Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Wood and Forest Science and Technology

Print ISSN: 2322-2077
Online ISSN: 2322-2786

The effect of enzymatic pre-treatment of recycled pulp with cellulase and laccase combined sequence in hydrogen peroxide bleaching

Iman Akbarpour*

Corresponding Author, Assistant Prof., Dept. of Paper Science and Engineering, Faculty of Wood and Paper Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: inakbarpour@gau.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 04.24.2023
Revised: 06.23.2023
Accepted: 06.23.2023

Keywords:
Cellulase,
Enzymatic sequence,
Laccase,
Pulp bleachability,
Recycled pulp

ABSTRACT

Background and Objectives: The use of recycled pulp in papermaking reduces the quality of the resultant papers. Hence, employing enzyme pre-treatment in isolation or in combination with sequential pulp bleaching methods can prove to be effective approaches for enhancing the quality of the end product derived from recycled pulp. This study was undertaken to examine the impact of cellulase and laccase enzyme pre-treatment sequences on the bleachability of the resultant pulp with hydrogen peroxide, as well as to assess the quality of the final pulp following the bleaching process.

Materials and Methods: At first, the mixture of waste newspaper and magazine papers were deinked using enzyme pre-treatment (combined sequence of cellulase and laccase) as well as conventional chemical method. Enzymatic pre-treatment was done as experimental treatments C_1L_1 (cellulase usage: 0.1% and duration time: 10 minutes; laccase usage: 20u and duration time: 120 minutes), C_1L_2 (cellulase usage: 0.1% and duration time: 10 minutes; laccase usage: 40u and duration time: 120 minutes), C_2L_1 (cellulase usage: 0.1% and duration time: 20 minutes; laccase usage: 20u and duration time: 120 minutes) and C_2L_2 (cellulase usage: 0.1% and duration time: 20 minutes; laccase usage: 40u and duration time: 120 minutes) under specific process conditions. Additionally, control pulp samples (without the addition of chemicals or enzymes) and chemically deinked pulp samples were prepared. The bleaching of the deinked pulp was then conducted using a hydrogen peroxide bleaching system, which consisted of 2% hydrogen peroxide, 2% sodium hydroxide, 2% sodium silicate, 0.2% DTPA chelating agent, and 0.1% magnesium sulfate. The bleaching process took place in separate plastic bags, under specific process conditions of 10% consistency, a temperature of 70 °C, and a duration of 2 hours in a water bath. Finally, the optical and strength characteristics of the bleached pulp were assessed.

Results: The findings revealed that incorporating enzyme pre-treatment during the deinking process enhances the overall efficiency of hydrogen peroxide bleaching. Consequently, the resulting papers exhibited superior optical and strength characteristics after bleaching, as compared to pulp that underwent conventional chemical-based deinking. Specifically, the application of C2L2 and C2L1 enzymatic pre-treatments, followed by bleaching with hydrogen peroxide, resulted in brightness improvements of 11.12% (equivalent to approximately 5 units) and 9.5% (equivalent to approximately 4 units), respectively. In these pretreatments, the whiteness of the paper increased by 31.92% and 24.54% (an increase of about 9 and 6

units), respectively. Also, the yellowness of the paper decreased by 40.19% and 44.25%, respectively, and the opacity of the paper reduced by 37.74% and 23.97%, respectively. Also, in experimental runs of C_2L_1 and C_2L_2, the paper tensile index increased 29.17% and 35.64%, respectively (40.64 Nm/g and 38.7 Nm/g, respectively), breaking length enhanced by 64.42% and 99%, respectively (5.92 km and 4.89 km), and the paper burst index also increased by 70.85% and 92.37% (3.81 $mN.m^2/g$ and 4.29 $kPa.m^2/g$), respectively. The tear indices of the paper in these experiments were found to average approximately 6.82 $mN.m^2/g$ and 6.62 $mN.m^2/g$, which are slightly lower compared to the chemically deinked pulp after bleaching. However, in the pretreatment utilizing the combined sequence C2L1, the tear index of the paper was nearly equivalent to that of the chemically deinked pulp.

Conclusion: The findings demonstrate that the combined sequences of cellulase and laccase resulted in a substantial enhancement in the bleachability of pulp with hydrogen peroxide, surpassing that of chemically deinked pulp. Moreover, these enzymatic pre-treatment sequences led to the production of papers with superior optical and strength properties. Notably, the most favorable optical and strength characteristics were observed in the C2L2 and C1L2 enzymatic pre-treatment sequences following hydrogen peroxide bleaching.

Cite this article: Akbarpour, Iman. 2023. The effect of enzymatic pre-treatment of recycled pulp with cellulase and laccase combined sequence in hydrogen peroxide bleaching. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 30 (2), 87-107.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JWFST.2023.21292.2018
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۷۷
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۸۶

تأثیر پیش‌تیمار آنزیمی خمیرکاغذ بازیافتی با توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز در رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن

ایمان اکبرپور*

نویسنده مسئول، استادیار گروه علوم و مهندسی کاغذ، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: inakbarpour@gau.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۴
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۲

واژه‌های کلیدی:
آنزیم سلولاز،
آنزیم لاکاز،
توالی آنزیمی،
خمیرکاغذ بازیافتی،
قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذ

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از خمیرکاغذ بازیافتی در کاغذسازی موجب کاهش کیفیت کاغذ نهایی می‌شود. بنابراین استفاده از پیش‌تیمار آنزیمی به‌طور مجزا یا توالی‌های ترکیبی و هم‌چنین رنگ‌بری خمیرکاغذ می‌توانند در افزایش کیفیت کاغذ نهایی حاصل از خمیرکاغذ بازیافتی مؤثر واقع شوند. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر پیش‌تیمار آنزیمی با توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز بر قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذ حاصل با پراکسید هیدروژن انجام شده است و ویژگی‌های کیفی خمیرکاغذ نهایی بعد از فرآیند رنگ‌بری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در ابتدا مخلوط کاغذهای روزنامه و مجله باطله با استفاده از پیش‌تیمار آنزیمی (توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز) و هم‌چنین روش متداول شیمیایی مرکب‌زدایی شدند. پیش‌تیمار آنزیمی در قالب تیمارهای آزمایشی C_1L_1 (مصرف آنزیم سلولاز: ۰/۱ درصد و مدت زمان: ۱۰ دقیقه؛ مصرف آنزیم لاکاز: ۲۰u و مدت زمان: ۱۲۰ دقیقه)، C_1L_2 (مصرف آنزیم سلولاز: ۰/۱ درصد و مدت زمان: ۱۰ دقیقه؛ مصرف آنزیم لاکاز: ۴۰u و مدت زمان: ۱۲۰ دقیقه)، C_2L_1 (مصرف آنزیم سلولاز: ۰/۱ درصد و مدت زمان: ۲۰ دقیقه؛ مصرف آنزیم لاکاز: ۲۰u و مدت زمان: ۱۲۰ دقیقه) و C_2L_2 (مصرف آنزیم سلولاز: ۰/۱ درصد و مدت زمان: ۲۰ دقیقه؛ مصرف آنزیم لاکاز: ۴۰u و مدت زمان: ۱۲۰ دقیقه) تحت شرایط مشخص فرآیندی انجام گرفت. هم‌چنین نمونه خمیرکاغذ شاهد (بدون افزودن مواد شیمیایی یا آنزیم) و خمیرکاغذ مرکب‌زدایی شده به روش متداول شیمیایی تهیه شدند. در ادامه رنگ‌بری خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی شده با استفاده از سیستم رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن شامل ۲ درصد پراکسید هیدروژن، ۲ درصد هیدروکسید سدیم، ۲ درصد سیلیکات سدیم، ۰/۲ درصد کی‌لیت‌کننده DTPA و ۰/۱ درصد سولفات منیزیم در داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا تحت شرایط فرآیندی درصد خشکی ۱۰ درصد، دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۲ ساعت در حمام بخار آب انجام گرفت. در پایان ویژگی‌های نوری و مقاومتی خمیرکاغذهای رنگ‌بری شده مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که استفاده از پیش‌تیمار آنزیمی با توالی سلولاز و لاکاز در مرکب‌زدایی، عملکرد کلی فرآیند رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن را بهبود می‌بخشد و در مقایسه با خمیرکاغذ از پیش مرکب‌زدایی‌شده به روش متداول شیمیایی، کاغذهای با ویژگی‌های نوری و مقاومتی به‌مراتب بهتری را بعد از رنگ‌بری نتیجه داده است. پیش‌تیمارهای C_2L_2 و C_2L_1 در بین‌تیمارهای ترکیبی آنزیمی بعد از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن، به ترتیب منجر به بهبود درجه روشنی به میزان ۱۱/۱۲ درصد (افزایش حدود ۵ واحد) و ۹/۵ درصد (افزایش حدود ٤ واحد) شدند. سفیدی کاغذ نیز در این پیش‌تیمارها به ترتیب به میزان ۳۱/۹۲ درصد و ۲٤/٥٤ درصد (افزایش حدود ۹ و ٦ واحد) افزایش یافته و زردی کاغذها نیز به ترتیب به میزان ٤۰/۱۹ و ٤٤/۲٥ درصد و ماتی کاغذ به ترتیب ۳۷/۷٤ و ۲۳/۹۷ درصد کاهش یافتند. هم‌چنین، در تیمارهای آزمایشی C_2L_1 و C_2L_2، شاخص کششی کاغذ به ترتیب ۲۹/۱۷ درصد و ۳٥/٦٤ درصد (به ترتیب ٤۰/٦٤ N.m/g و ۳۸/۷ N.m/g)، طول پارگی به ترتیب ٦٤/٤۲ درصد و ۹۹ درصد (٥/۹۲ km و ٤/۸۹ km) و شاخص ترکیدگی کاغذ نیز به ترتیب به میزان ۷۰/۸٥ درصد و ۹۲/۳۷ درصد (به ترتیب ۳/۸۱ $kPa.m^2/g$ و ٤/۲۹ $kPa.m^2/g$) افزایش یافتند. شاخص‌های پارگی کاغذ در این تیمارها به‌طور متوسط در حدود ٦/۸۲ $mN.m^2/g$ و ٦/٦۲ $mN.m^2/g$ تعیین شدند که در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی شده شیمیایی پس از رنگ‌بری کمی کم‌تر است؛ اما در پیش‌تیمار با توالی ترکیبی C_2L_1، شاخص پارگی تقریباً معادل خمیرکاغذ مرکب‌زدایی شده شیمیایی به‌دقت آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که توالی‌های ترکیب آنزیمی سلولاز و لاکاز، قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذ با پراکسید هیدروژن را در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای بهبود بخشید و کاغذهای با ویژگی‌های نوری و مقاومتی بهتری نیز به‌دقت آمده است. بهترین ویژگی‌های نوری و مقاومتی کاغذ بعد از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن در توالی‌های پیش‌تیمار آنزیمی C_2L_2 و C_1L_2 مشاهده شده است.

استناد: اکبرپور، ایمان (۱۴۰۲). تأثیر پیش‌تیمار آنزیمی خمیرکاغذ بازیافتی با توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز در رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن. *نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل*، ۳۰ (۲)، ۱۰۷-۸۷.

DOI: 10.22069/JWFST.2023.21292.2018

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

استفاده از الیاف بازیافتی در صنعت کاغذسازی نقش بسیار مهمی را به‌عنوان جایگزین خمیرکاغذ بکر دارد و امروزه در بسیاری از کشورهای دنیا، اغلب از الیاف بازیافتی به‌عنوان یکی از منابع لیگنوسلولزی مهم برای تولید کاغذهای مختلف استفاده می‌شود (۱ و ۲). بر اساس گزارش منتشر شده، میزان تولید جهانی کاغذ در سال ۲۰۱۵ در حدود ٤٥٠ میلیون تن و تا سال ۲۰۲۰ این مقدار به ٥٠٤ میلیون تن افزایش یافت این در حالی است که مصرف کاغذهای بازیافتی تا سال ۲۰۱۵ حدود ۲٤۰ میلیون تن و تا سال ۲۰۲۰ به حدود ۵۰۰ میلیون تن رسیده است. انتظار می‌رود طی ۱۵ سال آینده، میزان تقاضای جهانی برای کاغذهای بازیافتی به‌طور متوسط در هر سال تقریباً ۳ درصد رشد کند (۳). بر اساس گزارش منتشر شده در سال ۲۰۲۰، بیش از ۵۰ درصد از الیاف مورد استفاده در کاغذسازی از الیاف بازیافتی است. پیش‌بینی می‌شود تا افق ۲۰۲۸، میزان استفاده از کاغذهای بازیافتی در حدود ٤۰ درصد دیگر افزایش یابد (٤). هم‌چنین براساس نتایج آخرین گزارش‌های منتشر شده، میزان دفن سطحی ضایعات کاغذ طی ده سال اخیر کاهش قابل‌ملاحظه‌ای را نشان داد و از حدود ۳۳ میلیون تن (در سال ۲۰۰۸) به حدود ۲۱/۵ میلیون تن (در سال ۲۰۱۹) کاهش یافت. میزان دفن سطحی ضایعات کاغذ مطابق با آخرین پیش‌بینی‌های به‌عمل‌آمده تا سال ۲۰۲۸ به کم‌تر از ۲۰ میلیون تن خواهد رسید و این کاهش خود اهمیت توجه گسترده به بازیافت فرآورده‌های مختلف کاغذی و مقوا را در مقیاس جهانی نشان می‌دهد (۳). حدود ۸۰ درصد از مجموع کاغذ باطله از سه منبع عمده شامل جعبه مقوایی کنگره‌ای، کاغذ روزنامه و کاغذهای باطله اداری تأمین شده و کم‌تر از ۲۰ درصد از کاغذهای باطله مرکب‌زدایی‌شده با مقادیر درجه روشنی مختلف برای تولید کاغذ روزنامه و بهداشتی مصرف می‌شوند (۵، ٦ و ۷).

امروزه استفاده از علم زیست‌فناوری مانند استفاده از آنزیم‌ها مقبولیت زیادی را در صنایع خمیروکاغذ پیدا کرده و یکی از دلایل آن می‌تواند بهبود درجه روانی الیاف بازیافتی باشد که مزایای زیادی را برای واحدهای صنعتی ساخت کاغذ دارد (۸). رنگ‌بری با اثر زیست‌محیطی کم، مصرف انرژی کم و ذخیره انرژی در طی خمیرکاغذسازی و رنگ‌بری و تولید پساب کم از اهداف عمده و متداول با استفاده از زیست‌فناوری در صنعت خمیروکاغذ می‌باشد (۹ و ۱۰). فناوری به روش آنزیمی[1] به‌عنوان یک روش دوستدار محیط‌زیست، زمینه لازم را برای حل چالش‌های پیش‌روی صنایع کاغذسازی فراهم می‌کند (۱۱ و ۱۲). آنزیم‌های سلولاز و همی‌سلولاز به‌عنوان مواد افزودنی جدید زیستی می‌توانند با هدف اصلاح ویژگی‌های الیاف، تغییر یا بهبود ویژگی‌های کاغذ استفاده شوند (۱۳ و ۱٤). نتایج ارزیابی استفاده از مخلوط آنزیم‌های سلولاز و همی‌سلولاز در مرکب‌زدایی و قابلیت رنگ‌بری کاغذ روزنامه باطله نشان داد که استفاده از این آنزیم‌ها موجب بهبود ویژگی‌های نوری و مکانیکی کاغذ می‌شود. هم‌چنین ویژگی‌های نوری کاغذ پس از رنگ‌بری بهبود می‌یابد؛ اما ویژگی‌های مکانیکی کاغذ کاهش خواهد یافت. استفاده از ۱ درصد آنزیم در مجموع بهترین نتیجه را نشان داد. براساس این نتایج، میزان مصرف ۰/۰۵ درصد (براساس وزن خشک خمیرکاغذ) برای خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده و رنگ‌بری‌نشده و مصرف ۰/۵ درصد برای خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده و رنگ‌بری‌شده قادر به تأمین مشخصات لازم به لحاظ ویژگی‌های کیفی برای تولید کاغذ روزنامه است (۱۰ و ۱۵). نتایج بررسی استفاده از مخلوط آنزیم سلولاز و همی‌سلولاز

1- Enzyme-based technology

بر مخلوط الیاف خمیرکاغذ OCC، لاینر کرافت و درصد کمی کاغذ اداری سفید نیز نشان داد که پیش‌تیمار آنزیمی الیاف بازیافتی درجه روانی اولیه خمیرکاغذ را بدون کاهش مقاومت کششی افزایش می‌دهد. در اغلب آزمایش‌های انجام شده با پیش‌تیمارهای آنزیمی- پالایش، در مقایسه با خمیرکاغذ شاهد، شاخص مقاومت کششی بیش‌تر، قابلیت آب‌گیری بهتر و مصرف انرژی ویژه کم‌تر در پالایش مشاهده شد (۱۵).

نتایج ارزیابی قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی شده با آنزیم همی‌سلولاز در مقایسه با روش متداول شیمیایی نشان داد که قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده با همی‌سلولاز بهتر از خمیرکاغذهای رنگ‌بری شده پس از مرکب‌زدایی شیمیایی می‌باشد و کاغذهای حاصل از درجه روشنی و سفیدی بیش‌تر و هم‌چنین زردی کم‌تر برخوردار بودند اما ماتی این کاغذها در اثر رنگ‌بری کاهش یافت. هم‌چنین خمیرکاغذهای پیش‌تیمارشده با آنزیم همی‌سلولاز، کاغذهای با شاخص‌های مقاومت به کشش و ترکیدگی بیش‌تری را بعد از مرحله رنگ‌بری نشان دادند. براساس نتایج کلی به‌دقت آمده، پیش‌تیمار آنزیمی H_2T_3 (مصرف ۰/۲ درصد همی‌سلولاز و زمان تیمار ٦۰ دقیقه) در مجموع قابلیت رنگ‌بری بهتر و در نتیجه ویژگی‌های نوری و مقاومتی به‌مراتب مطلوب‌تری را نتیجه داده است (١٦).

در سال‌های اخیر استفاده از آنزیم لاکاز برای مرکب‌زدایی الیاف بازیافتی به‌تنهایی و یا در ترکیب با سلولاز و یا همی‌سلولاز توصیه شده است. لاکاز در حضور عوامل واسطه تحت عنوان سیستم لاکاز- ماده واسطه می‌تواند برای لیگنین‌زدایی و رنگ‌بری انوع مختلف خمیرکاغذ استفاده شود (١٦ و ١٧). بنابراین امکان مرکب‌زدایی الیاف بازیافتی غنی از لیگنین مانند الیاف مکانیکی با استفاده از این نوع آنزیم امکان‌پذیر است. به‌طورکلی هر چند سیستم مرکب‌زدایی با آنزیم‌های سلولاز و یا لاکاز به‌طور مجزا در برخی واحدهای صنعتی استفاده می‌شود؛ اما ویژگی‌های نهایی کاغذ حاصل را می‌توان در مقایسه با سیستم مرکب‌زدایی شیمیایی به میزان بیش‌تری بهبود بخشید و در این زمینه استفاده ترکیبی از آنزیم‌ها می‌تواند به‌طور هم‌افزا در بهبود بیش‌تر ویژگی‌های کیفی کاغذ بعد از مرکب‌زدایی و یا رنگ‌بری خمیرکاغذ مؤثر واقع شود. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر پیش‌تیمار آنزیمی با توالی ترکیبی آنزیم‌های سلولاز- لاکاز تحت شرایط مشخص فرآیندی در رنگ‌بری (پراکسید هیدروژن) خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده حاصل از مخلوط خمیرکاغذ روزنامه و مجله بازیافتی (به‌ترتیب با نسبت ۳۰/۷۰ درصد) انجام گرفت تا امکان تولید کاغذ با خواص کیفی بهتر بعد از سیستم رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

تهیه کاغذهای باطله: کاغذهای روزنامه و مجله باطله از دفاتر مرکزی فروش تهیه و پس از تعیین درصد رطوبت، به مدت ٢٤ ساعت در آب خیسانده شدند. در ابتدا کاغذهای باطله به ابعاد مناسب در حدود ۵-۲ cm تبدیل شدند. درصد رطوبت کاغذها مطابق با شماره استاندارد T 412 om-02 آئین‌نامه تاپی[1] اندازه‌گیری شد. کاغذها در تیمارهای مختلف با نسبت ۷۰ درصد روزنامه و ۳۰ درصد مجله باطله به کار گرفته شدند. کاغذهای باطله در داخل دستگاه پراکنده‌ساز تحت شرایط مشخص (درصد خشکی حدود ۳ درصد؛ مدت زمان حدود ۱۵ دقیقه با تعداد دور ٢٦۵۰۰) به خمیرکاغذ تبدیل و در ادامه بر روی الک با مش ۲۰۰ آب‌گیری و در داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا قرار داده شدند.

1- TAPPI

پیش‌تیمار آنزیمی با توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز: در این پژوهش از آنزیم‌های سلولاز و لاکاز به‌صورت توالی ترکیبی تحت شرایط فرآیندی مشخص استفاده شد. سلولاز مورد استفاده در این پژوهش از شرکت تجاری *Sigma Aldrich, Novozyme Corp.* با کد تجاری C ۲۷۳۰ خریداری شد. درجه حرارت نگهداری این آنزیم در محدوده °C ۸-۲ می‌باشد. آنزیم لاکاز از شرکت تجاری *Sigma Aldrich* با کد تجاری ۳۸٤۲۹ خریداری شد. پودر این آنزیم به رنگ قهوه‌ای روشن و درجه حرارت نگهداری این آنزیم در محدوده °C ۸-۲ اشاره شده است. هم‌چنین از ماده ویلوریک اسید (به‌عنوان عامل واسطه فرآیندی) از شرکت تجاری *Sigma Aldrich* خریداری و در تیمار آنزیمی لاکاز به کار گرفته شد. مشخصات کامل آنزیم‌های مصرفی در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- مشخصات آنزیم‌های سلولاز و لاکاز در پیش‌تیمار خمیرکاغذ بازیافتی.

Table 1. Characteristics of cellulase and laccase enzymes in the pre-treatment of recycled pulp.

شکل آنزیم مصرفی Enzyme shape	منشأ آنزیم استخراج‌شده Enzyme source	فعالیت آنزیم (U/g)* Enzyme activity (U/g)	دانسیته محلول آنزیمی در دمای ۲۵ °C (g/cm^3) Enzyme Density at 25 °C (g/cm^3)	شرکت تولیدکننده Company
		آنزیم سلولاز* Cellulase		
محلول Liquid	*Trichoderma reesei*	≥ 700	1.02	*Sigma Aldrich*
		آنزیم لاکاز** Laccase		
پودر Powder	*Trametes versicolor*	0.5 ≥	-	*Sigma Aldrich*

* فعالیت ۱u آنزیم سلولاز به‌عنوان مقدار آنزیم موردنیاز برای تولید یک میکرومول قند گلوکز از سلولز در مدت زمان یک ساعت، pH=۵/۵ و دمای °C ۳۷ تعریف شده است.

** فعالیت ۱u آنزیم لاکاز به‌عنوان مقدار آنزیم لازم برای اکسایش کاتکول[1] در هر دقیقه در pH=٦ و دمای °C ۲۵ تعریف شده است.

در این پژوهش از توالی تیمارهای آنزیمی با ترکیب سلولاز- لاکاز با کنترل شرایط میزان مصرف، مدت زمان تیمار آنزیمی و هم‌چنین تنظیم شرایط فرآیندی انجام شد. در ابتدا تیمار آنزیمی خمیرکاغذ با استفاده از آنزیم سلولاز همراه با افزودن ۰/۲ درصد فعال‌ساز پلی‌سوربات Tween 80 تحت شرایط ثابت درجه حرارت ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد و درصد خشکی ۱۰ درصد در غلظت ثابت ۰/۱ درصد و زمان‌های مختلف ۱۰ و ۲۰ دقیقه (تیمارهای C_1 و C_2) در محدوده pH ٤/۵-۵/۵ در داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا همراه با هم‌زدن ملایم در داخل حمام بخار آب انجام گرفت. تنظیم pH خمیرکاغذ قبل تیمار آنزیمی به کمک اسید سولفوریک چهار نرمال صورت گرفت. برای توقف واکنش‌های آنزیمی سلولاز، خمیرکاغذها با استفاده از پراکسید هیدروژن (به میزان ثابت ۰/۰۵ درصد بر اساس وزن خشک خمیرکاغذ) خنثی‌سازی شدند. در ادامه خمیرکاغذهای

1- Catechol

پیش‌تیمارشده با سلولاز، با استفاده از آنزیم لاکاز- اسید ویلوریک در غلظت‌های ۲۰u و ۴۰u (بر اساس وزن خشک خمیرکاغذ) و زمان ثابت ۱۲۰ دقیقه تحت شرایط ثابت درصد خشکی ۱۰ درصد، درجه حرارت ۵۵-۶۰ °C و محدوده pH ۴/۵-۶/۵ مرکب‌زدایی شدند. در تیمارهای آنزیمی لاکاز، از ویلوریک اسید (VA[1]) به‌عنوان عامل واسطه[2] به میزان ۰/۵ درصد (براساس وزن خشک خمیرکاغذ) استفاده شد. برای توقف تیمار آنزیمی لاکاز، خمیرکاغذ پیش‌تیمارشده با استفاده از آب مقطر شستشو داده شد (۱۸ و ۱۹). به‌طورکلی توالی‌های ترکیبی آنزیمی در این پژوهش عبارتند از: الف: C_1L_1 (خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده با ترکیب آنزیم سلولاز (غلظت ۰/۱ درصد و مدت زمان ۱۰ دقیقه) و لاکاز (۲۰u لاکاز و مدت زمان ۱۲۰ دقیقه)، C_1L_2 (خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده با ترکیب آنزیم سلولاز (غلظت ۰/۱ درصد و مدت زمان ۱۰ دقیقه) و لاکاز (۴۰u لاکاز و مدت زمان ۱۲۰ دقیقه)، C_2L_1 (خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده با ترکیب آنزیم سلولاز (غلظت ۰/۱ درصد و مدت زمان ۲۰ دقیقه) و لاکاز (۲۰u لاکاز و مدت زمان ۱۲۰ دقیقه) و C_2L_2 (خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده با ترکیب آنزیم سلولاز (غلظت ۰/۱ درصد و مدت زمان ۲۰ دقیقه) و لاکاز (۴۰u لاکاز و مدت زمان ۱۲۰ دقیقه). هم‌چنین مرکب‌زدایی شیمیایی مخلوط خمیرکاغذ روزنامه و مجله بازیافتی (با نسبت ۳۰/۷۰) با استفاده از مواد شیمیایی شامل ۱ درصد پراکسید هیدروژن، ۱ درصد هیدروکسید سدیم، ۲ درصد سیلیکات سدیم، ۰/۳ درصد عامل کی‌لیت‌کننده DTPA و ۰/۲ درصد عامل فعال‌ساز سطحی پلی‌سوربات (Tween 80) (براساس وزن خشک خمیرکاغذ) تحت شرایط ثابت درصد خشکی ۱۰ درصد، درجه حرارت ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۲۰ دقیقه در کیسه‌های پلاستیکی مجزا در داخل حمام آب گرم انجام شد. مقادیر pH اولیه و نهایی خمیرکاغذ قبل و بعد از تیمار آنزیمی و شیمیایی اندازه‌گیری شدند. در ادامه شستشوی خمیرکاغذها تحت فشار یکنواخت آب و در ادامه شناورسازی آن‌ها در داخل سلول شناورسازی (زمان ۲۰ دقیقه، درصد خشکی ۰/۸ درصد همراه با افزودن ۰/۳۳ درصد کلرید کلسیم و ۰/۲ درصد ماده فعال‌ساز پلی‌سوربات (براساس وزن خشک خمیرکاغذ) در محدوده pH ۸-۸/۵ انجام گرفت. در ادامه خمیرکاغذهای حاصل با استفاده از پراکسید هیدروژن تحت شرایط مشخص فرآیندی رنگ‌بری شدند.

رنگ‌بری خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده: خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده با مواد شیمیایی و هم‌چنین توالی‌های مختلف آنزیمی، با مواد شیمیایی شامل ۲ درصد پراکسید هیدروژن، ۲ درصد هیدروکسید سدیم، ۲ درصد سیلیکات سدیم، ۰/۲ درصد کی‌لیت‌کننده DTPA و ۰/۱ درصد سولفات منیزیم در داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا و در حمام بخار آب تحت شرایط درصد خشکی ۱۰ درصد، دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۲ ساعت رنگ‌بری شدند (Xiao و همکاران، ۲۰۰۱؛ Xu و همکاران، ۲۰۰۹). در فرآیند رنگ‌بری، خمیرکاغذ به‌طور متناوب و در فاصله زمانی مشخص (به مدت هر ۳۰ دقیقه) به‌طور دستی هم‌زده شد تا مواد شیمیایی به‌طور یکنواخت در خمیرکاغذ پخش و پراکنش یابند. پس از رنگ‌بری، خمیرکاغذ بر روی الک با مش ۲۰۰ آب‌گیری و با استفاده از آب مقطر (تقریباً ۱۰ برابر حجمی) شستشو داده شد تا واکنش رنگ‌بری متوقف شود و از اثر زردشدگی خمیرکاغذ ناشی از قلیای باقی‌مانده جلوگیری شود (۱۵ و ۲۰). سپس خمیرکاغذ در داخل کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شده و از آن‌ها کاغذ دست‌ساز استاندارد (با وزن پایه حدود ۶۰ گرم بر مترمربع) ساخته شد.

1- Violuric acid
2- Mediator

ساخت کاغذ دست‌ساز آزمایشگاهی و اندازه‌گیری ویژگی‌های آن‌ها: کاغذهای دست‌ساز استاندارد پس از اتمام مرحله رنگ‌بری خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی شده با توالی‌های مختلف ترکیب آنزیمی و هم‌چنین مرکب‌زدایی متداول شیمیایی در مطابق با استاندارد T 205 SP-02 آئین‌نامه تاپی ساخته شدند. کاغذهای ساخته شده برای جلوگیری از تغییر شکل و چین‌خوردگی به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق خشک شده و سپس به مدت ٢٤ ساعت در اتاق کلیما (تحت شرایط استاندارد رطوبت نسبی ٢±٥٠ درصد و دمای ١±٢٣ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و ویژگی‌های نوری و مقاومتی آن‌ها اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های نوری کاغذ شامل درجه روشنی و زردی مطابق با T٤٥٢ om-٠٢ و ماتی کاغذ نیز طبق شماره استاندارد T٤٢٥ om-٠١ با استفاده از دستگاه Datacolor Elrepho اندازه‌گیری شدند. هم‌چنین ویژگی‌های مقاومتی کاغذ شامل شاخص کششی و طول پارگی (T٤٩٤ om-٠١)، شاخص ترکیدگی (T٤٠٣ om-٠٢) و هم‌چنین شاخص پارگی (T٤١٤ om-٠٤) مطابق با استانداردهای مربوطه اندازه‌گیری شدند.

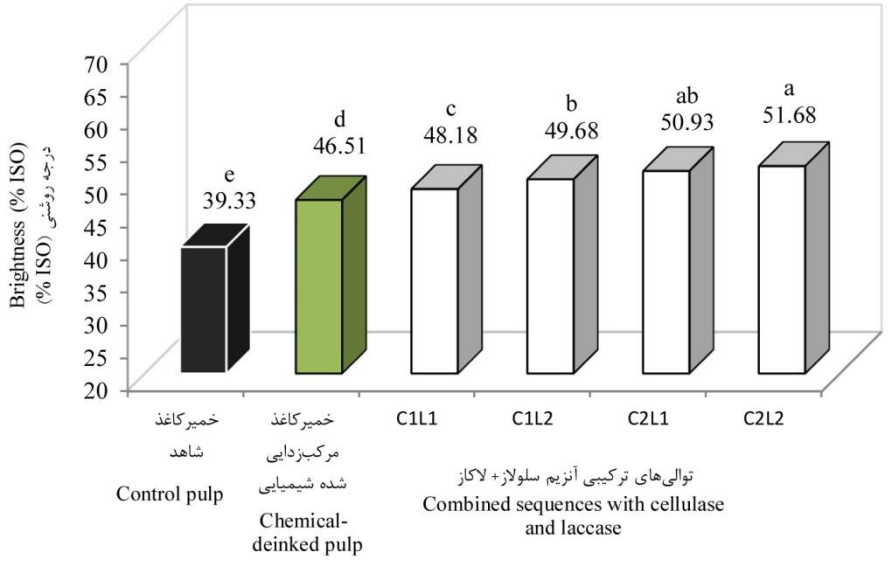
تجزیه‌وتحلیل آماری: این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و تأثیر رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن (سطح اطمینان آماری ٩٩ درصد) در مورد خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده با توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز و هم‌چنین سیستم مرکب‌زدایی متداول شیمیایی به کمک آزمون تجزیه واریانس (آزمون F) در نرم‌افزار آماری SAS مورد بررسی قرار گرفت. تمام آزمایش‌ها به‌طور مستقل در سه تکرار انجام شد. گروه‌بندی میانگین خواص کیفی کاغذ شامل ویژگی‌های نوری و مقاومتی به کمک آزمون دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی ویژگی‌های خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی شده پس از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن

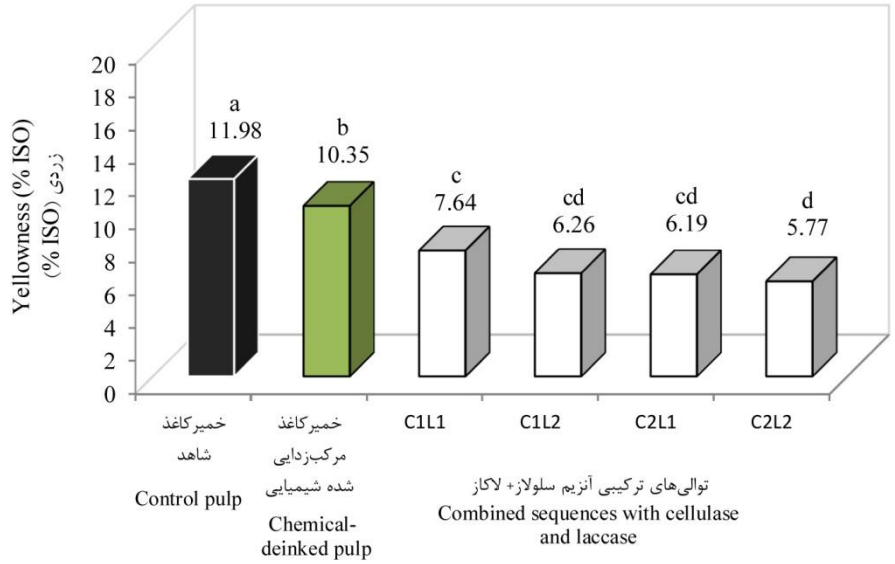
ویژگی‌های نوری: نتایج ارزیابی تأثیر رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن بر ویژگی‌های نوری کاغذهای حاصل از توالی‌های مختلف تیمار آنزیمی در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده به روش متداول شیمیایی بیانگر آن است که با مخلوط آنزیم سلولاز و لاکاز می‌توان بعد از رنگ‌بری به‌مراتب به کاغذهای روشن‌تر و با زردی کم‌تر (به‌جز ماتی کاغذ) دست یافت (جدول ٢؛ شکل‌های ١، ٢ و ٣)، به‌طوری‌که تغییرات ایجاد شده در ویژگی‌های نوری کاغذ در سطح اطمینان آماری ٩٩ درصد معنی‌دار بوده است. همان‌طور که در این شکل‌ها مشاهده می‌شود، تأثیر توالی‌های ترکیبی مختلف سلولاز و لاکاز در رنگ‌بری خمیرکاغذ بازیافتی متفاوت می‌باشد اما در مجموع قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده با توالی‌های ترکیبی آنزیم‌ها بهتر از خمیرکاغذ رنگ‌بری شده پس از مرکب‌زدایی شیمیایی بوده و کاغذهای حاصل از درجه روشنی و سفیدی بیش‌تر (شکل ٤) و هم‌چنین زردی کم‌تر برخوردار بودند؛ اما ماتی این کاغذها در اثر رنگ‌بری کاهش یافته که با توجه به خروج لیگنین (در اثر استفاده از آنزیم لاکاز و تأثیر مثبت آن در اکسایش گروه‌های هیدروکسیل فنلی و متوکسیل حلقه لیگنین) و توسعه سطح اتصالات بین الیاف و بهبود درجه روشنی و سفیدی کاغذ قابل توجیه می‌باشد. نتایج به‌دقت آمده از این پژوهش بیانگر اثربخشی استفاده ترکیبی از آنزیم سلولاز و لاکاز و بهبود قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذ در مقایسه با نمونه خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی می‌باشد و نتایج این پژوهش با نتایج ژو و همکاران (٢٠١١) در مورد کاغذ روزنامه بازیافتی مطابقت دارد.

در این پژوهش، کاغذهای حاصل از برخی توالی‌های ترکیبی سلولاز و لاکاز در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی دارای درجه روشنی بیش‌تر (۲-۵ واحد ایزو)، زردی کم‌تر (تا ۲ واحد)، سفیدی بیش‌تر (تا ۵ واحد) بودند. در مجموع براساس نتایج به‌دقت آمده از تیمارهای ترکیبی مختلف، تیمارهای C_2L_2 و C_2L_1 به ترتیب بیش‌ترین مقادیر درجه روشنی (۵۱/۶۸ و ۵۰/۹۳ درصد ایزو) و کم‌ترین مقادیر زردی (از ۶/۱۹ به ۵/۷۷ درصد ایزو) را بعد از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن نشان دادند. هم‌چنین سفیدی کاغذ به‌عنوان یکی دیگر از شاخص‌های نوری کاغذ نیز طی رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن افزایش قابل‌ملاحظه‌ای را نشان داده است به‌طوری‌که این افزایش به ترتیب در توالی‌های ترکیبی آنزیمی C_2L_2 و C_2L_1 به ترتیب با افزایش حدود ۳۱/۹۲ و ۲۴/۵۴ درصد در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی همراه بوده است (شکل ۳). در این راستا کاپور و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تیمار خمیرکاغذ بازیافتی با آنزیم‌های زایلاناز و سیستم LMS به‌طور مجزا و ترکیبی به این نتیجه دست یافتند که با استفاده از این آنزیم‌ها، درجه روشنی کاغذ بعد از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای بهبود یافته و استفاده از ترکیب آنزیمی همی‌سلولاز-LVS کاغذهای با درجه روشنی به‌مراتب بهتری را نسبت به تیمارهای مجزا نتیجه داده است (۲۱). هم‌چنین در پژوهش Xu و همکاران (۲۰۰۹) نیز نتایج مرکب‌زدایی و رنگ‌بری کاغذ روزنامه بازیافتی با آنزیم‌های مختلف بیانگر آن بوده که استفاده از سیستم همی‌سلولاز- LVS بیش‌ترین درجه روشنی را بعد از رنگ‌بری در مقایسه با تیمارهای ترکیبی نشان داده اما طول پارگی کاغذهای حاصل در مقایسه با سیستم LVS کم‌تر بوده اما نسبت به سلولاز، این خمیرکاغذها از مقاومت کششی و طول پارگی بیش‌تری برخوردار بودند (۲۲). آنزیم‌های سلولاز به بخش‌های آمورف زنجیر سلولز حمله کرده و با بهبود مرفولوژی و انعطاف‌پذیری الیاف و هم‌چنین تغییر فیبریل‌های سطحی الیاف منجر به بهبود واکشیدگی دیواره الیاف و آزاد شدن الیاف کوتاه در نتیجه جدا شدن مرکب چاپ می‌شوند. استفاده از سلولاز در فرآیند مرکب‌زدایی به دلیل هیدرولیز جزئی مناطق مربوط به اتصالات بین الیاف- مرکب، جداسازی ذرات مرکب از سطح الیاف را طی شستشو یا شناورسازی آسان می‌کند (۵). با استفاده از آنزیم سلولاز و در ادامه لاکاز میزان فیبریله شدن الیاف و ایجاد میکروفیبریل‌های ریز بر روی سطح الیاف افزایش یافته و سطح الیاف زبرتر و غیریکنواخت‌تر شده و این تغییرات با افزودن میزان مصرف آنزیم و یا مدت زمان واکنش آنزیمی افزایش بیش‌تری خواهد داشت. با افزایش مدت زمان تیمار آنزیمی (تیمار C_2L_1) و هم‌چنین افزایش مقدار مصرف لاکاز (تیمار C_2L_2) هم‌زمان با توسعه میکروفیبریل‌های سطح الیاف، تأثیر آنزیم‌ها بر ذرات مرکب و شکستن اتصال بین الیاف- ذرات مرکب و شکستن لیگنین و انحلال آن بیش‌تر شده درنتیجه با کاهش بیش‌تر متوسط ابعاد مرکب چاپ (ریزتر شدن مرکب‌های چاپ)، این ذرات آسان‌تر در بخش‌های شستشو و شناورسازی (فرآیند مرکب‌زدایی) خارج شده و با شکست ساختار لیگنین و خروج آن‌ها نیز خمیرکاغذ حاصل شفاف‌تر و روشن‌تر خواهد شد. درنتیجه این خمیرکاغذها در ادامه نسبت به مواد شیمیایی رنگ‌بر با پراکسید هیدروژن عکس‌العمل بهتری را نشان داده و ویژگی‌های نوری بهتری نسبت به خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی حاصل شده است.



شکل ۱- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر درجه روشنی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 1. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on the brightness of pulp bleached with hydrogen peroxide.



شکل ۲- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر زردی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 2. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on the yellowness of pulp bleached with hydrogen peroxide.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر پیش‌تیمار آنزیمی بر ویژگی‌های نوری خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

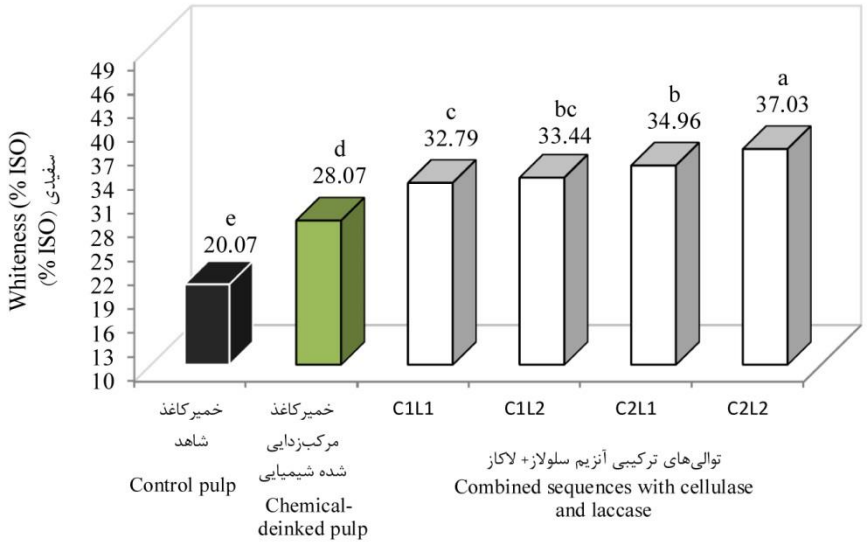
Table 2. The results of variance analysis of the effect of enzyme pre-treatment on the optical properties of pulp bleached with hydrogen peroxide.

ویژگی‌های نوری Optical properties	منبع تغییرات Source of change	مجموع مربعات Sum of square	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of square	محاسبه‌شده F F value	سطح معنی‌داری P value
درجه روشنی Brightness	تیمار Treatment	3436.97	5	1038.22	85.31	0.0001
	خطا Error	111.13	12	0.081		
	کل Total	3548.1	17			
زردی Yellowness	تیمار Treatment	1002.14	5	387.59	49.51	0.0014
	خطا Error	0.93	12	0.003		
	کل Total	1003.07	17			
ماتیت acity	تیمار Treatment	3781.501	5	956.18	32.19	0.001
	خطا Error	1.867	12	0.0096		
	کل Total	3783.368	17			
سفیدی Whiteness	تیمار Treatment	2849.34	5	956.18	62.74	0.0012
	خطا Error	1.34	12	0.0014		
	کل Total	2850.68	17			

براساس گزارش‌های منتشرشده توسط Xu و همکاران (۲۰۰۹) و هم‌چنین Xu و همکاران (۲۰۱۱)، در صورت استفاده از آنزیم سلولاز و همی‌سلولاز به‌طور مجزا، افزایش درجه روشنی به‌طور مشابه حدود ۷ درصد ایزو می‌باشد و با استفاده از ترکیب سلولاز- LVS (۵۵/۹ درصد ایزو) و همی‌سلولاز- LVS (۶۰/٤ درصد ایزو)، درجه روشنی کاغذ بعد از رنگ‌بری به حدود ۱۱ تا ۱۳ واحد ایزو و در صورت استفاده از آنزیم لاکاز درجه روشنی حدود ۱۰ واحد افزایش خواهد یافت. در این پژوهش افزایش درجه روشنی با بهترین توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز (تیمارهای ترکیبی C_2L_2 و C2L1) حدود ۱۱ الی ۱۲ واحد ایزو و زردی کاغذ نیز به ترتیب ۵-٦ واحد ایزو در مقایسه با خمیرکاغذ تیمار نشده کاهش یافته است (۲۲ و ۲۳). درجه روشنی خمیرکاغذ مرکب‌زدایی شده شیمیایی بعد از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن حدوداً ۷ واحد افزایش یافته است. این در حالی است که قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده با ترکیب سلولاز و لاکاز بهتر بوده و مقادیر درجه روشنی بهتر و با زردی کم‌تر حاصل شده است (۲۲).

هم‌چنین در پژوهش راشینگ و همکاران (۱۹۹٤) با ارزیابی قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذ روزنامه بازیافتی (با چاپ لترپرس و فلکسوگرافی) مرکب‌زدایی‌شده با سلولاز، همی‌سلولاز (زایلاناز) گزارش دادند که قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذهای پیش‌تیمارشده با آنزیم‌ها (با پراکسید هیدروژن) قابل‌مقایسه و بعضاً بهتر از روش متداول شیمیایی است به‌طوری‌که در کاغذ روزنامه چاپ لترپرس، میزان افزایش درجه روشنی در خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده با سلولاز، همی‌سلولاز و روش شیمیایی به ترتیب ٦/٩ درصد (حدود ۷ واحد)، ٦/۳ درصد (حدود ۷ واحد) و ٦ درصد (حدود ۵ واحد) و در چاپ فلکسوگرافی به‌ترتیب ۷/۱ درصد (حدود ٦-۷ واحد)، ٦/۹ درصد (حدود ٦-۷ واحد) و ٤/۹ درصد (حدود ۵ واحد) تعیین شده است (٢٤).

عوامل شیمیایی رنگ‌بر مانند اُزن، اکسیژن، پراکسید هیدروژن و یا هیدروسولفیت سدیم برای رنگ‌بری الیاف بازیافتی استفاده می‌شوند. در این زمینه استفاده از آنزیم لاکاز در حضور عامل واسطه به‌عنوان یک فرآیند نواری شدن رنگ[1] خمیرکاغذهای بازیافتی مطرح شده است (۲۵). افزودن مصرف آنزیم لاکاز به ٤۰u (تیمارهای آزمایشی C_2L_2 و C_1L_2) در مخلوط با سلولاز موجب بهبود قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذ شده است به‌طوری‌که خمیرکاغذهای حاصل از درجه روشنی و سفیدی بیش‌تر (زردی کم‌تر) و ماتی کم‌تر در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی برخوردار بودند. در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی شده شیمیایی، افزایش درجه روشنی خمیرکاغذ در توالی آنزیمی C_2L_2 بعد رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن به میزان ۱۱/۱۲ درصد (افزایش حدود ۵ واحد) و در تیمار C_1L_2 نیز میزان افزایش حدود ۹/۵ درصد (افزایش حدود ٤ واحد) مشاهده شده است. هم‌چنین مقدار سفیدی کاغذ نیز در تیمارهای C_2L_2 و C_2L_1 به‌ترتیب به‌میزان ۳۱/۹۲ درصد و ٢٤/٥٤ درصد (افزایش حدود ۹ و ٦ واحد) افزایش یافته و زردی کاغذها نیز در این تیمارها به ترتیب به میزان ٤۰/۱۹ و ٤٤/۲٥ درصد و ماتی کاغذ به ترتیب ۳۷/۷٤ و ۲۳/۹۷ درصد کاهش یافتند.



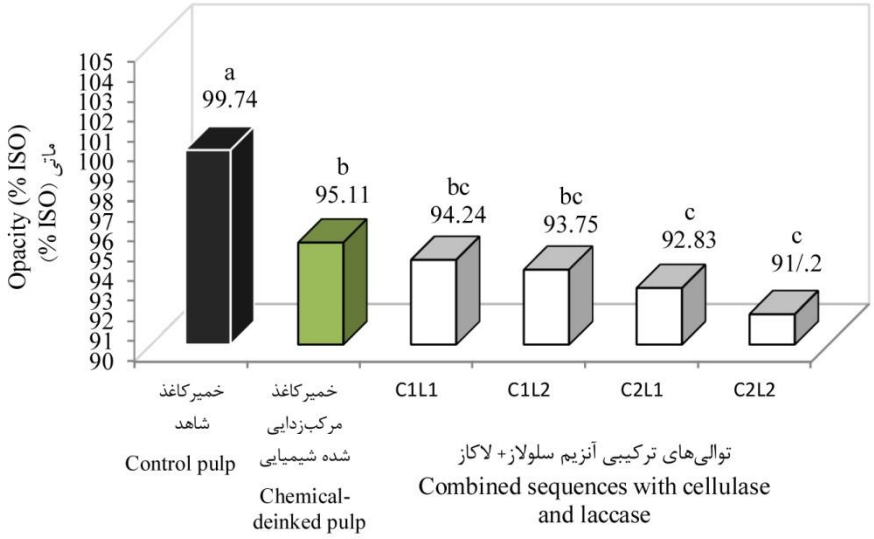
شکل ۳- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر سفیدی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 3. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on the whiteness of pulp bleached with hydrogen peroxide.

1- Color stripping

استفاده از پراکسید هیدروژن در رنگ‌بری خمیرکاغذ بازیافتی با توجه به افزایش آب‌دوستی، انعطاف‌پذیری و سطح اتصال بین الیاف درنتیجه انحلال قلیایی لیگنین با توجه به سطح در معرض بیش‌تر الیاف در معرض محیط قلیایی منجر به بهبود درجه روشنی و ویژگی‌های مقاومتی خمیرکاغذهای رنگ‌بری‌شده نسبت به خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده می‌شود (۱۵). رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن به دلیل تخریب گروه‌های رنگ‌ساز موجود در ساختار لیگنین ضمن واکنش یون پرهیدروکسیل (HOO^-) به‌عنوان عامل اصلی تخریب گروه‌های رنگ‌ساز لیگنین و هم‌چنین افزایش مقدار گروه‌های کربوکسیل خمیرکاغذ (۱۵ و ۱۹)، منجر به بهبود ویژگی‌های نوری کاغذ (بهبود درجه روشنی و کاهش زردی) می‌شود. خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده با ترکیب سلولاز و لاکاز پاسخ خوبی را به عامل رنگ‌بر با پراکسید هیدروژن نشان دادند و امکان خروج حداکثر مقدار لیگنین و ترکیبات رنگی خمیرکاغذ در توالی‌های ترکیبی آنزیمی وجود دارد. بنابراین اعمال تیمار اکسایشی لاکاز و سلولاز به‌صورت ترکیبی در مرکب‌زدایی خمیرکاغذ بازیافتی به نظر می‌رسد نقش بیش‌تری را در تخریب ساختار لیگنین داشته و درنتیجه طی فرآیند رنگ‌بری، لیگنین و یا سایر ترکیبات رنگی بیش‌تری می‌توانند توسط عامل لیگنین‌زدایی HOO^- از خمیرکاغذ خارج شوند (۹ و ۱۵)، از این‌رو ویژگی‌های نوری مطلوب‌تری (به‌جز ماتی کاغذ) حاصل شده است.

همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود، خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی شده با ترکیب آنزیم‌های سلولاز و لاکاز در مجموع در مقایسه با سایر تیمارها، ماتی کم‌تری را بعد از رنگ‌بری نشان دادند و این نتیجه بیانگر خروج بیش‌تر گروه‌های رنگ‌ساز لیگنین و سایر ترکیبات رنگی خمیرکاغذ درنتیجه بهبود درجه روشنی و سفیدی کاغذ می‌باشد. این نکته دارای اهمیت است که در برخی توالی‌های ترکیبی آنزیمی، افت ماتی کاغذ بیش‌تر بوده است (تیمارهای آزمایشی C_2L_2 و C_2L_1). از طرف دیگر رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن همراه با توسعه سطح اتصال بین الیاف و کاهش تفرق و شکست نور الیاف (۲٦ و ۲۷) منجر به کاهش ماتی کاغذ شده و در مجموع خمیرکاغذهای رنگ‌بری‌شده پس از مرکب‌زدایی با ترکیب آنزیم‌ها مقادیر ماتی کم‌تری را نشان دادند. نتایج به‌دقت آمده از این پژوهش با نتایج سایر پژوهش‌گران از جمله Rushing و همکاران (۱۹۹۳)، Akbarpour و همکاران (۲۰۱۸)، Pathak و همکاران (۲۰۲۲) و هم‌چنین Akbarpour و همکاران (۲۰۲۲) همخوانی و مطابقت دارد. در مجموع می‌توان گفت که در مرحله رنگ‌بری، لیگنین و یا سایر ترکیبات رنگی خارج شده‌اند. بنابراین کاغذهای با ماتی (در نتیجه کاهش ضریب جذب نور) کم‌تر حاصل شده است. از طرف دیگر افت ماتی کاغذها بعد رنگ‌بری را می‌توان به توسعه سطح اتصال بین الیاف (ضمن خروج لیگنین) در نتیجه کاهش ضریب پخش نور کاغذ نسبت داد.



شکل ٤- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر ماتی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 4. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on the opacity of pulp bleached with hydrogen peroxide.

ویژگی‌های مقاومتی: نتایج ارزیابی تأثیر رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن بر شاخص‌های مقاومت به کشش و طول پارگی خمیرکاغذهای مرکب‌زدایی‌شده مختلف نشان داد که این ویژگی‌ها به‌طور مثبت تحت‌تأثیر قرار گرفته و اختلاف این مقادیر به لحاظ آماری در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳؛ شکل‌های ۵ و ٦). استفاده از توالی آنزیمی سلولاز و لاکاز کاغذهای با شاخص‌های مقاومت به کشش و در نتیجه طول پارگی بیش‌تری را بعد از مرحله رنگ‌بری در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده به روش متداول شیمیایی نتیجه داده است. شاخص مقاومت به کشش خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده (پس از مرکب‌زدایی شیمیایی) به میزان ۷/۷۱ درصد و طول پارگی کاغذ نیز به میزان ٤/۹ درصد (به ترتیب ۲۹/۹٦ Nm/g و ۲/۹۷ km) در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی (بعد از رنگ‌بری) بهبود یافته‌اند. این در حالی است که در تیمارهای آزمایشی C_2L_1 و C_2L_2، شاخص مقاومت به کشش به ترتیب ۲۹/۱۷ درصد و ۳۵/٦٤ درصد (به ترتیب ٤۰/٦٤ Nm/g و ۳۸/۷ Nm/g) و هم‌چنین طول پارگی کاغذ نیز به ترتیب ٦٤/٤۲ درصد و ۹۹ درصد (۵/۹۲ km و ٤/۸۹ km) بهبود یافته‌اند (شکل‌های ۵ و ٦).

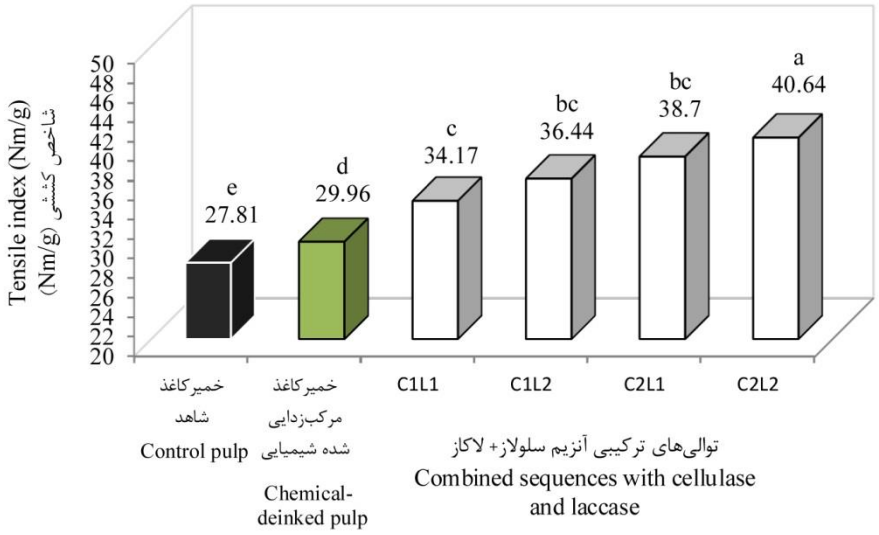
در تیمارهای آزمایشی C_1L_2 و C_2L_2 با توجه به میزان مصرف بیش‌تر آنزیم لاکاز (٤۰u)، تأثیر آنزیم لاکاز در تخریب و کاهش گروه‌های گوایاسیل و هیدروکسیل فنلی لیگنین بیش‌تر بوده (۱۰ و ۱۸) و بنابراین تأثیر هم‌افزایی آن با آنزیم سلولاز به‌ویژه در مدت زمان طولانی‌تر واکنش آنزیمی (۲۰ دقیقه) به‌مراتب افزایش یافته است. در نتیجه این خمیرکاغذ (با توجه به افزایش مقدار ماده سلولزی خمیرکاغذ ضمن خروج لیگنین) پاسخ بسیار خوبی را نسبت به مواد شیمیایی پراکسید هیدروژن نشان داد و میزان بهبودی ویژگی‌های مقاومتی کاغذ نیز بیش‌تر بوده است. از طرف دیگر در تیمارهای آنزیمی شامل توالی سلولاز، با توجه به زمان طولانی‌تر واکنش آنزیمی (در تیمارهای شامل توالی C_2)، واکشیدگی، انعطاف‌پذیری

الیاف، آب‌دوستی و هم‌چنین شدت فیبریله شدن سطحی الیاف در مرحله پیش‌تیمار توسعه بیش‌تری یافته و بنابراین این نوع خمیرکاغذ واکنش‌پذیری خوبی را در مرحله رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن نشان داده است. ویژگی‌های مقاومتی کاغذ در سیستم رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن نیز به‌دلیل تخریب گروه‌های رنگ‌ساز باقی‌مانده موجود در ساختار لیگنین (ایجاد یون پرهیدروکسیل (HOO^-) به‌عنوان عامل اصلی تخریب گروه‌های رنگ‌ساز لیگنین) و هم‌چنین افزایش مقدار گروه‌های کربوکسیل خمیرکاغذ (۱۵ و ۲۸) بهبود بیش‌تری می‌یابند.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر پیش‌تیمار آنزیمی بر ویژگی‌های مقاومتی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

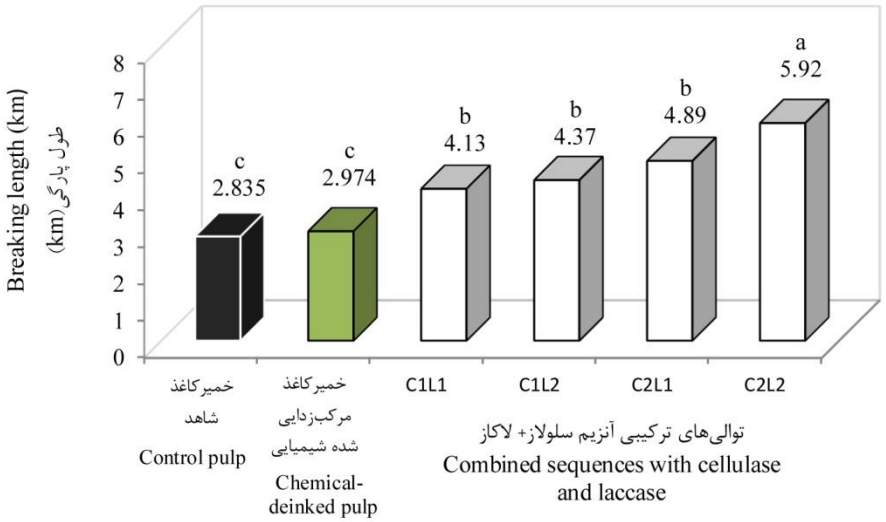
Table 3. The results of variance analysis of the effect of enzyme pre-treatment on the strength properties of pulp bleached with hydrogen peroxide.

ویژگی‌های مقاومتی Strength properties	منبع تغییرات Source of change	مجموع مربعات Sum of square	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of square	محاسبه‌شده F F value	سطح معنی‌داری P value
شاخص کششی Tensile index	تیمار Treatment	78.17	5	27.18	16.52	0.0001
	خطا Error	1.005	12	0.0004		
	کل Total	79.175	17			
طول پارگی Breaking length	تیمار Treatment	69.34	5	22.84	15.88	0.0017
	خطا Error	0.086	12	0.0063		
	کل Total	69.426	17			
شاخص ترکیدگی Burst index	تیمار Treatment	73.441	5	25.37	18.07	0.0001
	خطا Error	1.105	12	0.067		
	کل Total	74.546	17			
شاخص پارگی Tear index	تیمار Treatment	118.57	5	32.18	25.66	0.0001
	خطا Error	2.08	12	0.062		
	کل Total	120.65	17			



شکل ۵- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر شاخص کششی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 5. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on tensile index of pulp bleached with hydrogen peroxide.

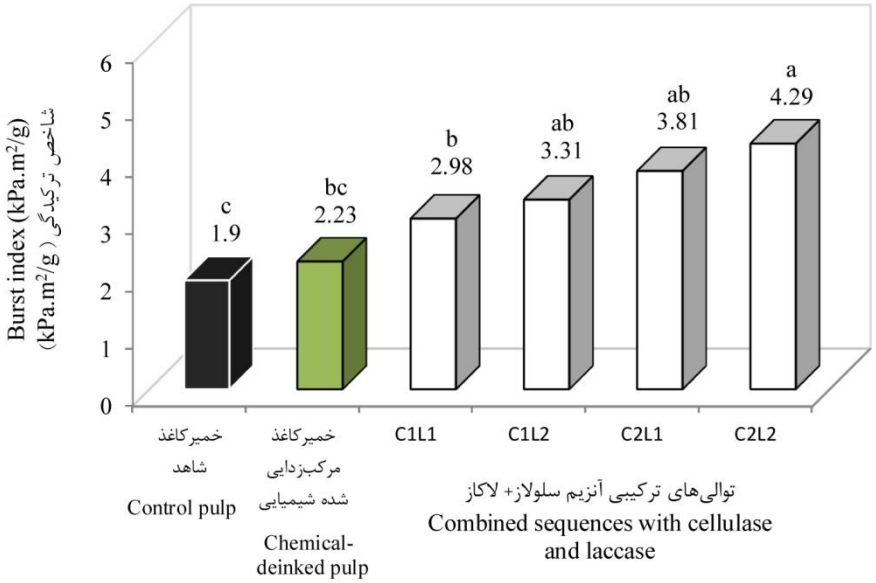


شکل ٦- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر طول پارگی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 6. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on breaking length of pulp bleached with hydrogen peroxide.

نتایج بررسی تأثیر توالی‌های مختلف ترکیب آنزیم‌های سلولاز و لاکاز بر شاخص‌های ترکیدگی و پارگی کاغذ (پس از رنگ‌بری) در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی نشان داد که این ویژگی‌ها به‌طور معنی‌دار (سطح اطمینان آماری ۹۹ درصد) تغییر یافته‌اند. خمیرکاغذهای رنگ‌بری‌شده پس از مرکب‌زدایی با توالی‌های ترکیبی آنزیمی از مقادیر شاخص ترکیدگی به‌مراتب بیش‌تر و پارگی قابل‌مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده به روش متداول شیمیایی برخوردار بودند به‌طوری‌که افزایش شاخص ترکیدگی در تیمارهای C_2L_1 و C_2L_2 به‌ترتیب به‌میزان ۷۰/۸۵ درصد و ۹۲/۳۷ درصد

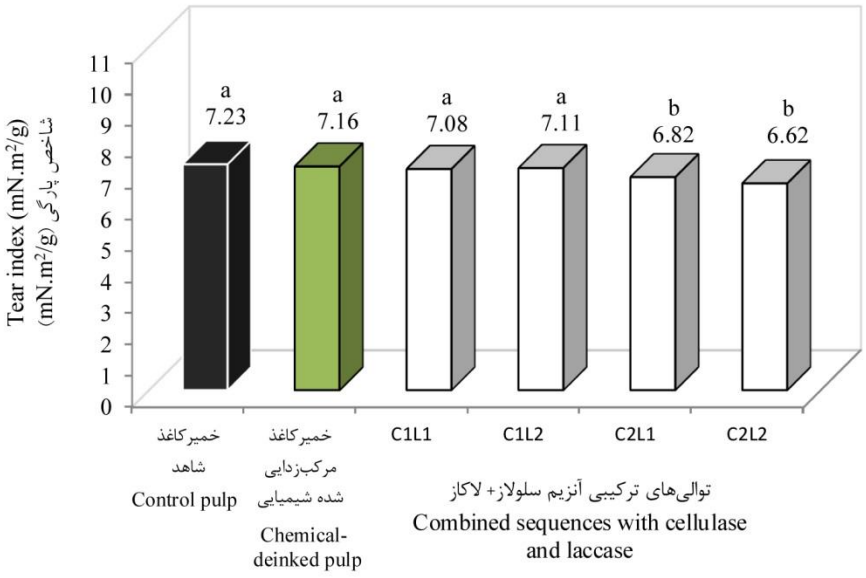
(به‌ترتیب ۳/۸۱ $kPa.m^2/g$ و ٤/۲۹ $kPa.m^2/g$) تعیین شد (شکل‌های ۷ و ۸). هم‌چنین در این تیمارها، شاخص‌های پارگی کاغذ به‌طور متوسط در حدود ٦/۸۲ $mN.m^2/g$ و ٦/٦۲ $mN.m^2/g$ به‌دقت آمد که در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی پس از رنگ‌بری کمی کم‌تر است اما در تیمار ترکیبی C_1L_2 شاخص پارگی تقریباً معادل خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی حاصل می‌باشد. در مرحله پیش‌تیمار آنزیمی، استفاده از آنزیم سلولاز در توالی ترکیبی موجب فیبریله شدن داخلی و سطحی الیاف و در نتیجه افزایش سطح ویژه[1] الیاف، اتصال بین الیاف[2] و افزایش تعداد پیوندهای هیدروژنی می‌شود (۲۹) و بنابراین شاخص مقاومت به ترکیدگی کاغذ افزایش یافته است. هم‌چنین زبر شدن سطح الیاف نیز طی تیمارهای آنزیمی سلولاز و لاکاز نقش مهمی را در افزایش مقاومت کاغذ خمیرکاغذ بازیافتی دارد (۲۹) و واکنش‌پذیری خمیرکاغذ را در مرحله رنگ‌بری افزایش می‌دهد. به‌طورکلی در سیستم رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن دو دلیل احتمالی برای بهبود ویژگی‌های مقاومتی کاغذ وجود دارد که عبارتند از: الف- درهم‌ریختگی[3] حفره الیاف در اثر لیگنین‌زدایی و انحلال سایر ترکیبات چوب مانند همی‌سلولز، سطح تماس بین الیاف را افزایش داده در نتیجه با تقویت اتصال بین الیاف، ویژگی‌های مقاومتی کاغذ مانند شاخص‌های مقاومت به کشش و ترکیدگی بهبود می‌یابد. ب- محیط قلیایی فرآیند رنگ‌بری موجب افزایش واکشیدگی الیاف سلولزی و سطح ویژه الیاف شده در نتیجه مقاومت کلی کاغذ بهبود می‌یابد (۳۰ و ۳۱). در این پژوهش، توالی‌های ترکیبی آنزیمی، قابلیت رنگ‌بری خمیرکاغذ با پراکسید هیدروژن را افزایش داده و کاغذهای با شاخص ترکیدگی بیش‌تری بعد از رنگ‌بری نتیجه داده است.



شکل ۷- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر شاخص ترکیدگی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 7. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on burst index of pulp bleached with hydrogen peroxide.

1- Surface area
2- Inter-fiber bonding
3- Collapse



شکل ۸- تأثیر پیش‌تیمار با توالی‌های ترکیبی آنزیم سلولاز و لاکاز بر شاخص پارگی خمیرکاغذ رنگ‌بری‌شده با پراکسید هیدروژن.

Figure 8. Effect of pretreatment with cellulase and laccase combined sequences on tear index of pulp bleached with hydrogen peroxide.

پیش‌تیمار آنزیمی با توالی ترکیبی سلولاز و لاکاز می‌تواند منجر به ایجاد تغییر در درجه بلورینگی الیاف (۵)، فیبریله شدن سطحی الیاف (۵ و ۳۱) و هم‌چنین گروه‌های عاملی سلولز و لیگنین خمیرکاغذ (۵)، جداسازی لیگنین سطحی خمیرکاغذ (۱۹) شود و بنابراین این تغییرات واکنش‌پذیری خمیرکاغذ به رنگ‌بری تکمیلی را می‌تواند افزایش دهد. در نتیجه امکان خروج لیگنین و سایر ترکیبات رنگی خمیرکاغذ طی فرآیند رنگ‌بری محتمل‌تر و بیش‌تر خواهد بود. از این‌رو میزان بهبود ویژگی‌های کیفی کاغذ بعد از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن به‌مراتب در مقایسه با مرکب‌زدایی شیمیایی بیش‌تر بوده است. نتایج این پژوهش با نتایج Xu و همکاران (۲۰۱۱) در مورد کاغذ روزنامه بازیافتی مطابقت دارد. آنزیم لاکاز با شکستن کمپلکس لیگنین- کربوهیدرات به آزاد شدن لیگنین در مرحله مرکب‌زدایی در نتیجه به خروج آسان‌تر آن‌ها توسط مواد شیمیایی رنگ‌بری کمک می‌کند. در مقایسه با خمیرکاغذ مرکب‌زدایی‌شده شیمیایی، خمیرکاغذهای پیش‌تیمارشده با مقادیر بیش‌تر مصرف آنزیم لاکاز و هم‌چنین مدت زمان بیش‌تر تیمار آنزیمی سلولاز (تیمارهای آزمایشی C_2L_1 و C_2L_2)، در مجموع پاسخ بهتری را نسبت به مواد شیمیایی رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن نشان دادند و کاغذهای حاصل نیز از کیفیت نوری و مقاومتی بهتری برخوردار می‌باشند.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر استفاده از آنزیم‌های سلولاز و لاکاز به‌عنوان یک روش دوستدار محیط‌زیست در پیش‌تیمار خمیرکاغذهای بازیافتی معرفی شده است. در این پژوهش، امکان تولید کاغذهای با کیفیت نوری و مقاومتی بهتر با استفاده از خمیرکاغذهای پیش‌تیمار شده با توالی ترکیبی آنزیم‌های سلولاز و لاکاز پس از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دقت آمده نشان داد که خمیرکاغذهای پیش‌تیمارشده با توالی آنزیمی سلولاز و لاکاز (در مرحله مرکب‌زدایی) پس از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن کاغذهای با درجه روشنی و سفیدی بهتر،

زردی کم‌تر، ماتی نسبتاً کم‌تر و هم‌چنین ویژگی‌های مقاومتی مطلوب‌تری را در مقایسه با خمیرکاغذهای از پیش مرکب‌زدایی‌شده با روش متداول شیمیایی نتیجه داده است. آنزیم‌های سلولاز و لاکاز با شکستن ذرات مرکب چاپ، بهبود فیبریله شدن سطح الیاف و شکستن کمپلکس لیگنین- کربوهیدرات به آزاد شدن لیگنین در مرحله مرکب‌زدایی در نتیجه به خروج آسان‌تر آن‌ها توسط مواد شیمیایی رنگ‌بری کمک می‌کند. در خمیرکاغذهای پیش‌تیمارشده با مقادیر بیش‌تر مصرف آنزیم لاکاز و هم‌چنین مدت زمان بیش‌تر تیمار آنزیمی سلولاز (تیمارهای آزمایشی C_2L_1 و C_2L_2)، قابلیت رنگ‌بری بهتر پس از رنگ‌بری با پراکسید هیدروژن حاصل شده است و کاغذهای حاصل نیز از خواص نوری و مقاومتی بهتری برخوردار بودند.

منابع

1. Zhang, X., Renaud, S., & Paice, M. (2008). Cellulase deinking of fresh and aged recycled newsprint/magazines (ONP/OMG). *Enzyme and Microbial Technology J.* 43 (2), 103-108.
2. Ibarra, D., Concepcion Monte, M., Blanco, A., & Martinez, T. (2011). Enzymatic deinking of secondary fibers: cellulases/hemicellulases versus laccase-mediator system. *Industrial Microbiology and Biotechnology J.* 139 (1), 1-9.
3. Akbarpour, A., Ghasemian, A., & Azizian Nesnar, A. (2019). Studying the recovery and recycling rate of waste paper on a global scale until 2028. The 3rd National Conference of knowledge and innovation in the wood and paper industry, 12p.
4. Akbarpour, I., Ghasemian, A., & Azizian Nasnar, A. (2019). Studying the rate of consumption and recycling of waste paper on a global scale until 2028 AD. The 3rd National Conference of Science and Innovation in the Wood and Paper Industry, 12p.
5. Akbarpour, I., Ghasemian, A., Resalati, H., & Saraeian, A. (2018). Biodeinking of mixed ONP and OMG waste papers with cellulase. *Cellulose J.* 25 (2), 1265-1280.
6. Bajpai, P. (2018). Fiber from recycled paper and utilization. Biermann's Handbook of Pulp and Paper (3rd Edition). P. Bajpai, Elsevier: Chapter 23, Pp: 547-582.
7. Bajpai, P., & Bajpai, P. K. (1998). Deinking with enzymes: a review. *Tappi J.* 81, 111-117.
8. Sango, C., Kaur, P., Bhardwaj, N. K., and Sharma, J. (2018). Bacterial cellulase treatment for enhancing reactivity of pre-hydrolysed kraft dissolving pulp for viscose. *Biotechnology J.* 8 (6), 1-7.
9. Pathak, P., Bhardwaj, N. K., & Singh, A. K. (2015). Enzymatic deinking for recycling of photocopier waste papers using crude cellulase and xylanase of Trichoderma harzianum PPDDN10 NFCCI 2925. *Nordic Pulp and Paper Research J.* 30 (4), 689-700.
10. Selvam, K., Swaminathan, K., Rasappan, K., Rajendran, R., Michael, A., & Pattabi, S. (2005). Deinking of waste papers by white rot fungi *Fomes lividus*, *Thelephora* sp. and *Trametes versicolor*. *Natural Environmental Pollution Technology J.* 4, 399-404.
11. Mohandass, C., Knutson, K., & Ragauskas, A. (2008). Laccase-treatment of recycled blue dyed paper: physical properties and fiber charge. *Industrial Microbiology and Biotechnology J.* 35, 1103-1108.
12. Hasanin, M. S., Hashem, A. H., Abd, E. S., & Houssni, E. S. (2020). Green ecofriendly bio-deinking of mixed office waste paper using various enzymes from Rhizopus microsporus AH3: efficiency and characteristics. *Cellulose J.* 27, 4443-4453.
13. Pathak, P., Sango, Ch., Sabharwal, A., Kapoor, R., Shukla, P., & Bhardwaj, N. K. (2022). Cellulase-assisted deinking approach for the recycling of mixed

office waste papers and its quality improvement; Research Square, Preprints; https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1807253/v1.

14. Sežun, M., Karlovits, I., & Kavčič, U. (2023). Chemical and enzymatic deinking efficiency of agricultural and industrial waste fiber-based paper packaging. *Science of Food and Agriculture J.* 103 (3), 1069-1076.
15. Akbarpour, I., Ghasemian, A., Resalati, H., Saraeyan, A., & Latibari, A. (2022). Investigation on the bleachability of hemicellulase-deinked pulp versus chemical deinking process. Tehran, *J. of Wood and Paper Industries.* 13 (3), 289-300. [In Persian]
16. Li, K., Collins, R., & Eriksson, K. E. (2000). Removal of dyes from recycled paper. *Progress Paper Recycling J.* 10, 37-43.
17. Pinto, R., Moreira, S., Mota, M., & Gama, M. (2004). Studies on the cellulose- binding domains adsorption to cellulose. *Langmuir J.* 20 (4), 1409-1413.
18. Shankar, S., Shikha, B. C., Chandra R., & Tyagi, S. (2018). Laccase based deinking of mixed office waste and evaluation of its impact on physico-optical properties of recycled fibre. *Environmental Sustainability J.* 1 (3), 233-244.
19. Xu, Q. H., Qin, M. H., Shi, S. L., & Fu, Y. J. (2006). Structural changes in lignin during the deinking of old newsprint with laccase-violuric acid system. *Enzyme and Microbial Technology J.* 39, 969-975.
20. Bhardwaj, N. K., & Nguyen, K. L. (2005). Charge aspects of hydrogen peroxide bleached de-inked pulps. Colloids and Surfaces A: *Physicochemical and Engineering Aspects J.* 262, 232-237.
21. Kapoor, M., Kapoor, R. K., & Kuhad, R. C. (2007). Differential and synergistic effects of xylanase and laccase mediator system (LMS) in bleaching soda and waste pulps. *Microbiology J.* 103, 305-317.
22. Xu, Q., Fu, Y., Gao, Y., & Qin, M. (2009). Performance and efficiency of old newspaper deinking by combining cellulase/hemicellulase with laccase-violuric acid system. *Waste management J.* 29 (5), 1486-1490.
23. Xu, Q. H., Wanga, Y. P., Qin, M. H., Fu, Y. J., Li, Z. Q., Zhang, F. S., & Li b, J. H. (2011). Fiber surface characterization of old newsprint pulp deinked by combining hemicellulase with laccase-mediator system. *Bioresource Technology J.* 102, 6536-6540.
24. Rushing, W., Joyce, T. W., & Heitmann, J. A. (1993). Hydrogen peroxide bleaching of enzyme deinked old newsprint. In: Seventh international symposium on wood and pulping chemistry, Beijing.
25. Bajpai, P. K. (2010). Solving the problems of recycled fiber processing with enzymes. *Bioresources J.* 5 (2), 1-15.
26. Gullichsen, J., & Hannu, P. (2000). Recycled fiber and deinking, 2nd Edition, 215p.
27. Nishi, K. B., & Nguyen, K. L. (2005). Charge accepts of hydrogen peroxide bleached deinked pulp. *Colloids and Surfaces J.* 262, 232-237.
28. Mehri, H., Ghasemian, A., Resalati, H., Saraeyan, A., & Akbarpour, I. (2013). Investigation on deinking of mixed old newspaper and magazine pulp with hydrogen peroxide. Tehran, *J. of Forestry and Wood Products.* 67 (3), 516-503. [In Persian]
29. Pathak, P., Bhardwaj, N. K., & Singh, A. K. (2015). Enzymatic deinking for recycling of photocopier waste papers using crude cellulase and xylanase of Trichoderma harzianum PPDDN10 NFCCI 2925. *Nordic Pulp Paper Research J.* 30 (4), 689-700.
30. Lee, C. K., Darah, I., Ibrahim, C. O., & Wan Daud, W. R. (2011). Enzymatic and chemical deinking of mixed office wastepaper and old newspaper: Paper quality and effluent characteristics. *Bioresources J.* 6 (4), 3859-3875.
31. Chen, Y. M., Wan, J. Q., Ma, Y. W., & LV, H. L. (2010a). Modification of properties of old newspaper pulp with biological method. *Bioresource Technology J.* 101 (18), 7041-7045.