aktivität nachgewiesen werden. Das lignolytische System umfasste die Adsorption des Lignins sowie Polymerisations- und Depolymerisationsreaktionen. Dabei wurde das Lignin als Ganzes oxidativ verändert, unter der Bildung von polymeren und oligomeren Abbauprodukten, die wasserlöslicher waren als das Ausgangsmaterial. Eine Bildung von aromatischen, monomeren Abbauprodukten konnte nicht festgestellt werden. Niedermolekulare ligninähnliche Substanzen, die aus Sulfatlignin isoliert wurden, bewirkten eine Inhibition des lignolytischen Systems bei P. chrysosporium.

Summary

This study deals with the biological and enzymatic degradation of polymeric compounds of alkali-treated straw. Data are presented on degradation products, yield and characteristics of the biological degradation of cellulose, hemicellulose and lignin. Emphasis is made on the utilization of lignin from alkaline spent liquor, and degradation of pine sulfate lignin, a byproduct of paper and pulp industry.

The alkali-treatment at high temperature and pressure seemed to be an efficient method for pretreatment of lignocellulosic material. Cellulose and hemicellulose content of treated straw could be completely degraded by cellulolytic fungi or cellulase of Trichoderma reesei. When NaOH-treated straw was used as substrate for production of cellulase by T. reesei, formation of a pectinase enzyme was observed. Application of pure cellulose as substrate did not lead to induction of pectinase enzyme. These two enzyme preparations were compared with respect to their efficiencies in hydrolysis of straw. The extent of hydrolysis was slightly improved for pectinase containing enzyme.

During cellulose hydrolysis of treated straw, transient accumulation of cellobiose took place which could be due to relatively low activity of β -glucosidase. The hemicellulose fraction was first converted to oligomeric compounds which were then hydrolyzed to monomeric reducing sugars mainly xylose.

The shortcoming of such alkali-treatment of straw seemed to be the formation of water-soluble, aromatic and aliphatic compounds that appeared as a heterogeneous mixture in the process and waste water stream.

The study of lignin biodegradation was carried out with isolated and fractionated lignins from hot alkaline extraction of straw and from a commercial Kraft lignin (Induline AT). The fungi Phanerochaete chrysosporium, Chaetomium cellulolyticum, Pleurotus ostreatus, Aspergillus wentii, Hemicelia fuscoatra, and Sporotrichum thermophile were tested. Straw lignin preparation was degraded by all of the tested fungi whereas the significant degradation of Kraft lignin preparation could only be achieved by fungus P. chrysosporium.

The induction of ligninolytic system was observed only in standing cultures. The appearance of ligninolytic activity was accompanied by formation of new mycelial structures. Lignin adsorption, as well as polymerization and depolymerization reactions took place. The alteration reaction of lignin was oxydative and intrapolymeric, i.e., within the intact polymer of lignin. Polymeric and oligomeric compounds of more water solubility were produced. Formation of aromatic monomers could not be detected. The lignin-like low molecular isolates of sulfate lignin had an inhibitory effect on ligninolytic activity of P. chrysosporium.