

## 木聚醣酶及漆酶在新聞回收紙脫墨上的應用評估

蘇裕昌\*、周家寬\*\*

### Xylanase and Laccase Application for the Deinking of Newspaper Pulp

Yu-Chang Su \*、Chia-Kuan Chou \*\*

#### Summary

In the first study, the implementation of ozone treatment in the deinking of newspaper pulp resulted in high crystallinity index (72.1%) and more fibrillary surface. Furthermore, the brightness of newspaper was increased by 3.4% ISO with xylanase treated and effective residual ink concentration (ERIC) was decrease by 35%. Scanning electron microscopy analysis suggests perforations in xylanase treated pulp samples. Xylanase produced peeling off effect and released the entrapped ink particles with loosely bound microfibrils. The second study explores the deinking efficiencies of laccase (L) and xylanase (X) enzymes along with physical deinking methods of microwaving (MW) and sonication (S) for recycling of old newsprint (ONP). Compared to the pulp deinked with xylanase (47.9%) or laccase (62.2%) individually, the percentage reduction of effective residual ink concentration was higher for the combined xylanase/laccase-deinked pulp (65.8%). An increase in brightness (21.6%), breaking length (16.5%), burst factor (4.2%), tear factor (6.9%), viscosity (13%) and cellulose crystallinity (10.3%) along with decrease in kappa number (22%) and chemical consumption (50%) were also observed. It also found the brightness of old newsprint has no difference with or without mediator. Because laccase requires a mediator only when its redox potential is less than that of the substrate to be oxidized.

**Key words:** Biobleaching、Laccase mediator systems、xylanase、deinking

#### 一、緒言

為了減少生產成本以及讓纖維能夠重複利用，製漿造紙工業開始利用回收紙漿作為造紙原料，同時也能降低廢棄物的處理困擾，但是回收紙漿種類繁多，常常挾帶許多雜質。在回收的製程中，最常遇到的問題為去除回收紙漿上的油墨，傳統的脫墨流程需要利用大量的化學藥劑，如氫氧化鈉、碳酸鈉、矽酸鈉、二乙烯三胺五醋酸 (Diethylene triamine pentaacetic acid; DTPA)、過氧化氫、含氯藥劑、介面活性劑、螯合劑等等，藥劑的大量使用會提高製程成本與產生一些有害的副產物。因此，近年來開始發展出酵素的脫墨處理，盡可能使脫墨過程變得對環境友善，曾被研究過的酵素有木聚醣酶、纖維素酶、澱粉酶、脂肪酶、酯酶、漆酶等等。

而本篇報告會探討兩篇以酵素處理進行回收紙漿脫墨

的實驗，第一篇實驗作者選用木聚醣酶進行酵素的處理，因為木聚醣酶能水解纖維表面上的半纖維素，使得化學藥劑更容易滲透，此外木聚醣酶將半纖維素水後也能使黏著在上面的油墨一併脫除。作者探討五種不同菌種的木聚醣酶之間的pH值與熱安定性、活性等等，並選出最好的木聚醣酶來研究其脫墨效果。第二篇實驗作者選用木聚醣酶、漆酶與物理性的處理來輔助脫墨，漆酶為氧化酵素，能脫除紙漿中的木質素導致紙漿黏度提升，作者也認為將漆酶用於富含木質素的舊新聞紙漿幫助脫墨是可行的，以漆酶輔助脫墨處理不僅能降低脫墨漿殘留的油墨濃度，更可以提升紙漿的白度。

## 二、材料與方法

### (一)、木聚醣酶應用於舊新聞紙漿的脫墨

#### 1. 材料

實驗選用的馬鈴薯葡萄糖培養基 (Potato dextrose agar ; PDA) 是向Hi Media公司購買，燕麥木聚醣與山毛櫸木聚醣是向Sigma公司所購買，小麥麩皮與新聞用紙來自於印度當地。

#### 2. 木聚醣酶來源與真菌培養方式

實驗選用的米麴菌 (*Aspergillus oryzae* MDU-4)、黃麴黴菌 (*Aspergillus flavus* MDU-5)、*Trichoderma citrinoviride* MDU-1、哈氏木黴菌 (*Trichoderma harzianum* MDU-2)、長枝木黴菌 (*Trichoderma longibrachiatum* MDU-6) 會培養並繼代在PDA上，並儲存於4°C的環境下。

將真菌培養於PDA上76 hr後，採用無菌生理食鹽水與Tween 80的混合溶液 (0.1% v/v) 進行收取，最後獲得均質的孢子懸浮液 (1 x 10<sup>8</sup> spores/mL) 用於接種。

#### 3. 木聚醣酶的沉浸發酵方式

本實驗會利用沉浸發酵 (Submerged fermentation ; Smf) 方式培養麴菌屬真菌與木黴菌屬真菌並篩選真菌製造胞外木聚醣酶的能力，培養液的成分每升含有2.5 g的山毛櫸木聚醣、5 g的蛋白胨、5 g的酵母萃取物、1 g的磷酸二氫鉀與0.1 g的七水硫酸鎂，培養時將50 mL的培養液加入300 mL的三角燒瓶中，注入含有1 x 10<sup>8</sup>個孢子的接種液後在迴轉式震盪器上培養 (125 rpm、30°C)，處理24 hr後將培養液在4°C下進行低溫離心10 min (13201 g)，離心後抽取上清液進行木聚醣酶活性的評估。

本實驗也探討溫度範圍28至37°C以及pH值範圍3至9對木聚醣酶生產的影響，pH值的調控是預先用1 N的氫氧化鈉或鹽酸進行調整。

#### 4. 木聚醣酶的固態發酵條件

將100 g的小麥麩皮 (經過洗滌、乾燥處理，並磨成0.5-1.0 mm的顆粒) 放置於搪瓷托盤 (24 X 19 X 5 cm<sup>3</sup>) 上，用自來水將小麥麩皮調整液比至1 : 3，送入滅菌釜在121°C下滅菌20 min，冷卻後將孢子懸浮液加入小麥麩皮中進行培養，結束後以50 mM的檸檬酸鹽緩衝溶液萃取木聚醣酶，在30°C、200 rpm下處理30 min，萃取液再利用低溫離心機離心10 min (13201 g)。

#### 5. 木聚醣酶部分純化方式

木聚醣酶會添加硫酸銨鹽進行部分的純化，將硫酸銨鹽添加至離心過的上清液中，並在低溫下持續攪拌至達到15-60%的飽和濃度，再使用低溫離機離心15 min (9168 g)，隨後用50 mM的檸檬酸鹽緩衝溶液 (pH 6.2) 將沉澱物溶解，緩衝溶液使用量越低越好，再將溶解液使用相同的緩衝溶液在4°C下透析一整晚，將溶解液中的小分子雜質去除。

#### 6. 木聚醣酶活性分析

木聚醣酶的活性測定是根據前人文獻的二硝基水楊酸法 (Miller,1959)，測定從0.6% (w/v) 的山毛櫸木聚醣中所釋放出的還原糖量，木聚醣酶的活性定義為在50°C的標準定量條件下，一定量的木聚醣酶每分鐘可從山毛櫸木聚醣中釋放出1 μmole的木糖，其活性單位為1 IU，蛋白質的定量則是依據前人的方法，使用牛血清白蛋白 (Bovine serum albumin ; BSA) 進行定量，所有定量試驗都會進行三重複，結果會以平均值來呈現並附上標準偏差。

#### 7. 木聚醣酶在不同pH值、溫度下的安定性

實驗將選用不同pH值 (3-10) 的緩衝溶液來測定木聚醣酶的最佳活性，選用的緩衝溶液包括檸檬酸鹽緩衝溶液 (pH 3.0-6.0)、磷酸鹽緩衝溶液 (pH 7.0-8.0)、三羥甲基氨基甲烷緩衝溶液 (pH 9.0) 與碳酸氫鹽緩衝溶液 (pH 10.0)，同時也會測定木聚醣酶在30-100°C下的活性。木聚醣酶對pH值及熱的安定性測定是分別將酵素培養在特定的pH值下4 hr，及40-70°C下8 hr，每隔特定的時間會將酵素取出測定其殘餘的活性百分比。

#### 8. 酵素的動力學參數與酶譜研究

將由不同真菌所分離出的部分純化木聚醣酶培養於不同濃度 (1-10 mg/mL) 的山毛櫸木聚醣與燕麥木聚醣中，並利用雙倒數做圖法 (Lineweaver-Burk plot) 所得到的線性回歸方程式來測定米曼氏動力學常數。

木聚醣酶的活性會根據Laemmli的研究 (1970) 使用酶譜技術來測定，以0.1%的山毛櫸木聚醣作為反應底物，將天然的聚丙烯酰胺膠體以0.5%的剛果紅溶液在室溫下染色20 min，再以1 M的氯化鈉溶液清洗去除多餘的染劑，最後與0.1%的醋酸混合。

#### 9. 舊新聞紙漿的脫墨方式

實驗室的標準脫墨流程如圖1所示，進行酵素處理

前，會將新聞用紙撕碎並加入自來水泡成紙漿（5% w/v），並加入0.5%（v/v）的Tween 80在室溫下搖晃（100 rpm）2 hr，浸泡後的新聞紙漿會以自來水清洗，再以磨木機處理獲得較鬆軟的紙漿，紙漿接著會進行臭氧處理（4°C、100 rpm下處理30 min），將臭氧處理後的氣乾紙漿以100 mM的檸檬酸鹽

緩衝溶液（pH 6.0）調整紙漿濃度至5%（w/v），再添加500 IU/g的木聚醣酶與0.5%（v/v）的Tween 80進行酵素處理（30 °C、150 rpm下處理3 hr），處理完畢後的脫墨紙漿會立即用自來水清洗。

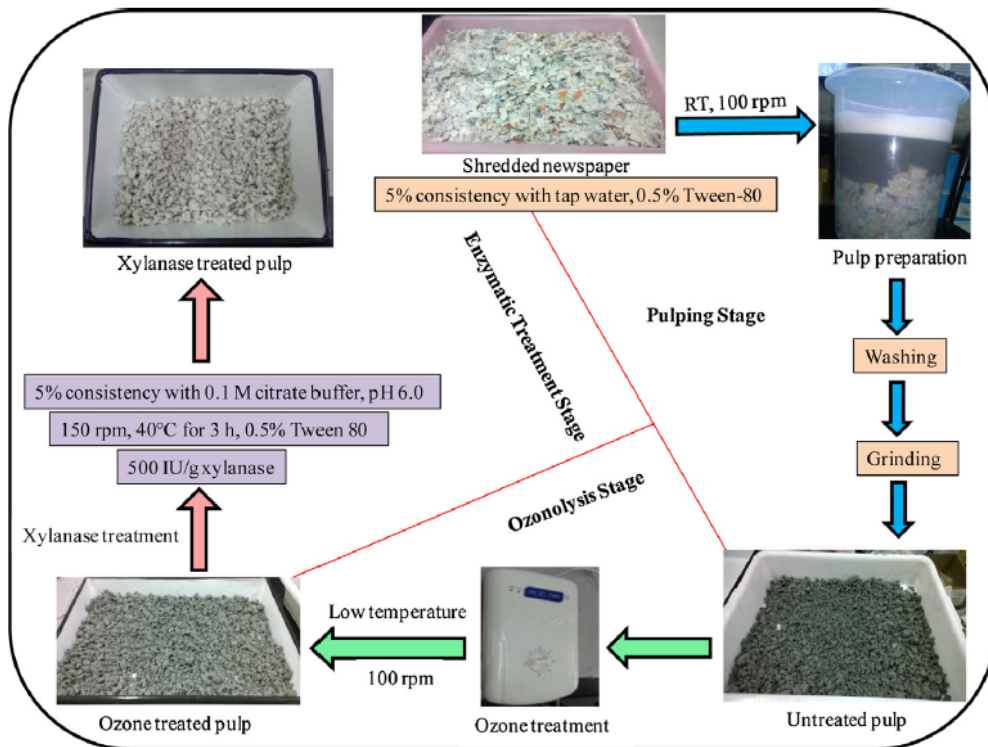


圖1. 舊新聞紙漿脫墨流程(Chutani and Sharma,2015)

## 10. 紙張性質分析方法

實驗會評估酵素脫墨達240 min時的濾液成分，探討還原糖與油墨釋出量之間的關係，脫墨紙漿濾液中的呈色物質會利用分光光度計在波長550 nm下的吸收值進行測定，實驗皆會測定三重並以平均值來表示。

經過臭氧與木聚醣酶處理過的新聞紙漿會評估其纖維長度指數和卡巴值，之後根據ISO 5269/1的標準方法將新聞紙漿抄成基重60 g/m<sup>2</sup>的手抄紙，進行紙張物性及光學性質測定，包括抗張指數（ISO 1924/2）、撕裂指數（ISO 1974）、破裂指數（ISO 2758）、白度（ISO 2470）、有效殘留油墨濃度等等，油墨的去除指數可以用下列方程式計算，其中C為殘留油墨濃度。

ink removal index (%)

$$= \frac{(C_{\text{Ozone treated pulp}} - C_{\text{enzyme deinked pulp}}) \times 100}{C_{\text{Ozone treated pulp}}}$$

## 11. 傅里葉轉換紅外光譜儀

利用傅里葉轉換紅外光譜儀（Fourier transformed infrared spectrometry；FTIR）及衰減全反射法可以偵測紙漿表面上的官能基，本次新聞紙漿光譜的波長涵蓋範圍為4000-375 cm<sup>-1</sup>（解析度為4 cm<sup>-1</sup>），每個樣本皆會掃描24次，並會藉由前人文獻所使用的資料庫來分析光譜（Buta et al,1989）。

## 12. X射線繞射分析

未處理新聞紙漿與經臭氧和木聚醣酶處理的新聞紙漿的纖維素結晶度會利用X射線繞射進行測定，樣品會先經過

低溫乾燥，再以X射線粉末繞射儀進行分析，繞射強度的紀錄範圍在散射角度5°至70°之間，掃描速度為0.002°/scan。纖維素的結晶指數（XC）會依據X射線繞射圖案並以下列方程式計算。

$$X_c = \frac{I_{002} - I_{am} \times 100\%}{I_{002}}$$

$I_{002}$ 與 $I_{am}$ 分別為結晶區（002）晶面波峰強度與非結晶區的晶面波峰強度，由（hkl）晶面繞射所得的平均微晶尺寸可使用Scherrer方程式來估算，其中（hkl）為晶面、 $D$ （hkl）為微晶尺寸、 $k$ 為Scherrer常數（0.84）、 $\lambda$ 為X射線的人射波長（1.542Å）、 $\beta$ 為從（002）晶面反射的波峰角度的一半高度、 $\theta$ 為相對應於（002）晶面的Bragg角度。

$$D(hkl) = \frac{k\lambda}{\beta(hkl)\cos\theta}$$

### 13. 掃描電子顯微鏡

先將紙漿以不同濃度梯度（30%、50%、70%、80%、90%、95%、100%）的丙酮進行脫水，在95%的丙酮處理前，每段脫水處理皆為15 min，最後再以純酒精處理30 min，紙漿氣乾後接著塗佈一層薄的金膜，放入掃描電子顯微鏡在20 kV下進行觀察，電子顯微圖的放大倍率會適當的調整，以便觀察紙漿表面的形態。

## （二）、漆酶與木聚醣酶應用於舊新聞紙漿的脫墨

### 1. 回收紙漿種類

實驗所使用的回收紙漿來自於印度當地，包括廢棄的舊新聞紙、舊雜誌、雷射印刷紙、噴墨影印紙、全錄影印紙，初始的白度分別為36% ISO、42% ISO、65% ISO、60% ISO、58% ISO。

### 2. 酵素培養與活性分析

實驗選用的木聚醣酶來自於芽孢桿菌屬的 *Bacillus halodurans* FNP 135，具有無纖維素酶成分、熱檢穩定性、耐鹽性，最佳的活性條件為pH值8.0-9.5、溫度65°C，木聚醣酶的生產是採用固態發酵技術，選擇小麥麩皮當作底物，用2.31%（w/w）的碳酸鈉水溶液將液比調成1：4，滅菌後進行接種，最後在37°C下培養68 hr。木聚醣酶的活性定量是採用二硝基水楊酸法選用樺木木聚糖作為底物進行測試，一定量的

木聚醣酶每分鐘可從樺木木聚醣中釋放出1 μmole的木糖，其活性單位為1 IU，

實驗選用的漆酶含有纖維素酶、無木聚醣酶，最佳的活性條件為pH值8.0、溫度55°C，來自於由工業廢水分離所得的新型細菌，屬於γ-變形菌綱，後來被定義為新的 *Rheinheimera* 菌種。漆酶的製備是取1 mL培養一晚的母培養基接種至100 mL的M162培養液（含有100 μM的銅離子）中，在37°C、150 rpm條件下培養48 hr，最後將培養液低溫離心10 min（4°C、10000 g），所得的上清液為本次試驗的粗製漆酶。漆酶的活性測定選用2 mM愈創木酚、0.1M磷酸鹽緩衝溶液（pH 6.5），測定漆酶與愈創木酚混合溶液在55°C下反應10 min後，在波長465 nm下的吸收值變化（吸收係數 $\epsilon = 48000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ），漆酶的單位活性由kat來表示，n kat為每毫升酵素每秒能轉換n莫爾的反應物。

### 3. 紙漿脫墨流程

回收紙樣會先撕成碎片，在常溫下浸泡在自來水中一個晚上，再將浸泡後的回收紙樣洗滌數次，用磨木機將紙樣解體成鬆軟的紙漿，最後將紙漿中的水分擠出並放入烘箱乾燥，以所得絕乾紙漿進行後續的實驗。

實驗中所有的試驗最少會進行三重複，在實驗室中進行標準的脫墨程序P-C段，P段為紙漿準備階段而C段為過氧化氫漂白段，漂白處理的紙漿濃度為5%，添加的藥劑有2%氫氧化鈉、2.5%矽酸鈉（水玻璃）、0.5%二乙烯三胺五醋酸、1.2%氫核 X-100、1%過氧化氫，反應條件為50°C、200 rpm下處理15 min。處理完的紙漿會以蒸餾水清洗除去從纖維上剝落的油墨顆粒，並抄成手抄紙測定紙張白度。

實驗會將酵素與物理性的預處理與P-C段結合，包括P-X-C段、P-L-C段、P-L+M/I-C段、P-X-L-C段、P-S-X-L-C段、P-MW-X-L-C段、P-S-MW-X-L-C段，其中X段為木聚醣酶處理、L段為漆酶處理、L+M/I段為漆酶伴隨中間介質或抑制劑處理、S段為超音波（振盪）處理、MW段為微波處理，而P-C段處理會作為對照處進行比較，木聚糖酶與漆酶處理條件是使用10 g（絕乾重）紙漿在5%濃度下進行，而脫墨時選用的最佳溫、pH值、度酵素劑量、時間分別為65°C、pH 9.0、15 U/g、3 hr與55°C、pH 8.0、50 U/g、4 hr，而酵素處理是在三角燒瓶中進行，轉數皆為160 rpm。漆酶中間介質與抑制劑處理條件是使用10 g（絕乾重）紙漿在5%濃度下進行，處理時的pH值、酵素劑量、時間接選用最佳條件，中間介質包括ABTS、HBT、丁香醛，添加劑量為2 mM，抑制劑

為疊氮化鈉，添加劑量為1 mM。超音波處理條件為紙漿濃度1%、20 kHz，微波處理條件為紙漿濃度20%、850 W。

#### 4. 濾液成分分析

從紙漿中去除的呈色物質會使用分光光度計在波長200-800 nm下分析，還原糖釋出量會用二硝基水楊酸法測量，酚性化合物的生成量會測定在波長237 nm下的吸收值，疏水性化合物的釋出量會測定在波長465 nm下的吸收值。

#### 5. X射線繞射分析

纖維素的結晶度會藉由X射線繞射進行測定，樣品經過低溫乾燥後由X射線繞射儀在X射線發生器散射角(2θ) 2°-50°下測定，纖維素的結晶指數XC可由下列方程式計算。

$$X_C = \frac{I_{002} - I_{am} \times 100\%}{I_{002}}$$

I002與Iam分別為結晶區(002)晶面波峰強度與非結晶區的晶面波峰強度，平均微晶尺寸(002)可使用Scherrer方程式來估算，λ為X射線的入射波長(1.5418Å)，θ為相對應於(002)晶面的Bragg角度，β為從(002)晶面反射的波峰角度的一半高度。

$$ACS = 0.89 \times \lambda \beta \cos \theta$$

#### 6. 傅里葉轉換紅外光譜儀

FTIR光譜的波長涵蓋範圍為4000-400 cm<sup>-1</sup>(解析度為4 cm<sup>-1</sup>)，每個樣本皆會掃描32次，纖維素結晶指數(CI)的計算方式為1430 cm<sup>-1</sup>在IR光譜的吸收值除以897 cm<sup>-1</sup>在IR光譜的吸收值，FTIR光譜會利用前人文獻的資料庫進行分析(Buta et al,1989)。

$$CI = \frac{A_{1430}}{A_{897}}$$

#### 7. 掃描電子顯微鏡

纖維先以去離子水洗滌三次後，再以不同濃度梯次(30-90%)的丙酮進行脫水，最後再浸泡在100%的丙酮當中，待纖維乾燥後放置在樣品台上，並用銀膠布黏著固定，使用濺鍍機鍍上一層金膜，掃描電子顯微鏡的操作條件為10 kV。

#### 8. 手抄紙的物性及化性分析方法

所有的物理性質、化學性質、殘留氯含量測量皆會依據TAPPI的標準方法進行，包括白度(T-452 OM-87)、亮度(T-1216 OM)、卡巴值(T236)、撕裂係數(T-414 OM-98)、破裂係數(T-403 OM-97)、斷裂長度(T-404 OM-92)、黏度(T-230 OM-82)，白度與亮度是使用Minolta spectrophotometer CM3630進行測定，殘留油墨量會使用Elrepho ERIC tester測定，使用的軟體為Lorentzen與Wettre。

### 三、結果與討論

#### (一)、木聚醣酶應用於舊新聞紙漿的脫墨

##### 1. 木聚醣酶培養結果

本次實驗選用米麴菌、黃麴黴菌、Trichoderma citrinoviride MDU-1、哈氏木黴菌、長枝木黴菌生產木聚醣酶，並進行定性與定量，表1顯示黃麴黴菌在培養168 hr後有最大的木聚醣酶活性569 IU/mL，長枝木黴菌在培養96 hr後木聚醣酶活性為472 IU/mL，Trichoderma citrinoviride MDU-1在培養168 hr後木聚醣酶活性為453 IU/mL，米麴菌在培養72 hr後木聚醣酶活性為441 IU/mL，哈氏木黴菌在培養72 hr後木聚醣酶活性為421 IU/mL，培養至最大活性後，木聚醣酶的活性會逐漸下降，這是因為培養液中的營養物質被消耗與分解代謝產物不斷累積所造成，而木聚醣酶最佳的生產時間會因真菌種類及菌株的不同而異。

表1顯示本次實驗生產木聚醣酶的最佳溫度範圍在28-37℃，在37℃時木聚醣酶的生成量非常低，而溫度高於37℃後生成量會大幅下降，木聚醣酶生成量在低溫時也會降下，這是因為低溫時真菌會限制菌絲的生長。

表1顯示麴菌屬的真菌在偏鹼性的環境下會有較高木聚醣酶活性，米麴菌與黃麴黴菌最佳的生產條件分別為pH 8.0、pH 9.0，木黴菌屬的真菌則偏好於酸性或偏中性的條件，最適當的pH條件能幫助酵素與受質之間的作用，並增加酵素的安定性。

與沉浸發酵相比(活性7452 IU/mg)，米麴菌利用固態發酵所獲得的活性高達34442 IU/g，米麴菌擁有高劑量的輔助酵素，因此具有應用於水解新聞紙漿的潛力。

本次實驗中，米麴菌所生產的木聚醣酶活性與部分純化後的木聚醣酶活性分別為7452 IU/mL、13549 IU/mg，其活性明顯高於其他真菌(表2)。

2.木聚醣酶的活性安定性

由圖2可以觀察到麴菌屬的木聚醣酶活性在50°C左右最高，而木黴菌屬的木聚醣酶在60°C時有最佳的活性，當環境溫度離開最佳溫度範圍時，木聚醣酶的活性便會明顯的降低，各菌種的木聚醣酶最佳溫度條件會取決於分離條件與生

長環境的不同而異。米麴菌所製備出的部分純化木聚醣酶在 pH 6.0下有最佳的活性，而其他菌種的部分純化木聚醣酶的最佳活性皆在pH 5.0（圖3），因此，本實驗會選用米麴菌的木聚醣酶進行脫墨及生物漂白試驗，酵素處理的條件為溫度 60°C、pH 6.0。

表1. 木聚醣酶沉浸發酵的最佳參數(Chutani and Sharma,2015)

Sr. No.	Fungal isolates	Xylanase activity (IU/ml/min)/day	Optimum	
			Temperature (°C)	pH
1.	<i>T. citrinoviride</i> strain MDU-1	453/7	28	6.0
2.	<i>T. harzianum</i> strain MDU-2	421/3	35	6.0
3.	<i>T. longibrachiatum</i> strain MDU-6	472/4	30	4.0
4.	<i>A. oryzae</i> strain MDU-4	441/3	28	8.0
5.	<i>A. flavus</i> strain MDU-5	569/7	30	9.0

表2. 木聚醣酶的生化性質(Chutani and Sharma,2015)

Enzyme properties	<i>A. oryzae</i> MDU-4 xylanase	<i>A. flavus</i> MDU-5 xylanase	<i>T. citrinoviride</i> MDU-1 xylanase	<i>T. harzianum</i> MDU-2 xylanase	<i>T. longibrachiatum</i> MDU-6 xylanase
Activity (IU/ml)	7452	2386	1519	3011	542
Specific activity (IU/mg)	13,549	5302	1266	1204	1023
Optimum pH	6.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Optimum temperature (°C)	60	60	50	50	50
$K_m$ (Beechwood xylan, mg/ml)	3.33	5.56	5.0	6.25	3.57
$K_m$ (Oat spelt xylan, mg/ml)	6.25	7.14	5.0	8.33	5.0
$V_{max}$ (Beechwood xylan, $\mu$ mol/mg)	18,182	12,500	2941	3846	1923
$V_{max}$ (Oat spelt xylan, $\mu$ mol/mg)	33,333	18,182	3226	5000	2500

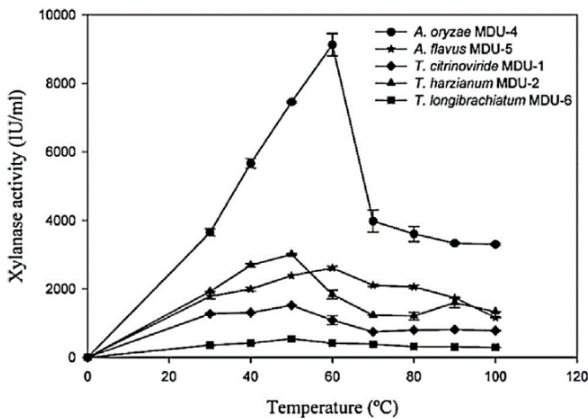


圖2. 溫度對木聚醣酶活性的影響(Chutani and Sharma,2015)

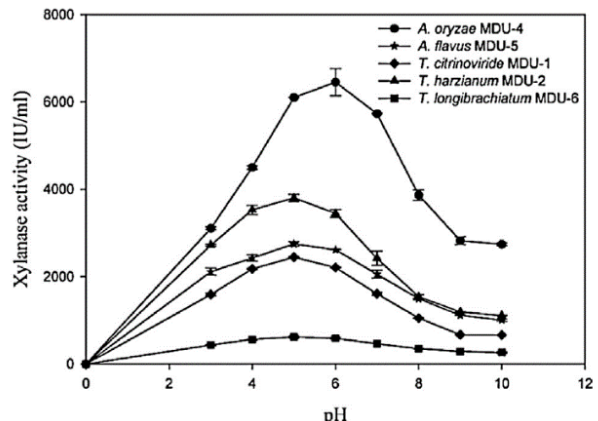


圖3. pH值對木聚醣酶活性的影響(Chutani and Sharma,2015)

## 木聚醣酶及漆酶在新聞回收紙脫墨上的應用評估

在40°C下培養4 hr後，*Trichoderma citrinoviride* MDU-1與長枝木黴菌的木聚醣酶殘留活性皆高於90%，顯示兩者皆擁有較高的熱安定性，而哈氏木黴菌、米麴菌、黃麴黴菌的殘留活性分別為65%、70%、85%（圖4）。pH值安定性實驗是在50°C下培養4 hr後進行測試，米麴菌在pH 6.0下處理4 hr

後，最高的殘留活性為72%，而黃麴黴菌、*Trichoderma citrinoviride* MDU-1、哈氏木黴菌、長枝木黴菌在pH 5.0下處理4 hr後，最高的殘留活性分別為93%、76%、82%、100%（圖5）。

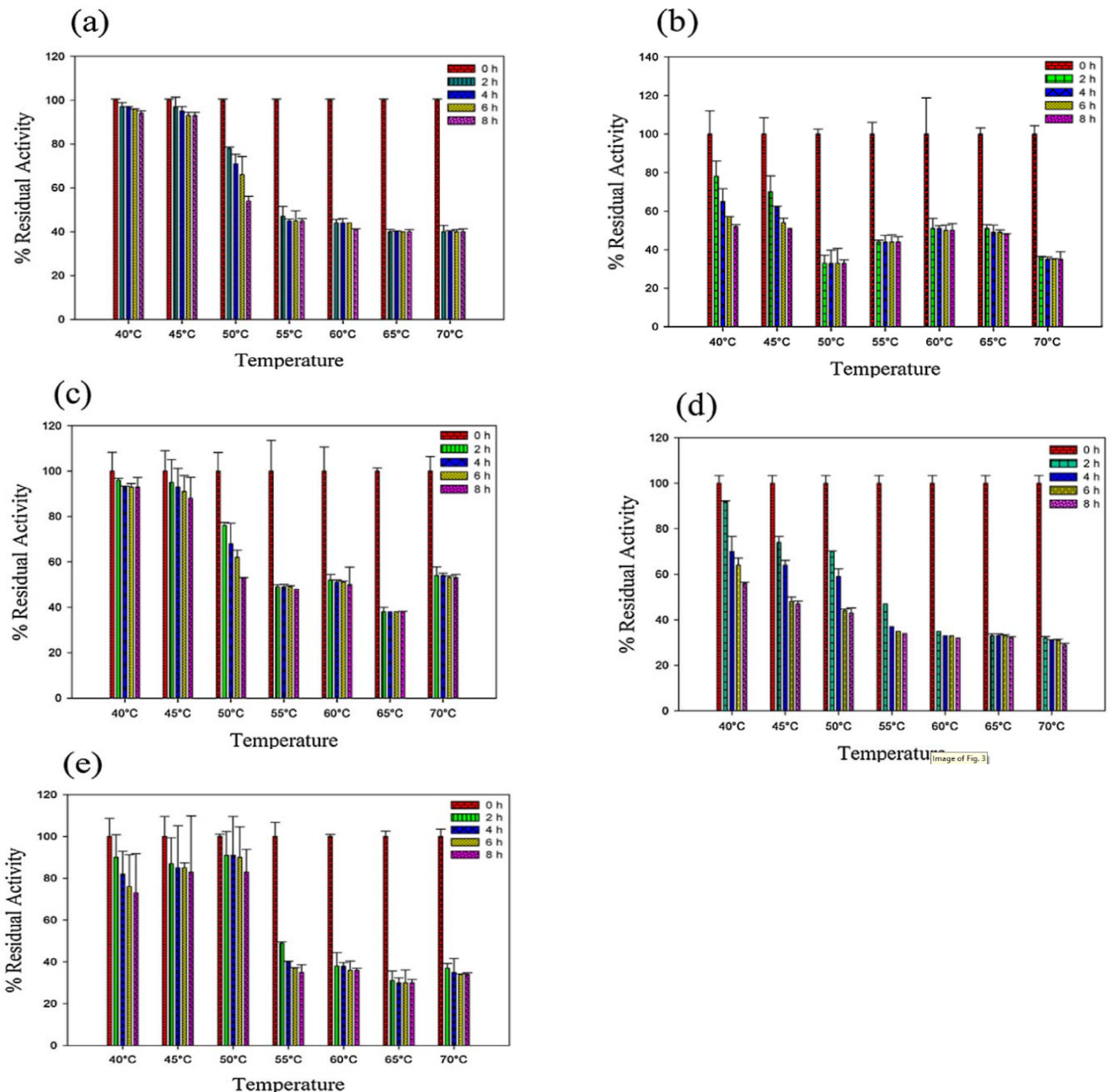


圖4. 木聚醣酶的熱安定性評估(Chutani and Sharma,2015)

(a)*Trichoderma citrinoviride* MDU-1, (b)哈氏木黴菌,(c)長枝木黴菌,(d)米麴菌,(e)黃麴黴菌

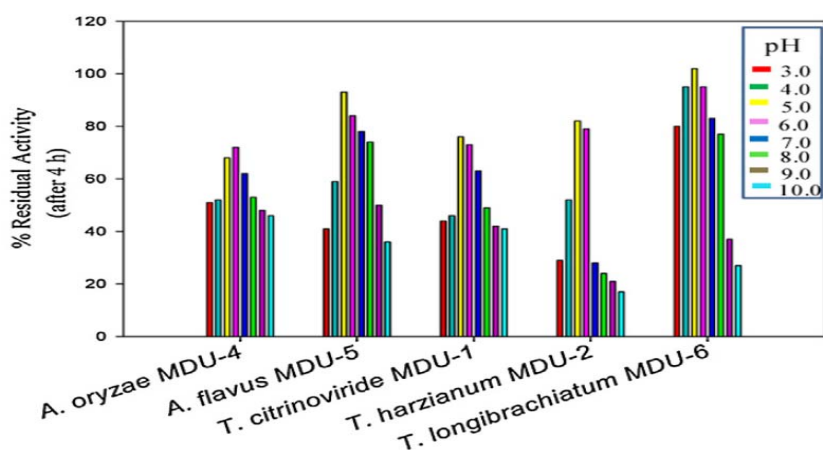


圖5. 木聚醣酶的pH值安定性評估(Chutani and Sharma,2015)

### 3. 動力學參數與酶譜結果

本試驗所有用山毛櫸木聚醣培養而得的部分純化木聚醣酶的Km值(反應速率達到最大值一半時,所剩餘的受質濃度)明顯較低,其Vmax值也高於燕麥木聚醣酶(圖6),因此證明山毛櫸木聚醣較燕麥木聚醣適合用於生產木聚醣酶,由雙倒數圖測得米麴菌擁有非常低的Km值3.33 mg/mL(表2),而越低代表著酵素與受質之間的轉換速率越高,因此酵素的動力學是本研究選擇木聚醣酶的關鍵參數。

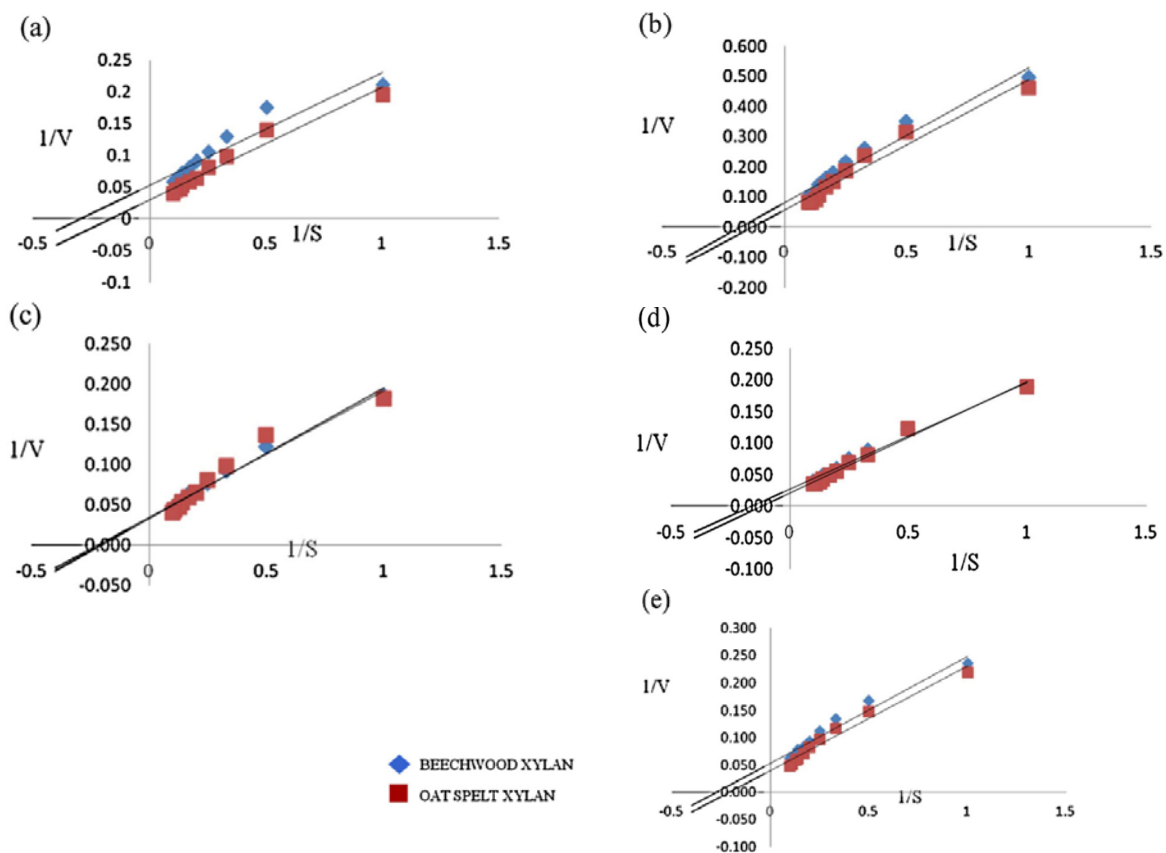


圖6. 木聚醣酶反應速率的雙倒數圖(Chutani and Sharma,2015)

(a)米麴菌,(b)黃麴黴菌,(c)哈氏木黴菌,(d) *Trichoderma citrinoviride* MDU-1,(e)長枝木黴菌



本實驗也利用酶譜分析確認木聚醣酶的存在(圖7),經過剛果紅染色後所突出的帶意味著木聚醣酶的存在,而麴菌屬的木聚醣酶分子量會比木黴菌屬來的低,酶譜顯示麴菌屬的木聚醣酶有額外的低分子量帶,哈氏木黴菌則有三條帶,這代表著有其他同功酶的存在,五種不同真菌純化後的木聚醣酶分子質量大約在20-40 kDa之間(無數據)。一般微生物木聚醣酶的分子質量約在8-148 kDa之間,而低分子量的木聚醣酶較適合投入新聞紙的脫墨程序,因為他們能夠穿過纖維的細胞壁並有效的改善紙漿性質。

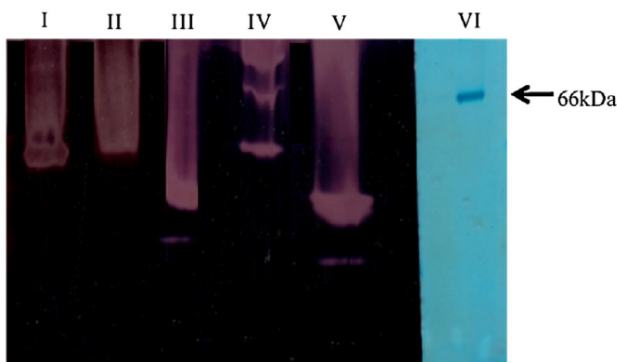


圖7. 木聚醣酶酶譜(Chutani and Sharma,2015)  
(I)Trichoderma citrinoviride, MDU-1 (II)長枝木黴菌,  
(III)米麴菌,(IV)哈氏木黴菌,(V)黃麴黴菌,(VI)牛血清蛋白

#### 4. 舊新聞紙漿的脫墨結果

新聞紙漿經過臭氧處理後,再進行不同時間的木聚醣酶處理,發現在酵素處理3 hr時發色團與還原糖釋出量會達到最大值(圖8),因此後續的酵素處理時間決定為3 hr。Virk等人的報告指出酵素處理3 hr後有最大的白度值(2013)。Maity等人的報告指出以細菌的木聚糖酶脫墨36 hr會有最佳的效果(2012)。而Pathak等人的研究指出以真菌產生的纖維素酶處理30 min後會有最佳的脫墨效果與最低的油墨殘留量(2014)。

實驗中的臭氧處理紙漿與酵素處理紙漿會以手抄紙評估其強度性質與光學性質,兩者的手抄紙基重分別為61.2 g/m<sup>2</sup>、62.4 g/m<sup>2</sup>,臭氧處理(4°C、30 min)後的紙漿卡巴值為65.2,而木聚醣酶處理後紙漿的卡巴值為66.7,結果顯示出臭氧擁有脫木質素作用,臭氧化作用是在低溫下進行,並採用振動方式讓臭氧能接觸到全部的紙漿,臭氧是強的親電子劑,能攻擊碳水化合物富含電子的位置,如糖苷鍵結、還原性的末端基,導致鍵結斷裂與聚合度降低,臭氧化作用能氧化還原性末端基形成羧基,提高多糖類的溶解性以幫助

酵素脫墨。臭氧處理紙漿的纖維長度指數為6.8%,而木聚醣酶處理紙漿的纖維長度指數為7.1%,纖維長度指數能說明機械製漿時紙漿所產生的重要變化,與抗張強度呈線性相關。

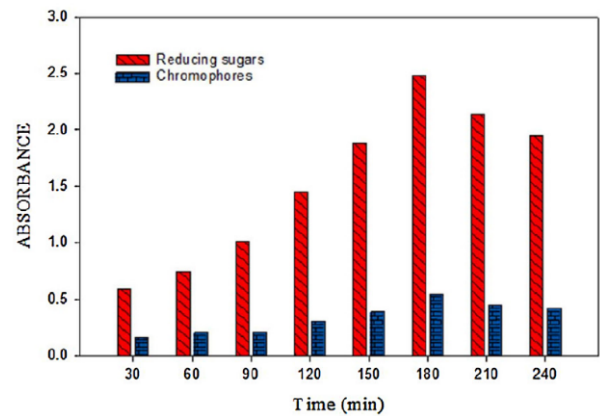


圖8. 還原糖釋出量與發色團釋出量相關性(Chutani and Sharma,2015)

紙張主要的物理性質包括抗張指數、破裂指數、撕裂指數,臭氧處理紙漿的抗張、破裂、撕裂結果分別為24.4 Nm/g、1.52 kN/g、6.23 mNm<sup>2</sup>/g,酵素處理紙漿的抗張、破裂、撕裂結果分別為23.2 Nm/g、1.35 kN/g、6.27 mNm<sup>2</sup>/g(圖9),抗張強度是試片破裂前所產生的最大拉伸應力,撕裂阻力是指紙張所能承受的撕力,測量的單位為mN。酵素的來源、紙張種類、濃度、不同的酵素處理持續時間都有可能對紙力造成影響,而木聚醣酶處理能輕微提升撕裂指數,但由於木聚糖受到降解導致破裂指數與抗張指數下降,圖5顯示木聚醣酶處理紙漿的抗張指數比臭氧處理紙漿低6.1%,而破裂強度也比臭氧處理紙漿低11.2%,但兩者的撕裂指數則幾乎相似,因此木聚醣酶處理後只會導致紙張強度有些微的損失。

與臭氧處理相比,木聚醣酶處理紙漿在光學性質上會有明顯的改善,如有效殘留油墨濃度降低與白度提升等,臭氧處理與酵素處理紙漿的白度分別為54.5% ISO、57.9% ISO,酵素處理後的紙漿白度提高3.4% ISO,可能是因為油墨顆粒從纖維表面脫除,以及臭氧與木聚醣酶的伴隨作用造成紙漿的表面性質受到修飾,木聚糖酶可以產生剝落作用,使微纖維的結合鬆動,進而將挾帶的油墨顆粒釋出。木聚醣酶處理紙漿的有效殘留油墨濃度為211 ppm,明顯低於臭氧處理紙漿的324 ppm,兩者相比可發現酵素處理後油墨的脫除指數能提升35%,也證明經木聚醣酶處理後的新聞紙漿能獲得較高的脫墨效果。

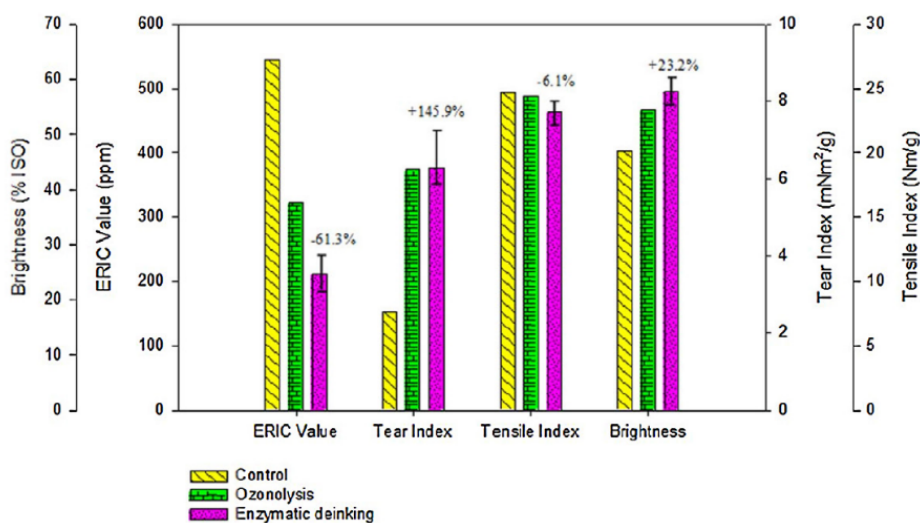
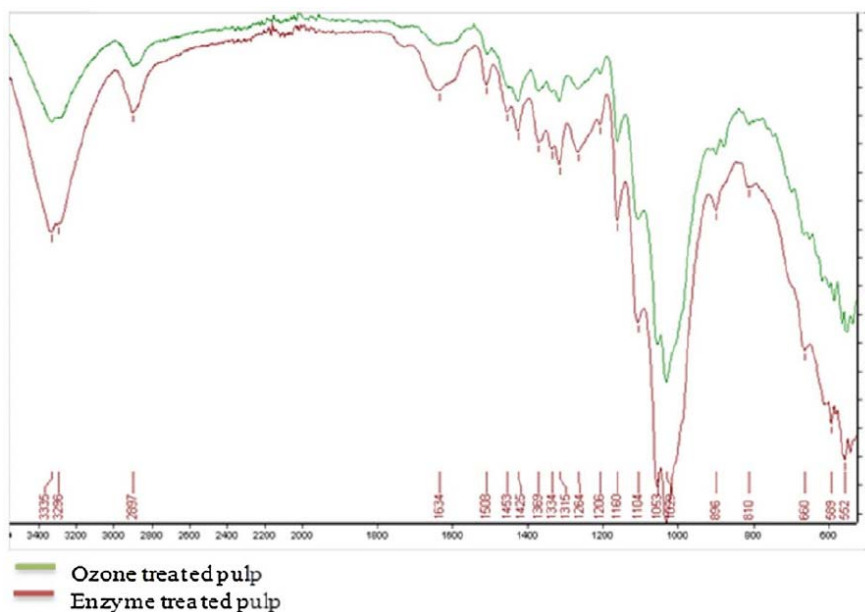


圖9. 臭氧處理與木聚醣酶處理後的紙張性質結果(Chutani and Sharma,2015)

### 5. FTIR圖譜分析

FTIR可用來辨認所有木質纖維材料的結構特徵，木聚醣酶處理紙漿的吸收光譜與臭氧處理紙漿相似，但吸收峰強度則不同（圖10）。波長3335 cm-1為羥基氫鍵的伸縮，其強度的提升是因為經酵素處理後紙漿的纖維素比例提升所導致，因為木聚醣酶處理會減少半纖維素的含量，波長2897 cm-1為-CH的不規則性伸縮振動，其強度的降低是代表酵素處理紙漿中的脂肪族側鏈受到降解，如-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>、-CH，波長1634 cm-1的波峰強度增加是因為酵素處理後芳香族環

的自由羰基（C=O）釋出所導致，而臭氧處理紙漿的羰基會維持與芳香族環的聯繫，因此吸收值會比較低，波長1453-1425 cm-1的波峰是代表芳香族骨架與-CH<sub>3</sub>結合在平面的形變所產生的振動，其相對強度降低是因為酵素處理後會使一些甲氧基脫除，波長1369 cm-1、1334 cm-1、1315 cm-1的吸收值代表羥基的存在，波長1264 cm-1的強度降低是因為半纖維素結構上的C-O官能基所導致，臭氧處理紙漿與酵素處理紙漿在波長1162 cm-1的結果顯示紫丁香基受到降解。



10. 臭氧處理與木聚醣酶處理紙漿的FTIR圖(Chutani and Sharma,2015)

## 6. X射線繞射分析

未處理紙漿、臭氧處理紙漿、酵素處理紙漿的纖維素結晶區之(002)晶面波風強度分別出現在 $2\theta$ 為 $22.34^\circ$ 、 $22.42^\circ$ 、 $22.36^\circ$ ，而非結晶區的波峰強度分別出現在 $2\theta$ 為 $18.16^\circ$ 、 $18.46^\circ$ 、 $18.84^\circ$ (圖11)。X射線粉末繞射儀的分析結果發現木聚醣酶處理後，紙漿的結晶度指數從70.4%(未處理)提升至70.7%，而臭氧處理後紙漿的結晶度指數為72.1%，代表

臭氧處理後紙漿的非結晶區域比例降低而結晶區的比例上升，這是木質素被去除所導致，而木聚醣酶處理後會降低其結晶度指數，可能是木聚醣酶的酵素液中含有纖維素酶的存在。木聚醣酶處理後紙漿測定出的纖維素晶體尺寸為4.4 nm，明顯高於臭氧處理紙漿的晶體尺寸3.6 nm，而未處理紙漿的纖維素晶體尺寸為3.7 nm，較高的結晶度與較低的晶體尺寸代表臭氧處理去除了非結晶區域的物質。

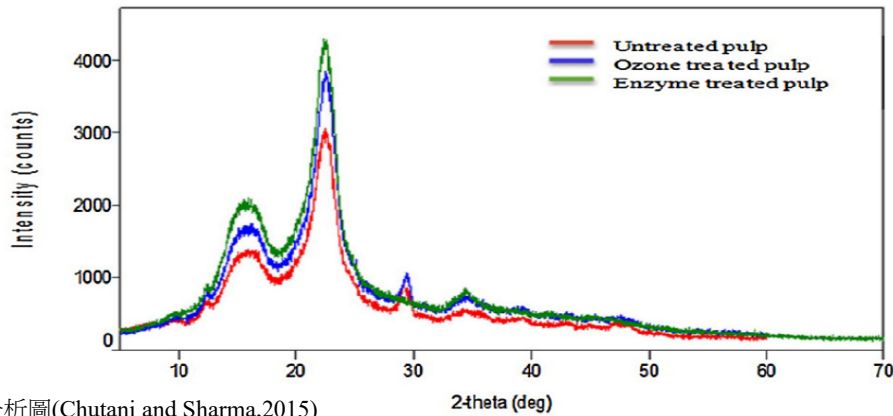


圖11. X射線繞射分析圖(Chutani and Sharma,2015)

## 7. SEM圖

SEM圖顯示臭氧處理後紙漿的纖維出現帶化作用與不規則的表面形態，代表纖維表面的木質素被脫除，而木聚醣

酶脫墨處理後纖維表面的粗糙度會有提高的趨勢，木聚醣酶能挖開纖維的表面，有效的形成裂紋與穿孔，這些剝落效果使較小的纖毛被去除而促使油墨從纖維表面剝離。

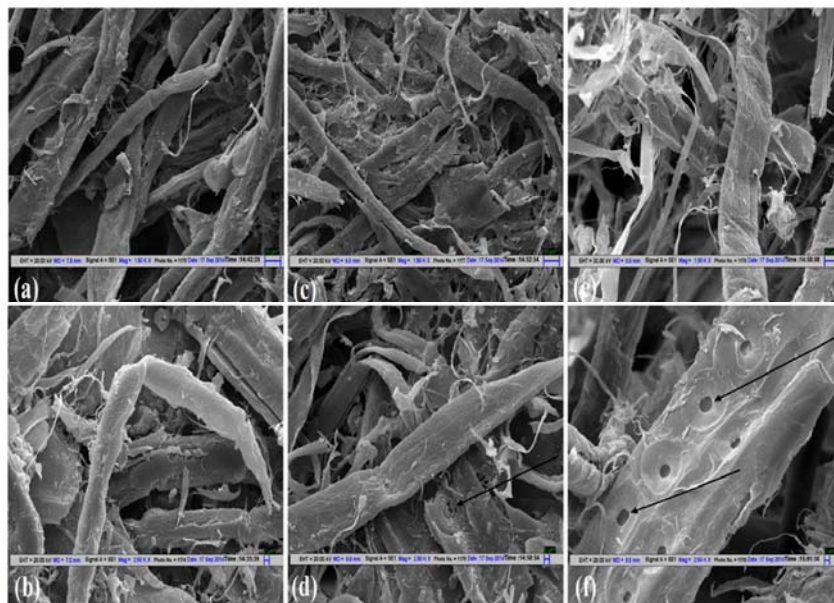


圖12. 舊新聞紙漿的SEM圖(Chutani and Sharma,2015)

(a)臭氧處理紙漿1500 X,(b)臭氧處理紙漿2500 X,(c)木聚醣酶處理紙漿1500 X,  
(d)木聚醣酶處理紙漿2500 X,(e)纖維帶化1500 X,(f)纖維表面穿孔2500 X

## (二)、漆酶與木聚醣酶應用於舊新聞紙漿的脫墨

### 1. 漆酶介質系統的脫墨效果

本實驗會選用不同的中間介質以達到更進一步的脫墨效果，除了ABTS外，HBT與丁香醛無論是單獨使用或是與漆酶一起處理皆無任何脫墨效果，然而漆酶添加ABTS處理僅有累加效果，並沒有顯示出中間介質的效果，因此本試驗所選用的細菌漆酶在脫墨時不需要添加任何中間介質（圖13）。而前人的文獻（Xu et al,2009；Banasal et al,2011）則顯示當漆酶用於舊新聞紙漿脫墨時，ABTS是不可或缺的中間介質，因為他能有效的幫助紙漿脫墨，因為ABTS能作為紙漿纖維與漆酶分子之間的電子載體，藉由氧化作用幫助脫墨。但漆酶只有本身的氧化還原電位低於反應底物時才需要

中間介質，如果漆酶本身的氧化還原電位已經高於反應底物，如油墨，就可將中間介質給淘汰掉。

一般的化學脫墨機制是將油墨顆粒從纖維中變位去除，而漆酶的脫墨機制包括單一的脫色作用、變位與脫色作用同時存在，為了證實這些機制的存在，因此會將脫墨廢液進行吸收值的掃描（ $\lambda = 200-800 \text{ nm}$ ），比較呈色化合物的釋出量變化，化學脫墨後廢液所偵測出的吸收值相當高，而酵素處理與未處理紙漿的廢液中呈色物質較少。

此研究為第一次不添加中間介質處理的漆酶脫墨試驗，因此提高了成本效益，並消除了漆酶與中間介質結合所產生的毒性問題，此外，漆酶添加抑制劑疊氮化鈉後不會對舊新聞紙漿造成脫墨效果，可證明漆酶本身具有脫墨能力。

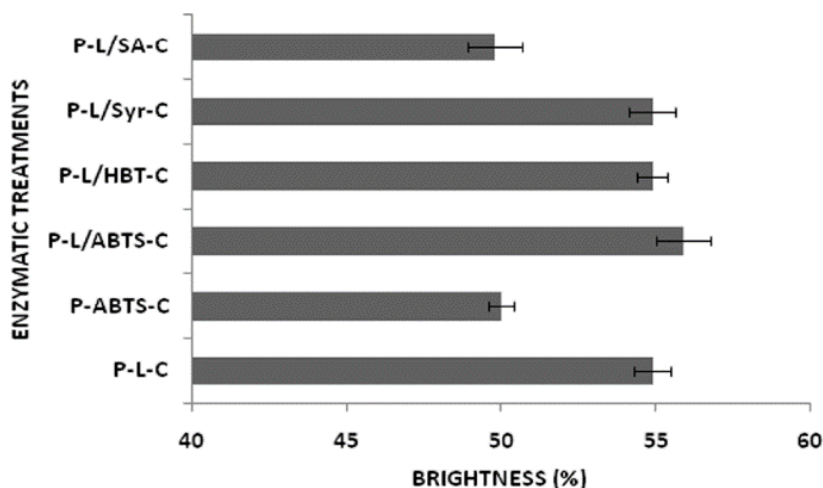


圖13. 漆酶添加中間介質與抑制劑的脫墨結果(Virk et al,2015)

### 2. 木聚醣酶伴隨漆酶處理的脫墨效果

本試驗主要目的為建立有效的脫墨條件，因此會評估木聚醣酶段與漆酶段合併處理，以及兩者單一段處理之間的成效，當舊新聞紙漿先經過木聚醣酶預處理再以漆酶處理後，所獲得的白度為 $59.6 \pm 0.8\%$  ISO，分別比P-L-C段、P-X-C段、P-C段多了 $8.5\%$  ISO、 $11.4\%$  ISO、 $21.6\%$  ISO（表3）。P-X-L-C段的殘留油墨量為 $183.07 \pm 24 \text{ ppm}$ ，分別比P-L-C段、P-X-C段、P-C段低了 $9.4\%$ 、 $35.2\%$ 、 $65.8\%$ ，殘留油墨濃度的降低也代表木聚醣酶與漆酶之間的脫墨成效，木聚醣酶能去除回收纖維上的木聚醣，並在纖維上開孔使隨後的化學藥

劑與漆酶能夠進行攻擊，漆酶能氧化紙漿中裸露出來的木質素，促進木質素單體與附著在木質素上的污染物的脫除，使油墨顆粒被去除，木聚醣酶與漆酶之間的協同作用也使白度能更進一步提升。發色團（ $\lambda = 237 \text{ nm}$ ）與疏水性化合物（ $\lambda = 465 \text{ nm}$ ）釋出量之間的關聯性，以及卡巴值的降低與還原糖的釋出量皆與纖維中的木質素與醣類解離有關（圖14），本次試驗也是首次進行細菌漆酶、與細菌木聚醣酶進行脫墨的報告，而酵素合併處理能大幅降低脫墨時的化學藥劑消耗用達 $50\%$ （表4）。

表3. 經酵素與物理性的紙漿脫墨後的性質(Virk et al,2015)

Parameters	PC	PXC	PLC	PXLC	PSXLC	PMWXLC	PSMWXLC
Kappa number	10±0.9	9±0.78	8.8±0.74	8.1±0.83	7.8±0.75	7.7±0.75	7.4±0.66
Brightness (% ISO)	49.0±0.5	53.5±0.4	54.9±0.5	59.6±0.8	61.45±0.4	61.73±0.4	63.12±0.5
Whiteness	1.31±0.6	9.75±0.8	10.3±0.8	22.7±0.5	23.85±0.6	24.09±0.9	25.47±0.8
ERIC (ppm)	535.41±16	278.55±23	202.24±33	183.07±24	145.20±30	148.51±16	139.46±22
Breaking Length (m)	1285±29	1182±25	1378±22	1498±25	1328±32	1331±30	1345±33
Burst Factor (kPa m <sup>2</sup> /g)	6.12±0.8	6.34±0.56	6.27±0.62	6.38±0.58	6.24±0.9	6.26±0.7	6.3±0.5
Tear Factor (mN m <sup>2</sup> /g)	37.2±0.20	35.5±0.23	38.5±0.20	39.8±0.26	34.5±0.25	35.1±0.20	37.8±0.20
Viscosity (cps)	7.5±0.8	7.8±0.9	8.0±0.6	8.5±0.9	7.9±0.7	8.0±0.8	8.65±0.9

表4. 紙漿經P-X-L-C段處理後的藥劑消耗結果(Virk et al,2015)

Waste paper pulp	Brightness (%ISO)								
	P-C	P-X-L-C	100%	90%	80%	70%	60%	50%	40%
Chemicals used	100%	100%	100%	90%	80%	70%	60%	50%	40%
ONP print	49±0.5	59.6±0.8	58.9±0.9	56.5±0.5	54.7±0.8	52.5±0.73	49.2±0.65	48.3±0.75	
Laser print	81.5±0.4	84.1±0.5	82.8±0.8	82.3±0.3	81.5±0.7	79.2±0.6	-	-	
Magazines print	51±0.5	55.24±0.7	52.5±0.9	52.2±0.5	50.9±0.5	48.9±0.4	-	-	
Xerox print	85.6±0.4	87.3±0.5	86.8±0.4	86.1±0.8	85.7±0.7	84.1±0.4	-	-	
Inkjet print	82±0.9	85.84±0.5	83.8±0.6	82.2±0.5	80.8±0.4	-	-	-	

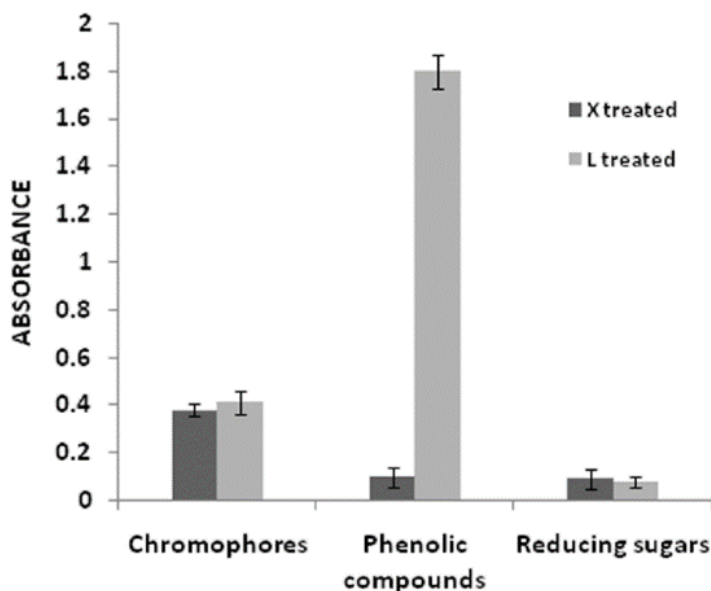


圖14. 經木聚醣酶與漆酶處理後紙漿所釋出的化合物含量比較(Virk et al,2015)

### 3. X射線繞射分析

圖15為P-X-L-C段脫墨處理後的舊新聞紙漿X射線繞射

圖，(002)晶面的波峰強度 ( $2\theta = 22.6^\circ$ ) 代表纖維素的結晶度，而 $2\theta = 19^\circ$ 的波峰強度代表非結晶區，I002在 $2\theta = 22.6^\circ$

的強度為2.4與8.4 (P-C段與P-X-L-C段),  $I_{am}$ 在 $2\theta = 19^\circ$ 的強度為1.7與2.9 (P-C段與P-X-L-C段), (002) 反射角的一半高度在 $2\theta = 22.6^\circ$ 為1.9 cm與1.1cm (P-C段與P-X-L-C段)。X射線繞射分析顯示經P-X-L-C段處理後, 舊新聞紙漿的經驗性結晶度指數從29.16% (未處理) 提升至65.47% (表3), 而

纖維素結晶指數提升了10.3%, 代表紙漿中的非結晶區域減少使得結晶區的比例上升, 結晶度的增加是因為半纖維素、木質素與黏著在木質素上的物質被去除導致, 使P-X-L-C段處理後紙漿中的纖維素含量比例會上升, 而纖維素晶體尺寸也增加了73%。

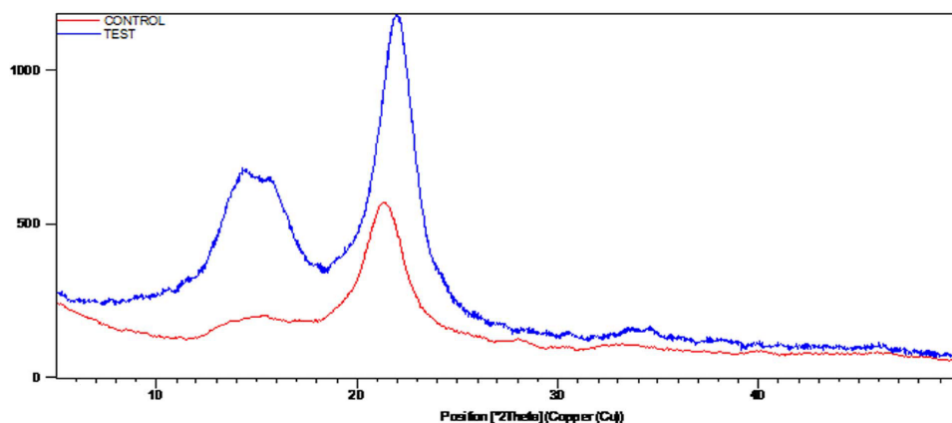


圖15. P-X-L-C段處理紙漿與P-C段處理紙漿的X射線繞射分析圖比較(Virk et al,2015)

表5. P-X-L-C段處理紙漿與P-C段處理紙漿的纖維結晶指數與晶體表觀尺寸(Virk et al,2015)

Parameters	P-C	P-X-L-C
Empirical crystalline index	29.16	65.47
Apparent crystal size (nm)	0.78	1.35
Cellulose crystallinity index (CI)	1.16	1.28

#### 4. FTIR圖譜分析

圖16顯示P-X-L-C段處理後的FTIR光譜有顯著的改變, 表6顯示P-X-L-C段處理後的吸收值結構與P-C段相似, 但波峰強度不同, 波長3401-3352  $\text{cm}^{-1}$ 為羥基氫鍵的伸縮, 此波長相對強度的提升是因為酵素處理後紙漿中纖維素的含量比例提升。波長2921-2917  $\text{cm}^{-1}$ 與617  $\text{cm}^{-1}$ 為-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>、-CH中-CH的不規則性伸縮振動, 此波長的相對強度降低代表脂肪族的側鏈受到降解。波長1642-1639  $\text{cm}^{-1}$ 的相對強度提升是酵素與木質素的芳香族環反應, 造成自由羰基(C=O)的釋出, 在P-C段處理的紙漿中, 其羰基會維持與芳香族環之間的聯繫, 因此在此波長的吸收值較低。木質素完全被礦化後會產生二氧化碳與水, 而羧酸為木質素的降解產物之表6. 手抄紙FTIR圖譜中各別波峰的訊號值(Virk et al,2015)

一。波長1456-1426  $\text{cm}^{-1}$ 為芳香族骨架在平面內與-CH<sub>3</sub>結合變形的振動, 其相對強度的降低代表部分的甲氧基被酵素去除。波長1374-1372  $\text{cm}^{-1}$ 為脂肪族-CH<sub>3</sub>的C-H與酚類化合物-OH的伸縮振動, 其相對強度的降低代表木質素的側鏈與酚性-OH含量有降低的趨勢。波長1266-1252  $\text{cm}^{-1}$ 的相對強度降低代表愈創木基受到降解。波長在1737  $\text{cm}^{-1}$ 下有新的波峰出現, 此為 $\beta$ -C=O、羥基、酯類的C=O伸縮振動, 代表經酵素P-X-L-C段處理後的殘留木質素富含這些官能基。1162  $\text{cm}^{-1}$ 下出現的新波峰代表紫丁香基受到降解。而紙漿結晶度的算式是根據X射線繞射研究計算, 為1430  $\text{cm}^{-1}$ 下的吸收值除以897  $\text{cm}^{-1}$ 下的吸收值。

表6. 手抄紙FTIR圖譜中各別波峰的訊號值(Virk et al,2015)

Bands $\text{cm}^{-1}$	Assignment	Relative intensity	
		P-C	P-X-L-C
3401-3352	-OH stretching of hydrogen-bonding	1.28	1.36
2921-2917	CH asymmetrical stretching vibration in $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$ , CH	1.06	0.95
1737*	C=O stretching vibration in $\beta$ -C=O, COOH, ester	-	0.94
1642-1639	Aromatic skeletal vibrations plus C=O stretching	1.07	0.98
1510	Aromatic skeletal vibrations	1	1
1456-1426	Aromatic skeletal vibrations combined with $-\text{OCH}_3$ in plane deformations	1.111	1.105
1374-1372	Aliphatic C-H stretching in $\text{CH}_3$ and phen-OH	1.10	1.08
1266-1252	C-O stretching vibration in guaiacyl ring	1.13	1.11
1162*	C-H stretching vibration in syringyl ring	-	1.08
1060-1057	C-O bending vibration in primary alcohol, ether	1.38	1.47
617*	CH asymmetrical stretching vibration in $\text{CH}_3$ , $\text{CH}_2$ , CH	0.97	0.95

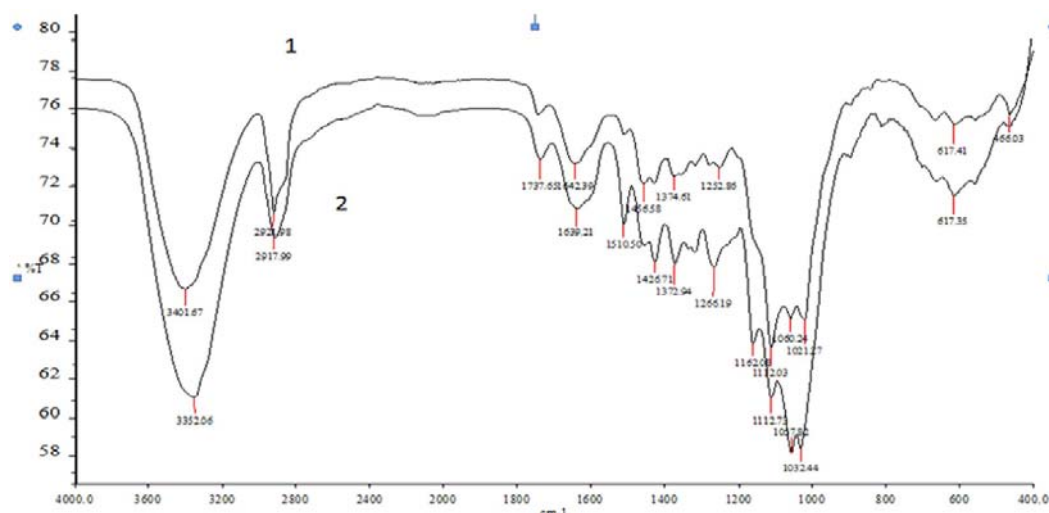


圖16. P-X-L-C段處理紙漿與P- C段處理紙漿的FTIR圖譜(Virk et al,2015)

### 5. SEM圖

圖17顯示P-C段處理後紙漿的纖維表面先當平滑，經P-X-L-C段處理後纖維表面產生帶化現象，且變得比較粗糙，代表纖維表面受到脫木質素作用導致纖毛剝落，依據

FTIR所得到的結果相比顯示酵素處理時的木質素降解作用是發生在纖維表面，其他的外觀形態變化如穿孔與裂紋皆為木聚醣酶的水解造成的，這些形態變化增加了纖維與化學藥品接觸的表面積，因此能降低藥劑的消耗量。

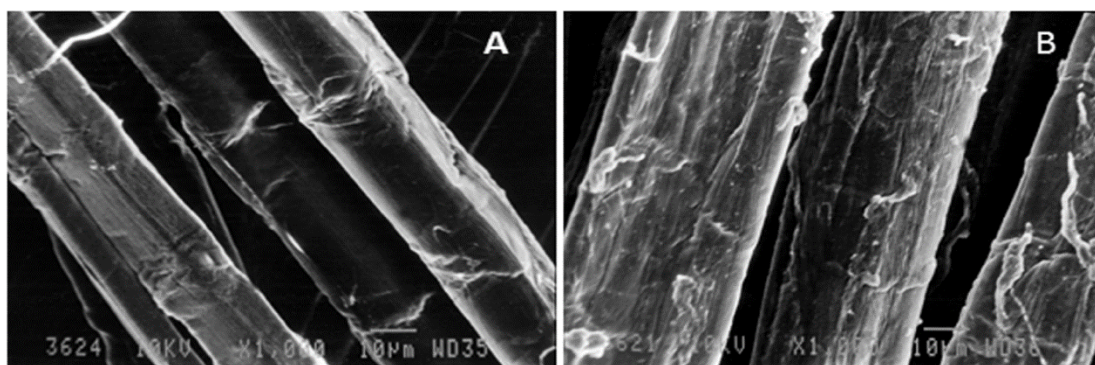


圖17. 舊新聞紙漿的SEM圖(Virk et al,2015) (A)P-C段處理紙漿(B)P-X-L-C段處理紙漿

## 6. 超音波與微波的脫墨效果

表7顯示超音波處理與微波處理之間的最佳參數，最大白度值 $52.1 \pm 0.6\%$  ISO與 $52.8 \pm 0.41\%$  ISO，分別為超音波處理與微波處理的結果，超音波處理的條件為在1%濃度、230 W、20 kHz、15 min，微波處理的條件為5%濃度、850 W、1 min。而P-S-X-L-C段與P-MW-X-L-C段獲得的白度分別為 $61.45 \pm 0.75\%$  ISO與 $61.73 \pm 0.33\%$  ISO。

表7. 超音波處理與微波處理的最佳條件參數(Virk et al,2015)

SONICATION (S)			MICROWAVING (MW)		
	Brightness (%ISO)			Brightness (%ISO)	
Time (min)	P-S-C	P-S-X-L-C	Time (sec)	P-MW-C	P-MW-X-L-C
0	49±0.45	58.65±0.40	0	49±0.9	58.8±0.5
5	50±0.58	59.5±0.40	30	50.1±0.8	59.75±0.9
10	51.2±0.8	60.35±0.8	60	52.8±0.41	<b>61.73±0.33</b>
15	52.1±0.6	<b>61.45±0.75</b>	90	49.2±0.4	57.1±0.44
20	52±0.44	61.15±0.39	120	49.12±0.30	53.1±0.39

## 7. 回收紙漿的脫墨結果

當三種預處理方式合併後 (P-S-M-X-L-C)，所得的數值如下：白度 $62.13 \pm 0.5\%$  ISO (提升28.8%)、卡巴值 $7.4 \pm 0.66$  (降低22%)、殘留油墨量 $139.04 \pm 22$  ppm (降低73.9%)，與對照組P-C段相比。酵素與物理性質的合併處理方法能有效降低舊新聞紙漿的殘留油墨量，而以前的報告從未有這種結果，雖然P-S-M-X-L-C段處理後的紙漿強度低於P-X-L-C段處理，但兩者皆比傳統的化學脫墨處理還要優秀。P-X-L-C段處理後紙漿的性質與P-X-C段、P-L-C段、P-S-M-X-L-C段相比，其斷裂長度分別比其他三者高26%、8.6%、11%，破裂係數分別比其他三者高0.6%、1.7%、0.06%，撕裂係數分別比其他三者高12.1%、3.3%、5.2%。P-X-L-C段處理後紙漿的黏度增加了13%，這也代表本次試驗中的酵素不含纖維素酶的活性。P-L-C段處理後的卡巴值比P-C段處理低12%，顯示出漆酶的脫木質素效果。

表2顯示不同種類的回收紙漿經木聚糖酶與漆酶合併處理後的成效，舊新聞紙漿、舊雜誌紙漿、噴墨影印紙漿、雷射印刷紙漿、全錄影印紙漿的白度分別提升21.6% ISO、8.3% ISO、4.1% ISO、3.1% ISO、1.9% ISO。證明木聚糖酶與漆酶合併系統能去除回收紙漿（包括非衝擊性與衝擊性的印刷方式）上的油墨，酵素去除非衝擊性方式的影印油墨會比較容易，因為此印刷方式的油墨並沒有融入紙中，脫墨時

超音波處理能使纖維產生膨潤、開孔，增加纖維與酵素、化學藥劑之間的接觸面積，使他們到達平常一直被保護住的位置。微波處理能產生蒸氣爆炸，使纖維開孔讓半纖維素與木質素接觸到漂白藥劑與酵素，微波處理具有快速、效率高、經濟價值、簡單操作、對環境友善等優點，因此能替代傳統的加熱方式。

較容易去除，衝擊性印刷方式的油墨會融到紙中，因此不容易分散而較難去除，表2顯示經酵素合併處理後舊雜誌紙漿、雷射印刷紙漿、全錄影印紙漿的藥劑消耗量能降低30%，噴墨影印紙漿能降低20%，而舊新聞紙漿能降低50%。

## 四、結論

第一篇研究顯示米麴菌具有較高的活性、pH值與溫度安定性，並與反應物有較高的親和力，具有應用在酵素脫墨的潛力，而臭氧伴隨木聚糖酶處理具有成本競爭力與對環境友善等特色，能替代傳統的化學脫墨。

第二篇研究發現木聚糖酶伴隨漆酶處理能有效地脫除回收紙漿中的油墨，而不需要在漆酶段添加任何中間介質，前提是漆酶本身氧化還原電位要高於待去除的油墨，經X-L段預處理後紙漿能過得較佳的光學性質與力學性質，與對照組P-C段相比，白度上升了21.6% ISO、殘留油墨量降低了65.8%，纖維素結晶指數提升了10.3%，纖維表面的木質素會受到降解、產生更多共軛羰基，而纖維本身的帶化程度也會提升，最重要的是X-L段預處理能節省化學藥劑用量達50%。



## 五、參考文獻

1. Bansal, MC., V. Kumar and K. Shilpa (2011) Combined deinking technology to improve the quality of recycled paper. *Appita J* 23:145–148.
  2. Buta, J. G., F. Zardrazil and G. C. Galletti (1989) FT-IR determination of lignin degradation in wheat straw by white rot fungus *Stropharia rugosoannulata* with different oxygen concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37:1382–1384.
  3. Chutani, P. and K. K. Sharma (2015) Biochemical evaluation of xylanases from various filamentous fungi and their application for the deinking of ozone treated newspaper pulp. *Carbohydrate Polymers* 127: 54–63.
  4. Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of the structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature* 227:680–685.
  5. Maity, C., K. Ghosh, S. K. Halder, A. Jana, A. Adak and P. K. D. Mohapatra (2012) Xylanase isozymes from the newly isolated *Bacillus* sp. CKBx1D and optimization of its deinking potentiality. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 167:1208–1219.
  6. Miller, G.L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31:426–428.
  7. Pathak, P., N. K. Bhardwaj and A. K. Singh (2014) Production of crude cellulase and xylanase from *Trichoderma harzianum* PPDDN10 NFCCI-2925 and its application in photocopier waste paper recycling. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 172:3776–3797.
  8. Virk, A. P., M. Puri, V. Gupta, N. Capalash and P. Sharma (2013) Combined enzymatic and physical deinking methodology for efficient eco-friendly recycling of old newspaper. *PLoS ONE* 8(8):1–8.
  9. Xu, Q., Y. Fu, Y. Gao and M. Qin (2009) Performance and efficiency of old newspaper by combining cellulase/hemicellulase with laccase-violuric acid system. *Waste management* 29:1486–1490.
- 
- \*蘇裕昌, 國立中興大學森林學系教授  
\*Dr. Yu-Chang Su, Professor, Dept. of Forestry,  
National Chung-Hsing University  
\*\*周家寬, 中興大學森林系碩士班研究生  
\*\* Chia-Kuan Chou, Master student, Dept. of Forestry, National Chung-Hsing University.