

بررسی و ارزیابی تاثیر آنزیم لاکاز بر میزان لیگنین زدایی و ویژگی‌های فیزیکی خمیر کاغذ کارتن کهنه

معصومه مرادی*^۱، حسین کرمانیان^۲، سعید مهدوی^۳ و امید رضانی^۴

^۱ کارشناسی ارشد، گروه مهندسی فن آوری تولید سلولز و کاغذ، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیراب

^۲ استادیار، گروه مهندسی فن آوری تولید سلولز و کاغذ، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیراب

^۳ استادیار، بخش تحقیقات علوم چوب و فرآورده‌های آن، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

^۴ استادیار، گروه مهندسی فن آوری تولید سلولز و کاغذ، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیراب

چکیده

در این تحقیق از آنزیم لاکاز برای تیمار خمیر کاغذ بازیافتی کارتن کهنه کنگره‌ای (OCC) تهیه شده از یک واحد تولیدی کاغذ آزمایشی لاینر در داخل کشور استفاده شد. خمیر کاغذ از جعبه تغذیه کارخانه تهیه و در درصد خشکی ۲، اسیدیته ۵، مدت زمان ۲ ساعت و دمای ۶۰ درجه سلسیوس در سه سطح (۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد بر مبنای وزن خشک خمیر کاغذ) با آنزیم لاکاز تیمار شد. طبقه‌بندی خمیر کاغذ شاهد نشان داد که ۳/۳۱٪ آن شامل نرمه‌ها بوده و میانگین طول الیاف ۰/۸۲ میلی‌متر به دست آمد. نتایج نشان داد که تیمار با آنزیم لاکاز منجر به کاهش عدد کاپای خمیر کاغذ تا حدود ۲۰٪ و همچنین کاهش درجه SR تا حدود ۱۴ واحد و در نتیجه آسانگری در قابلیت آگیری خمیر کاغذ شد. طیف‌سنجی عصاره استخراجی نمونه تیمار شده نیز گویای افزایش نسبی جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر و تأیید لیگنین زدایی خمیر کاغذ توسط آنزیم می‌باشد. بررسی میکروسکوپی دیواره الیاف نمونه تیمار شده مؤید جدا شدن موضعی دیواره بین سلولی، پرزدار شدن و عاری بودن سطح الیاف از نرمه‌ها می‌باشد. بیشینه میزان ماندگاری آب در دیواره الیاف (WRV) با استفاده از ۰/۰۱۵ درصد آنزیم به دست آمد. چگالی ظاهری کاغذهای ساخته شده از الیاف تیمار شده نسبت به شاهد کاهش نشان داد که انتظار کاهش مقاومت‌های کاغذ را به دنبال خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم لاکاز، کارتن کهنه کنگره‌ای، درجه SR، عدد کاپا، میزان ماندگاری آب، چگالی ظاهری.

مقدمه

رشد و گسترش روش‌های شیمیایی بر پایه کاربری پایدار از منابع لیگنوسلولزی کشور اقدام به نوسازی صنایع خمیر و کاغذ و استفاده از فناوری زیستی را به عنوان راهکارهای راهبردی (استراتژیک) در آینده میان مدت و بلند مدت توجیه می‌کند [۳]. هرچند با تکرار بازیافت، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی الیاف بطور قابل توجهی تغییر کرده و محدودیت‌هایی را ایجاد می‌کند، ولی امروزه به موازات رشد میزان بازیافت کاغذ، شاهد پیشرفت فناوری بازیافت و بهبود فرآیندهای این صنعت در راستای کاهش این محدودیت‌ها و امکان کاربری بهینه تر از کاغذهای بازیافتی می‌باشیم. الیاف بازیافتی دارای ویژگی‌های کاغذ سازی نامرغوب نسبت به الیاف دست اول (بکر) همسان خود می‌باشند و این اشکال به استخوانی شدن^۱ الیاف در طی فرآیند بازیافت بر می‌گردد. اما دلایل دیگری هم همچنان دخیل می‌باشد که عبارت اند از:

- غیر فعال شدن یا کاهش آب دوستی سطوح الیاف در طی خشک شدن پی در پی، به ویژه به واسطه توزیع دوباره رزین و اسیدهای چرب بر روی سطوح الیاف [۱۳].
- تغییر و نوسان در ریخت و ظاهر (مرفولوژی) الیاف مانند پیچ خوردن و متراکم شدن میکروسکوپی لایه‌های درونی الیاف [۱۵].

محققان زیادی اثر بازیافت را بر روی الیاف رنگبری شده بررسی کرده‌اند [۹،۴] اما بازیافت خمیرهای رنگبری نشده بسیار کم بررسی شده است. با توجه به اهمیت زیست فناوری در کاربرد آسان و به ویژه جنبه دوستدار محیط زیست بودن، استفاده از آنزیم‌ها در صنایع مختلف رواج یافته است. در این تحقیق به بررسی این فناوری در صنعت کاغذ بازیافتی و برتری‌های کاربرد آن پرداخته و روش عملکرد آنزیم لاکاز بر روی این نوع از خمیر کاغذ به لحاظ لیگنین زدایی خمیر کاغذ، تأثیر بر میزان ماندگاری آب در دیواره الیاف، درجه SR و چگالی ظاهری کاغذ بررسی شد. تاکنون بیشترین میزان تولید لاکاز به وسیله قارچ‌های پوسیدگی سفید گزارش شده است. این

ریزاندامگان (میکروارگانیزم) توان تبدیل همه ترکیبات لیگنین به آب و دی اکسید کربن را دارند. لاکاز مانند یک باکتری عمل می‌کند. الکترون‌های ناشی از واکنش‌های اکسایش منفرد را ذخیره می‌کند تا اکسیژن مولکولی را احیا نماید. اکسایش بستره (سوبسترا) به وسیله لاکاز یک واکنش تک‌الکترونی است که یک رادیکال آزاد تولید می‌کند، به همین دلیل برای کاهش کامل اکسیژن مولکولی به آب، باید چهار مولکول بستره اکسید شوند. در اکسایش بستره‌ی خنثی، پیوند بین کربن آلفا و بتا و پیوند بین آلکیل- آلکیل می‌شکند (شکل ۱- الف). لاکاز مانند دیگر آنزیم‌های تجزیه‌کننده لیگنین، به دلیل قابلیت پایین برای کاهش یافتن و طبیعت بسپاری تصادفی لیگنین، تنها می‌تواند بخش‌های فنلی لیگنین را اکسید کند. بنابراین، از برخی ترکیبات واسطه کوچک طبیعی با جرم مولکولی پایین مانند ABTS^۲ و HBT^۳ می‌توان برای اکسید کردن بخش غیرفنلی لیگنین استفاده کرد (شکل ۱- ب).

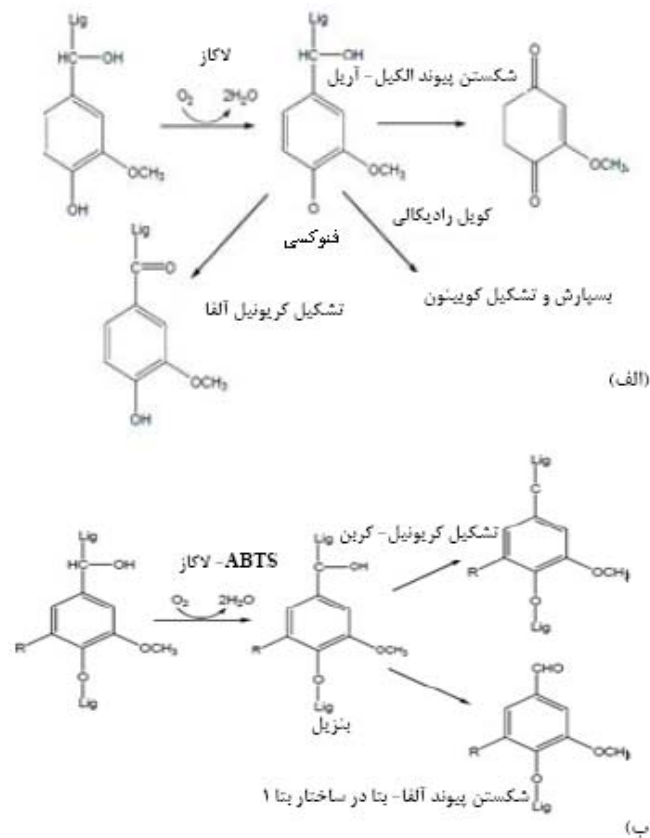
سامانه لاکاز- واسطه‌گر^۴ دارای گزینش پذیری بالا است و لیگنین زدایی خمیر کاغذ را با آسیب کمتری به کربوهیدرات‌ها (سلولز و همی سلولز) همراه می‌سازد. این ویژگی لیگنین زدایی گزینشی ممکن است ویژگی‌های مربوط به پالایش و کاغذسازی را بهبود بخشد. قابلیت اکسید کردن ترکیبات فنلی و غیر فنلی لیگنین به وسیله لاکاز و آلودگی‌های زیست محیطی فرآیندهای شیمیایی تولید خمیر کاغذ باعث می‌شود کاربرد این آنزیم در برخی از فرآیندهای زیست فناوری مانند تولید خمیر کاغذ امکان پذیر باشد [۵].

² 2'-Azinobis (3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulfonate) (ABTS)

³ Triazole 1-Hydroxybenzotriazole

⁴ Laccase-Mediator

¹ Hornification



شکل ۱- اکسایش زیستی توسط لاکاز (الف) نحوه تأثیر لاکاز بر واحدهای فنلی لیگنین (ب) ترکیبات لیگنین غیر فنلی به وسیله یک سامانه لاکاز همراه با واسطه [4].

ثرگذاری زیانبار استخوانی شدن و نیز افزایش قابل توجهی در میزان گروه‌های کربوکسیل، روی ساختار لیگنین دیده شد. آنزیم لاکاز بر روی خمیرهای غنی از لیگنین تأثیر به مراتب بیشتری دارد، با اکسایش لیگنین باقی مانده باعث افزایش شمار رادیکال‌های پایدار و کاهش عدد کاپا می شود [۱۶]. همچنین عنوان شده که تیمار خمیرکاغذ با عدد کاپای زیاد توسط آنزیم لاکاز باعث لیگنین‌زدایی قابل توجهی می شود، به ویژه هنگامی که با قلیا به طور پی در پی شسته شود. هنگامی که استخراج قلیایی انجام نشود امکان اینکه بخش‌های اکسید شده لیگنین بار دیگر بر روی الیاف خمیر باقی بماند وجود دارد [۶].

استخراج قلیایی پس از تیمار خمیرکاغذ با آنزیم لاکاز-

Mocchiutti و همکاران [۱۱] از خمیر کرافت سوزنی برگ رنگ‌بری نشده بازیافتی با عدد کاپای ۹۲ برای بررسی ویژگی‌های خمیرکاغذ با تیمار آنزیم لاکاز استفاده کردند. میزان ماندگاری آب در دیواره الیاف از میزان ۱/۱۹ به ۱/۳۲ گرم آب بر گرم خمیر افزایش نشان داد و چنین استدلال شد که تیمار با آنزیم لاکاز به همراه حباب اکسیژن و هم زدن، آماس دیواره الیاف را افزایش داده است. Da Silva و همکاران [۸] آنزیم لاکاز استخراج شده از قارچ *Trametes Hirsuta* را به همراه ۱- هیدروکسی بنزو تری آزول (HBT) بر روی بخش لیفی از خمیر بازیافتی الیاف کرافت سوزنی برگ رنگ‌بری نشده در درصد خشکی کم در شرایط هم زدن پیوسته و حباب اکسیژن اعمال نمودند. در نمونه شاهد هیچ آنزیم و واسطه‌گری به کار برده نشده بود. برگشت جزئی از

تعیین ویژگی‌های خمیر کاغذ OCC

ویژگی‌های مورد بررسی خمیر کاغذ شامل بررسی های میکروسکوپی دیواره الیاف (میکروسکوپ نوری)، اندازه‌گیری عدد کاپا برابر استاندارد تاپی (99-236 om-T)، میزان ماندگاری آب در الیاف برابر استاندارد تاپی (1991-256 UM) و درجه روانی خمیر کاغذ برابر استاندارد اسکن (1972-19:6 C) بودند.

تیمار خمیر کاغذ با آنزیم لاکاز

در آغاز درصد خشکی خمیر کاغذ OCC به ۲ و اسیدیته آن با محلول بافر (۰/۰۵ مولار) تهیه شده از اسید استیک رقیق و نمک آن یعنی استات سدیم، به ۵ رسانده شد. برای تعیین میزان تأثیر افزودن آنزیم لاکاز، خمیر کاغذ یاد شده با سه میزان آنزیم ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ (درصد بر پایه وزن خشک خمیر کاغذ) تیمار شد. سپس درون حمام آب گرم در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت با تزریق پیوسته اکسیژن، و هم زدن با دست، تیمار شد. شرایط ثابت تیمار آنزیمی شامل: تزریق اکسیژن، مدت زمان تیمار و دمای واکنش و عامل متغیر شامل اعمال سه سطح آنزیم بود.

در این تحقیق از استاندارد ملی ایران شماره‌ی ۳-۳۷۸۸ [۲۵] تدوین شده در سال ۱۳۸۸ برای ساخت کاغذ دست ساز استفاده شد. این استاندارد روش ساخت کاغذ با سامانه بسته آب و گردش نرمه‌ها^۲ را بیان می‌کند. هدف از این کار، استفاده از نرمه‌های موجود در خمیر کاغذ است که در حین فرآیند بازیافت خمیر کاغذ افزایش می‌یابد و موجب کاهش بازده و تغییر و نوسان قابل توجهی در ساختار کاغذ می‌شود. در سامانه های متداول^۳ ساخت کاغذ دست‌ساز، میزان زیادی از نرمه‌های خمیرهای مکانیکی و بازیافتی از توری عبور می‌کند و کاغذ دست‌ساز تهیه شده معرف واقعی خمیر نهایی^۴ نمی‌باشد. امروزه واحدهای تولید کاغذ بازیافتی به سوی استفاده از آب فرآیندی در خمیرساز و رقیق سازی خمیر

ABTS، توانسته‌اند حدود ۲۶٪ عدد کاپای خمیر کاغذ را کاهش دهند. ایشان امکان استفاده تجاری از این سامانه برای رنگبری خمیر کاغذ را به دلیل قیمت گران ABTS، در آینده نزدیک عملی نمی‌دانند. Saparrat و همکاران (۲۰۰۸) بررسی را در مورد تیمار آنزیمی (لاکاز- HBT) خمیر کاغذ کرافت بازیافت شده (در آزمایشگاه) از سوزنی‌برگان و اکالیپتوس گلوبولوس انجام دادند. نتایج بدست آمده نشان داد که چگالی ظاهری و مقاومت کششی ورقه‌ها نسبت به نمونه شاهد افزایش و ضریب پخشیدگی نور کاهش یافت. لازم به یادآوری است که این تحقیق بر روی الیاف خمیر کاغذ باقی‌مانده روی مش ۳۰ (R۳۰) انجام شد و بنابراین خمیر کاغذ بدون نرمه بوده است.

Sarkar و همکاران (۱۹۹۵) با استفاده از عکس‌های میکروسکوپ الکترونی، کاهش طول الیاف خمیر کاغذ OCC تیمار شده با آنزیم سلولاز را با افزایش میزان آنزیم و مدت زمان تیمار گزارش نموده‌اند. هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی اثر آنزیم لاکاز بر چگونگی لیگنین زدایی و برخی از ویژگی‌های فیزیکی خمیر کاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه (OCC) مانند ماندگاری آب و چگالی ظاهری بود.

مواد و روش‌ها

آنزیم

آنزیم لاکاز استخراج شده از قارچ *Mytheliophthora thermophila* (MTL) با کد ۵۱۰۰۳ از نمایندگی شرکت نووزایم^۱ در کشور پرتغال تهیه شد.

خمیر کاغذ

خمیر کاغذ مورد نیاز از یک واحد تولید کاغذ آزمایشی بازیافتی در داخل کشور و از قسمت جعبه تغذیه با درصد خشکی ۱/۵۵ تهیه شد. به منظور جلوگیری از فعالیت ریزاندامگان، خمیر کاغذ در سردخانه‌ای با دمای زیر ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

² Fines

³ Conventional

⁴ Furnish

¹ Novozyme

لیگنین زدایی از حالت ۰/۰۱ درصد کمتر شده است و این به نحوه برهم‌کنش به نسبت پیچیده آنزیم، HBT و مواد غیرلیفی موجود در خمیرکاغذ OCC می‌تواند مرتبط باشد.

ماکرومولکول لیگنین شامل واحدهای P- هیدروکسی فنیل، گویاسیل و سیرینجیل است در حالی که حلقه فنل دارای ۱-۳ گروه هیدروکسیل آزاد یا اتری شده می‌باشد. اتصال واحدهای فنیل پروپان لیگنین به یکدیگر با اتصال های اتری که بیشتر شامل ساختار β -O-۴ و α -O-۴ هستند و نیز کربن-کربن که آن نیز بیشتر شامل ۵-۵ و β -۵ است و نیز حلقه اتری ۴-۵ صورت می‌گیرد (شکل ۳). اما آنچه قابل درک می‌باشد این است که آنزیم لاکاز با اکسید کردن واحدهای فنلی و غیر فنلی در ساختار ماکرومولکول لیگنین باعث شکستن برخی از اتصال های بین مولکولی و تبدیل آن به بخش‌های کوچکتر می‌شود [۶، ۸، ۱۸]. در اصل لاکازها بر روی بستره فنلی با کاتالیز کردن اکسایش گروه‌های هیدروکسیل حلقه فنلی و تبدیل آنها به رادیکال‌های فنوکسی (حلقه فنلی اکسید شده) عمل می‌کنند. این رادیکال‌ها می‌توانند با یکدیگر جفت شوند و باعث بهبود برخی ویژگی‌ها در کاغذ ساخته شده شوند.

با آن در مخزن خمیرکاغذ^۱ می‌روند. از این نظر، اهمیت کاربری آب فرآیندی محسوس می‌باشد. بنابراین از این روش برای همسانی بیشتر آزمایش‌ها با مقیاس صنعتی استفاده شد. ضخامت کاغذهای دست ساز ساخته شده برابر استاندارد ایزو ۵۳۴ (2005) اندازه‌گیری شد.

طیف‌سنجی

در این بررسی علاوه بر استفاده از عدد کاپا در تعیین میزان لیگنین موجود در خمیرکاغذ، عصاره استخراج شده خمیرکاغذ شاهد و تیمار شده با استفاده از یک دستگاه طیف سنج نوری (اسپکتوفتومتر) نور ماورای بنفش مرئی^۲ برابر استاندارد تاپی (UM 250-1983) اندازه‌گیری شد و طیف جذبی لیگنین در طول موج ۲۵۰ تا ۳۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

درجه بندی الیاف^۳

درجه بندی الیاف خمیرکاغذ OCC با دستگاه باور مکنت^۴ برابر استاندارد تاپی شماره T 233 cm-06 انجام شد (جدول ۱) و میانگین طول الیاف بر این پایه محاسبه شد. همان‌طور که دیده می‌شود حدود یک سوم وزن خمیرکاغذ را نرمه‌ها تشکیل می‌دهند که بر رفتار خمیر حین آگیری، ظرفیت نگهداری آب و ویژگی‌های فیزیکی و مقاومتی آن تأثیر گذارند.

تأثیرگذاری آنزیم لاکاز بر روی میزان لیگنین

خمیرکاغذ

مقایسه خمیرکاغذ شاهد با خمیرکاغذ تیمار شده با آنزیم نشان می‌دهد که عدد کاپا تا حدود ۲۲ درصد کاهش یافته است (شکل ۲). با افزایش میزان آنزیم از ۰/۰۱ به ۰/۰۱۵ کاهش عدد کاپا و افزایش لیگنین‌زدایی رخ داده است، اما در حالت استفاده از ۰/۰۰۵ درصد آنزیم، میزان

¹ Machine chest

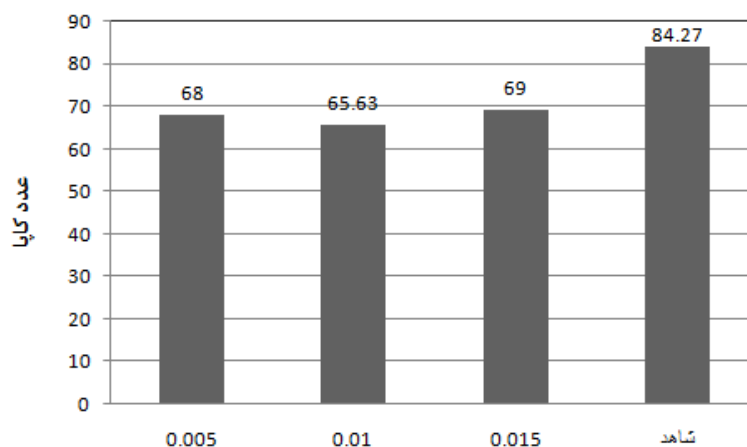
² UV visible- Perkin Elmer- Model: Lambda 35

³ Fiber classification

⁴ Bauer-McNett

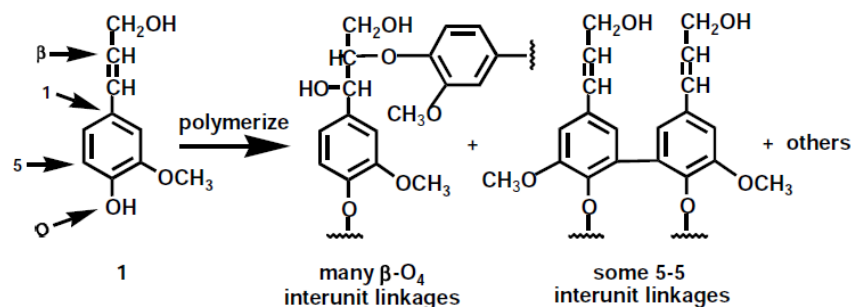
جدول ۱- درجه بندی الیاف خمیر کاغذ OCC و میانگین طول الیاف آن

مش الک	۱۶	۳۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	نرمه‌ها	میانگین طول الیاف (mm)
درصد وزنی الیاف	۹/۶	۱۷/۴	۲۳/۲	۱۲/۲	۶/۳	۳۱/۳	. /۸۲
باقی مانده روی الک							



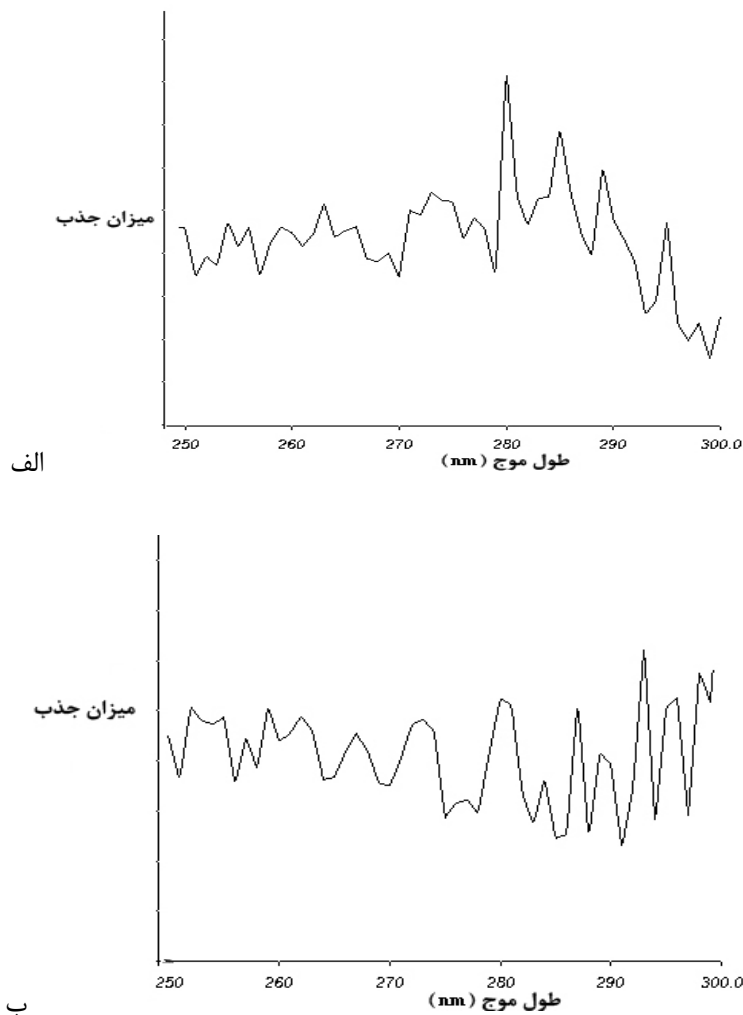
میزان افزودن آنزیم (% وزن خشک خمیر)

شکل ۲- تأثیر افزودن مقدار آنزیم لاکاز در سه سطح بر روی عدد کاپای خمیر کاغذ تیمار شده در شرایط ثابت. منظور از شرایط ثابت تیمار خمیر کاغذ در ۲ ساعت و ۶۰ درجه سانتی گراد با تزریق اکسیژن در حمام آب گرم می باشد. تنها متغیرها سه سطح افزودن مقدار آنزیم می باشد.



است. لیگنین به طور ترجیحی با اتصال رادیکال‌های فنوکسی تولید شده از اکسایش دیگر گروه‌های لیگنین بسپارش می‌شود [۲۱].

شکل ۴ همسانی عملکرد آنزیم لاکاز را با دیگر آنزیم‌های اکسید کننده فنلی نشان می‌دهد. طول موج ۲۸۰ نانومتر طیف جذبی لیگنین است که در شکل مشهود



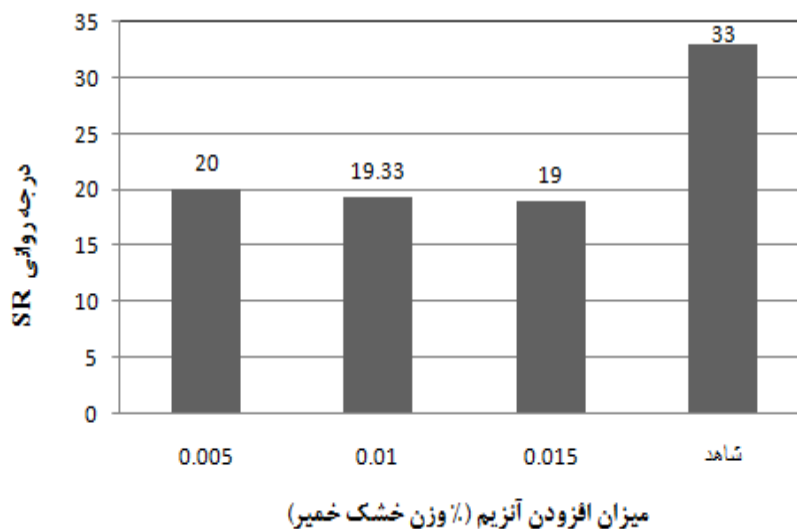
شکل ۴- طیف‌سنجی عصاره استخراج شده از خمیر کاغذ- نمونه شاهد (الف) نمونه تیمار شده با آنزیم (ب)

را موجب شود و در نتیجه آبگیری از خمیر کاغذ (کاهش درجه SR) آسان‌تر شود. در صورتی که این عمل به صورت محدود و کنترل شده صورت گیرد، کاهش ظرفیت نگهداری آب در خمیر کاغذ رخ داده و آبگیری از خمیر کاغذ بدون تأثیر بر مقاومت‌های کاغذ، آسان‌تر می‌شود.

شکل ۴ نشان دهنده تفاوت نسبی در تغییر و نوسان طیف عصاره استخراجی نمونه شاهد و تیمار شده به ویژه در طول موج جذب لیگنین یعنی ۲۸۰ نانومتر می‌باشد. این مطلب نیز مؤید لیگنین‌زدایی نسبی خمیر کاغذ با آنزیم لاکاز می‌باشد.

تأثیر آنزیم لاکاز بر روی درجه روانی خمیر کاغذ

همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود با تیمار آنزیم لاکاز میزان درجه SR کاهش یافته است. Sarkar و همکاران (۱۹۹۵) بر این باورند که تیمار خمیر بازیافتی با آنزیم می‌تواند کاهش کلئیدهای موجود در خمیر کاغذ



شکل ۵- تأثیر افزودن مقادیر آنزیم لاکاز بر روی درجه SR در شرایط ثابت

اما از آنجا که در خمیرکاغذ OCC انواع آشغال‌های آنیونی^۳ و مواد آلی مختلفی مانند گازوییل که به عنوان ضد کف به خمیرکاغذ اضافه می‌شود وجود دارد، پیش‌بینی چگونگی اثرگذاری آنزیم لاکاز بر ویژگی‌های این خمیرکاغذ کمی پیچیده است. همان‌طور که در شکل ۷ دیده می‌شود، دیواره لیف در نمونه شاهد بسیار صاف و بدون جدا شدن ریزلیفچه (میکروفیبریل)ها می‌باشد در حالی که پس از تیمار با آنزیم دیواره پرزدار^۴ شده دارد. آنزیم سلولاز قادر است ویژگی‌های سطحی لیاف را تغییر داده و باعث جدا شدن ریزلیفچه (میکروفیبریل)ها^۵ از دیواره شود [۲۲].

تأثیر آنزیم لاکاز بر روی میزان ماندگاری آب در لیاف

تغییر و نوسان میزان ماندگاری آب شاخص مهمی در فرآیند بازیافت خمیرکاغذ است، زیرا میزان ماندگاری آب، ظرفیت آماس درونی لیاف را اندازه‌گیری می‌کند. میزان زیادتر آن نشان دهنده ظرفیت آماس بیشتر و افزایش نفوذ آب در دیواره سلول شود [۱۱]. ظرفیت آماس بیشتر لیاف افزایش طول پارگی^۱ کاغذ را به دنبال خواهد داشت [۵]. برابر مشاهده‌ها و اندازه‌گیری‌های انجام شده، کاربرد ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱۵ درصد آنزیم باعث افزایش میزان ماندگاری آب در لیاف خمیرکاغذ OCC شده است (شکل ۶) لیکن با کاربرد ۰/۰۱ درصد آنزیم، تغییر قابل ملاحظه‌ای در این ویژگی دیده نمی‌شود.

بررسی‌های میکروسکوپی

با توجه به اثبات لیگنین‌زدایی توسط آنزیم در بحث پیشین و جدا شدن بخش‌هایی از دیواره لیاف^۲ (شکل ۷)، انتظار بر این بود که ماندگاری آب لیاف افزایش یابد.

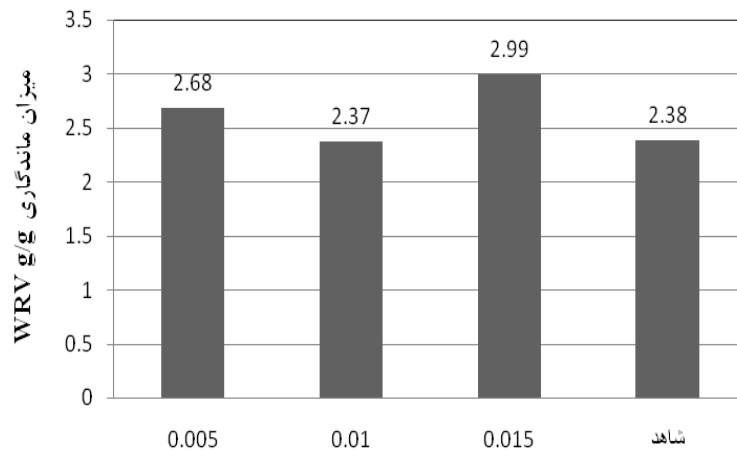
³ Anionic trash

⁴ Fibrillated cell wall

⁵ Peeling

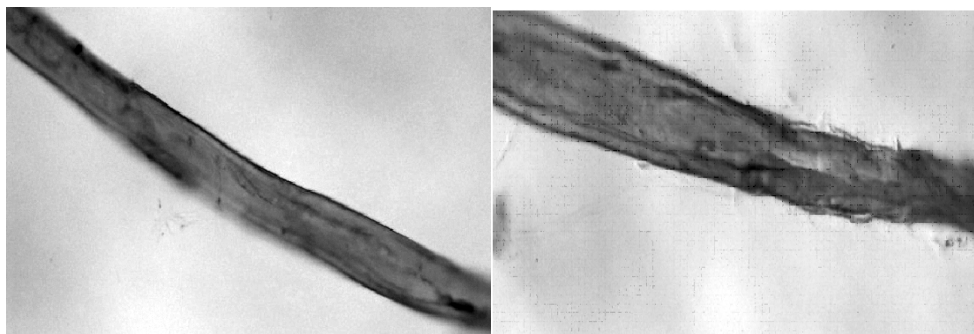
¹ Breaking length

² Delamination



میزان افزودن آنزیم (% وزن خشک خمیر)

شکل ۶- تأثیر مقدار افزودن سه سطح آنزیم لاکاز بر روی مقدار ماندگاری آب در دیواره الیاف در شرایط ثابت



شکل ۷- دیواره لیف نسبتاً سالم خمیر کاغذ شاهد (سمت چپ) - دیواره لیف تخریب شده خمیر کاغذ تیمار شده با آنزیم (سمت راست) (با بزرگنمایی ۴۰)

پالایش خمیر کاغذ بستگی دارد. پالایش در اصل انعطاف پذیری الیاف و در پی آن چگالی را به میزان زیادی افزایش می‌دهد [۱۹]. چگالی ظاهری کاغذهای تیمار شده برابر شکل ۹ نسبت به شاهد روند کاهشی دارد، اما با افزودن آنزیم از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۱ درصد در آغاز کاهش جزئی و آنگاه از ۰/۰۱ تا ۰/۰۱۵ درصد، افزایش جزئی می‌یابد. روند این تغییر و نوسان همسان ماندگاری آب در الیاف است. با پرزدار شدن سطح الیاف از میزان سفتی الیاف کاسته می‌شود و میزان انعطاف پذیری الیاف افزایش می‌یابد. در نتیجه، درهم‌رفتگی الیاف بیشتر شده و چگالی ظاهری افزایش می‌یابد. اما در این تحقیق با

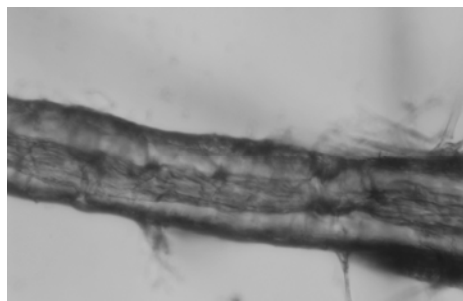
مقایسه لیف نمونه شاهد با تیمار شده در شکل ۸ نیز بیانگر تمیز بودن نسبی سطح لیف تیمار شده است. Sarkar و همکاران (۱۹۹۵) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نشان دادند که آنزیم سلولاز می‌تواند به نرمه‌ها که دارای سطح ویژه زیادی هستند، حمله کند و سطوح الیاف تیمار شده با آنزیم نسبت به شاهد تمیزتر گزارش شده است.

تأثیر آنزیم لاکاز بر روی چگالی ظاهری کاغذ

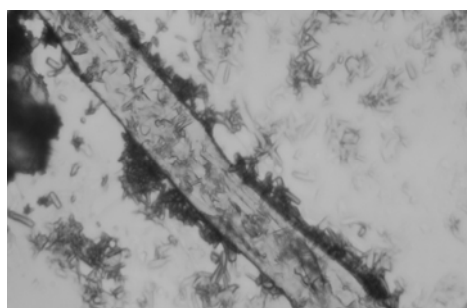
چگالی ظاهری در اصل به انعطاف پذیری الیاف سازنده کاغذ وابسته بوده و در نتیجه به نوع ماده لیفی و درجه

رادیکال‌های آزاد روی الیاف می‌شود، از شمار اتصال‌های بین لیفی کاسته و ضمن تشدید استخوانی شدن الیاف [۸]، علاوه بر کاهش چگالی ظاهری ورق، کاهش احتمالی مقاومت‌های کاغذ را باعث می‌شود [۹ و ۲۲].

تیمار آنزیمی چگالی کاهش یافته است که علت آن را به چند دلیل می‌توان ارتباط داد. برای مثال خنثی شدن گروه‌های کربوکسیلی آزاد شده لیگنین (در اثر تماس با افزودنی‌های آنیونی موجود در خمیر بازیافتی) و نشست دوباره آنها بر روی الیاف که موجب کاهش و خنثی شدن

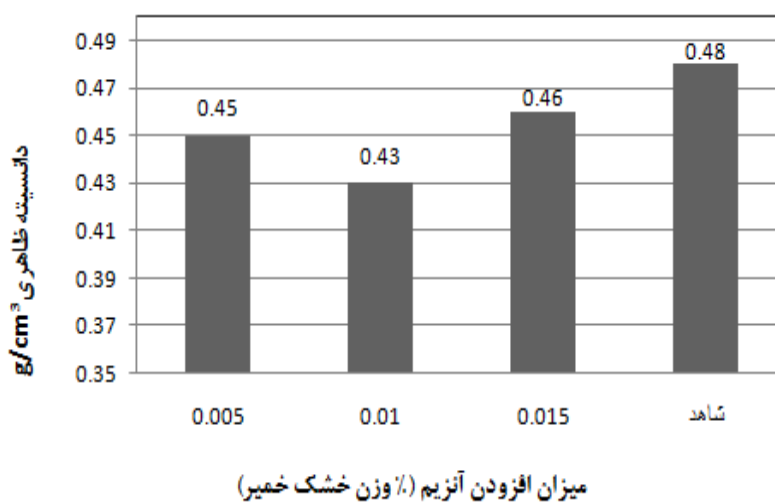


الف



ب

شکل ۸- تراکم نرمه‌ها بر روی دیواره لیف خمیر کاغذ شاهد (الف) - دیواره نسبتاً تمیز لیف خمیر کاغذ تیمار شده با آنزیم (ب) (با بزرگنمایی ۴۰)



شکل ۹- تاثیر افزودن سه سطح آنزیم لاکاز بر روی دانسیته ظاهری در شرایط ثابت

نتیجه گیری

خمیر کاغذ کرافت لاینر با بازده زیاد با لاکاز و بهبود ویژگی‌های فیزیکی و مقاومت‌های کاغذ [۲۳]، ویژگی‌های فیزیکی مانند درجه روانی، WRV، چگالی ظاهری و حتی مقاومت‌های کاغذ بازیافتی تهیه شده از خمیر کاغذ کارتن کهنه تیمار شده با این آنزیم، تحت برهمکنش شیمیایی آنزیم با مواد افزودنی موجود در خمیر کاغذ بازیافتی و نرمه‌های به نسبت زیاد آن، تغییر و نوسان‌های معکوس نشان داده است که نتایج این تحقیق با دیگر نتایج تحقیقاتی همخوانی دارد [۱۰، ۱۲، ۱۷، ۲۲].

بررسی تأثیر آنزیم لاکاز بر روی خمیر کاغذ بازیافتی کارتن‌های کهنه نشان داد که میزان عدد کاپای خمیر نسبت به خمیر کاغذ تیمار نشده (شاهد) کاهش یافته است که این موضوع می‌تواند تأییدی بر لیگنین‌زدایی خمیر کاغذ با این آنزیم باشد. از سوی دیگر، افزایش نسبی طیف جذبی عصاره استخراج شده از نمونه تیمار شده با آنزیم در طول موج ۲۸۰ نانومتر نیز می‌تواند گواه دیگری بر این ادعا می‌باشد. با تیمار آنزیمی خمیر OCC، درجه SR کاهش قابل توجهی یافته که بیانگر آسان‌تر شدن آبگیری خمیر کاغذ تیمار شده نسبت به نمونه شاهد است. مقایسه میکروسکوپی دیواره الیاف تیمار شده و نشده بیانگر جدا شدن نسبی لایه بین سلولی^۱ و پرزدار شدن دیواره سلول نمونه تیمار شده می‌باشد. از سوی دیگر، سطح الیاف خمیر کاغذ تیمار شده نسبت به شاهد تمیزتر و بدون ذرات کلوئیدی و نرمه‌ها دیده شد که نظریه Sarkar و همکاران (۱۹۹۵) را در زمینه کاهش نرمه‌های چسبیده به سطوح الیاف و ذرات کلوئیدی را با آنزیم تأیید می‌کند. کاهش چگالی ظاهری کاغذهای تیمار شده نسبت به نمونه شاهد، پیش‌بینی تأثیر منفی آنزیم بر مقاومت‌های خمیر کاغذ را قوت می‌بخشد. وجود ناخالصی‌های مختلف در خمیر کاغذ OCC مانند مواد افزودنی به جا مانده آنیونی و چسبناک، می‌تواند اثرگذاری‌های آنزیم را کمی پیچیده نماید و به رغم افزایش جزئی ماندگاری آب در الیاف، به دلیل تأثیر بر نرمه‌ها و تغییر سطح ویژه و قابلیت اتصال الیاف، چگالی ظاهری ورق را کاهش دهد.

وجود برخی تفاوت‌ها بین خمیر کاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه و خمیر کاغذ کرافت لاینر دست اول رنگ‌بری نشده مانند ریخت ظاهر و ترکیب مواد تشکیل‌دهنده خمیر کاغذ^۲ همچون مواد افزودنی و آلاینده‌های موجود در خمیر بازیافتی، ممکن است باعث مغایرت‌هایی در نتایج مقایسه‌ای اثر تیمار آنزیمی بر این دو نوع خمیر کاغذ شود. برخلاف گزارش‌های مثبت تیمار آنزیمی

^۱ Middle lamella

^۲ Furnish

منابع

- 1-Banci L., Ciofi-Baffoni S., Tien M., Lignin and Mn peroxidase-catalyzed oxidation of phenolic lignin oligomers , *Biochemistry*, 38, 3205, (1999).
- 2-Bhat, G., Heitmann, T., Toyce, T., 1991. Nevel techniques for enhancing the strength of second dry fiber, *Tappi J.* 74 (9), 151-157.
- 3-Bollag, J., and Leonowicz, A., 1984. *Applied and Environmental Microbiology* 48, 849.
- 4-Bourbonnais R., Paice M.G., 1996. Enzymatic delignification of kraft pulp using laccase and a mediator , *Tappi J.* 79,199-205.
- 5-Brancato, A. A., 2008. Effect of progressive recycling on cellulose fiber surface properties, Doctor of philosophy thesis, Georgia institute of technology, School of chemical and bimolecular engineering, 131p.
- 6-Camarero S., Ibarra D., A´ngel T. Mart´mez, Javier Romero, Ana Guti´errez, Jos´e C. del R´., 2007. Paper pulp delignification using laccase and natural mediators. *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 1264–1271.
- 7-Chandra, R. P., and Ragauskas, A. J., 2002. Evaluating Laccase Facilitated Coupling of Phenolic Acids to High-Kappa Kraft Pulps, *Enzyme and Microbial Technology*, 30, 855-861.
- 8-Call H.P. and Mucke I., 1997. *Journal of Biotechnology*, 1637-53.
- 9-Da Silva T.A., Mecchiutti P., Zanattini M. A., Ramos L.P., 2007. Chemical haracterization of pulp component in unbleached soft wood kraft fiber recycled with the assistance of Laccase /HBT system. *Bioresource Journal.* 2(4), 616-629.
- 10-Gianfreda, L., Xu, F., and Bollag, J. M., 1999. *Bioremediation Journal*, 3. 1.
- 11-Hamesi, A., 1995. Application enzyme biotechnology in pulp and paper industry, *Journal of agricultural science, Islamic Azad University.* (1): 11-17. (In Persian)
- 12-Howard, R. C., and Bichard, w., 1992. The effects of recycling on pulp properties. *J. Pulp Paper Sci.*, 18(4), J. 151-159.
- 13-Horn, R. A., 1993. What are the effects of recycling on fiber and paper properties? *Prog. Paper Recycling*, 4(2): 76.
- 14-ISIRI test method, 1388. 3788-3, Pulps-Preparation of laboratory sheets for physical testing-Part3: Conventional and Rapid-Köthen sheet formers using a closed water system, Institute of Standards and Industrial Research of Iran.
- 15-Jahan Latibari, A., Hossienzadeh, A., Fakhrian, A., 2000. PROPERTIES OF EUCALYPTUS CAMALDULENSIS WOOD GROWN IN SOUTHERN REGION OF IRAN, *Iranian journal of wood and paper science research*, Research Institute of Forests and Rangelands, (10): 91-147. (In Persian)
- 16-Mckee, R. C., 1997. Effect of repulping on sheet properties and fiber characteristics. *Paper Trade. J.* 155(1): 34.
- 17-Mirshokraei, S. A., 1381, *Guide to waste paper.* Aiezh press, 140 pages. (In Persian)
- 18-Mocchiutti P., Zanuttini, M., Kruus, K., and Suurnäkki, A. 2008. Improvement of the fiber – bonding capacity of unbleached recycled pulp by the Laccase /mediator treatment, *Tappi J.* .
- 19-Nazhad, N. and Paszner, L., 1994. Fundamentals of strength loss in recycled paper. *Tappi J.* 77(9), 171-179.
- 20-Pag, D. H. , and Tydeman, P. A., 1962. A new theory of the shrinkage, structure and properties of paper, *Trans. ED. F. Bolam. Oxford Symposium*, 1961, Tech. Seet. British paper and board makers assouation, London, pp.379-421.
- 21-SCAN standard, 1972. C 19:6, “SR degree of pulp and paper”.
- 22-Sarkar,J.M., Cosper, D.R., and Hartig, E.J. 1995. Applying enzymes and polymers to enhance the freeness of recycled fiber, *Tappi J.* 78(2), 89-95.
- 23-Saparrat, M.C.N., Mocchiutti, P., Liggieri, C.S., Aulicino, M.B., Caffini, N.O., Balatti, P.A., and Martinez, M.J. 2008. Ligninolytic enzyme ability and potential biotechnology applications of the

- white-rot fungus *Grammothele subargentea* LPSC no. 436 strain, Elsevier Ltd., *Process Biochemistry* 43, 368–375.
- 24-Schlosser D, Grey R., and Fritsche W., 1997. *Applied Microbial Biotechnology*, 47, 412.
- 25-Sealey J. and Ragauskas, A. J., 1998. Residual lignin studies of laccase-delignified kraft pulps. *Enzyme and Microbial Technology* 23:422–426, 1998, Institute of Paper Science and Technology, Atlanta, GA.
- 26-Tappi test methods, 1999. T 236 om-99, “Kappa number of pulp”, TAPPI PRESS.
- 27-Tappi useful test methods, 1991. UM 256, “Water retention value (WRV)”, TAPPI PRESS.
- 28-Tappi useful test methods, 1983. UM 250, “Acid-soluble lignin content”, TAPPI PRESS.
- 29-Tesotove Lidia, 2006. Hemicellulose extraction from Birch wood prior to kraft cooking (extraction optimization and pulp properties investigation) Uleå University of Technology, Master’s Thesis. 1-69.
- 30- Van wyk, W. and Gerischer, G., 1982. The influence of recycling on the strength properties of machine made paper. *Paperi Puu* 64(9): 26 526.
- 31-Witayakran S. and Ragauskas A.J., 2008. Modification of high-lignin softwood kraft pulp with laccase and amino acids. *Enzyme and Microbial Technology* 44, 176–181.

Effect of Lactase Enzyme on Delignification and Physical Properties of OCC Pulp

M. Moradi^{*1}, H. Kermanian², S. Mahdavi³ and O. Ramezani⁴

Abstract

Old Corrugated Container (OCC) recycled pulp provided by a local paper manufacturing company was treated by lactase enzyme. The pulp was sampled from headbox and treated by enzyme in the conditions of consistency 2%, pH 5, reaction time 2 hours, and reaction temperature 60 °C in dosing levels of 0.005, 0.01 and 0.015 % based on oven-dried weight of pulp. Fiber classification of the control pulp showed 31.3 % of fines content and 0.82 mm average fiber length. Results have indicated that lactase treatment decreased kappa number and SR degree to 20% and 14 degrees, respectively which consequently facilitated the drainage of pulp. The extraction of treated samples showed a peak at around 280 nm, confirming the delignification of pulp by enzyme. Microscopic observation of fiber walls of the treated sample indicated a local separation of middle lamella, fiber linting and removal of fines from fiber surface. The highest Water Retention Value (WRV) was measured to be at 0.015% enzyme addition level. The apparent density of handsheets made from treated samples was lower compared with the handsheets made of control pulp resulting in loss of paper strengths.

Keywords: Lactase enzyme, Old corrugated container (OCC), SR degree, Kappa number, Water retention value (WRV), Apparent density.

* Corresponding author: Email: moradi_masoume@yahoo.com