植物纤维复合胞间层的修复及纸页强度的提高

王鹏[1,2],乐喜[1],叶哲孜[1],吴晨曦[1],谢益民[1,2]

1. 湖北工业大学制浆造纸工程学院,武汉 430068
2. 绿色轻工材料湖北省重点实验室,武汉430068

摘要 研究了低卡伯值未漂硫酸盐阔叶木浆在过氧化物酶体系存在下,与松柏醇葡萄糖苷及果胶发生共聚反应,生成脱氢聚合物(DHP)及DHP-碳水化合物复合体,并利用^{13}C-NMR分析了DHP-碳水化合物复合体的结构。结果表明:DHP-碳水化合物复合体中DHP结构单元之间主要通过β-O-4、α-O-4、β-β、β-5和β-1方式相连接,DHP结构单元还通过苯甲醚键、苯甲酯键和少量缩醛键与纸浆纤维和果胶相连。纤维胞间层经过修复后,纸张的强度有明显提高。纸张的干强度和湿强度分别提高37.5%和166.3%。木素前驱物可以与果胶及纸浆纤维中的多糖有效地发生共聚,使得纤维复合胞间层得到修复,因而提高纸张强度。

关键词 复合胞间层;松柏醇葡萄糖苷;DHP-碳水化合物复合体

纸张是人类利用植物纤维制备的环保型高分子材料,其物理强度主要由纤维间的氢键结合和纤维间的缠结作用提供。但是氢键键能比较低,且在使用过程中容易被水分子破坏,很大程度上限制了纸张的应用范围。传统的纸张生产中,加入脲醛树脂和三聚氰胺甲醛树脂等能与纤维素交联的化学助剂改善纸张的湿强度,然而使用这些树脂时会产生甲醛污染[1]。近年来,人们利用木素氧化酶如漆酶和过氧化物酶改性未漂浆纤维,从而提高纸张的湿强度[2-4]。然而,由于未漂浆纤维的残余木素的侧链上能与苯环构成共轭苯乙烯结构很少,自由基很难转移到侧链上,反应效率不高。

在天然木材中,木质纤维是通过复合胞间层(compound middle lamella,CML)中的木素和木素-碳水化合物复合体(lignin-carbohydrate complexes,LCC)连接在一起的,尤其是LCC结构使得木质纤维之间连接非常紧密,使得天然木材原料具有良好的物理性能[5,6]。木素是由木素前驱物在木素过氧化物酶和锰过氧化物酶及漆酶的作用下发生脱氢生成的自由基不断聚合而成的,在木素大分子生成过程中,木素与碳水化合物之间能形成苯甲醚键、苯甲酯键、缩醛键等6种LCC连接键[5,7]。实验室模拟LCC的生物合成过程方面已有大量研究成果[8-10]。纸张中的纤维是分散的纤维,纤维之间主要通过氢键连接在一起,而非像木材原料中纤维一样通过富含木素和LCC的复合胞间层粘结在一起的。人们在LCC的生物合成过程方面的研究成果给出了一个重要的启示:可以在纸张纤维中添加木素前驱物、聚糖和木素氧化酶,在分散的纤维之间生成木素和LCC,使得纸张中的纤维的复合胞间层得到修复,从而提高纸张的湿强度。基于这一思路,本研究采用^{13}C标记的木素前驱物——松柏醇葡萄糖苷-[α-^{13}C]在过氧化物酶、β-葡萄糖苷酶和葡萄糖氧化酶的作用下与未漂硫酸盐浆和果胶共聚,并采用^{13}C-NMR进行示踪分析,结合木素侧链α-^{13}C标记,研究未漂硫酸盐阔叶木浆之间的DHP-碳水化合物复合体结构,并分析经过酶催化胞间层修复处理后的纸张物理强度。

1 实验过程

1.1 带^{13}C标记的木素前驱物的合成

本研究参考文献[11]合成松柏醇-β-D-葡萄糖苷-[α-^{13}C]。

1.2 松柏醇葡萄糖苷与未漂硫酸盐浆的聚合反应

将2 g绝干纸浆(未漂硫酸盐阔叶木浆:实验室自制,卡伯值为13.25,打浆度为40° SR)用0.1 mol/L、pH值5.0的NaAc-HAc缓冲液调到浆浓为1%,加入0.8 g不带^{13}C标记的松柏醇葡萄糖苷、2.5 mg辣根过氧化物酶、64 mg β-葡萄糖苷

收稿日期:2015-09-15;修回日期:2016-01-22

基金项目:国家自然科学基金项目(31300494,31370574);湖北省教育厅青年人才项目(Q20131402);湖北工业大学博士启动基金项目(BSQD12037);绿色轻工材料湖北省重点实验室开放基金项目

作者简介:王鹏,副教授,研究方向为植物纤维化学,电子信箱:ahwp1234@163.com;谢益民(通信作者),教授,研究方向为植物纤维化学,电子信箱:ppymxie@163.com

引用格式:王鹏,乐喜,叶哲孜,等. 植物纤维复合胞间层的修复及纸页强度的提高[J]. 科技导报, 2016, 34(19): 71-75; doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2016.19.011

酶和79 mg葡萄糖氧化酶,通入空气,在30℃条件下启动反应,反应时间为6 h。反应结束后离心分离,沉淀部分用蒸馏水清洗、干燥,之后用二氯乙烷/乙醇抽提液抽提,得到处理后的浆。取0.5g不带^{13}C标记的松柏醇葡萄糖苷和0.3 g带^{13}C标记的松柏醇葡萄糖苷,用上述方法处理浆,反应后得到带同位素标记的处理浆。分别取经过处理的不带标记和带标记的浆,以及没有处理的空白样于500 mL具塞锥形瓶中,加入纤维素酶和半纤维素酶液250 mL,然后置于50℃的振荡水浴中酶解72 h,反应结束后,用离心机分离,再用去离子水反复洗涤,得到酶解木素,干燥备用。未处理的浆酶解木素记作:CEL,经处理的不带标记的浆样和带标记的浆样酶解木素分别记作:CEL-Cont和CEL-^{13}C。

1.3 果胶-DHP复合体的制备

将1.5 g果胶置入100 mL蒸馏水中,加热使其润胀形成果胶胶体,然后冷却到室温。在无菌的条件下向上述预处理的果胶胶体中加入溶有辣根过氧化物酶(1 mg)、葡萄糖氧化酶(72.6 mg)和β-葡萄糖苷酶(42.6 mg)的水溶液3 mL,充分混合均匀。将松柏醇葡萄糖苷(1.5 g)溶解在0.2 M醋酸钠/醋酸缓冲溶液(pH 5.0、100 mL)中。然后在不断通入经过棉花和活性炭过滤的空气的条件下,用恒流泵(24 h、4 mL/h)将松柏醇葡萄糖苷溶液加入含酶的果胶胶体中,松柏醇葡萄糖苷溶液加完后,将体系保持在室温(26~30℃)下反应10 d,反应期间不断通入空气。反应结束后经旋转蒸发得到固体,该固体用二氧六环/水(96:4)溶液抽提,得到果胶-木素复合体,记作PDHPC-cont.。取松柏醇葡萄糖苷(1.2 g)和松柏醇葡萄糖苷-[α-^{13}C](0.3 g)溶解在0.2 mol/L醋酸钠/醋酸缓冲溶液(pH 5.0、100 mL)中,用相同方法合成带同位素标记的PDHPC-^{13}C。得PDHPC-^{13}C 2.1 g。向PDHPC中加入果胶酶进行酶解。反应结束后,离心分离,得水不溶解部分,分别记作PDHPC-IS-cont.和PDHPC-IS-^{13}C,干燥备用。

1.4 酶解木素的CP/MAS ^{13}C-NMR测试

采用带固体探头的Bruker-400型核磁共振仪,利用常规交叉极化(CP)和魔角旋转(MAS)法,在100.6 MHz下进行^{13}C连续扫描得到^{13}C-NMR谱图。实验条件为:温度21.85℃,4 mm MAS BB-1H转子(转速6.0 kHz),0.003 s(接触时间),0.05 s接受时间,扫描宽度29.76 kHz,脉冲迟滞3 s。为了提高信噪比,对每个样品进行3500次扫描。

1.5 高分辨率液体^{13}C-NMR测试

将PDHPC-IS-cont.和PDHPC-IS-^{13}C溶于DMSO-d6中,用ϕ5 mm的试样管在150.9 MHz观测频率在Bruker Advance-600核磁共振仪上进行碳谱扫描,对样品进行约10000次扫描。实验条件为:温度50℃,扫描范围δ 0~220,脉冲迟滞时间1.75 s。

1.6 纸张的抄片及纸张物理性能测定

将0.9 g果胶置入100 mL蒸馏水中,加热使其润胀形成果胶胶体,然后冷却到室温,备用。

将6 g绝干纸浆,用0.2 mol/L, pH 5.0的NaAc-HAc缓冲液调到浆浓为2%,置于30℃的水浴中,然后加入冷却好的果胶胶体,辣根过氧化物酶(3 mg)、β-葡萄糖苷酶(60 mg)和葡萄糖氧化酶(90 mg),通入空气,并用搅拌器进行搅拌。将1.5 g松柏醇葡萄糖苷溶解在0.2 mol/L醋酸钠/醋酸缓冲溶液(pH 5.0、100 mL)中。用恒流泵(24 h,4 mL/h)将松柏醇葡萄糖苷溶液加入含酶的浆中,松柏醇葡萄糖苷溶液加完后,再反应24h,反应期间不断通入空气。使用凯赛快速抄片器抄片,并在86℃下真空干燥,手抄片的定量为63 g/m^2。根据GB/T453—2002方法测定手抄片抗张强度。根据GB/T465.2—1989方法测定手抄片湿抗张强度,浸泡时间为1 h。

2 结果与分析

2.1 松柏醇葡萄糖苷处理后未漂浆酶解木素的CP/MAS ^{13}C-NMR谱图分析

为了便于分析,以图1样品中含量较稳定的甲氧基峰(No. 12)作为对比基准。图1中信号归属参考文献[10]、[12]和[13]。图1中CEL-^{13}C在δ 131处有吸收峰(No. 3),该信号为松柏醇结构(9,图2)的α-C的共振吸收峰,经过标记后,信号得到了一定的加强,说明松柏醇葡萄糖苷和未漂纸浆纤维共聚过程中产生的DHP中有一定比例的松柏醇结构。在δ 105处有一强的单峰(No. 5),该信号为缩醛结构(10,图2)α-C和碳水化合物C-1的共振峰,比较CEL-Cont和CEL-^{13}C,可以看出经过标记后,吸收峰大大增强,信号增强表明在DHP中有一定数量的缩醛结构。从图1可以看出,经过^{13}C同位素标记后δ 63~89间的信号都得到了大幅度的增强,δ 89为苯基香豆满(3,图2)和松酯酚结构(4,图2)的α-C的共振吸收峰(No. 6),信号增强的幅度之大,说明在DHP中存在苯基香豆满和松酯酚结构。在图1中经^{13}C标记的CEL-^{13}C的谱图中在δ 85处为一较强的增强信号(No. 7),这表明相当一部分DHP侧链α位碳原子同碳水化合物可能是通过醚键相连的(11,图2)。另外,在δ 72~75处的信号也得到了大幅度增强(No.8,No.9),说明该区域除了来自碳水化合物的共振信号以外,还有相当部分来自β-O-4结构(6,11,图2)的α-C以及与碳水化合物有酯键(6,图2)连接的α-C,强度增幅之大说明CEL中与碳水化合物酯键连接的结构、β-O-4、β-5和β-β结构含量较高。δ 63~65处为一明显增强信号(No. 11),说明β-1结构(5,图2)的存在。

2.2 PDHPC-IS的^{13}C-NMR分析

为便于分析,以图3中含量较稳定的甲氧基峰(No. 27,δ 55.9)作为对比基准。比较图3中PDHPC-IS-cont.和PDHPC-IS-^{13}C谱图,可以发现经过^{13}C同位素标记后在化学位移为δ 191(No. 2)低场处有一个十分微弱的信号得到大幅度增强,该信号来自含α-CHO的香草醛结构(8,图2)。在PDHPC-IS-^{13}C谱图中No. 6(δ 154.1)处的信号尖锐而且得到加强,其加强部分主要来自松柏醛结构(2,图2)α-C的共振,从该峰的强度可知松柏醛结构单元在水不溶组分中有较高的含量。共振信号No.11主要来自松柏醇结构(9,图2)的α-

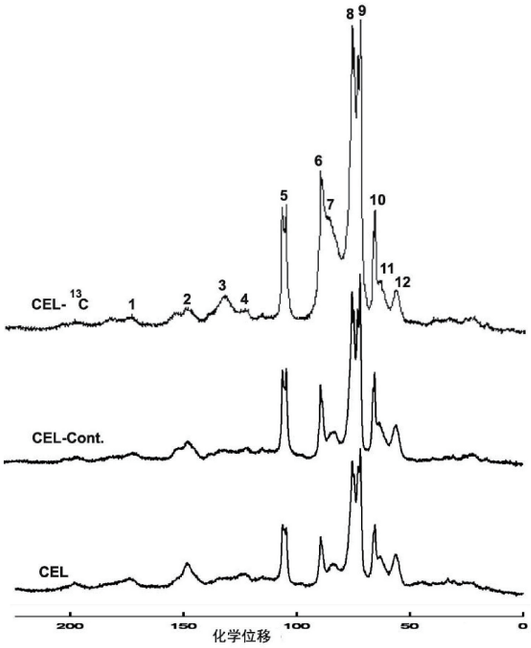
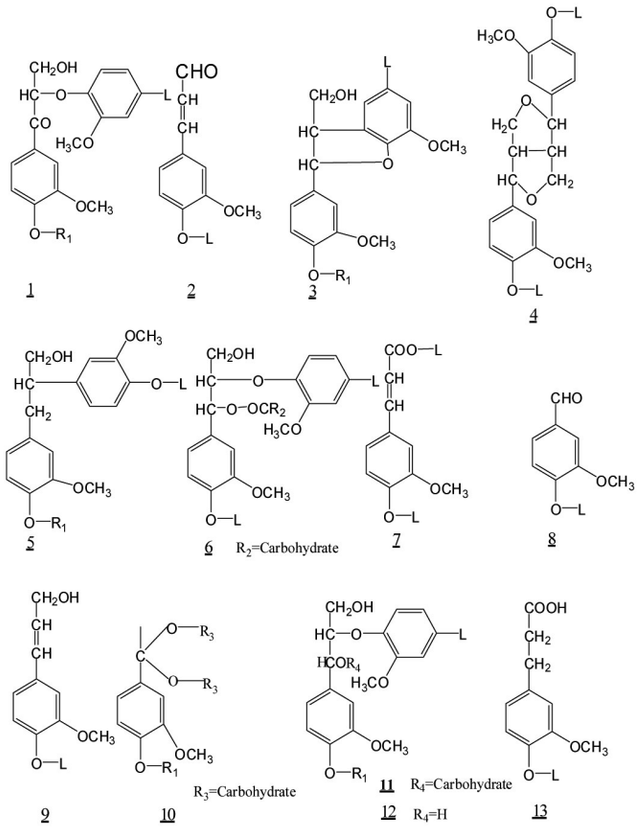


图1 未漂浆酶解木素CP/MAS ^{13}C-NMR波谱图

Fig. 1 CP/MAS ^{13}C-NMR spectra of the unbleached kraft pulp



R_1=H,烷基,芳基;R_2/R_3/R_4=碳水化合物;L=木素结构单元

图2 纤维表面DHP的主要结构单元

Fig. 2 Main structural elements of DHP on the fiber surface

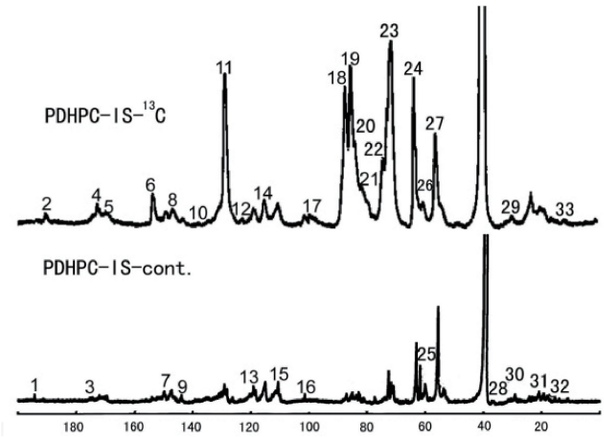


图3 PDHPC-IS的^{13}C-NMR波谱图

Fig. 3 ^{13}C-NMR spectra of PDHPC-IS

C,β-C,其信号的加强来源于同位素标记的松柏醇结构的α-C,从图中信号强弱可知在PDHPC-IS中含有大量的松柏醇结构。No. 17(δ 100.0)处经过^{13}C同位素标记后出现了一个小的吸收峰,这是来自与果胶以缩醛键(10,图2)连接的Cα的吸收峰,从峰的强度可以看出此类结构含量较少。经过^{13}C同位素标记后δ 85.1~87.1间的信号增加幅度最大,来自β-5结构(3,图2)和β-β结构(4,图2)的α-C得到大幅度增加,说明β-5结构和β-β结构在该物质结构中的含量较大。No. 20(δ 84.2)来自与果胶以苯甲醚键连接结构(9,图2)的α-C共振信号峰,其信号增强部分来自与之对应结构中α-C的信号的增强。而No. 21(δ 81~83)则来自α-O-4结构(3,图2)α/β-C和β-O-4结构(12,图2)中β-C信号的重叠,从峰高度的变化的程度可以看出样品中含有较多的α-O-4结构。No. 22(δ 74.3)处为与果胶有酯键连接的C α的吸收峰信号(6,图2),经过^{13}C同位素标记后,峰强度有了大幅度的提高,说明果胶与木素之间存在着大量的酯键结合。通过对No. 23(δ 71.6)处峰高的分析,可以确定木素结构单元之间连接的主要形式是β-O-4结构(12,图2)。在PDHPC-IS-^{13}C中化学位移δ 32.1(No. 29)处看到增强的弱信号来自愈创木基苯丙烷型结构(13,图2)的α-亚甲基,而且该类型结构含量较低。

2.3 松柏醇葡萄糖苷和果胶处理后纸张强度分析

从表1数据可以看出,仅仅加入果胶,对纸张的干强提高不明显,反而使湿强度有一定的降低,这表明虽然果胶能够沉积在纤维上,但是仅仅与纤维是物理缠绕,这种缠绕很容易被水所破坏,所以不能提高纸张的湿强度。经过松柏醇葡萄糖苷处理后,纸张的湿强度提高较显著,但是干强度提高幅度不大。果胶-松柏醇葡萄糖苷处理后的纸浆,干强度和

表 1 松柏醇葡萄糖苷和果胶处理后纸张干、湿强度

Table 1 Dry and wet strengths of paper after the treatment by coniferin and pectin

	干抗张指数/(N·m·g^{-1})	干抗张指数提高率/%	抗张指数(湿)/(N·m·g^{-1})	湿抗张指数提高率/%
空白样*	46.24	—	1.69	—
果胶+	48.6	5.1	1.44	-14.8
松柏醇葡萄糖苷	52.6	13.75	3.18	88.2
果胶+松柏醇葡萄糖苷	63.6	37.5	4.5	166.3

注:*不做任何处理的空白样;+仅仅加果胶,没有加酶。

湿强度都有很大提高,分别提高了37.5%和166.3%,这表明果胶在过氧化物酶体系作用下,能够与松柏醇葡萄糖苷生成果胶-DHP复合体,生成的复合体由于有木素和多糖,在酶的作用下与纤维上的碳水化合物及残余木素继续进行共聚,从而将果胶连接到纤维上。因此,与不加果胶下处理的纸浆表面的DHP相比,沉积在纤维的表面的果胶-DHP分子量大,能起到类似遥爪型化合物的作用,通过纸浆中的残余木素和表面上的碳水化合物,使相距较远的纤维之间也能形成交联。在纸页成形的过程中,部分游离的果胶-DHP在热压下能够与纤维上的木素进一步聚合,使得果胶-DHP与纤维接枝、缠绕和互穿,从而提高纸张的强度,这与纸张增强剂的作用机理相类似。以上结果还表明,可以通过人工模拟植物木质化过程,在分散的纤维之间不仅能沉积木素,而且还能够沉积部分果胶类多糖,实现真正意义上的纤维胞间层的修复,从而提高纸页的物理强度。

3 结论

松柏醇葡萄糖苷在过氧化物酶体系下与未漂阔叶木硫酸盐浆和果胶能够发生共聚,生成了果胶-DHP复合体和DHP-碳水化合物复合体,复合体中DHP结构单元之间主要通过β-O-4、β-β、β-5、β-1的形式连接,含有大量的松柏醇/醛结构。DHP还通过缩醛键、苯甲酯键和苯甲醚键与果胶和纸张纤维中碳水化合物相连,从而实现纸张纤维之间细胞壁的修复。经过果胶-松柏醇葡萄糖苷处理的未漂浆,与空白样相比,干抗张强度和湿抗张强度分别提高了37.5%和166.3%。

以上研究表明,纤维之间完全有可能通过DHP以LC共价键连接起来。因此,要想大幅度提高纸张的干强度和湿强度,必须使DHP在生成过程中与纤维高效地产生LCC结构,LCC结构的生成条件是未来研究的重点。

参考文献(References)

[1] Kurokochi Y, Sato M. Properties of binderless board made from rice straw: The morphological effect of particles[J]. Industrial Crops and Products, 2015, 69: 55-59.

[2] Felby C, Pedersen L S, Nielsen B R. Enhanced auto adhesion of wood fibers using phenol oxidases[J]. Holzforschung, 1997, 45(3): 467-468.

[3] Aracri E, Roncero M B, Vidal T. Studying the effects of laccase-catalysed grafting of ferulic acid on sisal pulp fibers[J]. Bioresource Technology, 2011, 102: 7555-7560.

[4] Lund M, Felby C. Wet strength improvement of unbleached kraft pulp through laccase catalyzed oxidation[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001(28): 760-765.

[5] Nakano J. Chemistry of Lignin[M]. Tokyo: Uni-Koho Ltd., 1991: 514.

[6] Bolker H I, Sommerville N G. A lignincarbohydrate bond as revealed by infra-red spectroscopy[J]. Nature, 1963, 197: 489-490.

[7] Watanabe T, Ohnishi J, Yamasaki Y, et al. Binding-site analysis of the ether linkages between lignin and hemicelluloses in lignin-carbohydrate complexes by DDQ-oxidation[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1989, 53(8): 2233-2255.

[8] Terashima N, Ataslla R H, Ralph S A, et al. New preparations of lignin polymer models under conditions that approximate cell lignification[J]. Holzforschung, 1995, 49: 521-527.

[9] 杨海涛,谢益民. 木素-木聚糖复合体化学结构的研究[J]. 中国造纸学报, 2007, 22(4): 1-4.
Yang Haitao, Xie Yimin. Study on the chemical structure of xylan-lignin complex[J]. Transaction of China Pulp and Paper, 2007, 22(4): 1-4.

[10] 顾瑞军, 谢益民. 木素-碳水化合物复合体的形成机理及化学结构的研究(1)——综纤维素存在下DHP的合成[J]. 造纸科学与技术, 2001, 20(5): 1-6.
Gu Ruijun, Xie Yimin. Studies on lignin and carbohydrate complex of monolignols(I): Synthesized DHP from holocellulose and coniferins [J]. Paper Science & Technology, 2001, 20(5): 1-6.

[11] Xie Y. Studies on structure of lignin by selective carbon 13-enrichment[D]. Nagoya, School of Agriculture, Nagoya University, 1994.

[12] Xie Y, Yasuda S, Wu H, et al. Analysis of the structure of lignin-carbohydrate complexes by the special ^{13}C tracer method[J]. Journal of Wood Science, 2000, 46: 130-136.

[13] Lüdemann H D, Nimz H. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of lignins[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1973, 52: 1162-1169.

Rebuilding of compound middle lamella of plant fibers and enhancement of paper strength

WANG Peng[1,2], LE Xi[1], YE Zhezi[1], WU Chenxi[1], XIE Yimin[1,2]

1. School of Pulp & Paper Engineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China
2. Key Laboratory of Green Materials for Light Industry of Hubei Province, Wuhan 430068, China

Abstract The dehydrogenation polymer (DHP) and the DHP-carbohydrate complexes are prepared through the co-polymerization of the unbleached kraft pulp of low kappa number from hardwood and coniferin or coniferin/pectin in the presence of the lignin peroxidase. The ^{13}C-NMR determination shows that the main substructures of the obtained DHP are β-O-4, α-O-4, β-β, β-5 and β-1 structures. Furthermore, it is also found that the DHP is linked with the pectin and the fibers of the kraft pulp by typical LCC linkages, i.e. the benzyl ether bonds, the ester bonds, and a small amount of ketal bonds. As a result, the paper strength is increased significantly after the rebuilding of the CML structure of the fibers. The dry and wet tensile strengths of the paper web are increased by 37.5% and 166.3% after treatment with the coniferin and the pectin. It is demonstrated that the lignin precursor can be co-polymerized with the pectin and the polysaccharides in the pulp fiber efficiently, to obtain the rebuilt CML, which binds the pulp fibers and therefore enhances the paper strength.

Keywords compound middle lamella; coniferin; DHP-carbohydrate complexes

（编辑　祝叶华）