Chinese Journal of Biotechnology http://journals.im.ac.cn/cjbcn DOI: 10.13345/j.cjb.130425

January 25, 2014, 30(1): 83-89 ©2014 Chin J Biotech, All rights reserved

工业酶改造与应用

生物酶在造纸工业绿色制造中的应用

林影

华南理工大学生物科学与工程学院,广东广州 510006

林影. 生物酶在造纸工业绿色制造中的应用. 生物工程学报, 2014, 30(1): 83-89.

Lin Y. Application of enzymes in pulp and paper industry. Chin J Biotech, 2014, 30(1): 83-89.

摘 要:近年来随着生物技术的发展,生物酶制剂的生产水平不断提高,促进了酶制剂在生物制浆、生物漂白、废纸生物脱墨、酶法纸浆改善性能及树脂生物控制等方面的应用,体现了酶技术在减轻制浆造纸工业环境污染、改善纸浆抄造性能等方面的潜力。文中重点介绍在不同制浆造纸原料及工艺中酶的选用、复配和应用技术及原理,以及酶制剂的应用效率及其对制浆造纸中节能减排和绿色环保的意义。

关键词: 生物制浆, 生物漂白, 生物脱墨, 树脂生物控制, 纸浆纤维酶法修饰

Application of enzymes in pulp and paper industry

Ying Lin

School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong, China

Abstract: The application of enzymes has a high potential in the pulp and paper industry to improve the economics of the paper production process and to achieve, at the same time, a reduced environmental burden. Specific enzymes contribute to reduce the amount of chemicals, water and energy in various processes. This review is aimed at presenting the latest progresses of applying enzymes in bio-pulping, bio-bleaching, bio-deinking, enzymatic control of pitch and enzymatic modification of fibers.

Keywords: bio-pulping, bio-bleaching, bio-deinking, enzymatic control of pitch, enzymatic modification of fibers

传统制浆造纸工业中大量使用化学品。以木 材纤维为原料的制浆造纸工业为例,为了溶解 除去木质素和半纤维素,释放纤维素,利用化 学法制浆时需要在木屑蒸煮制浆过程中大量使用氢氧化钠、硫化钠、亚硫酸钠等化学品。使用废纸为原料的制浆和脱墨过程,主要使用氢

氧化钠、硅酸钠和表面活性剂等。在制浆漂白 工段则主要使用含氯化合物、过氧化氢、臭氧 等氧化剂。为了改善造纸工艺及纸浆性能,造 纸过程还使用各种化学助留剂、增强剂、浆纱 助剂及涂布胶粘剂等化学品,使得制浆造纸工 业成为化学品使用及排放的主要轻工业之一。

1 制浆过程中酶的应用

造纸工业中的制浆工段是通过机械和/或化学方法破坏植物细胞壁,去除木质纤维素原料中(包括:木材、年生草本植物或回收废纸)缠绕着纤维素的木质素及半纤维素等,使纤维素得到分离和利用。因此,造纸制浆工段需要消耗大量能量和化学品,同时可能对纤维素产生损害。

生物制浆是指通过产酶微生物或酶制剂对 木质纤维的预处理,破坏木质素或半纤维素的 结构,促进其在机械或化学制浆过程中的脱落 速度,有利于纤维素的分离,同时达到减少能 量和碱的消耗,缩短制浆时间,改善制浆质量 的目的。白腐菌含有丰富的漆酶,可以有效分 解木质纤维中的木质素,更重要的是白腐菌作 为担子菌纲丝状真菌,在木材等原材料混合培 养预处理中能穿透木质原材料释放胞外酶,促 进木质素分解,白腐菌已被广泛应用于生物制 浆的研究[1-3]。日本神户制钢所应用白腐菌在常 温常压下分解木材成功制出优质纸浆,通过选 定适宜温度,可以分解 80%以上的木质素,比 一般化学制浆法成本降低了 50%。这种白腐菌 对木质素的脱除分解率极高,而对纸浆纤维中 的纤维素分解极少,这样可使纸浆得率高达 60%,超过化学法得浆率,木材的消耗量可节约 1/9。但白腐菌生长速度慢,制浆周期长,由于 白腐菌生长消耗多糖,有可能影响制浆的得率, 大规模生产存在一定的障碍。而通过添加白腐 菌分泌的酶或商品酶制剂的辅助生物制浆,由 于酶的渗透性差,得不到满意的结果。因此, 人们开始研究一些协同机制提高酶制剂的作 用,如:蒸汽爆破预处理与酶的协同作用有利 于改善酶的作用效率。Martín-Sampedro 等[4]报 道在蓝桉木硫酸盐法制浆工艺中通过蒸汽爆破 预处理后,添加 3 UA/g 漆酶 40 ℃处理 3 h,缩 短制浆时间 60%, 木质素脱除率提高 13.9%, Na₂S 和 NaOH 用量分别减少 11.5%和 6.3%。与 白腐菌预处理相比较,有效降低卡伯值和化学 品的消耗,减少纤维素多糖的降解。

2 造纸漂白中酶的应用

传统的制浆造纸工业中使用了大量的化学品,如:含氯化合物。随着人们环保意识的增强,为了减少造纸工业中氯排放对环境的影响,开发无氯漂白工艺是制浆造纸工业的重点。纸浆生物酶漂白是具有开发前景的无氯漂白途径

之一。木聚糖酶和漆酶是造纸工业中应用于生物漂白主要酶种^[5-6]。

Dhiman 等^[7]报道了来源于嗜热脂肪芽胞杆菌 *Bacillus stearothermophilus* SDX (MTCC 8508) 和枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis* SS(MTCC 8509) 两种杆菌的碱性耐热木聚糖酶(对应为酶 I 和酶 II)辅助漂白的效果,论文描述了在标准的纸浆氯漂工艺处理前加入 5 U/g 木聚糖酶(酶 I 或酶 II),在 pH 9.5 或 pH 12.5,温度 70 °C下处理 3 h,与化学法相比可以减少 15%或 20%氯的消耗;在酶预处理时添加等量的酶 I 和酶 II ,作用条件为 pH 9.5,温度 70 °C,处理时间 3 h,可以减少 35%的氯消耗,而且纸浆强度提高 25%,破裂系数提高 20%,撕裂指数提高 6.61% 等纸浆性能得到明显改善。

漆酶在制浆造纸工业中主要应用于降解木质素,因此在生物漂白的研究中也非常受重视,重点的研究是如何选择工艺条件。Moldes 等^[8] 报道了将来源于长绒毛栓菌的漆酶应用于硫酸盐桉木浆无氯漂白工艺中,将第一步的氧漂改为漆酶的作用,作用条件为:漆酶添加量 20~U/g,介质用量 1.5%,50~C,pH 5.0,通氧作用 2~h。研究发现:当漆酶反应介质选用紫尿酸(VA)时漂白效果达到最佳值:卡伯值改善 10%,白度 ISO 值提高 1%,纸浆粘度提高 5%。

尽管漆酶能直接作用木质素,起到生物漂白的作用,但目前漆酶产量低,在催化过程中需要添加的化学介质可能造成二次污染。因此,提高漆酶产量,选择天然介质,改善其漂白工艺是研究的重点。在木质纤维中,木质素与木聚糖酶结合以缠绕纤维素的形式存在。木聚糖酶与漆酶协同漂白作用,有助于提高木质素的溶出,减少漆酶及介质的使用。Valls 等[9]的研

究表明:木聚糖酶(X)预处理后添加漆酶(L), 再进行碱抽提的工艺(XLE)进行辅助漂泊,漂 白白度达到70% ISO时,可以减少30%漆酶和80% HBT(1-羟基苯并三氮唑)介质的用量,漂白 作用时间缩短45%。

作者课题组在毕赤酵母中表达了嗜盐芽胞杆菌 Bacillus halodurans C-125 的碱性木聚糖酶,并实现了吨级发酵生产中试,将碱性木聚糖酶应用于麦草浆的无氯漂白工艺中,采用添加酶量 10~U/g 的预处理,可以提高白度 5.2% ISO,减少卡伯值 5.0%,而且对草浆的纤维起到一定的修饰作用 $[^{10}]$ 。

3 酶在造纸树脂控制中的应用

制浆造纸过程主要在以水为介质进行的化学反应及洗涤作用,以木材或非木材的一年生草本纤维原料的制浆造纸工艺中存在一些脂溶性抽提物,如:烷烃类化合物、脂肪醇、脂肪酸、树脂酸、甾醇类化合物、萜类化合物、甘油三脂以及树蜡等,这些物质脱落后,不能溶于水被除去,若沉积于纸浆带进纸张中将形成"纸病",若沉积于纸机上会引起机械故障,需要耗时进行清理。

在木材原料中,大部分的脂溶性物质集中在木头的散射线和树脂道上,部分真菌,如:变色菌(Sapstain fungi)、白腐菌(White-rot fungi)等在生长过程中能利用脂肪酸、甘油三酯和甾醇等作为碳源,利用这些菌对木屑进行预处理,可以明显达到树脂控制的目的[11-12]。尽管这些真菌能解决制浆造纸的树脂控制的问题,但是同样的无论是微生物制浆还是微生物脱脂都需要控制条件,减少微生物生长过程中对纤维素的水解和破坏。

微生物通过制浆前的预处理达到树脂控制的效果,与其相比较,酶制剂主要是通过作用纸浆达到除掉制浆的脂溶性抽提物的目的。利用酶制剂进行树脂控制具有作用时间短、专一性好等特点。商品化的脂肪酶已经成功地应用于水解软木机械浆的甘油三酯^[13]。最近有关于氧化酶的报道,来源于白腐菌的漆酶在介质的存在下可以作用于脂肪酸、树脂酸、甘油三酯和甾醇等脂溶性抽提物^[14]。此外,有报道来源于禾顶囊壳菌的脂氧合酶可以有效去除桉木浆和亚麻浆中的脂溶性抽提物,包括:结合的或游离的甾醇、烷烃、脂肪醇和脂肪酸等^[15]。

4 废纸的生物酶法脱墨

废纸循环利用可以减少木材的耗费、节约 能源与水的消耗、减少生产污染,符合低碳经 济发展的方向,目前世界各国废纸回收率在逐 步提升。废纸再生重要的环节是脱墨工段,通 常脱墨包括两个步骤:一是把印刷的油墨从纸 浆表面剥离;二是将油墨粒子从纸浆中洗脱出 来。目前的废纸化学脱墨工艺使用了多种化学 品,如:NaOH、Na2SiO3、Na2CO3和H2O2、螯 合剂和表面活性剂等,脱墨废水由于含有大量 的这些化学品,直接排放对环境造成毒害,需 要耗费资金进行废水处理,降低排放废水的 COD。酶制剂在废纸脱墨的应用可以减少废水 排放、节约水和能源的耗费。脱墨酶主要作用 于油墨与纸浆的连接点,根据废纸来源差异和 印刷油墨的不同可以选择不同的酶种,包括: 脂肪酶、木聚糖酶、纤维素酶和漆酶。为了有 利于油墨粒子从纸浆中洗脱出来需要添加少量 的表面活性剂。

Singh 等[16]利用碱性木聚糖酶和碱性果胶

酶对学校回收废纸进行脱墨处理,达到化学法 脱墨同样的效果时,可以减少化学品用量50%、 减少排放废水中 20%的 BOD 和 22%的 COD; 与化学法相比,纸浆粘度、裂断长度、耐破因 数及抗裂系数分别提高 10.71%、7.49%、10.52% 和 6.25%。充分体现了酶法脱墨的优势。Ibarra 等[17]利用纤维素酶、半纤维素酶和漆酶对废报 纸和杂志废纸进行脱墨研究,其中包括两个含 内切半纤维素酶的商品酶 Ultraflo 和 Viscozyme, 在脱墨试验中获得显著效果,分别 在白度和脱墨效率上得到提高。而漆酶的脱墨 效果主要体现在含木质素较高的印刷卡 (片) 纸板。在我们的研究中发现碱性脂肪酶和碱性 木聚糖酶的复合脱墨剂在废旧报纸和废书籍纸 的脱墨中获得满意的结果,复合酶脱墨剂在大 卷纸卫生纸厂和白板纸纸厂的试验中发现:达 到同样的脱墨效果时废水 COD 的排放量减少 50%-60%, 在控制作用条件下纸浆的白度和强 度有所提高。

5 酶对造纸纤维性能的改善作用

在制浆工艺中有一个精炼工段,包括:制浆纤维素的疏解和整理,主要目的是提高纤维素的抄纸性和强度,截断过长纤维提高抄纸的均一性,改善抄纸的吸收率、孔隙率和白度。传统方法主要通过机械作用或化学物质的作用达到要求的目标,利用微生物酶的作用进行纸浆纤维的生物修饰有利于节省能源和减少化学试剂对纤维的破坏。

据报道将漆酶及 HBT 介质系统添加到蓝桉木浆的无氯漂白工艺中,减少了纤维素表面的羰基含量,部分去除己烯糖醛酸,从而改变纤维的表面带电性和降低纤维悬浮的势能,漆酶

的作用减少了制浆精制的机械能^[18]。此外,漆酶对废报纸脱墨浆的作用得到相似的结果,在废纸浆中添加漆酶及组胺酸介质,发现废纸浆的湿拉张强度、羰基含量、保水值分别提高55.1%、39.1%和45.7%,在显微镜下纤维表面崩解度和帚化度增加,有利于进一步的抄纸和增加纸张的强度^[19]。

将来源于细菌的木聚糖酶应用到高纤维素含量桉木浆的无氯元素的漂白工艺中,可促进木聚寡糖以及支链己烯糖醛酸的释放,显微镜观察发现制浆纤维表面帚化增加,纤维表面出现一些沟槽和裂口,有利于试剂渗入和木浆漂白以及增加纸张的强度^[20]。

6 造纸酶的开发与生产

在造纸工业中化学制浆的粗浆洗涤、机械浆漂白、废纸打浆及脱墨等工段中已经有造纸酶工业规模使用的案例^[21],主要包括:纤维素酶、木聚糖酶、果胶酶、锰过氧化物酶和漆酶。

通常纤维素酶是一种复合酶,包括:外切β-1,4 葡聚糖酶及纤维二糖水解酶。在制浆造纸中纤维素酶作用于植物纤维表面及内部层纤维起到辅助制浆、漂白、脱墨及纸幅修饰改善滤水性等作用。为了提高制浆得率,内切β-1,4 葡聚糖酶 (Endoglucanase, EG) 可以有效地应用于制浆造纸中。商业化的纤维素酶,如:FiberCareR、FiberzymLBRR和 Celluclast 1.5LR已在造纸工业中应用。此外,在具有商业开发潜力的细菌纤维素酶中大部分生产的内切葡聚糖酶主要水解非结晶纤维素,少数的芽胞杆菌 Bacillus 和类芽胞杆菌 Paenibacillus 产生的内切葡聚糖酶可以水解微晶纤维素,坎皮纳斯类芽胞杆菌 Paenibacillus campinasensis 生产的耐热

中性纤维素酶已被开发应用于制浆修饰和打浆酶^[22]收到很好的效果。

内切 1,4- β -木聚糖酶主要作用于木聚糖的 β (1,4)-糖苷键,分解木聚糖及脱除木质素,多种耐热的碱性纤维素酶被应用于造纸工业中,达到辅助漂泊、脱墨和辅助打浆的目的。在我们的工作中以来源嗜盐芽胞杆菌 *Bacillus halodurans* X125 的内切 β -1,4-木聚糖酶毕赤酵母中重组表达,在 5 t 罐中发酵最高酶酶活达到6 100 U/mL ,由于该酶具有良好的耐热性及耐碱性,可以有效地应用于芦苇浆的漂白及废报纸的脱墨^[23]。在生物漂白中其他半纤维素酶的协同作用,还可使得作用效果明显提高^[24]。

漆酶是一种多铜氧化酶,也称多酚氧化酶, 主要氧化含酚的木质素结构单位,但天然木材 木质素只有少于 20%的含酚结构单位,另通常 真菌漆酶分子量较大(分子量约为 70 000 Da)难 以穿入木头中作用木质素分子,由此提高漆酶 的作用需要添加介质物质。白腐菌不但能分泌 漆酶,同时可以产生锰过氧化物酶,锰过氧化 物酶与漆酶协同作用,进一步提高木质素的降 解作用,在国外已有效应用于造纸的生物制浆 上^[25]。

7 展望

酶在制浆造纸工业的高效应用可以提升生产效率、提高纸浆质量、减少能耗和水耗。但是酶制剂在造纸工业的应用仍然存在成本高、稳定性不足、不易混合、驻留时间不够及成浆质量不稳定。随着分子进化及基因重组技术的提高,有利于提升酶的稳定性及生产水平。此外,生物科学家与造纸工程师的协同攻关是推动生物技术在纸浆造纸专业应用的另一关键。

REFERENCES

- [1] Ferraz A, Guerra A, Mendonca, R, et al. Technological advances and mechanistic basis for fungal biopulping. Enzyme Microb Technol, 2008, 43(2): 178–185.
- [2] Mendonca R, Jara JF, González V, et al. Evaluation of the White-rot fungi Ganoderma australe and Ceriporiopsis subvermispora in biotechnological applications. J Ind Microbiol Biotechnol, 2008, 35(11): 1323–1330.
- [3] Maijala P, Kleen M, Westin C, et al. Biomechanical pulping of softwood with enzymes and white-rot fungus *Physisporinus rivulosus*. Enzyme Microb Technol, 2008, 43(2): 169–177.
- [4] Martín-Sampedro R, Eugenio ME, Carbajo JM, et al. Combination of steam explosion and laccase-mediator treatments prior to Eucalyptus globulus kraft pulping. Bioresour Technol, 2011, 102(14): 7183–7189.
- [5] Eugenio ME, Santos SM, Carbajo JM, et al. Kraft pulp biobleaching using an extracellular enzymatic fluid produced by *Pycnoporus sanguineus*. Bioresour Technol, 2010, 101(6): 1866–1870.
- [6] Babot ED, Rico A, Rencoret J, et al. Towards industrially-feasible delignification and pitch removal by treating paper pulp with *Myceliophthora* thermophila laccase and a phenolic mediator. Bioresour Technol, 2011, 102(12): 6717–6722.
- [7] Dhiman SS, Garg G, Mahajan R, et al. 'Single lay out' and 'mixed lay out' enzymatic processes for bio-bleaching of kraft pulp. Bioresour Technol, 2009, 100(20): 4736–4741.
- [8] Moldes D, Vidal T. Laccase for biobleaching of eucalypt kraft pulp by means of a modified industrial bleaching sequence. Biotechnol Prog, 2012, 28(5): 1225–1231.
- [9] Valls C, Roncero MB. Using both xylanase and laccase enzymes for pulp bleaching, Bioresour Technol, 2009, 100(6): 2032–2039.
- [10] Lin X, Han S, Zhang N, et al. Bleach boosting effect of xylanase A from *Bacillus halodurans* C-125 in ECF bleaching of wheat straw pulp.

- Enzyme Microb Technol, 2013, 52(2): 91-98.
- [11] Josefsson P, Nilsson F, Sundstrom L, et al. Controlled seasoning of Scots pine chips using an albino strain of *Ophiostoma*. Ind Eng Chem Res, 2006, 45(7): 2374–2380.
- [12] Van Beek TA, Kuster B, Claassen FW, et al. Fungal bio-treatment of spruce wood with *Trametes versicolor* for pitch control: Influence on extractive contents, pulping process parameters, paper quality and effluent toxicity. Bioresour Technol, 2007, 98(2): 302–311.
- [13] Dubé E, Shareck F, Hurtubise Y, et al. Enzyme-based approaches for pitch control in thermomechanical pulping of softwood and pitch removal in process water. J Chem Technol Biotechnol, 2008, 83(9): 1261–1266.
- [14] Molina S, Rencoret J, del Río JC, et al. Oxidative degradation of model lipids representative for main paper pulp lipophilic extractives by the laccase-mediator system. Appl Microbiol Biotechnol, 2008, 80(2): 211–222.
- [15] Marques G, Molina S, Babot ED, et al. Exploring the potential of fungal manganese-containing lipoxygenase for pitch control and pulp delignification. Bioresour Technol, 2011, 102(2): 1338–1343.
- [16] Singh A, Yadav RD, Kaur A, et al. An ecofriendly cost effective enzymatic methodology for deinking of school waste paper. Bioresour Technol, 2012, 120: 322–327.
- [17] Ibarra D, Monte MC, Blanco A, et al. Enzymatic deinking of secondary fibers: cellulases/hemicellulases, versus laccase-mediator system. J Ind Microbiol Biotechnol, 2012, 39(1): 1–9.
- [18] Cadena EM, Vidal T, Torres AL. Can the laccase mediator system affect the chemical and refining properties of the eucalyptus pulp? Bioresour Technol, 2010, 101(21): 8199–8204.
- [19] Chen Y, Wan J, Ma Y, et al. Modification of properties of old newspaper pulp with biological method. Bioresour Technol, 2010, 101(18): 7041–7045.
- [20] Valls C, Gallardo O, Vidal T, et al. New xylanases

- to obtain modified eucalypt fibres with high-cellulose content. Bioresour Technol, 2010, 101(19): 7439–7445.
- [21] Torres C, Negro C, Fuente E, et al. Enzymatic approaches in paper industry for pulp refining and biofilm control. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 96(2): 327–344.
- [22] Ko C, Tsai C, Lin P, et al. Characterization and pulp refining activity of a *Paenibacillus campinasensis* cellulase expressed in *Escherichia coli*. Bioresour Technol, 2010, 101(20): 7882–7888.
- [23] Han S, Zhao X, Lin X, et al. High-level expression of an alkaline lipase gene from *Acinetobacter radioresistens* CMC-1 in *Pichia pastoris*. Modern

- Food Sci Technol, 2013, 29(7): 1477–1481 (in Chinese).
- 韩双艳, 赵小兰, 林小琼, 等, 抗辐射不动杆菌碱性脂肪酶基因在毕赤酵母中的表达. 现代食品科技, 2013, 29(7): 1477–1481.
- [24] Kaur A, Mahajan R, Singh A, et al. Application of cellulase-free xylano-pectinolytic enzymes from the same bacterial isolate in biobleaching of kraft pulp. Bioresour Technol, 2010, 101(23): 9150–9155.
- [25] Maciel MJM, Silva AC, Ribeiro HCT, et al. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the Basidiomycota: a review. Electron J Biotechnol, 13(6): 14–15.

(本文责编 陈宏宇)

《生物工程学报》对摘要的写作要求

- 1. 研究报告摘要:基本要素包括研究目的、方法、结果和结论 (不用单列标题书写)。目的 (Purpose):主要说明作者写此文章的目的,或说明本文主要要解决的问题;方法 (Methods):重点说明作者的主要工作过程及使用的方法。应用性文章如需要,可注明条件、使用的主要设备和仪器。结果 (Results):本文最后得出的结果 (实验数据部分)。结论 (Conclusions):如系基础研究,应写明本文的创新之处,及文章在讨论部分表述的观点;如系应用性研究,应尽可能提及本文结果和结论的应用范围和应用情况或应用前景。
 - 2. 综述摘要:包括论述内容的发展水平、自己的评论及展望,尤其要注意结合自己的研究工作。
- 3. 英文摘要的撰写要点:英文摘要的内容应与中文摘要一致,但比中文摘要更详尽。英文摘要完成后,务必请英文较好、且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。凡不符合要求的,即使学术上可以达到刊出的水平,本刊也将推迟发表。
 - (1) 建议使用第一人称,尽量不使用第三人称和被动语态。
 - (2) 建议用主动语态,被动语态表达拖拉模糊尽量不用,这样可以免好多长句,以求简单清晰。
 - (3) 尽量使用清晰简练的短句,避免很长的句子。注意正确使用英文写作习惯和语法。
 - (4) 摘要应当使用过去时态,语法正确,句子通顺。
- (5) 摘要中避免使用缩写语,除非是那些人人皆知的 (如DNA、ATP等),或者确实是非常长,而且出现多次的短语才允许用缩写语,并且在第一次出现时要写出全称。
 - (6) 在英文摘要中,不要使用任何汉字字符,包括标点、括号、温度、希腊字母等。
 - (7) 句子的开头处最好不要使用数字。