



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目: 硫酸盐针叶木浆助漂复合酶制剂的研究
作者: 邓中浩, 毕雨娇, 褚美雪, 李群, 路福平, 黎明
DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20250133
收稿日期: 2025-09-05
网络首发日期: 2026-07-09
引用格式: 邓中浩, 毕雨娇, 褚美雪, 李群, 路福平, 黎明. 硫酸盐针叶木浆助漂复合酶制剂的研究[J/OL]. 天津科技大学学报.
<https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20250133>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



硫酸盐针叶木浆助漂复合酶制剂的研究

邓中浩¹, 毕雨娇¹, 褚美雪¹, 李 群², 路福平¹, 黎 明¹

(1. 工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;

2. 天津市制浆造纸重点实验室, 天津科技大学轻工科学与工程学院, 天津 300457)

摘 要: 针对造纸工艺漂白过程中使用大量化学试剂、产生大量有害化合物、造成废水处理困难的问题, 本研究开发了一种硫酸盐针叶木浆助漂复合酶制剂, 以绝干浆 (ODP) 为基准, 其组成为: 漆酶 25 U/g、木聚糖酶 20 U/g、脂肪酶 20 U/g。用该复合酶制剂辅助漂白硫酸盐针叶木浆, 纸张白度 (ISO 白度) 为 69.16%, 比化学漂白的纸张白度升高 7.37%; 纸张耐破指数、抗张指数、撕裂指数分别为 (1.39 ± 0.01) kPa m^2/g 、 (25.70 ± 0.19) N m/g 、 (23.65 ± 0.13) mN m^2/g , 与化学漂白相比均有所提高。利用傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、高效液相色谱 (HPLC) 和扫描电镜 (SEM) 对纸浆组分的结构进行分析, 结果表明该助漂复合酶制剂具有显著的辅助漂白作用, 可以提高纸张物理性能, 还能减少化学试剂的使用。本研究为纸浆的酶促漂白工艺提供了技术支撑, 对推动造纸行业实现绿色发展具有现实意义。

关键词: 酶制剂; 漂白; 白度; 纸浆; 木聚糖酶

中图分类号: TS745

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

Research on a Complex Enzyme Preparation for Bleach-Boosting of Sulfate Softwood Pulp

DENG Zhonghao¹, BI Yujiao¹, CHU Meixue¹, LI Qun², LU Fuping¹, LI Ming^{1*}

(1. Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education. College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. Tianjin Key Laboratory of Pulp and Paper, College of Light Industry Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Aiming at the problem that a large number of chemical reagents are used in the bleaching process of papermaking process, resulting in a large number of harmful compounds, causing difficulties in wastewater treatment, this study developed a complex enzyme preparation for bleach-boosting of sulfate softwood pulp, based on oven-dry pulp (ODP), which consists of laccase 25 U/g, xylanase 20 U/g, lipase 20 U/g. The whiteness (ISO) of kraft softwood pulp was 69.16%, which was 7.37% higher than that of chemically bleached paper; The bursting index, tensile index and tearing index of the paper were (1.39 ± 0.01) kPa m^2/g , (25.70 ± 0.19) N m/g and (23.65 ± 0.13) mN m^2/g respectively, which were improved compared with chemical bleaching. The chemical structure of pulp components was analyzed by Fourier transform infrared spectrum (FTIR) and high performance liquid chromatography (HPLC). The physical structure of pulp was analyzed by scanning electron microscope (SEM). The results showed that the developed bleaching enzyme preparation had significant

收稿日期: 2025-09-05; 修回日期: 2025-12-30

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC2105500), 国家自然科学基金项目 (22278321, 32072161)

作者简介: 邓中浩(2001—), 男, 四川泸州人, 硕士研究生; 通信作者: 黎明, 教授, liming09@tust.edu.cn

bleaching effect, could improve the physical properties of paper, and could reduce the use of chemical reagents. This research provides technical support for the enzymatic bleaching process of pulp, and has practical significance for promoting the green development of the paper industry.

Key words: enzyme preparation; bleach; brightness; pulp; xylanase

随着全球经济的持续增长和人们生活水平的提高,纸张及纸制品的需求量也在不断增加^[1]。国际性环保组织世界自然基金会指出全球纸张用量已达 3.2 亿吨/年^[2]。然而,制浆造纸行业在快速发展的同时,也面临着资源短缺、环境污染等严峻挑战。实现制浆造纸行业绿色转型与可持续发展,已然成为受人瞩目的重要议题。造纸工业造成的环境污染,很大程度上源于蒸煮产生的黑液与漂白环节产生的废水。黑液碱回收技术已较为成熟,而在漂白工序中,现在的主流漂白工艺为无元素氯 (ECF) 漂白,采用 ClO_2 替代过去使用的 Cl_2 进行漂白。减少了氯的用量,但是仍然存在有机氯的污染。除 ECF 漂白外,全无氯 (TCF) 漂白技术也在发展,TCF 漂白采用氧 (O)、臭氧 (Z)、过氧化氢 (P) 为漂白剂,其漂白废水中不含有有机氯化物,但是 TCF 漂白选择性较差,漂白效率低于 ECF 漂白技术^[3-6]。

生物酶具有选择性高、对环境友好等特点,在漂白工艺中引入生物酶不仅能减少后续漂白剂的用量,还可同步改善纸浆的黏度特性和抗返黄性能。这种多效合一的技术特性,使生物漂白在降低污染负荷的同时,提升了纸浆产品的综合质量,实现环境效益与经济效益的双重提升^[7]。现阶段生物酶漂白研究主要是用单酶进行漂白。常用的酶有漆酶、木聚糖酶、锰过氧化物酶、木质素过氧化物酶等。由于不同原料中木质素和半纤维素的结构多样性,单酶无法实现高效生物漂白^[8]。为了增强漂白效果,已有研究人员使用多种酶复配漂白。Sharma 等^[9]在麦草浆 ECF 漂白前用木聚糖酶和果胶酶协同预处理,可以有效降低纸浆的卡伯值,改善其物理性能,显著减少后续漂白中活性氯的消耗。Yingkamhaeng 等^[10]用漆酶与木聚糖酶协同处理能源甘蔗,再利用二氧化氯进行漂白,可以有效提高白度。Guo 等^[11]用漆酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶进行辅助漂白研究,用二氧化氯进行漂白,不仅可以有效提高白度,还可以降低二氧化氯的使用量。尽管这些研究都能提高漂白效果,但是在辅助漂白之后仍然需要使用二氧化氯进行 ECF 漂白,同样产生有害物质。此外,生物酶在实际应用时还需根据不同的

纸浆原料调整酶的种类和比例。

为了解决这些问题,本文将生物酶辅助漂白与 TCF 漂白结合,以硫酸盐针叶木浆作为原料,使用漆酶、木聚糖酶和脂肪酶进行辅助漂白,开发一种能有效提高硫酸盐针叶木浆漂白效果的复合酶制剂。该复合酶制剂进行辅助漂白后可以用过氧化氢进行 TCF 漂白,漂白过程没有氯元素,不产生有害物质,对环境影响小,而且还提高了纸张的物理性能。同时,本研究还进一步解析了复合酶制剂提高纸浆漂白效果的可能机制。通过开发硫酸盐针叶木浆助漂复合酶制剂,提供高效、环境友好、可持续发展的纸浆漂白方法,旨在为纸浆的酶促漂白工艺提供技术支撑,推动造纸行业实现绿色发展。

1 材料与方法

1.1 实验材料

未漂白硫酸盐针叶木浆板 (ISO 白度 46.88%) 由天津科技大学轻工科学与工程学院惠赠,脂肪酶和木聚糖酶由甘肃省白银市白银赛诺生物科技有限公司惠赠,漆酶来自实验室保存的漆酶菌种发酵而成。

NaH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、乙二胺四乙酸 (EDTA), 北京索莱宝科技有限公司; 聚乙烯醇 (PVA)、氢氧化钠、酚酞, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 3,5-二硝基水杨酸 (DNS)、羧甲基纤维素钠; 上海源叶生物科技有限公司; 所用试剂均为分析纯试剂。

Agilent1260 型高效液相色谱系统, 安捷伦科技有限公司; FD-1A-50 型真空冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; RK-ZA-KWT 型快速纸页成型器, 德国 PTI 有限公司; VERTEX 70 型傅里叶变换红外光谱仪, 德国布鲁克公司; 9701054 型浆料疏解机、062 969921 型抗张强度仪、SE051 型撕裂度仪、02 9699 20 型破度测试仪、PC CTP-ISO 型白度测定仪, 瑞典 L&W 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 助漂酶活稳定性测定

为了测试漆酶、木聚糖酶、脂肪酶是否能够共存

于同一种漂白场景,模拟漂白场景并分别测试单酶和助漂复合酶制剂的酶活力及酶活稳定性。

单酶:分别称取0.1 g的漆酶、木聚糖酶、脂肪酶粉溶解于10 mL 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲溶液(pH 7.0)中,磁力搅拌30 min,4 °C、8000 r/min 离心5 min,取上清液用于稳定性测定。分别测定离心后酶活力及在50 °C、pH 7.0条件下保温2 h后的酶活力。

复合酶:实验方法与单酶实验方法相同。3种酶溶液溶解并离心后,各取2 mL混合后测定及在50 °C、pH 7.0条件下保温2 h后测定。

1.2.2 未漂浆组分分析

精确称取一定质量的风干浆原料,按照美国可再生能源实验室标准(NREL),对原料的主要化学组分进行测定,包括碳水化合物、木素(酸不溶木素、酸溶木素)、苯醇抽出物和灰分。

1.2.3 未漂浆的疏解及筛选

将浆板浸泡在适量的去离子水中约4 h后,撕成约4 cm²碎片。在疏解机中加入20 °C去离子水18 L,将浸泡过的小块浆料分批次放入疏解机中进行疏解,直至纤维充分分散均匀。疏解完成后,将浆料倒入浆袋,去离子水多次冲洗疏解机,并倒入浆袋且甩干,随后用浆料打散器打散。打散后的浆料放入密封袋密封保存,置于4 °C环境中平衡水分,测定平衡水分后浆料的含水率。

1.2.4 助漂复合酶制剂工艺优化

助漂复合酶制剂单因素优化实验:根据纸浆原料的特性,在pH 7.0条件下,以绝干浆为基准,选取漆酶(10、20、30、40 U/g,漆酶添加1%介体紫尿酸)、木聚糖酶(10、20、30、40 U/g)、脂肪酶酶(5、15、25、35 U/g)分别进行辅助漂白单因素实验。

将纸浆置于密封袋中,加入不同添加量的酶制剂(用0.1 mol/L pH 7.0 磷酸钠缓冲液溶解),用水将浆料浓度调节至10%,在50 °C恒温水浴锅中反应120 min,每隔15 min手动揉捏一次,2 h后用蒸馏水洗涤。对照组仅未加酶,其余条件一致。

根据单因素实验结果,进行L₉(3⁴)正交实验优化,再将正交实验得出最优条件进行验证实验。

二次酶处理:为了探究酶制剂的效果,将验证组的漂白浆进行二次酶预处理和二次漂白,二次酶处理配比与第一次酶预处理相同。同时设置实验对照为不经过酶制剂处理的两次漂白浆。

1.2.5 纸浆漂白

纸浆在蒸馏水洗涤后加入1% EDTA,80 °C螯合

0.5 h后用蒸馏水洗涤,加入3% NaOH、6% H₂O₂、0.4% MgSO₄、1% Na₂SiO₃溶液进行漂白,70 °C处理1.5 h,过滤洗涤。

1.2.6 手抄片的制备

取平衡水分后的浆料,利用快速纸页成型器进行手抄片的抄造,所抄造手抄片的纸张定量控制在60 g/m²。手抄片干燥条件^[12]:真空度-90 kPa,干燥温度95 °C,干燥时间10 min。

1.3 检测方法

1.3.1 酶活力的测定

漆酶酶活力单位定义为:在25 °C、pH 5.0条件下,1 min氧化1 mmol ABTS所需要的酶量,单位为U/mL。漆酶酶活性采用ABTS法测定^[12]。将酶液在25 °C保温10 min,在比色皿中加入1 mL适当稀释的酶液、1 mL 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 5.0),之后加入1 mL ABTS启动反应,测定前3 min内420 nm处吸光度的变化^[13]。

木聚糖酶酶活力单位定义为:55 °C、pH 5.0条件下,每分钟催化木聚糖水解生成1 μmol 木糖所需的酶量,单位为U/mL。木聚糖酶活性采用DNS法测定^[14],将稀释后的木聚糖酶溶液和木聚糖溶液55 °C保温5 min,吸取1 mL木聚糖酶溶液与1 mL木聚糖溶液混合,55 °C反应30 min;反应完成后加入2.5 mL DNS溶液煮沸5 min,冷却后加入蒸馏水定容至12.5 mL,测定540 nm处的吸光度。

脂肪酶酶活力单位定义为:40 °C、pH 7.5条件下每分钟水解底物产生1 μmol可滴定脂肪酸的酶量,单位为U/mL。脂肪酶活性采用橄榄油法测定^[15-16]。在150 mL三角瓶中加入PVA橄榄油乳化液5 mL和0.025 mol/L pH 7.5磷酸缓冲液4 mL,加入酶液1 mL,40 °C反应10 min后立即加入95%乙醇20 mL中止反应,加酚酞指示剂2滴,用0.05 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定至微红色为终点。计算相比于空白所消耗的氢氧化钠用量。

1.3.2 漂后溶出物的组分分析

收集纸浆漂白后滤液,通过液相色谱示差分析检测溶出液中的单糖含量、甲酸乙酸含量。

1.3.3 白度检测

将漂白后的纸浆取出并洗净,在布氏漏斗上抄成浆片,自然风干后用白度测定仪检测浆片的白度。

1.3.4 纸张物理性能检测

将制备完成的手抄片置于温度设定为(23±1)°C、相对湿度控制在(50±2)%的恒温恒湿室中,放置时

间不少于 4 h, 以确保手抄片达到稳定的温湿度状态。

定量、厚度分别按照 GB/T 451.2-2002《纸和纸板定量的测定》、GB/T 451.3-2002《纸和纸板厚度的测定》检测, 在不同位置多次测量取平均值。抗张强度按照 GB/T 12914-2018《纸和纸板 抗张强度的测定 恒速拉伸法(20mm/min)》方法, 用抗张强度试验机拉伸手抄片, 记录断裂时最大拉力并计算强度。耐破度检测按照 GB/T 454-2020《纸耐破度的测定》方法, 用耐破度测定仪加压至手抄片破裂, 记录最大压力值。撕裂度按照 GB/T 455-2002《纸和纸板撕裂度的测定》方法, 用撕裂度测定仪进行撕裂试验, 记录所需力并计算撕裂度。

1.3.5 卡伯值的测定

按照 GB/T 1546-2018《纸浆 卡伯值的测定》的方法测定卡伯值。疏解机中加入少于 500 mL 蒸馏水疏解 2.5 g 绝干浆, 充分疏解至浆完全解离。将解离后的浆料转移至 2 L 烧杯中, 使用蒸馏水对疏解机进行多次洗涤, 并将洗涤液一并转移至烧杯中, 最后使总体积为 750 mL。将烧杯放到 25 °C 水浴磁力搅拌器上, 然后将 100 mL 0.02 mol/L KMnO_4 标准溶液和 100 mL 2 mol/L 硫酸溶液混合并使其温度为 25 °C, 迅速倒入试样后开始计时。蒸馏水冲洗混合液容器, 使总体积达到 1 L。在反应进行到 10 min 时, 准确量取 20 mL 1 mol/L 碘化钾溶液, 迅速加入烧杯中以终止反应, 立即使用 0.2 mol/L 硫代硫酸钠标准溶液对溶液进行滴定。当溶液颜色变为淡黄色时, 缓慢滴加几滴淀粉溶液作为指示剂, 继续小心滴定, 直至溶液蓝色恰好消失, 此时准确记录所消耗的硫代硫酸钠标准液的体积^[17]

1.3.6 傅里叶变换红外光谱分析

在纸浆的分析中, 傅里叶变换红外光谱分析可用于纤维素、半纤维素和木素的定性和定量分析。样品分散均匀后经冷冻干燥处理, 将干燥好的样品与溴化钾按质量比为 1:100 的比例进行混合研磨, 压片, 扫描波数为 400~4000 cm^{-1} , 分辨率 4 cm^{-1} ^[18]。

1.3.7 扫描镜 (SEM) 观察

取 2 g 纸浆以 2% 的浓度分散在去离子水中进行冷冻干燥处理, 用小镊子夹取少量样品于导电胶上, 喷金 60 s 并循环 3 次后置于观察室内进行扫描测试, 测试电压为 5 kV^[19]。

1.4 数据统计

使用 SPSS 软件对实验数据进行统计分析, 所有

实验均重复 3 次, 实验结果以“平均值±标准偏差”表示, 组间比较采用 one-way ANOVA 分析。 $P<0.05$ 时表示组间差异较为显著, $0.01<P<0.05$ 时表示组间差异显著, $P<0.001$ 时表示组间差异极其显著, 而 $P>0.05$ 时表示组间不具有显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 助漂复合酶制剂的开发

2.1.1 未漂组分分析

将标准溶液利用 HPLC 进行检测分析, 分别得到葡萄糖、木糖、阿拉伯糖的标准曲线方程, 葡萄糖标准曲线方程为 $y=62573x+14009$, $r=0.9929$; 木糖标准曲线方程为 $y=62310x+13053$, $r=0.9926$; 阿拉伯糖标准曲线方程为 $y=69297x+4411$, $r=0.9930$ 。x 表示各单糖质量浓度, y 表示各单糖峰面积。从 r 值可以看出, 线性关系良好, 可以用于各组分的计算。未漂硫酸盐针叶木浆组分含量见表 1。硫酸盐针叶木浆的酸溶木质素和酸不溶木质素含量通常介于硫酸盐阔叶木浆和硫酸盐慈竹浆之间, 灰分和苯醇抽提物含量适中, 推测具有相对较好的漂白性能。

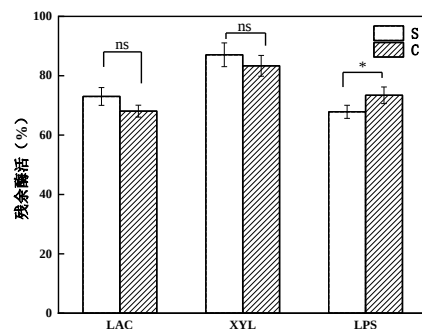
表 1 纸浆中组分的含量

Tab. 1 Component content of pulps

组分	含量/%	组分	含量/%
苯醇提取物	1.64±0.03	酸溶木质素	5.19±0.06
葡萄糖	63.60±0.49	酸不溶木素	1.97±0.03
木糖	8.90±0.09	灰分	6.53±0.09
阿拉伯糖	4.32±0.05		

2.1.2 助漂酶活力稳定性测定

按照辅助漂白条件, 先分别对辅助漂白用酶进行稳定性测试。在 50 °C、pH 7 条件下保温 2 h 后, 对单酶及复合酶制剂中各类酶的活性进行检测, 结果如图 1 所示。



注: LAC: 漆酶; XYL: 木聚糖酶; LPS: 脂肪酶; "S": 单一酶; "C":

图 1 不同酶制剂的酶活稳定性

Fig. 1 Enzyme activity stability of different enzyme preparations

单酶也就是漆酶、木聚糖酶、脂肪酶的相对酶活力分别保留至初始酶活力的 73.02%、87.06%、67.84%; 在复合酶制剂中, 上述 3 种酶的相对酶活力分别为 68.07%、83.34%、73.43%。综合来看所有测试酶的活性稳定性均维持在 67% 以上。进一步分析发现, 当酶以复合酶状态作用时, 漆酶和木聚糖酶残留活性与单一酶作用时的残留活性基本相当, 而脂肪酶的稳定性有显著提升。这可能是因为在复合酶中其他的两种酶充当了稳定剂蛋白的作用, 稳定剂蛋白通过与脂肪酶发生疏水相互作用提高脂肪酶的酶活稳定性。类似于牛血清白蛋白能够增强嗜热链球菌 β -半乳糖苷酶的热稳定性的情况^[20]。这一结果表明, 这几种酶在复合酶状态下, 它们的稳定性未因彼此而削弱, 脂肪酶因它们的存在, 其稳定性反而增强。因此, 从酶学特性及实际应用角度考量, 该复合酶体系具备良好的热稳定性能够适用于纸浆辅助漂白的实验研究。

2.1.3 单因素优化实验

为了获得正交实验中各个因素水平最佳的取值范围, 分别进行漆酶、木聚糖酶、脂肪酶单独辅助漂白对纸浆漂白效果的实验, 结果见表 2。原料未漂硫酸盐针叶木浆的 ISO 白度为 46.88%, 卡伯值为 11。

表 2 酶添加量对辅助漂白效果的影响

Tab. 2 Effect of enzyme dosage on bleaching effect

酶名称	酶添加量/(U/g)	ISO 白度/%	卡伯值
漆酶	0	54.16 ± 0.61	4.21 ± 0.13
	10	54.30 ± 0.69	4.11 ± 0.11
	20	55.03 ± 0.59	3.76 ± 0.10
	30	54.21 ± 0.69	3.88 ± 0.12
	40	54.12 ± 0.71	3.91 ± 0.14
木聚糖酶	10	54.20 ± 0.59	4.18 ± 0.21
	20	55.05 ± 0.63	3.71 ± 0.13
	30	54.30 ± 0.61	3.94 ± 0.15
	40	54.10 ± 0.79	4.16 ± 0.16
脂肪酶	5	54.19 ± 0.64	4.05 ± 0.17
	15	54.98 ± 0.59	3.83 ± 0.13
	25	54.19 ± 0.71	3.96 ± 0.14
	35	54.17 ± 0.81	4.01 ± 0.16

与未漂纸浆和对照相比, 3 种酶单独辅助漂白时,

在一定程度上提高了白度, 降低了纸浆的卡伯值, 不同酶的最适添加量不同。漆酶和木聚糖酶在添加量为 20 U/g 时纸浆白度最高, 而脂肪酶在添加量为 15 U/g 时纸浆白度最高。3 种酶单独使用时都具有一定的辅助漂白作用, 可能的机理为: 漆酶在介体存在时能够直接氧化木质素, 提高漂白效果; 木聚糖酶可以水解半纤维素, 释放与半纤维素相连的木质素, 解开木质纤维的复杂结构, 化学试剂能更好地起作用; 脂肪酶可以去除纸浆中存在的少部分脂类, 清除疏水性障碍, 使化学试剂与木质纤维接触更好。

2.1.4 正交优化实验

根据单因素实验结果, 进行硫酸盐针叶木浆复合酶制剂的辅助漂白正交优化实验, 结果见表 3。由表 3 可知, 对漂白的影响因素为 $C > B > A$, 表明脂肪酶对漂白的影响因素最高; 最佳复合酶制剂组成为 $A_3B_2C_3$, 即漆酶 25 U/g、木聚糖酶 20 U/g 和脂肪酶 20 U/g。

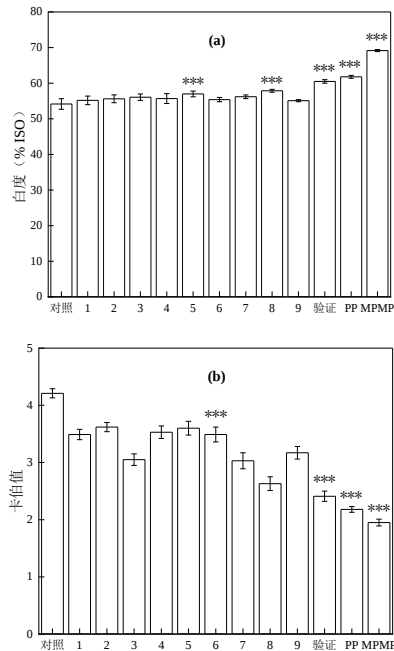
表 3 酶添加量对助漂效果的影响

Tab. 3 Effect of enzyme dosage on bleaching effect

序号	A 漆酶	B 木聚糖酶	C 脂肪酶	ISO 白度/%
1	15	15	10	54.51
2	15	20	15	55.46
3	15	25	20	56.28
4	20	15	15	54.94
5	20	20	20	56.47
6	20	25	10	55.46
7	25	15	20	56.68
8	25	20	10	57.80
9	25	25	15	54.90
k_1	55.42	55.38	55.92	
k_2	55.62	56.58	55.10	
k_3	56.46	55.55	56.48	
R	1.04	1.20	1.38	

2.1.5 验证实验

对正交实验得出的最佳复合酶制剂组合 ($A_3B_2C_3$) 进行验证实验, 先用酶制剂预处理纸浆, 再进行化学漂白, 结果如图 2 所示。



(a) 白度; (b) 卡伯值; 独立实验数 n=3; *代表与对照组相比 0.01 < P < 0.05, **代表 0.001 < P < 0.01, ***代表 P < 0.001。

图 2 复合酶对针叶木浆漂白的影响。

Fig. 2 Effect of complex enzyme preparation on bleaching of sulfate softwood pulp

纸浆 ISO 白度为 60.50%，卡伯值为 2.41，白度大于所有正交组、卡伯值低于所有正交组。与化学漂白的对照组相比，ISO 白度比对照组（54.16%）提高了 6.34%，卡伯值比对照组（4.21）降低了 1.8。这表明通过正交实验优化得出的复合酶制剂组成科学合理，能够有效提升纸浆漂白效果，且验证实验结果与正交实验结果一致。

为探究酶制剂辅助漂白效果，对纸浆进行了二次辅助漂白。将经过复合酶制剂预处理的漂白浆进行第二次复合酶制剂的辅助漂白及化学漂白（MPMP 组）。对照组为仅两次化学漂白（PP 组）。经过 2 次复合酶制剂的辅助漂白后，MPMP 组 ISO 白度达到 69.16%，相较于验证组（60.50%）提高了 8.66%，较 PP 组（61.79%）显著提高 7.37%。MPMP 组卡伯值降至 1.95，较验证组（2.41）降低了 0.46，比 PP 组（2.18）低 0.23。上述结果表明，该复合酶制剂在纸浆漂白过程中展现出显著的辅助漂白效果，能够有效提升纸浆白度，降低卡伯值。

2.2 漂后针叶木浆组分分析

对 MPMP 组和 PP 组漂白滤液溶出物进行检测，比较组分含量变化，分析酶制剂对纸浆纤维的作用效

果。MPMP 组和 PP 组浆漂后滤液经过高效液相色谱法（HPLC）分析，并利用相对应的标准曲线计算，甲酸标准曲线方程为 $y=49338x-1273$, $r=0.9981$ ；乙酸标准曲线方程为 $y=55311x+2192$, $r=0.9937$, x 表示各酸浓度， y 表示各酸峰面积。从 r 值可以看出，线性关系良好，可以用于各组分的计算。

漂后针叶木浆组分的含量见表 4。MPMP 组漂后滤液中葡萄糖、木糖、阿拉伯糖含量均低于 PP 组，而甲酸和乙酸含量高于 PP 组。在木质纤维中，葡萄糖主要来源于纤维素降解，木糖和阿拉伯糖主要来源于半纤维素的降解。在过氧化氢漂白作用下木质素被氧化分解得到甲酸和乙酸。结果表明，和 PP 组相比，酶制剂的催化水解作用有效的降解了浆样中的木质素组分并且对纤维素和半纤维素的损伤更小，能有效提高纸浆白度，提高浆的得率。

表 4 漂后针叶木浆组分的含量

Tab. 4 Component content of bleached softwood pulp

组别	葡萄糖/%	木糖/%	阿拉伯糖/%	甲酸/%	乙酸/%
PP	59.30±0.33	7.36±0.09	3.63±0.02	4.16±0.03	2.68±0.01
MPMP	57.63±0.42	6.54±0.08	2.91±0.01	4.72±0.03	3.01±0.01

2.3 纸张物理性能分析

酶助漂对针叶木浆物理性能的影响结果见表 5 所示。酶制剂预处理过的纸浆各项物理强度指数均优于仅化学漂白组。这可能是因为酶制剂协同作用于纤维时，可使长纤维比例增加、纤维帚化程度加深，从而提升了成纸强度，使其物理性能得到提高。

表 5 酶助漂对针叶木浆物理性能的影响

Tab. 5 Effect of enzyme bleaching on physical properties of softwood pulp

组别	耐破指数/ (kPa m ² /g)	抗张指数/ (N m/g)	撕裂指数/ (mN m ² /g)
PP	1.33±0.02	22.60±0.15	20.15±0.12
MPMP	1.39±0.01	25.70±0.19	23.65±0.13

2.4 漂后针叶木纤维傅里叶变换红外光谱分析

纸浆纤维的木质素和半纤维素中含有大量的发色基团和助色基团^[21-22]，可通过红外光谱分析对纸浆的纤维素、半纤维素和木质素进行定性和定量分析。不同处理方式后针叶木纤维傅里叶变换红外光谱分析结果如图 3 所示。

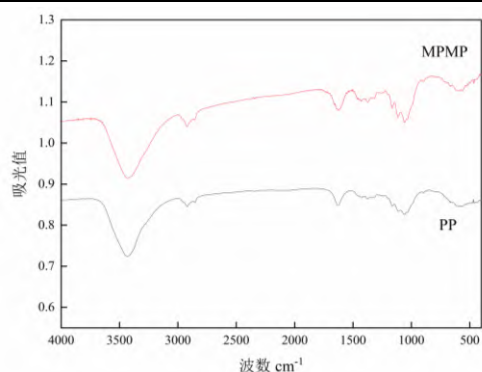


图3 不同处理方式后针叶木纤维傅里叶变换红外光谱分析

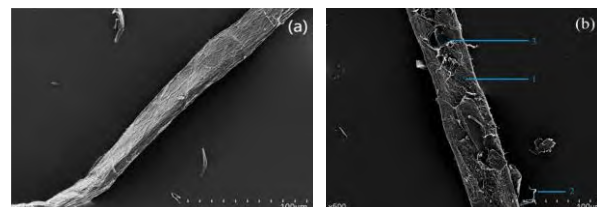
Fig. 3 Fourier transform infrared spectroscopy analysis of coniferous wood fibers after different processing methods

在红外光谱中, $3424\sim 3427\text{ cm}^{-1}$ 区域出现的强吸收光带, 对应的是一OH 的伸缩振动。对比 PP 组, 经 MPMP 组处理的漂白浆在此区域的吸光度显著降低。这一现象表明, 在酶制剂处理过程中, 部分助色基团, 像醇羟基和酚羟基等含量降低。 $2905\sim 2907\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰代表了不同形式的酚羟基伸缩振动, MPMP 组处理的漂白浆在该处的吸光度下降十分明显。此外, $1626\sim 1629\text{ cm}^{-1}$ 处的共轭羰基以及 1508 cm^{-1} 处的苯环(木质素的特征吸收峰), 在经过酶预处理后, 其吸收强度均有所减弱, 表明在酶制剂辅助漂白处理后, 发色基团数量和木质素含量降低。在红外光谱中, 1426 cm^{-1} 处的振动对应的是甲氧基的吸收峰。 896 cm^{-1} 处的吸收峰则源于半纤维素异头碳(C1)的振动^[23]。与仅进行化学漂白的浆相比, MPMP 组处理的漂白浆在这几个特征峰处的吸收强度均有所降低。综合漂白浆红外光谱吸收峰的数值, 酶处理组纸浆中木质素含量降低, 发色基团以及助色基团含量降低, 使纸浆的白度提高。这表明酶制剂处理比仅化学漂白实现了更高效的脱木素作用和漂白作用。

2.5 漂后针叶木纤维 SEM 分析

在植物纤维研究中, 扫描电镜主要应用于分析观察纤维表面的分丝帚化现象、纤维表面的粗糙度特征, 以及纤维可能存在的损伤情况等^[24]。不同方式处理后的针叶木纤维 SEM 图如图 4 所示。未经过酶制剂预处理的漂白纸浆的纤维表面光滑, 纤维挺硬, 无细小纤维存在。与仅化学漂白纸浆相比, MPMP 组纸浆纤维首先是表面粗糙化, 纤维表面异常粗糙, 出现了明显的侵蚀。同时, 在表面出现了很多细小纤维, 纤维的外壁还出现了一些孔洞。纤维的粗糙化以及细小纤维的出现, 使 MPMP 组纸浆纤维之间有更大的接触面积, 在成纸时纤维之间具有更多的结合点位,

结合得更牢固。纤维表面出现的孔洞也表明木质纤维紧密结构打开, 增加了纤维内部的暴露情况, 使后续化学试剂漂白时化学试剂能够更好的与木质素结合, 有效提高漂白效果。



(a) PP 组

(b) MPMP 组。

注: 1. 纤维粗糙表面; 2. 细小纤维; 3. 纤维表面孔洞。

图4 不同方式处理后的针叶木纤维 SEM 图

Fig. 4 SEM images of softwood fibers treated in different methods

3 结 论

本研究用正交法对漆酶、木聚糖酶、脂肪酶最佳助漂复合酶制剂组合进行研究和优化, 筛选出针对硫酸盐针叶木浆的助漂复合酶制剂并进行酶预处理实验, 通过高效液相色谱法、傅里叶变换红外光谱、扫描电镜等对复合酶制剂预处理前后的纸浆进行表面分析和内部结构变化的分析, 初步解析了复合酶制剂的辅助漂白作用机制。

本研究开发了一种硫酸盐针叶木浆助漂复合酶制剂, 以绝干浆为基准, 其组成为: 漆酶 25 U/g、木聚糖酶 20 U/g、脂肪酶 20 U/g。用该复合酶制剂辅助漂白硫酸盐针叶木浆, 纸张 ISO 白度为 69.16%、卡伯值为 1.95, 比化学漂白的纸张白度升高 7.37%、卡伯值降低 0.23; 纸张物理性能也有显著提高。通过酶预处理的纸浆较仅化学漂白的纸浆表面都更粗糙、纤维裂解程度加大, 内部结构也都发生了更大改变, 影响纸浆颜色的发色基团数量减少。复合酶制剂通过改变纤维结构、降解木质素和降低发色基团的数量提高漂白效果。3 种酶可能存在一定的交互作用, 但是本研究未测试因素间的交互作用, 后续可通过响应面法有效解析交互作用, 预测在不同酶配比下的响应值, 进一步实现对工艺条件的精准调控和优化。

本研究开发了一种能够有效提高硫酸盐针叶木浆漂白效果的复合酶制剂, 并解析了提高漂白效果的可能机制。同时, 使用该复合酶制剂可以减少化学试剂的使用, 有助于环境保护, 具有一定的工业应用可行性, 为实现纸浆的绿色漂白工艺奠定基础。

参考文献:

- [1] Vyas S, Lachke A. Biodeinking of mixed office waste paper by alkaline active cellulases from alkalotolerant *Fusarium* sp[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2003, 32(2): 236-245.
- [2] Saxena A, Singh C P. Role of various enzymes for deinking paper: a review[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2016, 37(5): 598-612.
- [3] 李苗苗, 孙明月. 生态文明建设引导下制浆造纸企业绿色技术创新研究[J]. *造纸科学与技术*, 2025, 44(8): 138-141.
- [4] Li Jing, Zha Yuning, Wang Hanmin, et al. Advances in lignin chemistry during pulping and bleaching[J]. *Industrial Crops and Products*, 2025, 229: 121004.
- [5] Siwach R, Kumar A, Mishra R, et al. Xylanase assisted elemental chlorine free bleaching of sarkanda (*Saccharum munja* roxb) pulp[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2025, 66: 163600.
- [6] 邓佳宝. 漆酶-木聚糖酶多酶复合体构建及其在生物漂白中的应用[D]. 武汉: 湖北大学, 2024.
- [7] 石美玲. 高温耐碱性木聚糖酶对硫酸盐针叶木浆助漂作用的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2015.
- [8] Liu Jiashu, Deng Jiabao, Tan Xuemei, et al. Co-integration of laccase and xylanase from *Bacillus pumilus* into mini-cellulosome facilitates softwood sulfite pulp biobleaching and reduces hydrogen peroxide consumption[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 290: 139048.
- [9] Sharma D, Nagpal R, Agrawal S, et al. Eco-friendly bleaching of agrowaste wheat straw using crude alkalothermotolerant cellulase-free xylano-pectinolytic enzymes[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2022, 194: 620-634.
- [10] Yingkamhaeng N, Nimchua T, Pinmanee P, et al. Synergistic effect of xylanase and laccase on structural features of energy cane[J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 176: 114410.
- [11] Guo Wenwen, Hui Lanfeng, Song Feifei, et al. A new strategy for biological enzyme bleaching: combined effects of laccase, xylanase, and mannanase in the bleaching of softwood kraft pulp: a synergistic effect of enzymes[J]. *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, 2025, 40(3): 465-476.
- [12] 张玲. 农业秸秆高得率浆的性能提升及应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2023.
- [13] 张鹏. 以 ABTS 为底物测定漆酶活力的方法[J]. *印染助剂*, 2007, 24(1): 43-45.
- [14] Matos J M S, Evtuguin D V, Sousa A P M, et al. Toward valorization of the effluent from xylanase prebleaching of eucalypt kraft pulp using a nanofiltration purification step[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2023, 62(39): 16037-16047.
- [15] Yu Chengwei, Peng Bin, Luo Ting, et al. Bound lipase: an important form of lipase in rice bran (*Oryza sativa*)[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(5): 1779-1787.
- [16] Yu Chengwei, Zheng Liufeng, Cheng Mingyan, et al. Purification, identification, characterization and catalytic mechanism of two lipases from rice bran (*Oryza sativa*)[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 140: 110693.
- [17] 翟楠. 绿色糖单孢菌胞外酶预漂粗皮按化学浆的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
- [18] Dixit M, Chhabra D, Shukla P. Optimization of endoglucanase-lipase-amylase enzyme consortium from *Thermomyces lanuginosus* VAPS25 using multi-objective genetic algorithm and their bio-deinking applications[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 370: 128467.
- [19] Mondal S, Biswal D, Pal K, et al. Biodeinking of waste papers using combinatorial fungal enzymes and subsequent production of butanol from effluent[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 353: 127078.
- [20] Chang B S, Mahoney R R. Enzyme thermostabilization by bovine serum albumin and other proteins: evidence for hydrophobic interactions[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1995, 22(2): 203-214.
- [21] Heitner C. Light-induced yellowing of wood-containing papers: an evolution of the mechanism[J]. *ACS Symposium series*, 1993, 531: 2-25.
- [22] Evans P, Thay P, Schmalzl K. Degradation of wood surfaces during natural weathering effects on lignin and cellulose and on the adhesion of acrylic latex primers[J]. *Wood Science and Technology*, 1996, 30(6): 411-422.
- [23] 高士鹏. α -淀粉酶在毕赤酵母中的高效表达及其在脱墨

2026 年 邓中浩, 等: 硫酸盐针叶木浆助漂复合酶制剂的研究
中的应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.

- [24] 朱杰, 孙润广. 原子力显微镜的基本原理及其方法学研究[J]. 生命科学仪器, 2005, 3(1): 22-26.

• 9 •

