نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل
جلد بیست و چهارم، شماره چهارم، ۱۳۹۶
http://jwfst.gau.ac.ir

تأثیر تیمار خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه با آنزیم لاکاز بر مقاومت‌های آن

*سعید مهدوی[۱]، حسین کرمانیان[۲]، معصومه مرادی[۳] و امید رمضانی[۴]

[۱]دانشیار، بخش تحقیقات علوم چوب و فراورده‌های آن، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، [۲]دانشیار، گروه مهندسی فن‌آوری تولید سلولز و کاغذ، دانشکده مهندسی انرژی و فن‌آوری‌های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیرآب، سوادکوه، [۳]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، صنایع خمیر و کاغذ، دانشکده مهندسی انرژی و فن‌آوری‌های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیرآب، سوادکوه، [۴]استادیار، گروه مهندسی فن‌آوری تولید سلولز و کاغذ، دانشکده مهندسی انرژی و فن‌آوری‌های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیرآب، سوادکوه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۰۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: کاغذهای تهیه شده از الیاف بازیافتی به‌علت تعدد چرخه بازیافت، دارای مقاومت‌های کمتری نسبت به کاغذهای تهیه شده از الیاف بکر می‌باشند. به‌منظور رفع این مشکل، تاکنون راه‌کارهای مختلفی ارائه شده که استفاده از آنزیم‌های تخصصی از جمله آن‌هاست. در حالی‌که استفاده از آنزیم‌ها در صنایع خمیر و کاغذسازی هنوز در مرحله تحقیق و توسعه است، اما برخی از این واحدهای پیشتاز توانسته‌اند این فناوری را به‌کار گیرند. راهکارهای مختلفی برای تقویت اتصال الیاف بازیافتی و در نتیجه بهبود مقاومت‌های کاغذ ساخته شده از آن‌ها وجود دارد. یکی از این روش‌ها استفاده از آنزیم‌های اکسیدکننده مثل سلولاز و لاکاز است که موجب تسریع در لیگنین‌زدایی می‌شوند. بر اساس تحقیقات انجام شده، سیستم لاکاز- واسطه‌گر بیشترین تأثیر را بر روی افزایش مقاومت‌های کاغذ داشته است. از جمله واسطه‌گرهای متداول لاکاز، ABTS و HBT هستند که دارای جرم مولکولی پایینی بوده و به‌عنوان بهترین اکسیدکننده قسمت‌های غیرفنلی لیگنین مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این تحقیق اثر تیمار خمیرکاغذ کارتن کهنه با آنزیم لاکاز به منظور افزایش مقاومت‌های کاغذهای بازیافتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه (OCC) از جعبه تغذیه یک واحد تولید کاغذهای بازیافتی در شمال کشور (شرکت افرنگ نور) تهیه شد و سپس کلاسه‌بندی الیاف آن توسط دستگاه باور مگ‌نت انجام شد. برای تیمار آنزیمی خمیرکاغذ OCC از آنزیم لاکاز و واسطه‌گر HBT استفاده شد. شرایط تیمار آنزیمی شامل رساندن درصد خشکی به ۲ و pH به ۵ بود که در مدت زمان ۲ ساعت و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد با سه سطح آنزیم (۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد بر مبنای وزن خشک خمیرکاغذ) اعمال شد. برای ساخت کاغذ دست‌ساز و اندازه‌گیری ویژگی‌های آن از استاندارد TAPPI استفاده شد و نیز تجزیه و تحلیل آماری نتایج به کمک طرح آماری کاملا تصادفی انجام شد.

یافته‌ها: نتایج کلاسه‌بندی الیاف خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه نشان داد که حدود ۳۱ درصد وزن خمیرکاغذ OCC را نرمه‌ها تشکیل می‌دهند. همچنین تجزیه و تحلیل آماری نتایج به‌دست آمده نشان داد که تیمار خمیرکاغذ OCC با

*مسئول مکاتبه: smahdavi@rifr-ac.ir

آنزیم لاکاز بر مقاومت‌های کاغذ دست‌ساز در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار است. با مصرف ۰/۰۰۵ درصد آنزیم لاکاز، شاخص مقاومت به کشش و ترکیدن کاغذ نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. آزمون دانکن نشان داد که بین میانگین این دو شاخص با مصرف ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱۵ درصد آنزیم (بر مبنای وزن خشک خمیرکاغذ) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و در یک گروه آماری قرار می‌گیرند. روند تغییرات شاخص مقاومت به پاره شدن برعکس دو شاخص دیگر بوده و مقاومت کنکورای لایه میانی (CMT) در کلیه سطوح مورد استفاده آنزیم کاهش پیدا کرد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت و نقش دو مقاومت اصلی کشش و ترکیدن در کاغذهای تست لاینر که به‌طور قابل توجهی در صنایع بسته‌بندی کاربرد دارد، مصرف ۰/۰۰۵ درصد آنزیم لاکاز (نسبت به وزن خشک خمیرکاغذ) به همراه واسطه‌گر HBT برای بهبود این مقاومت‌ها توصیه می‌شود. باتوجه به افت شاخص مقاومت کنکورای لایه میانی (CMT)، به کارگیری لاکاز برای تیمار خمیرکاغذ مورد استفاده در ساخت کاغذ کنگره‌ای مناسب نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه، لاکاز-HBT، تیمار آنزیمی، مقاومت‌های کاغذ

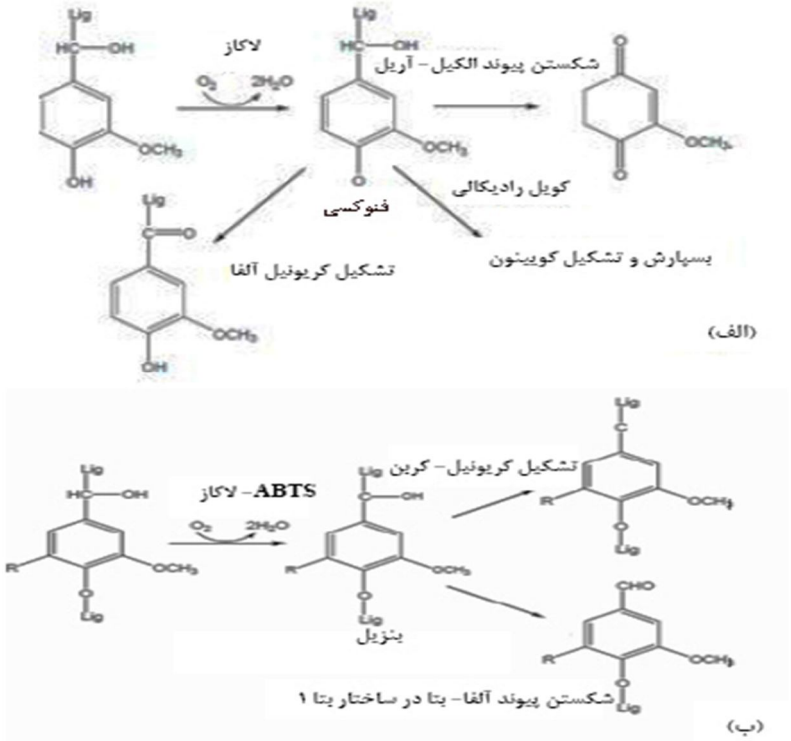
مقدمه

ویژگی مهم کاغذ، خواص مقاومتی آن است و لذا لازم است محصولات کاغذی از مقاومت کافی برخوردار باشند تا به‌صورت رضایت بخشی استفاده شوند. کمبود چوب موجب شده است که صنعت بازیافت کاغذ کشور، جایگاه نسبتا مناسب خود را از نظر کمی تثبیت نماید. ولی متأسفانه به دلایل متعدد، کیفیت محصولات بازیافتی در اکثر واحدهای داخلی قابل رقابت با محصولات مشابه وارداتی نمی‌باشد. زیرا در جریان بازیافت، الیاف به‌طور برگشت ناپذیری آسیب می‌بینند و این آسیب بر خواص مقاومتی کاغذ حاصل تأثیر می‌گذارد (۱). خمیرکاغذ بازیافتی دارای مقاومت پایین‌تر و مقاومت به آبگیری بالاتری در مقایسه با خمیرکاغذ تهیه شده از الیاف بکر هستند، که این موضوع باعث محدود شدن کیفیت کاغذ و سرعت عمل ماشین کاغذ می‌شود خواص مکانیکی و توانایی این الیاف بعد از ساخت کاغذ در شرایط خشک شدن و خمیرسازی کاهش می‌یابد (۳).

بیشترین کاربرد و جذابیت استفاده از فناوری زیستی[1] شامل ذخیره انرژی و کاهش هزینه‌هاست که مزایای زیست محیطی قابل توجهی را نیز در بردارد. آنزیم‌ها به مثابه کاتالیزورهای زیستی هستند که واکنش‌ها را آسان‌تر می‌کنند و انواع اصلاح شده و پیشرفته‌تر آن‌ها دارای گزینش‌پذیری، سرعت واکنش و بازده بیشتری هستند (۳). تاکنون بیشترین مقدار تولید لاکاز به‌وسیله قارچ‌های پوسیدگی سفید گزارش شده است. این میکروارگانیسم قادر به تبدیل همه ترکیبات لیگنین به آب و کربن دی اکسید است (۲). لاکاز مانند یک باکتری عمل می‌کند. الکترون‌های ناشی از واکنش‌های اکسایش منفرد را ذخیره می‌کند تا اکسیژن مولکولی را احیا نماید. اکسایش بستر به‌وسیله لاکاز یک واکنش تک‌الکترونی است که یک رادیکال آزاد تولید می‌کند، به همین دلیل برای کاهش کامل اکسیژن مولکولی به آب، باید چهار مولکول بستر اکسید شوند. در اکسایش بستر خنثی، پیوند بین کربن آلفا و بتا و پیوند بین آلکیل- آلکیل می‌شکند

1- Hydroxybenzotriazole (HBOT)

(شکل ۱- الف). لاکاز مانند دیگر آنزیم‌های تجزیه‌کننده لیگنین، به‌دلیل قابلیت پایین برای کاهش یافتن و طبیعت بسپاری تصادفی لیگنین، فقط می‌تواند بخش‌های فنلی لیگنین را اکسید کند. بنابراین، از برخی ترکیبات واسطه کوچک طبیعی با جرم مولکولی پایین مثل ABTS[1] و HOBT[2] می‌توان برای اکسید کردن قسمت غیرفنلی لیگنین استفاده کرد (شکل ۱- ب). بوربونایس و پیس (۱۹۹٦) توانسته‌اند با استفاده از یک مرحله استخراج قلیایی پس از تیمار خمیرکاغذ با آنزیم لاکاز- ABTS، حدود ۲٦ درصد عدد کاپای خمیرکاغذ را کاهش دهند، ولی امکان استفاده تجاری از این سیستم برای رنگبری خمیرکاغذ را به‌دلیل قیمت گران ABTS، در آینده نزدیک عملی نمی‌دانند (٤). در صنعت بازیافت، بهبود کیفیت الیاف بازیافتی می‌تواند با مصرف آنزیم‌های اکسید کننده، مانند آنزیم لاکاز افزایش یافته و مقاومت کاغذ ارتقاء یابد (۲).



شکل ۱- اکسایش زیستی توسط لاکاز (الف) نحوه تأثیر لاکاز بر واحدهای فنلی لیگنین (ب) ترکیبات لیگنین غیرفنلی به وسیله یک سامانه لاکاز همراه با واسطه‌گر ABTS (٤).

Figure 1. Biological oxidation by laccase, (A) The effects of laccase on lignin phenolic units (B) Non-phenol lignin compounds by means of a system with laccase-ABTS (4).

1-2,2'-azinobis-(3-ethylbenzenthiazoline-6-sulfonicacid) (ABTS)
2-1-Hydroxybenzotriazole (HBT)

ساپارات و همکاران (۲۰۰۸) بررسی در مورد تیمار آنزیمی (لاکاز- HBT) خمیرکاغذ کرافت بازیافت شده (در آزمایشگاه) از مخلوط سوزنی‌برگان و اکالیپتوس گلوبولوس انجام دادند. نتایج نشان داد که دانسیته ظاهری و مقاومت کششی ورقه‌ها نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته و ضریب پخش نور[1] کاهش یافت (۲۶).

لیان و همکاران (۲۰۱۲) با استفاده از عکس‌های میکروسکوپ الکترونی ثابت کردند که پالایش ملایم خمیرکاغذ بکر یک گونه کاج قبل از تیمار آنزیمی لاکاز- زایلاناز، موجب افزایش دسترس‌پذیری آنزیم شده و مقدار لیگنین‌زدایی آنزیمی بدون کاهش قابل‌توجه بازده خمیرکاغذ، بهبود می‌یابد (۱٤).

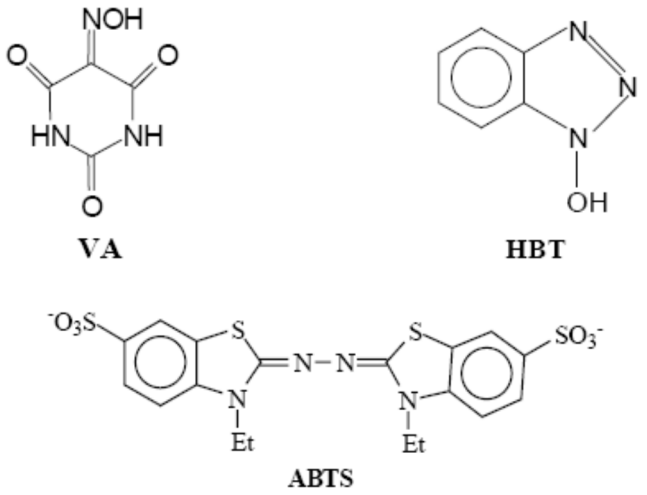
حزبی و افرا (۲۰۱۲) در پیش‌تیمار خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه با آنزیم اندوگلوکاناز نتیجه گرفتند که تیمار این خمیرکاغذ در زمان‌های مختلف موجب بهبود ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی کاغذ در مقایسه با شاهد شده به طوری که حداکثر مقدار این ویژگی‌ها در مدت زمان تیمار آنزیمی ۰/۵ ساعت مشاهده شد (۹).

در این ارتباط، سرعت عملکرد و هزینه نسبتا مناسب در استفاده از آنزیم با کاربرد روش‌های پیشرفته فناوری[2] می‌تواند ضمن ارتقاء کیفیت محصول و عرضه به بازار رقابت جهانی در مقیاس کلان با افزایش ارزش افزوده محصول، زمینه سودآوری را برای کشور فراهم نماید. لذا با توجه به کیفیت پایین کاغذهای تست لاینر و کنگره‌ای تولید شده در داخل کشور و مطالعات بسیاری (باجپای، ۲۰۱۰؛ لیو و همکاران، ۲۰۰۹؛ چاندرا و همکاران، ۲۰۰٤؛ بوربونایس و همکاران، ۱۹۹٦) که در جهت بهبود خواص تولیدات کاغذی با کاربرد فن‌آوری زیستی در سراسر دنیا انجام شده است، این تحقیق در راستای بهبود مقاومت‌های کاغذهای بازیافتی با استفاده از آنزیم لاکاز شکل گرفت (۳، ٤، ٦، ۱۵).

لوند و فلبای (۲۰۰۰) بیان کردند، زمانی‌که خمیرکاغذ کرافت بازده بالا با آنزیم لاکاز تیمار می‌شود هیچ اثری بر روی مقاومت کششی خشک ندارد و تنها اثر بسیار کم و ناچیزی بر روی مقاومت کششی تر دارد (۱۷). سیستم لاکاز- واسطه‌گر[3] بیشترین تأثیر را نسبت به لاکاز تنها بر روی افزایش مقاومت کاغذ کرافت ساخته شده از خمیر رنگبری نشده دارد. سه نوع واسطه‌گر متداول در شکل ۲ قابل مشاهده می‌باشد. در مطالعه ونگ و همکاران (۱۹۹۹) مصرف مقدار کمی از لاکاز-HBT را برای بهبود مقاومت خمیر کرافت بازده بالا استفاده کردند (۳۰). ایشان بهبود مقاومت‌ها را به بسپارش لیگنین در کاغذهای دست‌ساز و اتصال عرضی رادیکال‌های فنوکسی در الیاف مجاور نسبت داده‌اند. کاربرد سیستم لاکاز- واسطه‌گر، به‌منظور تولید مقوای کنگره‌ای یا توپر[4] از خمیرکاغذ محتوی لیگنین نیز بررسی شده است.

وچیوتی و همکاران (۲۰۰۸) از خمیرکاغذ کرافت سوزنی برگ رنگبری نشده بازیافتی با عدد کاپای ۹۲ برای بررسی ویژگی‌های خمیرکاغذ با تیمار آنزیم لاکاز استفاده کردند (۲۰). کاهش عدد کاپا (۸ درصد)، تشکیل و افزایش رادیکال‌ها (۵ درصد) و افزایش ضریب جذب (۱۹ درصد) از جمله نتایج این بررسی بود. در این بررسی از تیمار قلیایی بعد از تیمار با آنزیم لاکاز استفاده شد و افزایش مقاومت به کشش الیاف و مقاومت فشاری حاصل شد که در اصل لیگنین باقی مانده در خمیرکاغذ اکسید شده و ظرفیت اتصال در الیاف بازیافتی را بهبود می‌بخشد.

1- Scattering coefficient
2- High Technology
3- Laccase mediator system (LMS)
4- Solid board



شکل ۲- سه نوع واسطه‌گر متداول آنزیم لاکاز مورد استفاده برای خمیرکاغذ (۳۰)

Figure 2. Three types of laccase mediator commonly used for pulp (30)

هدف از انجام این تحقیق بررسی امکان بهبود مقاومت‌های خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه با استفاده از آنزیم لاکاز برای تولید کاغذهای بسته‌بندی بازیافتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آنزیم: آنزیم لاکاز استخراج شده از قارچ *Mytheliophthora thermophila* (MTL) با کد ۵۱۰۰۳ از نمایندگی شرکت نووزایم[1] در کشور پرتغال تهیه شد. این آنزیم به شکل مایع همراه واسطه هیدروکسی بنزو تریازول (HBT) با میزان فعالیت اولیه ۱۲۵ U/ml در سه سطح فعالیت آنزیم بر مبنای وزن خشک خمیر کاغذ استفاده شد.

خمیرکاغذ: خمیر کاغذ موردنیاز از یک واحد تولید کاغذ تست‌لاینر و فلوتینگ بازیافتی در داخل کشور و از قسمت جعبه تغذیه با درصد خشکی ۱/۵ تهیه شد. به‌منظور جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم‌ها، خمیرکاغذ در سردخانه‌ای با دمای زیر ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از اندازه‌گیری ویژگی‌های مقاومتی خمیرکاغذ شاهد، pH خمیرکاغذ به درصد خشکی ۲ درصد به‌وسیله 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، خمیرکاغذ با سه مقدار آنزیم ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ (درصد بر مبنای وزن خشک خمیر کاغذ) مخلوط شد. مخلوط حاصل داخل حمام آب گرم در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت با تزریق مداوم اکسیژن (به‌صورت حباب)، باهم زدن دستی، تیمار شد. شرایط ثابت تیمار آنزیمی شامل: تزریق اکسیژن، مدت زمان تیمار و دمای واکنش و عامل متغیر شامل اعمال سه سطح آنزیم بود. برای غیرفعال کردن اثر آنزیم باقیمانده بر خمیرکاغذ، از پراکسید هیدروژن ۰/۰۵ درصد (براساس وزن خشک خمیرکاغذ) طی مدت زمان ۱۰ دقیقه استفاده شد و سپس خمیرکاغذ با آب مقطر شستشو داده شد. کلاسه‌بندی الیاف خمیرکاغذ به‌وسیله دستگاه باور مک‌نت[2] طبق استاندارد تاپی شماره (T233 om-06) انجام شد. برای ساخت کاغذ دست‌ساز از

1- Novozyme

2- Bauer-McNett

استاندارد ملی ایران شماره ۳-۳۷۸۸ استفاده شد. این استاندارد روش ساخت کاغذ با سیستم بسته آب و گردش نرمه‌ها[1] 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 تغییرات قابل توجهی در ساختار کاغذ می‌شود. در سیستم‌های متداول[2] ساخت کاغذ دست‌ساز، مقدار زیادی از نرمه‌های خمیرهای مکانیکی و بازیافتی از توری عبور می‌کند و کاغذ دست‌ساز تهیه شده، معرفی از خمیر نهایی[3] نمی‌باشد. امروزه واحدهای تولید کاغذ بازیافتی به سمت استفاده از آب فرآیندی در خمیرساز و رقیق‌سازی خمیر با آن در مخزن ماشین[4] می‌روند. از این نظر، اهمیت استفاده از آب فرآیندی محسوس می‌باشد. بنابراین از این استاندارد جهت تشابه بیشتر آزمایشات با مقیاس صنعتی نیز استفاده شد.

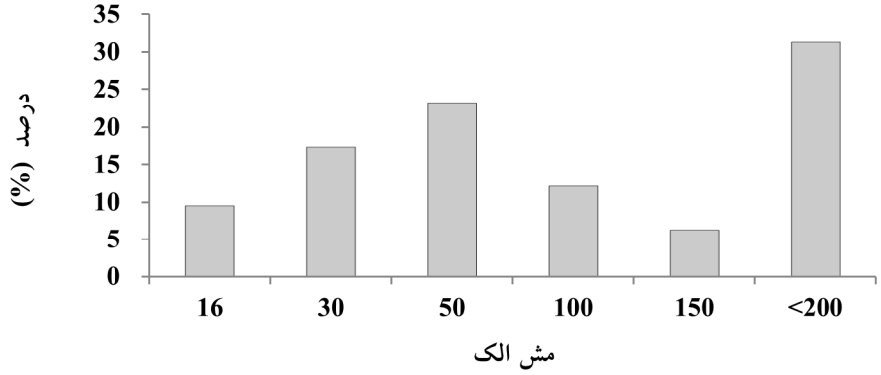
برای اندازه‌گیری ویژگی‌های خمیرکاغذ و کاغذ دست‌ساز از استاندارد تاپی به شرح زیر استفاده شد:

- جرم پایه کاغذ (T410 om-02)
- مقاومت در برابر پاره شدن (T414 om-04)
- مقاومت در برابر ترکیدن (T403om-02)
- مقاومت به کشش (T494 om-01)
- مقاومت کنکورای لایه میانی (T809 om-99)
- کلاسه‌بندی الیاف (T233 cm-06)

تجزیه و تحلیل آماری نتایج مربوط به مقایسه مقاومت‌های خمیرکاغذ شاهد و تیمار شده با آنزیم با روش تجزیه واریانس یک طرفه انجام شد و گروه‌بندی نتایج به وسیله آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کلاسه‌بندی الیاف[5]: شکل ۳ وضعیت پراکنش و میانگین طول الیاف خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود حدود یک سوم وزن خمیرکاغذ را نرمه‌ها تشکیل می‌دهند که بر رفتار خمیرکاغذ حین آبگیری، ظرفیت نگهداری آب (WRV[6]) و ویژگی‌های فیزیکی و مقاومتی آن تأثیرگذارند (۲۱). بر اساس مطالعات قبلی، اثر نرمه‌ها بیشتر بر کاهش درجه روشنی خمیرکاغذ بازیافتی، به‌علت وجود ذرات باقیمانده مرکب در آن‌ها می‌باشد (۱۱).



شکل ۳- کلاسه‌بندی الیاف خمیرکاغذ OCC.

Figure 3. Fiber classification of OCC pulp.

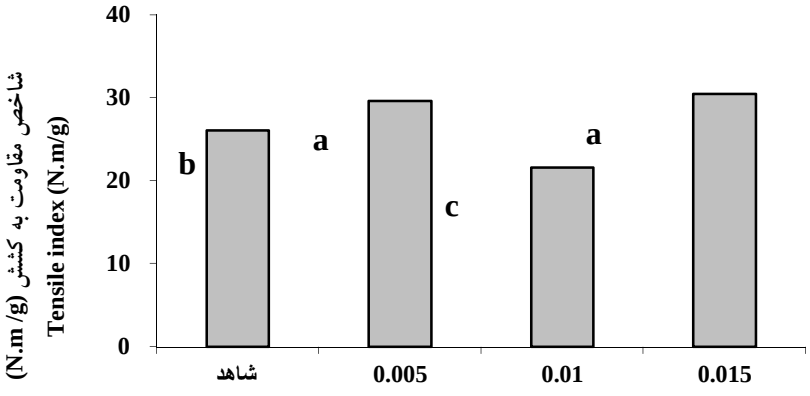
1- Fines
2- Conventional
3- Furnish
4- Machine chest
5- Fiber classification
6- Water Retention Value (WRV)

شاخص مقاومت کششی: مقاومت کششی به مقاومت اتصال بین الیاف بستگی دارد و بیشترین شاخص مربوط به تیمار خمیرکاغذ با ۰/۰۱۵ درصد آنزیم می‌باشد که طبق آزمون تجزیه واریانس با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بوده و بیشتر است. داسیلوا و همکاران (۲۰۰٦) افزایش ۹/٤ درصدی مقاومت کششی خمیرکاغذ بازیافت شده کرافت لاینر سوزنی‌برگ را با تیمار لاکاز- HBT گزارش کرده‌اند. موچیوتی و همکاران (۲۰۰۸) علت افزایش شاخص مقاومت کششی خمیرکاغذ کرافت بازیافتی در اثر تیمار با آنزیم لاکاز- HBT را افزایش در ظرفیت اتصال الیاف می‌دانند. لیو و همکاران (۲۰۰۸) نیز افزایش سطح اتصال بین الیاف خمیرکاغذ کرافت رنگبری نشده که با لاکاز تیمار شده بود را اعلام نمودند. تجزیه واریانس نتایج نشان داد که شاخص مقاومت کششی کاغذهای ساخته شده در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار است. از جمله دلایل احتمالی کاهش این شاخص در تیمار خمیرکاغذ با ۰/۰۱ درصد آنزیم را می‌توان به واکنش‌های پیچیده لیگنین (تخریب/ بسپارش/ تراکمی) و نیز برهمکنش[1] مواد اضافی موجود در خمیرکاغذ کارتن کهنه نسبت به خمیرکاغذ بکر، مربوط دانست. از یک طرف، واکنش‌های تراکمی رادیکال‌های فنوکسی[2] لیگنین (که با کاهش سریع عدد کاپای خمیرکاغذ، افزایش می‌یابد) و جفت شدن گروه‌های رنگی لیگنین با گروه‌های کربونیل متصل به کربن آلفا (کریستینی و آرگیروپولوس، ۲۰۰۱) و از طرف دیگر واکنش‌های ناشناخته ناشی از حضور آشغال‌های آنیونی[3] و کلوئیدهای آنیونی موجود در خمیرکاغذ بازیافتی می‌تواند بر این تغییرات اثر گذارد. مرادی و همکاران (۲۰۱۳) علت کاهش حجم ویژه ورق را خنثی شدن گروه‌های کربوکسیلی آزاد شده لیگنین، در اثر تماس با ترکیبات آنیونی موجود در خمیرکاغذ بازیافتی و نشست دوباره آنها بر روی الیاف که موجب کاهش و خنثی شدن رادیکال‌های آزاد می‌شود، می‌دانند. کاهش عدد کاپای خمیرکاغذ با مصرف ۰/۰۱ درصد لاکاز در تحقیق مذکور و در نتیجه کاهش اتصالات عرضی رادیکال‌های فنوکسی بین الیاف مجاور (ونگ و همکاران، ۱۹۹۹) می‌تواند از جمله دلایل کاهش مقاومت کششی باشد. نوسانات غیرعادی کاهشی و افزایشی مقاومت کششی می‌تواند ناشی از اثرات متقابل پیچیده‌ای باشد که در تحقیقات مشابه (حزبی و افرا، ۲۰۱۲؛ هیو و همکاران، ۲۰۱۳) نیز تا حدودی به چشم می‌خورد. این در حالی است که در خصوص نحوه و مدل شکست اتصالات لیگنین توسط لاکاز- HBT هنوز تناقض وجود دارد (ویدستن و کندل‌باور، ۲۰۰۸). مقادیر شاخص مقاومت کششی در این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط حزبی و افرا (۲۰۰۲) برای تیمار خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه با آنزیم اندوگلوکاناز به‌مدت ۰/۵ ساعت مطابقت دارد.

فعالیت لاکاز تاحدودی تحت تأثیر عملکرد چهار اتم مس آن می‌باشد که عدم تثبیت اتصالات آنیونی آنها می‌تواند بر فعالیت آنزیم اثر بگذارد (مهدوی و لل، ۲۰۰۹). چهار نوع اتم مس با کمک نور مرئی فرابنفش و اسپکتروسکوپی تشخیص داده شده‌اند که نوع اول مسئول رنگ آبی پروتئین بوده و در طول موج ٦۱۰ نانومتر قابل مشاهده است. نوع دوم مس رنگی ایجاد نکرده ولی با روش اسپکتروسکوپی قابل تشخیص است و نوع سوم اتم‌های مس متشکل از یک جفت اتم مس دو هسته‌ای[4] است که جذب ضعیفی در ناحیه طیف فرابنفش داشته اما با روش

1- Interaction
2- Phenoxy radicals
3- Anionic trash
4- Binuclear

اسپکتروسکوپی قابل تشخیص نمی‌باشند. اتم‌های نوع دوم و سوم مس نزدیک به هم بوده و نقش کاتالیزور را برای آنزیم ایفا می‌کنند. بسیاری از یون‌ها نظیر هالیدها، سیانیدها، فلوئوریدها و هیدروکسیدها به مس نوع ۲ و ۳ متصل می‌شوند که این اتصال سبب وقفه انتقال الکترون داخلی و بازدارندگی فعالیت آنزیم می‌شود (تارستن، ۱۹۹٤).



شکل٤- تأثیر مقادیر مختلف آنزیم بر شاخص مقاومت کششی

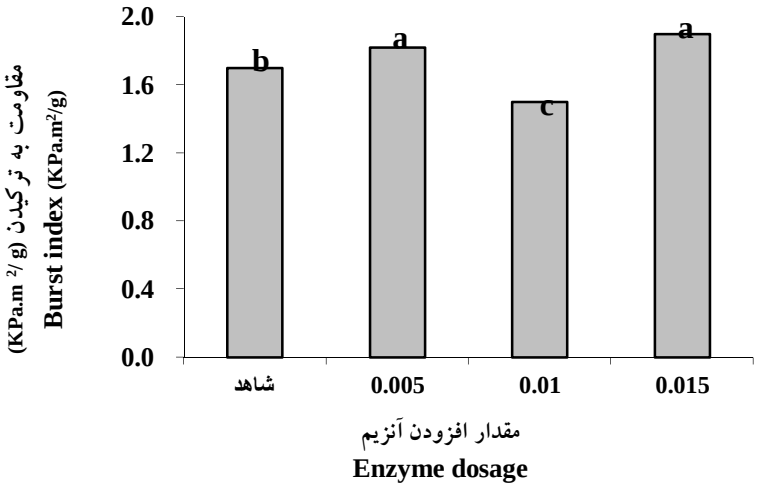
Figure 4. The effect of enzyme dosage on tensile index

شاخص مقاومت به ترکیدن: مقاومت به ترکیدن همانند شاخص کششی به میزان اتصالات و مقاومت اتصال بستگی دارد. بین میانگین شاخص مقاومت به ترکیدن کاغذهای دست‌ساز نیز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۹۹ درصد وجود دارد (شکل ۵). روند تغییرات این ویژگی نیز مشابه مقاومت کششی است و آزمون دانکن نشان داد که اختلاف آماری بین خمیرکاغذ تیمار شده با ۰/۰۱۵ و ۰/۰۰۵ درصد آنزیم وجود ندارد و هر دو در گروه a قرار می‌گیرند. مواردی که برای توجیه روند تغییرات مقاومت کششی، شامل کاهش بسپارش لیگنین و در نتیجه کاهش اتصالات عرضی رادیکال‌های فنوکسی در خصوص کاهش مقاومت کششی مطرح شد، در مورد کاهش مقاومت ترکیدن کاغذ دست‌ساز با استفاده از ۰/۰۱ درصد لاکاز نیز مطرح است. روند تغییرات شاخص ترکیدن کاغذ با افزایش مقدار آنزیم از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۱۵ مشابه تغییرات حجم ویژه ورق، ظرفیت نگهداری آب در تحقیق مرادی و همکاران (۲۰۱۳) می‌باشد که نشان‌دهنده افزایش پدیده استخوانی شدن[1] و صلبیت الیاف و در نتیجه کاهش مقاومت به ترکیدن کاغذ با اعمال تیمار آنزیمی ۰/۰۱ درصد می‌باشد. مقادیر این شاخص با نتایج تحقیق حزبی و افرا (۲۰۱۲) که برای تیمار خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه با آنزیم اندوگلوکاناز به‌مدت ۰/۵ ساعت می‌باشد، مطابقت دارد.

بوربونایس و پیس (۱۹۹٦) افزایش ۳۰ درصدی در شاخص ترکیدن خمیرکاغذ بکر کرافت که با آنزیم لاکاز و واسطه‌گر ABTS تیمار شده بود را گزارش نمودند. چاندرا و همکاران (۲۰۰٤) نیز افزایش ۳٤ درصدی خمیرکاغذ کرافت تیمار شده با لاکاز در حضور اسید گالیک را گزارش نموده‌اند که علت آن را افزایش اتصالات هیدروژنی و ایجاد اتصالات عرضی در رادیکال فنوکسی می‌دانند. پیج و همکاران (۱۹۸۵)

1- Hornification

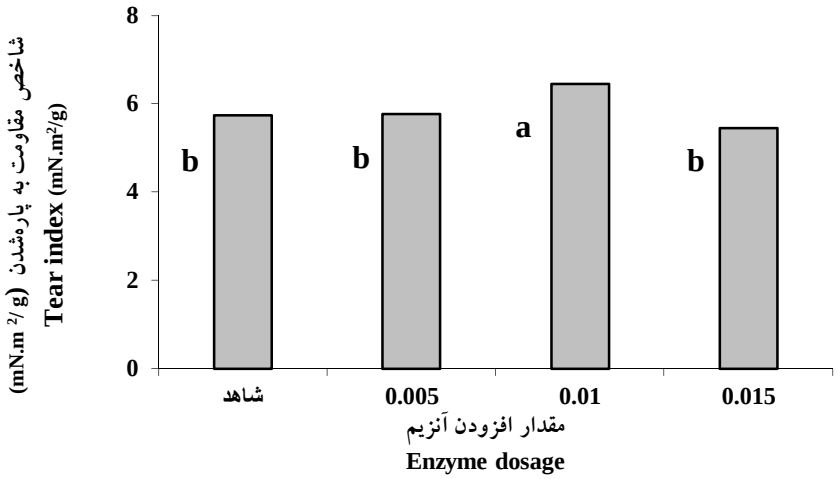
تفاوت‌های اساسی در مقاومت‌های خمیرکاغذ بازیافتی و بکر را به‌دلیل بروز پدیده استخوانی شدن طی خشک‌شدن‌های متوالی الیاف بازیافتی می‌دانند.



شکل۵- تأثیر مقادیر مختلف آنزیم لاکاز بر شاخص مقاومت به ترکیدن

Figure 5. The effect of enzyme dosage on burst index

شاخص مقاومت به پاره شدن: مقاومت به پاره شدن به مقاومت تک تک الیاف موجود در خمیر کاغذ وابسته است. اختلاف بین میانگین‌های شاخص مقاومت به پاره شدن کاغذهای دست‌ساز در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار بوده و شکل ٦ نشان می‌دهد که تیمار خمیرکاغذ با ۰/۰۱ درصد آنزیم توانسته است مقاومت به پاره شدن کاغذ را نسبت به شاهد و دو تیمار آنزیمی دیگر، افزایش معنی‌داری دهد و از نظر آماری در گروه a قرار گیرد. بین شاخص پاره شدن خمیرکاغذهای تیمار شده با ۰/۰۱۵ و ۰/۰۰۵ درصد آنزیم نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. بوربونایس و پیس (۱۹۹٦) کاهش شاخص مقاومت به پاره شدن خمیرکاغذ بکر کرافت تیمار شده با آنزیم لاکاز و واسطه‌گر ABTS را گزارش نمودند. پیرو مباحث قبلی، وجود تفاوت در ترکیب خمیرکاغذ کارتن کهنه و بکر را شاید بتوان از دلایل مغایرت این نتیجه دانست. حزبی و افرا (۲۰۱۲) بهبود مقاومت به پارگی خمیرکاغذ تیمار شده با آنزیم را به بهبود فیبریله شدن دیواره سلولی الیاف مربوط دانسته و معتقدند که با افزایش بیشتر مقدار آنزیم، باید روند کاهشی این مقاومت را به دلیل کنده شدن فیبریل از سطح الیاف توسط آنزیم انتظار داشت. از طرف دیگر، کاهش نرمه‌ها و هیدرولیز آن‌ها توسط آنزیم (وندیتی، ۲۰۰۹) احتمالا به کاهش نسبی سهم آن‌ها در خمیرکاغذ انجامیده و افزایش نسبی طول الیاف خمیرکاغذ کارتن کنگره‌ای کهنه (تودرواری، ۲۰۱٦) و درنتیجه افزایش شاخص پاره‌شدن را با استفاده از ۰/۰۱ درصد لاکاز موجب می‌شود (۲۸).

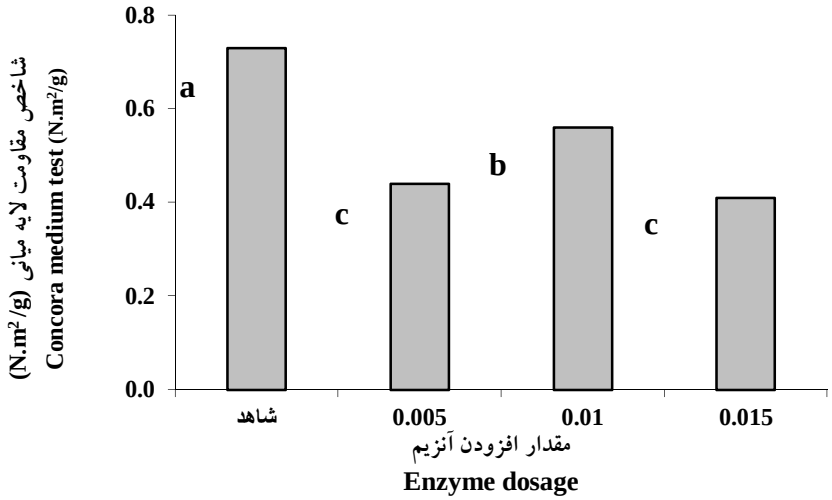


شکل ٦- تأثیر مقادیر مختلف آنزیم لاکاز بر شاخص مقاومت به پاره شدن

Figure 6. The effect of enzyme dosage on tear index

شاخص مقاومت کنکورای لایه میانی (CMT[1]): شاخص مقاومت کنکورای لایه میانی با تیمار آنزیمی نسبت به نمونه شاهد کاهش پیدا کرده است. روند تغییرات این شاخص نیز مشابه شاخص پارگی کاغذ می‌باشد. کاهش ظرفیت نگهداری آب الیاف و افزایش صلبیت الیاف در اثر پدیده استخوانی شدن خمیرکاغذ تیمار شده با ۰/۰۰۱ درصد آنزیم (مرادی و همکاران، ۲۰۱۳) و در نتیجه افزایش سفتی می‌تواند از جمله دلایل احتمالی افزایش این شاخص باشد که با افزایش میزان آنزیم به ۰/۰۱۵ درصد، به دلیل کنده شدن زیاد فیبریل‌ها از سطح الیاف (حزبی و افرا ،۲۰۱۲) و همچنین تغییر جهت[2] میکروفیبریل‌ها (ویکاری و لانتو، ۲۰۰۲) موجب افت مجدد این شاخص شده است. اختلاف معنی‌داری بین میانگین این ویژگی در کاغذهای دست‌ساز در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشته که از این نظر در سه گروه a، b و c قرار گرفته‌اند (شکل ۷). کارام و همکاران (۱۹۹٦) افزایش این شاخص را برای تیمار خمیرکاغذ بازیافتی کرافت گزارش نموده‌اند (۵). زانوتینی و همکاران (۱۹۹۵) در لیگنین‌زدایی خمیرکاغذ کارتن کهنه با ازن نتیجه گرفتند که این شاخص با افزایش سطح اتصال الیاف بهبود می‌یابد (۳۲).

1- Concora Medium Test (CMT)
2- Dislocation



شکل ۷- تأثیر مقادیر مختلف آنزیم لاکاز بر مقاومت لایه میانی (CMT)

Figure 7. The effect of enzyme dosage on CMT index

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که اثر تیمار خمیرکاغذ کارتن کهنه با آنزیم لاکاز بر شاخص‌های مقاومت کششی، ترکیدن، پاره‌شدن و کنکورای لایه میانی در سطح ۹۹ درصد احتمال معنی‌دار بوده است. بیشترین افزایش به‌ترتیب مربوط به شاخص مقاومت به کشش، ترکیدن و سپس پاره شدن کاغذ نسبت به نمونه شاهد بوده است. اما شاخص کنکورای لایه میانی (CMT) در همه خمیرهای تیمار شده با آنزیم، کاهش پیدا کرده است. تغییرات شاخص کششی و ترکیدن در خمیر کاغذهای تیمار شده نشان می‌دهد که با افزایش مقدار آنزیم لاکاز از ۰/۰۰۵ به ۰/۰۱ درصد، روند به شکل نزولی و از ۰/۰۱ به ۰/۰۱۵ درصد روند صعودی می‌باشد. واکنش‌های آنزیمی پیچیده تخریب و بسپارش لیگنین و ایجاد رادیکال‌های فنوکسی، تأثیر منفی عوامل آنیونی موجود در خمیرکاغذ بازیافتی و اثرهای متفاوت آنزیم بر میکروفیبریل‌های دیواره سلولی (تغییر جهت و کنده شدن) می‌توانند از جمله دلایل این نوسانات باشند که در سایر سوابق تحقیقاتی نیز کم و بیش به چشم می‌خورد. نتایج به‌دست آمده با نتایج سایر محققین (بوربونایس و همکاران، ۱۹۹٦) مطابقت داشته لیکن در این تحقیق، اثر تیمار آنزیمی بر خمیرکاغذ OCC کمتر است که شاید به‌دلیل حضور آشغال‌های آنیونی فراوان موجود در خمیرکاغذ OCC نسبت به خمیرکاغذ کرافت سوزنی‌برگ مورد استفاده در سایر منابع تحقیقاتی باشد. حضور این آشغال‌ها می‌تواند بر عملکرد اتم‌های مس نوع دوم و سوم موجود در لاکاز که نقش کاتالیزور در شکستن مولکول لیگنین را دارند، اثر سوء گذارد. ترکیبات دیگر شامل مواد افزودنی، ذرات جوهر، مواد چسبناک و گازوئیل نیز می‌توانند واکنش‌های پیچیده‌ای را در تیمار خمیرکاغذ کارتن کهنه با لاکاز ایجاد کنند که به‌دلیل تنوع و تعدد نمی‌توان از اثر منفی آن‌ها بر عملکرد آنزیم کاست. از طرف دیگر، بروز شدید پدیده استخوانی شدن الیاف با توجه به تعدد دفعات بازیافت کارتن کنگره‌ای کهنه در ایران، می‌تواند دلیلی بر کاهش مقاومت کنکورای لایه میانی در اثر لیگنین‌زدایی دیواره سلولی ضعیف الیاف، توسط آنزیم لاکاز باشد. با توجه به اهمیت مقاومت‌های کشش و ترکیدن در کاغذهای بسته‌بندی، مصرف این آنزیم برای تولید کاغذ تست لاینر که از خمیرکاغذ کارتن

کنگره‌ای کهنه برای ساخت آن استفاده می‌کنند، قابل توصیه است. لیکن باتوجه به اثر منفی تیمار آنزیمی بر مقاومت کنکورای لایه میانی، برای تیمار خمیرکاغذ مورد استفاده در ساخت کاغذ کنگره‌ای مناسب نمی‌باشد.

منابع

1. Andarvazh, T., and Rafighi, A. 2009. Waste paper recycling in Iran and the world, Iran Wood and Paper Industry Magazine, 45: 66-70. (In Persian)
2. Arora, D.S., and Gill, P.K. 2000. Laccase production by some white rot fungi under different nutritional conditions, Bioresource Technology, 73: 3.283–285.
3. Bajpai, P.K. 2010. Solving the problems of recycled fiber processing with enzymes, Bioresources, 5: 2.1311-1325.
4. Bourbonnais, R., and Paice, M.G. 1996. Enzymatic delignification of kraft pulp using laccase and a mediator, Tappi J., 79: 6.199-204.
5. Caram, F.C., Sarkar, J.M., Espinoza, D.E., and Benavides, J.C. 1996. Paper mill evaluation of a cellulolytic enzyme and polymer for improving the properties of waste paper pulp, P 483-500, apermakers conference, TAPPI Proceeding, Atlanta.
6. Chandra, R.P., Lehtonen, L.K., and Ragauskas, A.J. 2004. Modification of high lignin content kraft pulps with laccase to improve paper strength properties, Laccase treatment in the presence of gallic acid, Biotechnol Prog., 20: 1.255-261.
7. Crestini, C., and Argyropoulos, D.S. 2001. On the role of 1-hydroxybenzotriazole as mediator in laccase oxidation of residual kraft lignin. American Chemical Society Symposium Series, 785: 373–90.
8. Gubitz, G.M., and Cavaco Paulo, A. 2003. New substrates for reliable enzymes: enzymatic modification of polymers, Current Opinion in Biotechnology, 14: 6.577-582.
9. Hezbi, N., and Afra, E., Investigation on the effect of endoglucanase enzyme treatment time and refining to improve OCC pulp properties Iranian Journal of Wood and Paper Science Research, 28: 3.417- 434. (In Persian)
10. Li, H., Fu, S., and Peng, L. 2013. Fiber Modification of Unbleached Kraft Pulp with Laccase in the Presence of Ferulic Acid, Bioresources, 8: 4.5794-5806.
11. Kenealy, W., Klungness, J., Tshabalala, M., and Gleisner, R. 2003. Modification of lignocellulosic materials by laccase. In: Proceedings of the 2003 TAPPI fall technical conference; Chicago, IL. Atlanta.
12. Kuhad, R.C., Singh, A., and Eriksson, KEL. 1997. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell wall. In: Eriksson KEL, editor Biotechnology in the Pulp and paper industry. Advances in biochemical engineering biotechnology, Berlin: Springer Verlag, 335p.
13. Leduc, C., EDUC, Lanteigne- Roch, L.M., and Daneault, C. 2011. Use of Enzymes in deinked pulp bleaching, Cellulose chemistry and technology, 45: 9-10.657-663.
14. Lian, H.-L., You, J.-X., Huang, Y.-N., and Li, Z.-Z. 2012. Effect of refining on delignification with a lacasse/xylanase treatment, BioRes., 7: 4. 5268-5278.
15. Liu, N., Shi, S., Gao, Y., and Qin, M. 2009. Fiber modification of kraft pulp with laccase in presence of methyl syringate, Enzyme and Microbial Technology, 44: 2.89-95.
16. Lund, M., and Ragauskas, A.J. 2001. Enzymatic modification of Kraft lignin through oxidative coupling with water-soluble phenols. Appl. Microbiol Biotechnology, 55: 6.699–703.
17. Lund, M., and Felby, C. 2000. Wet-strength improvement of unbleached Kraft pulp through Laccase-catalyzed oxidation. Enzyme Microbial Technology; 28: 9-10.760–765.
18. Madhavi, V., and Lele, S.S. 2009. Laccase: properties and application, Bioresources, 4: 4.1694-1717.

19. Mirshokraei, S.A. 2001. Guide to waste paper. Aeezh publication, 140p. (Translated in Persian)
20. 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., 90: 10.17-22.
21. Moradi, M., Kermanian, H., Mahdavi, S., and Ramezani, O., Effect of Lactase enzyme on delignification and physical properties of OCC pulp, Iranian Journal of Wood and Paper Industries, 3: 2.157-170. (In Persian)
22. Oudia, A., Simões, R., Queiroz, J., and Ragauskas, A. 2008. The influence of operating parameters on the biodelignification of E. globulus kraft pulps in a laccase-violuric acid system, Appl Biochem Biotechnol. 149: 1.23-32.
23. Page, D.H., Seth, R.S., and Jordan, B.D. 1985. Strength and and chemical composition of wood pulp fibers, In: Transactions of the Eighth Fundamental Research Symposium, Oxford, 77p.
24. Reinhammar, B. 1984. Laccase. In copper proteins and copper enzymes. CRC press, Vol. 3 (ed. Lontie, R.), 250p.
25. Thurston, C.F. 1994. The structure and function of fungal laccase. Microbiol; 140: 19-26.
26. 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.
27. Tappi useful test methods, 1983. UM 250, “Acid-soluble lignin content”, TAPPI PRESS, 230p.
28. Tudarvari, Z., Farsi, M., and Asadpur Atoei, Gh. 2016. Effect of fiber length variations of different OCC pulp recycled papers on strength properties of fluting paper, J. Wood and Forest Science and Technology, 23: 4.255-267. (In Persian)
29. Venditti, R. 2009. Enzyme applications in pulp and paper: An introduction to applications, Department of wood and paper science, Buckman slides courtesy of Phil Hoekstra, 9p.
30. Viikari, L., and Lantto, R., Biotechnology in the pulp and paper industry, 8th ICBPPI, Dislocations and balloon swelling in spruce kraft pulp fibres- Effect of cellulases, xylanase and laccase/HBT, 49-61.
31. Wong, K.K.Y., Anderson, K.B., and Kibblewhite, R.P. 1999. Effects of the Laccase-mediator system on the hand sheet properties of two high kappa Kraft pulps. Enzyme and Microbial Technology, 25: 1-2.125–131.
32. Zanuttini, M.A., McDonough, T.J., and Courchene, C.E. 2007. Upgrading OCC and Recycled Liner Pulps by Medium-consistency Ozone Treatment, Tappi J., 6: 2.3-8.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 24 (4), 2017
http://jwfst.gau.ac.ir

Effect of laccase enzyme treatment on the strength properties of OCC pulp

***S. Mahdavi[1], H. Kermanian[2], M. Moradi[3] and O. Ramezani[4]**
[1]Associate Prof., Wood and Forest Products Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran, [2]Associate Prof., Dept., of Cellulose and Paper Technology Engineering, Faculty of Energy and New Technologies Engineering, Shahid Beheshti University, Zirab Campus, Savadkooh, [3]M.Sc. Graduated of Pulp and Paper Industries, Faculty of Energy and New Technologies Engineering, Shahid Beheshti University, Zirab Campus, Savadkooh, [4]Assistant Prof., Dept., of Cellulose and Paper Technology Engineering, Faculty of Energy and New Technologies Engineering, Shahid Beheshti University, Zirab Campus, Savadkooh
Received: 07/26/2017; Accepted: 01/13/2018

Abstract

Background and objectives: Paper made of recycled fibers has less strength compared to virgin fibers due to the multiplicity of recycling. Several solutions have been proposed to solve this problem consist of specialized enzymes application. While the application of enzymes in the pulp and paper industry is still in the research and development stage, but some of them have pioneered the technology to operate. There are various methods to increase recycled fiber bonding and improves the paper strength. Oxidant enzymes such as cellulase and laccase are one of the methods that could accelerate delignification. Laccase-mediator system has the greatest effect on increasing of paper strength according to previous studies. Common Low molecular weights of the mediator such as ABTS or HBT are the best non-phenolic lignin oxidizing that have been used yet. In order to increase the strength of recycled paper the effect of laccase treatment on old corrugated container (OCC) pulp was investigated in this study.

Materials and methods: OCC pulp was obtained from headbox of recycled paper factory in the north of Iran (Afrang Noor), and then was fractionated by Bauer-McNett classifier. HBT mediator was selected to treatment of OCC pulp by laccase. The pulp was treated by the enzyme in the adjusted conditions including 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. Handsheet making and characteristic measurement carried out by TAPPI test methods and also statistical analysis was conducted using completely randomized design.

Results: Fiber classification results showed that fines constitute about 31% of weight of the pulp. There are significant differences at 1% level among the pulp strength properties of OCC which treated with the laccase enzyme. Tensile and burst indices significantly were increased compared to the control using 0.005% of laccase. Multiple Duncan test showed that the average of these two indices by using 0.005% and 0.015% laccase (based on O.D. weight of pulp) had no significant difference and placed in the same statistical group. The variation trend of tear index unlike the other indices was observed and concora medium test (CMT) decreased at all levels of the treatments.

Conclusion: OCC pulp treated with 0.005% laccase-HBT (based on O.D. weight of pulp) is recommended according to the important role of tensile and burst strength in the test liner for packaging industry. Due to decreasing of Concora medium test (CMT) by the enzyme, laccase application is unsuitable for making corrugated paper.

***Keywords*:** OCC pulp, Laccase-HBT, Enzymatic treatment, Paper strength

*Corresponding author: smahdavi@rifr-ac.ir