

CAPÍTULO 10: APLICACIÓN DE XILANASAS COMERCIALES EN PASTA DE EUCALIPTO

RESUMEN

El objetivo de este capítulo es el estudio de la influencia del tratamiento con diversas xilanasas comerciales en las propiedades de la pasta. Se pretende determinar cual es la enzima comercial más efectiva en las condiciones de blanqueo industriales, a pH y temperatura elevados, en la fábrica de Jacareí de Votorantim Celulose e Papel (Brasil). Se analizan las propiedades de las pastas (índice kappa, blancura, viscosidad y contenido en HexA) después de aplicar la etapa enzimática (etapa X) y las secuencias XD y XDE. También se determinan las características de los efluentes de blanqueo (pH, color, DQO y turbidez) después de la etapa X.

Los resultados obtenidos indican que las enzimas que presentan un mejor comportamiento a pH y temperatura elevados son las enzimas enzE y enzL. Se observa que la aplicación de estas enzimas produce una disminución del índice kappa de 1,5 puntos, un aumento de blancura de 2,5 %ISO y una disminución en el contenido de ácidos hexenurónicos (HexA) de más de $10 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ respecto al tratamiento control sin adición de enzima después de la etapa de tratamiento enzimático. El tratamiento con xilanasas no supone una disminución de la viscosidad en ninguno de los casos. Las variaciones de blancura más importantes se observan después de aplicar una etapa oxidativa, en este caso etapa D, a las pastas tratadas enzimáticamente, de manera que los tratamientos enzE y enzL después de la secuencia XD y XDE presentan una blancura entre 4 y 5 %ISO superior respecto al tratamiento control. Los valores de DQO, TOC, color y turbidez del filtrado al final del tratamiento son superiores a las del filtrado control en todos los tratamientos con enzima.

10.1 INTRODUCCIÓN

La aparición de leyes más restrictivas sobre los procesos industriales con el objetivo de minimizar el impacto ambiental, lleva a la introducción de cambios y a la utilización de nueva tecnologías en muchas áreas industriales. El actual interés de la aplicación

de biotecnología en los procesos de fabricación de pasta y papel es consecuencia de las posibilidades que ofrecen los tratamientos biológicos en cuanto a estas restricciones ambientales. La aplicación en la sección de blanqueo parece muy prometedora, concretamente se ha estudiado ampliamente en el caso de las enzimas xilanasas (Viikari et al. 1986), y se ha llegado a su implantación industrial (Jean et al. 1994; Manji 2005a; Manji 2005c; Popovici et al. 2004; Tolan and Foody 1997; Van der Brught et al. 2002; Vicuña et al. 1997; Yee and Tolan 1997).

Las enzimas son catalizadores proteicos producidos a partir de organismos vivos. Aceleran la velocidad de las reacciones químicas y son altamente específicas del tipo de reacción que catalizan. Las xilanasas son enzimas que catalizan la hidrólisis de xilanos que forman parte de las hemicelulosas presentes en las fibras celulósicas. Estas hemicelulosas se encuentran, en cierta forma, en una situación intermedia entre las cadenas ordenadas de celulosa y la fracción amorfa de lignina. El efecto positivo de la xilanasas se atribuye a la eliminación de estos xilanos (de la Rosa 2003; Roncero et al. 2003b), haciendo que desaparezca la unión existente entre celulosa y lignina, por lo que al encontrarse más libre ésta última facilita su eliminación en posteriores etapas de blanqueo.

Varias enzimas parecen estar relacionadas en la degradación de xilanos y actúan de diferente manera en las cadenas de xilanos (Clarke et al. 1997; García 2003; Ninawe and Kuhad 2006; Teixeira Duarte et al. 2003), por lo que las xilanasas tienen diferentes capacidades de reducir el índice kappa y los grupos cromóforos (Elegir et al. 1995), aunque los mecanismos de actuación todavía no se conocen completamente. Una segunda teoría sugiere que las xilanasas, debido a su tamaño molecular no pueden penetrar en las fibras y sólo pueden actuar en los xilanos de la superficie de la pasta. Durante el período de calentamiento de la cocción kraft, cuando la concentración de álcali es elevada, parte de los xilanos se disuelven en las lejías de cocción. Como durante la cocción la concentración de álcali disminuye igual que el pH, cadenas cortas de xilanos precipitan de una forma más o menos cristalina en la superficie de las fibras de celulosa, provocando una disminución de la accesibilidad de la pared de la fibra. Mediante el tratamiento con xilanasas, se hidrolizan parte de estos xilanos precipitados en las fibras, haciendo que la superficie de la fibra sea más permeable y accesible, facilitando así la penetración de reactivos en las siguientes etapas de blanqueo. Otros autores aportan diferentes hipótesis, tales como que durante la cocción kraft la xilosa y las macromoléculas de xilanos se modifican y se forman estructuras coloreadas con dobles enlaces; el tratamiento con xilanasas podría eliminar estos compuestos cromóforos (Elegir et al. 1995; Garg et al. 1996a; Roncero et al. 2000; Wong et al. 1997) así como también afectar a la cristalinidad de las fibras, abriendo su estructura (Beg et al. 2001; Beg et al. 2000a; Jeffries et al. 1999; Roncero et al. 2005).

El tratamiento con xilanasas permite un aumento de la deslignificación y de la blancura (Roncero et al. 2005;Siles et al. 1996;Valls et al. 2005), un ahorro de agentes de blanqueo (Popovici et al. 2004;Robles et al. 2006;Roncero et al. 2000;Siles et al. 1996;Torres et al. 2000) y una reducción del contenido en compuestos halogenados en el efluente (Buchert et al. 1994;Manji 2005b;Siles et al. 1996).

Los factores que afectan a la eficiencia de un tratamiento con xilanasas están asociados a las propiedades de la enzima (tipo, actividad, pH óptimo, temperatura óptima, capacidad de penetración), a las características de la pasta (contenido en lignina, secuencia de blanqueo, accesibilidad al sustrato, composición del sustrato) y otros como la consistencia de la pasta, concentración y sales, la adecuada dispersión de la enzima y tiempo de reacción (Beg et al. 2001;Clarke et al. 1997). En un principio, las aplicaciones de enzimas se realizaron a pH ácidos. Durante la cocción kraft y la deslignificación con oxígeno, los pH son alcalinos y las temperaturas elevadas, lo que lleva a los productores de enzimas a desarrollar formulaciones en las que fueran estables a estos pH y temperaturas para poder ser aplicadas en condiciones más próximas a las industriales (Beg et al. 2001;Van der Brught et al. 2002).

En un estudio preliminar se pretende determinar qué enzima comercial es la más efectiva a la temperatura de la torre de almacenamiento dispuesta en la línea de fibras B (Fig. 10-1) y a las condiciones de pH próximo al de la torre; ya que este punto se ha identificado como el punto de aplicación de enzima más favorable en la secuencia de blanqueo de la unidad de Jacareí. Para ello se realizan biBlanqueos mediante la aplicación de xilanasas. Se evalúan las propiedades de las pastas (índice kappa, blancura, viscosidad y HexA) después de aplicar la etapa enzimática, etapa X, y las secuencias XD y XDE, donde D es un blanqueo con dióxido de cloro y E una etapa de extracción alcalina. También se determinan las propiedades de los efluentes de blanqueo (pH, color, DQO y turbidez) después de la etapa X.

10.2 MATERIALES Y MÉTODOS

En este apartado se indican las materias primas, las condiciones de aplicación de las distintas etapas y los análisis realizados en este capítulo. En el capítulo 2 “Materiales y métodos” se describe específicamente la metodología con un mayor detalle.

10.2.1 MATERIA PRIMA

La pasta utilizada en este ensayo es una mezcla de pasta de *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus grandis* suministrada por Votorantim Celulose e Papel (Brasil). La muestra se toma en un punto de la línea de blanqueo B (Fig. 10-1); cuando la pasta ya

ha sido predesignificada con oxígeno y se toma después de haber permanecido en la torre de almacenamiento, antes de pasar al lavado ácido. Se realiza el estudio con la pasta A producida el día 22/08/06, antes de la parada general de la fábrica de 2006.

Por otra parte, el estudio de aplicación de diversas xilanasas se realiza tras haber llevado a cabo el lavado de la pasta A con agua destilada, de modo que en este estudio se considera como pasta inicial A la pasta tras la realización del lavado. Las propiedades de la pasta inicial A y de su filtrado son las que se indican en la Tabla 10-1.

Tabla 10-1. Características de la pasta inicial.

Pasta inicial	
Índice kappa	11,5
Blancura (%ISO)	55,3
Viscosidad (mL·g⁻¹)	1080
HexA (µmol·g⁻¹)	61± 2
Filtrado pasta	
DQO (kgO₂·t⁻¹)	30,8
pH	11,3

10.2.2 ENZIMAS COMERCIALES

Las nueve xilanasas comerciales que se aplican en el estudio bioquímico son suministradas por cinco empresas productoras y se codifican como enzA, enzB, enzC, enzD, enzE, enzL, enzB11, enzB14 y enzG. Debido a términos de confidencialidad entre las empresas implicadas en el estudio no se proporciona una mayor información sobre las características de estas xilanasas comerciales.

10.2.3 ETAPA ENZIMÁTICA CON XILANASA (ETAPA X)

Los tratamientos con xilanasas se efectúan en 70 g de pasta a una consistencia del 10 %odp. La consistencia se ajusta con agua destilada. La dosis de xilanasas es de 0,3 kg·adt⁻¹, que corresponde a un 0,03 %odp. Las experiencias se llevan a cabo en bolsas de polietileno sumergidas en un baño a una temperatura constante de 80 °C durante un tiempo de tratamiento de 2 h a pH de 9,5. Al final del tratamiento se enfrían las bolsas, se filtra la pasta y se recogen las lejías para su posterior caracterización. La pasta se lava con agua destilada y se centrifuga. El tratamiento control consiste en la realización del tratamiento enzimático en las mismas condiciones descritas anteriormente pero sin la adición de enzima xilanasas.

10.2.4 ETAPA DE DIÓXIDO DE CLORO (ETAPA D)

Los tratamientos con dióxido de cloro se efectúan en 20 g de pasta a una consistencia del 10 %odp. El pH de tratamiento es de 3,8. La dosis de dióxido de cloro es de 19,8 kgCl₂ activo·odt⁻¹. Las experiencias se llevan a cabo en bolsas de polietileno sumergidas en un baño a una temperatura constante de 60 °C durante un tiempo de tratamiento de 90 min. Al final del tratamiento se filtra la pasta y se recogen las lejías para la determinación del dióxido de cloro residual y el pH. La pasta se lava con agua destilada y se centrifuga.

10.2.5 ETAPA DE EXTRACCIÓN ALCALINA (ETAPA E)

La extracción alcalina se efectúa en 10 g de pasta a una consistencia del 10 %odp, en bolsas de polietileno sumergidas en un baño a una temperatura constante de 75 °C durante un tiempo de tratamiento de 1 h. El pH de tratamiento es superior a 11,5. La dosis de NaOH es de 1,2 %odp. Al final del tratamiento se filtra la pasta y se recogen las lejías y se congelan para la posterior caracterización. La pasta se lava con agua destilada y se centrifuga.

10.2.6 PROPIEDADES PASTAS

Después de realizar la etapa X y la secuencia XDE se caracterizan las muestras, midiéndose las propiedades de blancura, índice kappa y viscosidad según la normativa correspondiente. El contenido en ácidos hexenurónicos (HexA) se mide mediante el método de Chai (Chai et al. 2001).

10.2.7 PROPIEDADES EFLUENTES

Después de realizar la etapa X se caracterizan los efluentes, midiéndose las propiedades de color, DQO, pH, turbidez y TOC según la normativa correspondiente. Después de la etapa D se mide la cantidad de dióxido residual y el pH.

10.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.3.1 PUNTO DE APLICACIÓN

Se ha estudiado el posible punto de aplicación de la etapa X, tratamiento con xilanasas, en la línea de blanqueo industrial OAZDP. El tratamiento con xilanasas se suele aplicar antes o después de la deslignificación con oxígeno (Buchert et al. 1994), normalmente en la torre de almacenamiento de pasta cruda (Tolan and Thibault 2000; Van der Brught et al. 2002). En la línea de blanqueo B de la unidad de Jacaréi

de Votorantim Celulose e Papel, la pasta después de la etapa O (predesignificación con oxígeno) recibe una etapa de lavado ácido, etapa A, para posteriormente pasar por la etapa Z (blanqueo con ozono). Entre la torre de predesignificación con oxígeno y la torre de lavado ácido, se encuentra una torre de almacenamiento de pasta preblanqueada, Fig. 10-1. Este punto se identificó como punto de posible aplicación del tratamiento con xilanasas. En la torre la consistencia de la pasta es del 10 %odp, la temperatura de 80 °C y el pH superior a 9,5.

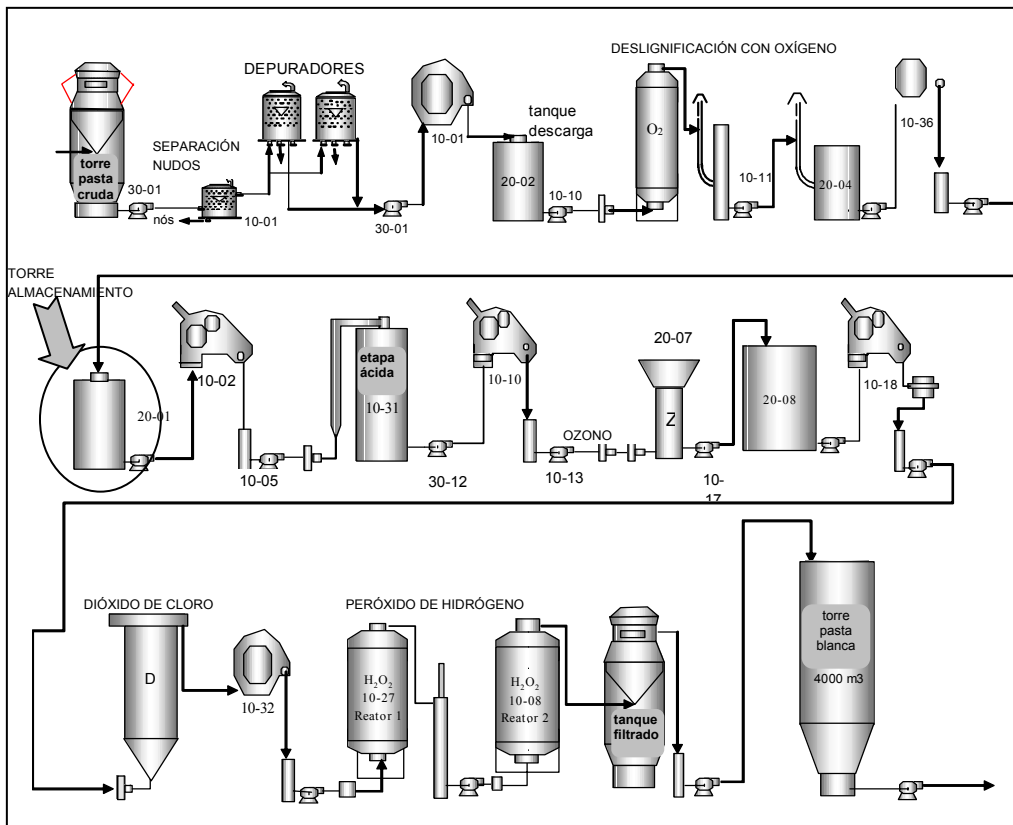


Fig. 10-1. Esquema de la línea de blanqueo B de la unidad de Jacareí.

10.3.2 ESTUDIO DIVERSAS XILANASAS COMERCIALES

10.3.2.1 Etapa X

Propiedades de las pastas

En la Tabla 10-2 se muestran los resultados de las propiedades de las pastas medidas después de la etapa X. Como puede observarse la experiencia control (tratamiento a 80 °C durante dos horas) ya supone una disminución de 1,5 puntos de índice kappa

de la pasta inicial y presenta un contenido en ácidos hexenurónicos (HexA) de $62 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$. Los resultados obtenidos con los tratamientos enzimáticos realizados con las enzimas enzA, enzB, enzC, enzB11, enzB14 y enzG no difieren del control. En la Fig. 10-2 se muestran los valores de índice kappa, HexA y blancura del resto de enzimas comparadas con el control y la pasta inicial. El tratamiento con las enzimas enzD, enzE y enzL supone una disminución entre 1 y 1,7 unidades de índice kappa tras la etapa X, por lo que se llega a un índice kappa de 8,5, Fig. 10-2 (a). Disminuciones de este mismo orden ya fueron observadas por otros autores (Ninawe and Kuhad 2006; Roncero et al. 2003b; Roncero et al. 2005; Torres et al. 2000), aunque a condiciones de pH y temperatura menores.

Tabla 10-2. Propiedades de las pastas tras la etapa X en el estudio de diversas xilanasas.

	Índice kappa	Blancura (%ISO)	Viscosidad ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)	HexA ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)
inicial	11,5	55,3	1080	61 ± 2
control	10,1	56,1	1060	62 ± 0
enzA	9,8	56,0	1089	56 ± 1
enzB	9,9	56,5	1025	60 ± 0
enzC	9,7	56,6	1056	58 ± 0
enzD	9,0	56,9	1029	58 ± 1
enzE	8,5	59,0	1109	52 ± 0
enzL	8,4	58,7	1050	50 ± 0
enzB11	10,0	55,7	-	60 ± 0
enzB14	10,3	56,2	-	60 ± 0
enzG	10,1	56,4	-	58 ± 0

Algunos grupos ácido 4-O-metilglucurónicos presentes en los xilanos se convierten al correspondiente ácido hexenurónico insaturado (HexA) por eliminación de metanol durante la cocción alcalina de la madera. Los HexA aumentan el número kappa, consumen reactivos de blanqueo, retienen iones metálicos, favorecen el amarillamiento de la pasta y contribuyen a la formación de ácido oxálico (Roncero et al. 2003a). Aunque todas las enzimas producen una ligera disminución del contenido en HexA, las disminuciones más pronunciadas se produjeron con enzE y enzL, que presentaron un contenido en torno a $50 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, lo que supone una reducción del 17 % (Tabla 10-2). El tratamiento enzimático disminuye el contenido en HexA (Valls et al. 2005; Viikari 2000), lo que permitiría una disminución de reactivos de blanqueo en etapas posteriores. Algunos estudios relacionan la disminución de HexA y el índice kappa, de manera que una disminución de $10 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ corresponde a una disminución de índice kappa entre 0,86 y 1,05 (Gellersted and Li 1996; Valls et al. 2006). La disminución de índice kappa en la etapa X, por tanto, está relacionada con la disminución de ácidos hexenurónicos debida a la hidrólisis de las hemicelulosas que contienen estos HexA, Fig. 10-3 (a). Aunque otros autores sugieren que otros

materiales como productos de degradación de carbohidratos (Jeffries et al. 1999;Vuorinen et al. 1996;Wong et al. 1997) o hasta compuestos de lignina se eliminan durante el tratamiento enzimático (Roncero et al. 2003a;Roncero et al. 2003b;Wong et al. 1997;Wong et al. 2001b); lo que explica que el índice kappa disminuya en los tratamientos enzE y enzL en más de una unidad.

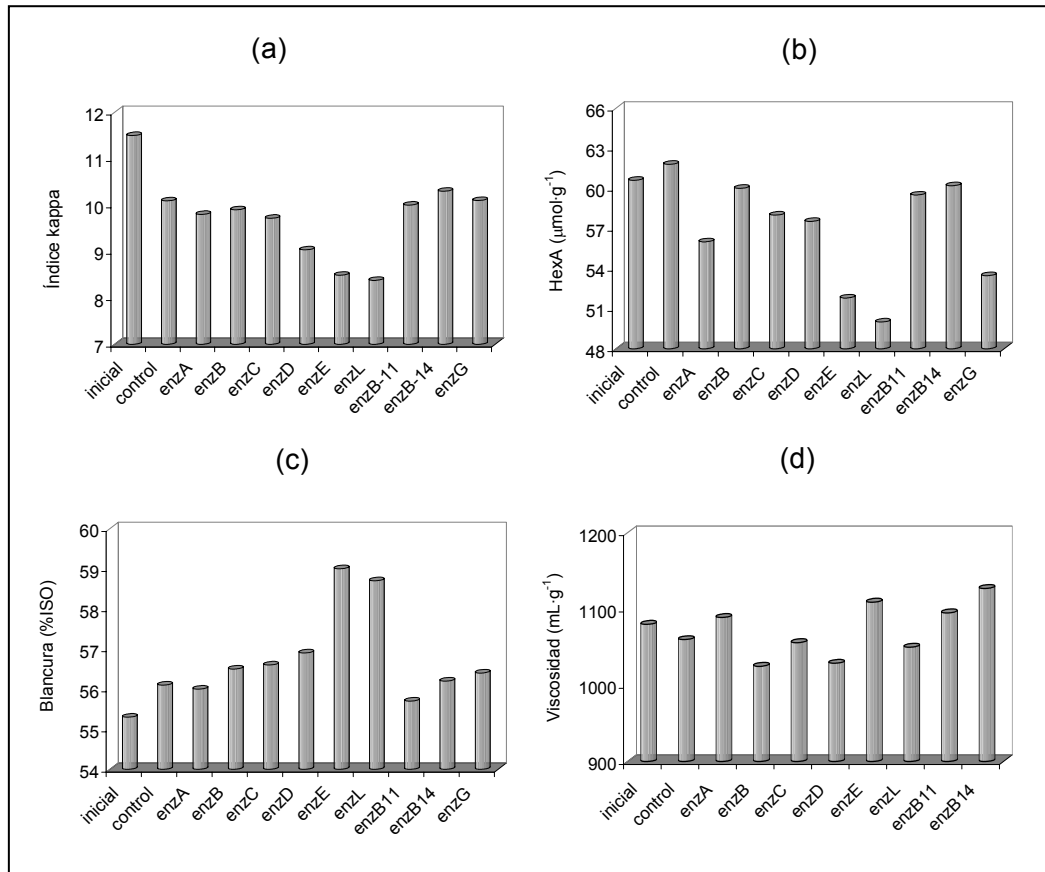


Fig. 10-2. Propiedades de índice kappa (a), contenido en HexA (b), blancura (c) y viscosidad (d) de las pastas tras la etapa X.

La experiencia control con una blancura de 56,1 %ISO, supone un aumento de blancura de 1 %ISO respecto a la pasta inicial. La aplicación de las enzimas enzA, enzB, enzC, enzD, enzB11, enzB14 y enzG en la etapa X no produce variaciones significativas de la blancura de la pasta respecto al control. En cambio, las enzimas enzE y enzL producen un aumento de blancura de 2,5 unidades %ISO respecto al control, llegando a blancuras de 59 %ISO, Tabla 10-2 y Fig. 10-2 (c). El aumento de blancura se relaciona linealmente con una disminución del índice kappa (Fig. 10-3 b). En cuanto a la viscosidad en todos los tratamientos se encuentra alrededor de 1050 mL·g⁻¹, por lo que el tratamiento con xilanaso no supone una variación significativa de

la viscosidad de la pasta en ninguno de los tratamientos realizados, Fig. 10-2 (d). Estos resultados son similares a los obtenidos en trabajos anteriores (Ninawe and Kuhad 2006; Roncero et al. 2000; Roncero et al. 2005; Torres et al. 2000).

La xilanasas no es una enzima oxidativa, de modo que no reacciona con la lignina de la pasta. El xilano forma parte de las hemicelulosas y se encuentra entre la lignina y la matriz de celulosa. Las hemicelulosas pueden tener asociada lignina (Jiang et al. 2006), así que si la xilanasas degrada xilanos, se puede producir una disociación del complejo lignina-celulosa y por tanto una disminución del contenido en lignina (Garg et al. 1996b; Kulkarni and Rao 1996; Wong et al. 2001a; Zhao et al. 2006). Durante la cocción kraft la xilosa y las macromoléculas de xilanos se modifican y se forman estructuras coloreadas con enlaces dobles. El tratamiento con xilanasas también puede eliminar estos compuestos cromóforos (Elegir et al. 1995; Garg et al. 1996c; Jeffries et al. 1999; Wong et al. 1997). Estudios anteriores relacionan la eliminación de cromóforos, de compuestos hidrofóbicos y azúcares reducidos, presentes en los efluentes de la etapa X, y la disminución de índice kappa (Beg et al. 2000b; Elegir et al. 1995; Khandeparkar and Bhosle 2007; Ninawe and Kuhad 2006).

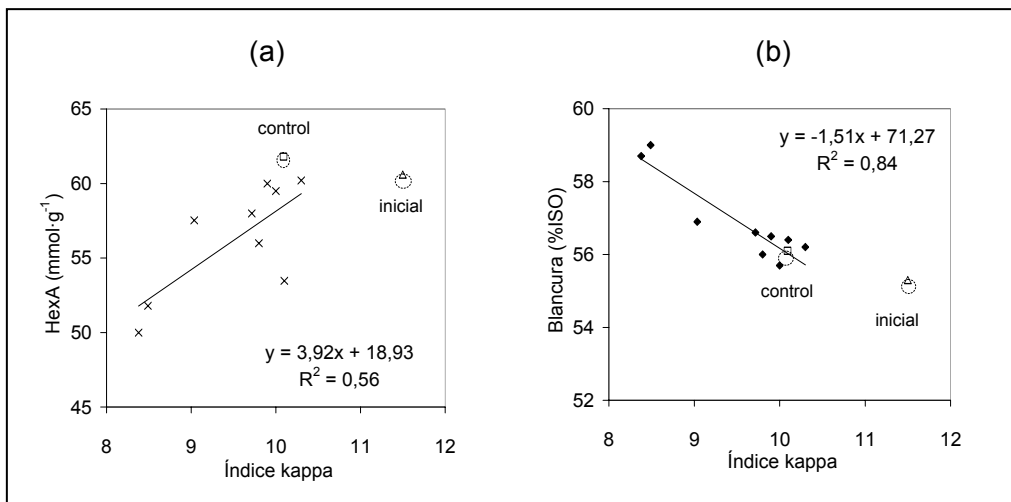


Fig. 10-3. Relación entre las propiedades de las pastas. Contenido en HexA e índice kappa (a) y blancura e índice kappa (b).

Propiedades de los efluentes

En la Tabla 10-3 se presentan los resultados de las propiedades de los efluentes tras la etapa X en el estudio de diversas xilanasas. La DQO, TOC, color y turbidez del filtrado al final del tratamiento es superior a la DQO del filtrado control en todos los tratamientos con enzima, Fig. 10-4. Las enzimas enzA, enzB, enzC, enzD, enzB11 y enzB14 producen un ligero aumento 5,1 a 8,4 $\text{kgO}_2\cdot\text{t}^{-1}$ de la DQO, 1,4 a 3,8 $\text{kgC}\cdot\text{t}^{-1}$ de

TOC, 0,5 y 2,3 kgPtCo·t⁻¹ de color de los efluentes. La enzima enzG produce un aumento de DQO y TOC superior, de 17,5 kgO₂·t⁻¹ y 5,9 kgC·t⁻¹. Por otro lado, el aumento más importante se produce después de la aplicación de las enzimas enzE y enzL que aumentan la DQO y el TOC del filtrado en más de 29 kgO₂·t⁻¹ y 13 kgC·t⁻¹, llegando a valores superiores a 8 kgPtCo·t⁻¹ de color y 1,7 kg_{formazida}·t⁻¹ de turbidez. Este aumento en las propiedades de los efluentes por parte del tratamiento enzimático ya se observó anteriormente en otros estudios de bioblanqueo (Popovici et al. 2004;Siles et al. 1996;Valls et al. 2005).

Tabla 10-3. Propiedades de los efluentes tras la etapa X en el estudio de diversas xilanasas.

	DQO (kgO₂·t⁻¹)	TOC (kgC·t⁻¹)	Color (kgPtCo·t⁻¹)	Turbidez (kg_{formazida}·t⁻¹)	pH
control	10,4	2,7	2,8	0,6	9,4
enzA	11,8	4,1	3,2	0,7	9,2
enzB	15,9	6,2	4,5	1,0	9,0
enzC	15,0	5,5	4,3	0,9	9,0
enzD	18,8	7,2	5,0	1,0	8,9
enzE	39,5	15,9	8,6	1,7	8,3
enzL	42,1	16,0	8,3	1,8	8,5
enzB11	15,5	6,6	4,6	0,9	8,9
enzB14	17,1	6,5	4,8	1,0	9,1
enzG	27,9	8,6	5,1	1,1	8,4

El pH al final de los tratamientos es siempre menor al pH final de la experiencia control. Las enzimas enzE, enzL y enzG producen una disminución del pH del filtrado inicial (9,5) de 1 unidad de pH, siendo este alrededor de 8,5 al final del tratamiento. La aplicación de las enzimas restantes no produce variaciones importantes del pH. Esta disminución del pH se puede deber a una disminución del contenido en ácidos de la pasta que quedan disueltos en las lejías debido a la hidrólisis de hemicelulosas (Zhao et al. 2002).

Si se relacionan las propiedades de las pastas y de los efluentes de blanqueo después de la etapa X, se puede observar como los tratamientos enzE y enzL que presentan menor índice kappa y una mayor blancura también son los que presentan una mayor DQO, TOC, color y turbidez de los efluentes (Tabla 10-2 y Tabla 10-3).

Los aumentos de DQO, TOC, color y turbidez se relacionan y se pueden ajustar rectas con coeficientes de determinación entre 0,93 y 0,98, Fig. 10-5. Algunos autores (Siles et al. 1996) afirman que la hidrólisis de xilanos, es decir, la presencia de azúcares solubilizados, justifica el aumento de DQO en los efluentes de la etapa X, este hecho se relaciona con una pérdida de rendimiento en la pasta en las primeras etapas de blanqueo (Paice et al. 2004;Roncero et al. 2003b). Otros estudios afirman que se

produce un aumento en el contenido de compuestos hidrofóbicos y fenólicos en los efluentes (de la Rosa 2003;Khandeparkar and Bhosle 2007;Ninawe and Kuhad 2006).

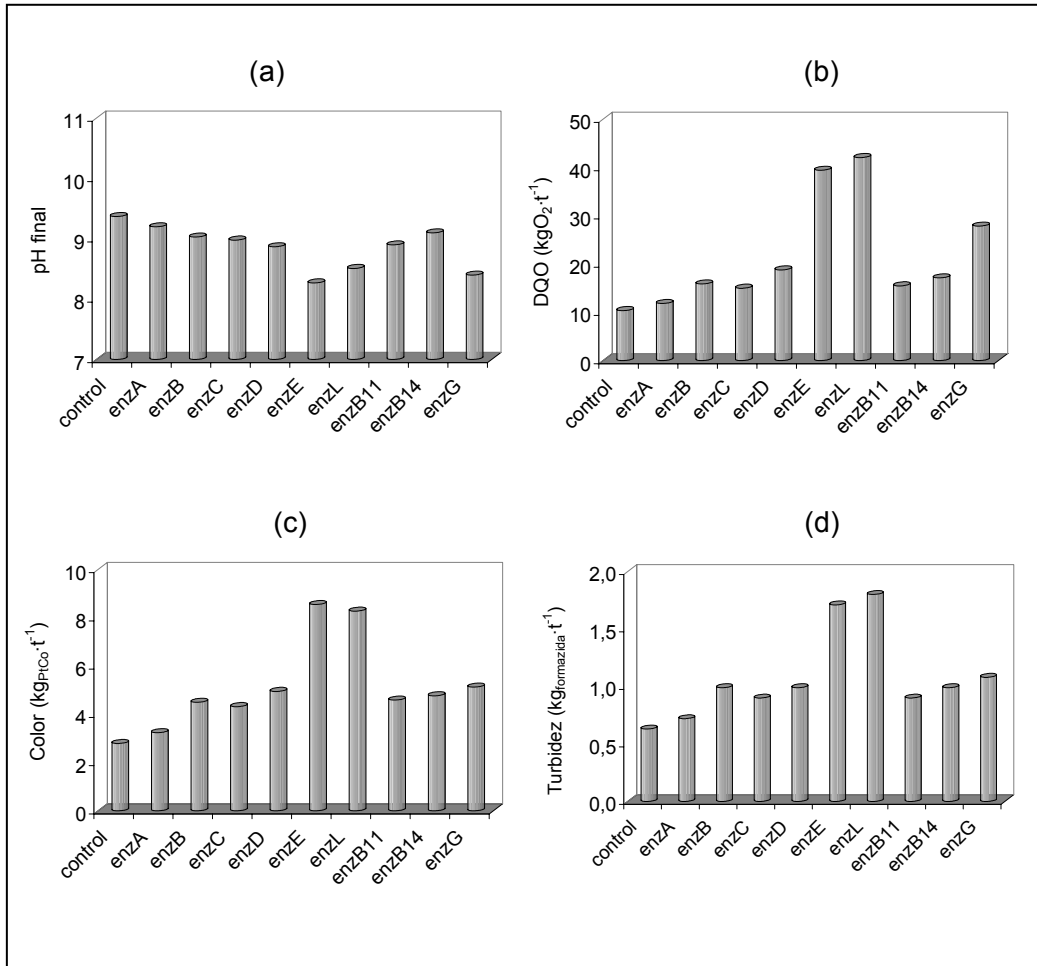


Fig. 10-4. pH (a), DQO (b), color (c) y turbidez (d) de los efluentes tras la etapa X.

Aunque se produce un aumento de DQO, TOC, color y turbidez en los efluentes de la etapa X, estudios anteriores afirman que el impacto de la DQO global de todos los efluentes en una secuencia de blanqueo con xilanasa es menor (Li et al. 2000) y la biodegradabilidad es superior (Kim and Paik 2000;Robles et al. 2006), en parte por la disminución en etapas posteriores de las dosis de agentes de blanqueo. Además, el efluente de la etapa X no contiene compuestos clorados, por lo que se podría recircular junto a los efluentes de la designificación con oxígeno y enviar a la sección de recuperación (Siles et al. 1996) o por otro lado, por su biodegradabilidad, se podría tratar fácilmente en la planta de tratamiento de efluentes.

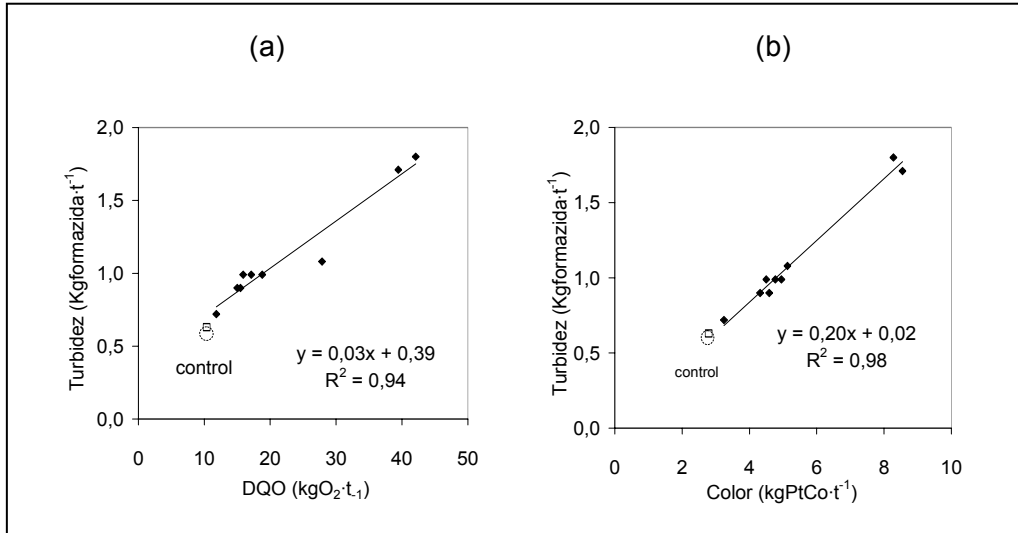


Fig. 10-5. Relación entre las propiedades de los efluentes: turbidez vs. DQO (a) y turbidez vs. color (b).

10.3.2.2 Secuencias XD y XDE

Las enzimas que presentan una mayor influencia en las propiedades de las pastas tras la aplicación de la etapa X son las xilanasas enzE, enzD y enzL. A partir de las pastas obtenidas tras la etapa X se realizan las etapas de blanqueo D y E y se caracterizan las pastas obtenidas en las secuencias XD y XDE. Las propiedades de las pastas obtenidas se muestran en la Tabla 10-4 y en la Fig. 10-6.

Tabla 10-4. Propiedades de las pastas tras las secuencias XD y XDE.

Tratamiento	Índice kappa	HexA ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	Blancura (%ISO)	Viscosidad ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)
control D	6,5	-	65,8	-
enzD XD	5,7	-	67,1	-
enzE XD	5,0	-	70,1	-
enzL XD	4,7	-	70,9	-
enzG XD	6,8	-	68,6	-
control DE	6,8	32 ± 1	68,7	987
enzD XDE	6,4	28 ± 0	71,0	911
enzE XDE	5,2	26 ± 2	73,0	977
enzL XDE	5,3	28 ± 0	73,0	973
enzG XDE	5,7	-	69,7	-

La aplicación de la etapa D después de la etapa X supone una disminución de 3,5 unidades de índice kappa en la experiencia control, de manera que la pasta “control D” presenta un índice kappa de 6,5. La aplicación de una etapa E de extracción alcalina después de la etapa D no supone una variación significativa del índice kappa respecto al índice kappa de la pasta después de la etapa D.

En la Fig. 10-6 y Tabla 10-4 se observa que el tratamiento enzimático realizado con la enzima enzD y enzG prácticamente no afecta al índice kappa de la pasta, en cambio, los tratamientos con las enzimas enzE y enzL suponen una disminución del índice kappa respecto a la experiencia control de más de 1,5 unidades. Estas diferencias son del mismo orden que las diferencias de índice kappa observadas entre el control y las experiencias con estas enzimas tras la etapa X (Tabla 10-5). Por tanto, la etapa D no hace disminuir más las diferencias de índice kappa entre control y tratamientos con enzimas enzE y enzL.

Tabla 10-5. Diferencias de propiedades entre el control y los tratamientos enzD, enzE, enzL y enzG después de la etapa X y la secuencia XDE.

Tratamiento	Disminución índice kappa	Disminución HexA ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	Aumento blancura (%ISO)
enzD X	1,1	4	0,8
enzE X	1,6	10	2,9
enzL X	1,7	12	2,6
enzG X	0,0	8	0,3
enzD XD	0,8	-	1,3
enzE XD	1,5	-	4,3
enzL XD	1,8	-	5,1
enzG XD	-0,3	-	2,8
enzD XDE	0,4	4	2,3
enzE XDE	1,4	6	4,3
enzL XDE	1,6	4,0	4,3
enzG XDE	1,6	-	1,1

La realización de las etapas D y E supone una disminución del contenido en HexA de las pastas de unos $30 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (Tabla 10-4). Los ácidos hexenurónicos se pueden eliminar de la pasta por hidrólisis ácida o mediante el uso de oxidantes electrofílicos como el dióxido de cloro (Roncero et al. 2003a), por lo que esta disminución se atribuiría al efecto de la etapa D, más que al de la etapa E. El contenido en HexA de la pasta control es ligeramente superior, $5 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ al contenido en HexA de los tratamientos con enzima (Tabla 10-5) pero estas diferencias entre tratamientos son menores a las observadas después de la etapa X, por lo que la etapa D y etapa E en los tratamientos control y enzD han eliminado más HexA, $30 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, que en enzE y enzL, 26 y $22 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$. Debido a las diferencias en el contenido en HexA de las pastas

después de la etapa X, en los tratamientos control y enzD se consume más dióxido de cloro en la eliminación de HexA que en enzE y enzL, lo que afecta a las propiedades de las pastas después de las secuencias XD y XDE.

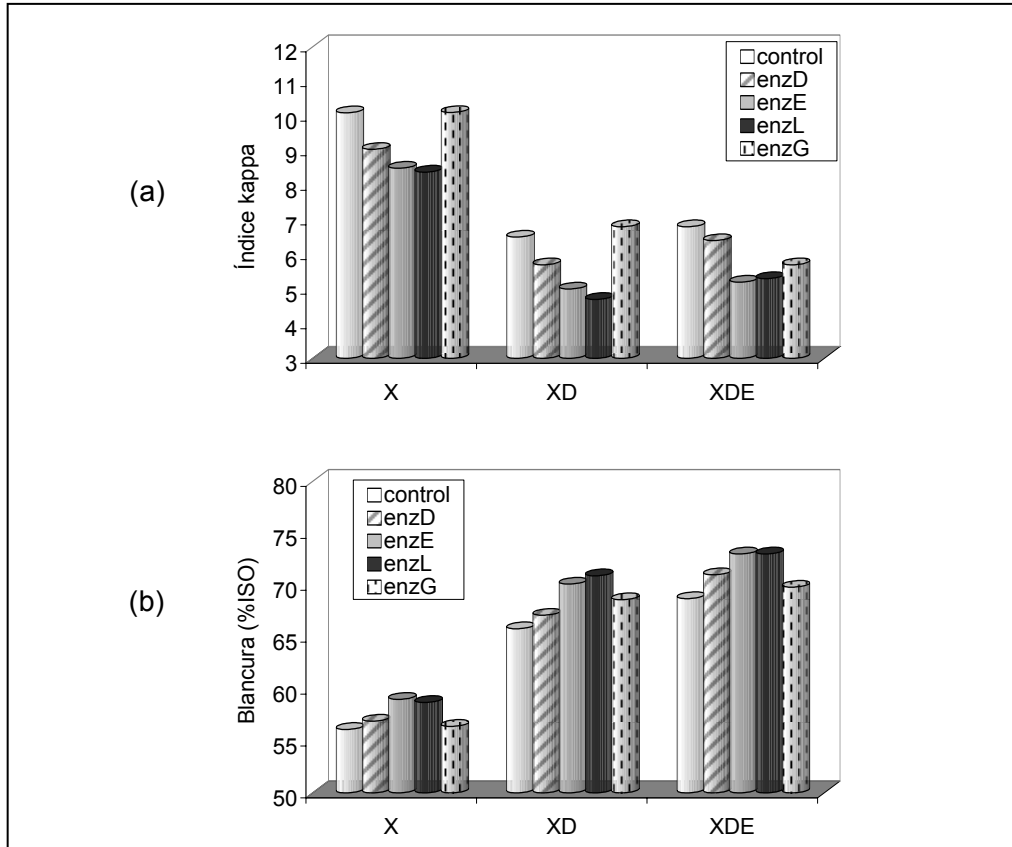


Fig. 10-6. Propiedades de índice kappa (a) y blancura (b) de las pastas tras la etapa X y las secuencias XD y XDE.

La aplicación de la etapa D supone un aumento de blancura de casi 10 %ISO en la experiencia control, de manera que la pasta "control D" presenta una blancura de 65,8 %ISO (Tabla 10-4 y Fig. 10-6). El tratamiento enzimático realizado con las enzimas enzD y enzG aumenta la blancura de la pasta tras la secuencia XD en 1,3 y 2,8 %ISO respectivamente. Se observa que los tratamientos con las enzimas enzE y enzL son los que presentan diferencias más importantes, la blancura aumenta 4,3 y 5,1 %ISO respectivamente, de manera que se llega a blancuras de 70,1 y 70,9 %ISO. Estas diferencias son superiores a las diferencias de blancura observadas entre el control y las experiencias con estas enzimas tras la etapa X (Tabla 10-5). De manera que la etapa X produce cambios en la pasta que se manifiestan con un mayor incremento de la blancura después de aplicar la etapa oxidativa D posterior.

La aplicación de una etapa E de extracción alcalina en la secuencia DE y XDE supone un aumento de blancura entre 1,2 y 3 %ISO de blancura según el tratamiento respecto a la blancura de la pasta después de la etapa D. En el tratamiento control se produce un aumento de 2,9 %ISO, de manera que la blancura es de 68,7 %ISO. El tratamiento enzimático realizado con las enzimas enzD y enzG aumenta la blancura de la pasta tras la secuencia XDE en 2 y 1 %ISO respectivamente. Los tratamientos con las enzimas enzE y enzL son los que presentan diferencias más importantes, la blancura aumenta 4,3 %ISO respectivamente, de manera que se llega a blancuras de 73,0 y 70,9 %ISO. Estas diferencias son del mismo orden que las diferencias de blancura observadas entre el control y las experiencias con estas enzimas tras la secuencia XD (Tabla 10-5). Por tanto, la etapa E no hace aumentar más las diferencias de blancura entre control y enzE y enzL.

El tratamiento con xilanasas abre los poros de la pared celular de las fibras, lo que afecta a la cristalinidad de la fibra (Beg et al. 2001; Roncero et al. 2005), lo que aumenta la accesibilidad de los agentes de blanqueo y disminuye la resistencia difusional de los fragmentos de lignina degradada (Roncero et al. 2000). Debido a esto y a las diferencias en las propiedades de las pastas después de la etapa X (índice kappa y contenido en HexA) la realización de la etapa oxidativa D aumenta las diferencias de blancura entre el tratamiento control y los tratamientos con enzimas.

En la Tabla 10-4 se observa que la viscosidad de las pastas tras la secuencia XDE está en torno a $950 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, por lo que la realización de las etapas D y E supone una disminución de unos $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de viscosidad. El tratamiento con xilanasas respecto al control no supone una variación significativa de la viscosidad de la pasta tras la secuencia XDE en ninguno de los tratamientos realizados.

El pH inicial en la etapa D se encuentra entre 4,2 y 3,6 según el tratamiento. El pH final siempre es menor al pH inicial y se sitúa entre 3,4 y 3,0. La aplicación de las enzimas restantes no produce variaciones importantes del pH.

10.4 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que las enzimas que presentan una mayor influencia, a pH y temperatura elevados, en las propiedades de las pastas y de los efluentes después de la aplicación del tratamiento enzimático, tanto después de la etapa X como después de las secuencias XD y XDE son las enzimas enzE y enzL. Se observa que la aplicación de estas enzimas produce, después de la etapa de tratamiento enzimático, una disminución de índice kappa de 1,5 puntos y una reducción del contenido en ácidos hexenurónicos de más de $10 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ comparativamente al tratamiento control sin adición de enzima. La disminución de índice kappa está

relacionada con la disminución del contenido en HexA, debido a la hidrólisis de xilanos.

Aunque ya se observa un aumento de blancura de 2,5 %ISO después de la etapa X, las variaciones de blancura más importantes se observan después de aplicar una etapa oxidativa, etapa D, en las pastas tratadas enzimáticamente, de manera que los tratamientos enzE y enzL después de la secuencia XD y XDE presentan una blancura entre 4 y 5 %ISO superior cuando se comparan con el tratamiento control. El tratamiento con xilanasas mejora las propiedades de las pastas pero no implica una disminución de la viscosidad de las pastas.

Las propiedades de DQO, TOC, color y turbidez del filtrado al final del tratamiento son superiores a las propiedades del filtrado control en todos los tratamientos con enzimas. Los aumentos más importantes se producen después de la aplicación de las enzimas enzE y enzL.

El tratamiento enzimático con las enzimas enzE y enzL, a las condiciones de temperatura y pH elevados de la torre de almacenamiento de la línea B de la unidad de Jacareí, permite disminuir el índice kappa y el contenido en HexA de las pastas y aumentar la blancura sin producir una disminución de viscosidad. No es necesario modificar el proceso existente, lo que es favorable desde el punto de vista industrial, ya que no se requiere una inversión en nuevos equipos. Debido al potencial ahorro de reactivos de blanqueo, el uso de xilanasas puede incrementar la productividad de aquellas plantas en las que la capacidad de producción de dióxido de cloro es un factor limitante, como es el caso de la unidad de Jacareí; y además también permite una mayor flexibilidad de la secuencia de blanqueo.

10.5 BIBLIOGRAFÍA

Beg,Q.K., Kapoor,M., Mahajan,L. and Hoondal,G.S. (2001) Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology Biotechnology* 56, 326-338.

Beg,Q.K., Bhushan,B., Kapoor,M. and Hoondal,G.S. (2000a) Enhanced production of a thermostable xylanase from *Streptomyces* sp. QG-11-3 and its application in biobleaching of eucalyptus kraft pulp. *Enzyme and Microbial Technology* 27, 459-466.

Beg,Q.K., Bhushan,B., Kapoor,M. and Hoondal,G.S. (2000b) Enhanced production of a thermostable xylanase from *Streptomyces* sp. QG-11-3 and its application in biobleaching of eucalyptus kraft pulp. *Enzyme and Microbial Technology* 27, 459-466.

Buchert,J., Tenkanen,M., Kantelinen,A. and Viikari,L. (1994) Application of xylanases in the pulp and paper industry. *Bioresource Technology* 50, 65-72.

Chai,X.-S., Zhu,J.E. and Li,J. (2001) A simple and rapid method to determine hexenuronic acid groups in chemical pulps. *Journal of Pulp and Paper Science* 27, 165-170.

Clarke,J.H., Rixon,J.E., Ciruela,A. and Gilbert,H.J. (1997) Family-10 and Family-11 xylanases differ in their capacity to enhance the bleachability of hardwood and softwood paper pulps. *Applied Microbiology Biotechnology* 48, 177-183.

de la Rosa,A. (2003) Utilización papelera de fibras no madereras (kenaf y Miscanthus sinensis). Estudio de secuencias de blanqueo ECF y TCF. Terrassa, España: Tesis doctoral. Departament d' Enginyeria Tèxtil i Paperera. Universitat Politècnica de Catalunya.

Elegir,G., Sykes,M. and Jeffries,W. (1995) Differential and synergistic action of Streptomyces endoxylanases in prebleaching of kraft pulps. *Enzyme and Microbial Technology* 17, 954-959.

García,O. (2003) Utilización de fibras de lino en la fabricación de papel. Nuevas secuencias de blanqueo y aplicación de sistemas enzimáticos. Terrassa, España: Tesis doctoral. Departamento de Ingeniería Textil e Papelera, Universidad Politècnica de Cataluña.

Garg,A.P., McCarthy,A.J. and Roberts,J.C. (1996b) Biobleaching effect of Streptomyces thermoviolaceus xylanase preparations on birchwood kraft pulp. *Enzyme and Microbial Technology* 18, 261-267.

Garg,A.P., McCarthy,A.J. and Roberts,J.C. (1996c) Biobleaching effect of Streptomyces thermoviolaceus xylanase preparations on birchwood kraft pulp. *Enzyme and Microbial Technology* 18, 261-267.

Garg,A.P., McCarthy,A.J. and Roberts,J.C. (1996a) Biobleaching effect of Streptomyces thermoviolaceus xylanase preparations on birchwood kraft pulp. *Enzyme and Microbial Technology* 18, 261-267.

Gellersted,G. and Li,J. (1996) An HPLC method for the quantitative determination of hexenuronic acid groups in chemical pulps. *Carbohydrate Research* 294, 41-51.

Jean,P., Hamilton,J. and Senior,D.J. (1994) Mill trial experiences with xylanase: AOX and chemical reductions. *Pulp & Paper Canada* 95, 126-128.

Jeffries,T.W., Davis,M., Rosin,B. and Landucci,L. (1999) Mechanisms for kappa reduction and color removal by xylanases. *7th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry* pp. 41-43.

Jiang,Z.-H., Bouchard,J. and Berry,R. (2006) Evidence for the formation of lignin-hexenuronic acid-xylan complexes during modified kraft pulping. *Holzforschung* 60, 137-142.

Khandeparkar,R. and Bhosle,N.B. (2007) Application of thermoalkalophilic xylanase from *Arthrobacter* sp. MTCC 5214 in biobleaching of kraft pulp. *Bioresource Technology* 98, 897-903.

Kim,D.-H. and Paik,K.-H. (2000) Effect of xylanase pre- and post-treatment on oxygen bleaching of oak kraft pulp. *Journal of Industrial Engineering Chemistry* 6, 194-200.

Kulkarni,N. and Rao,M. (1996) Application of xylanase from alkaliphilic thermophilic bacillus sp. NCIM 59 in biobleaching of bagasse pulp. *Journal of Biotechnology* 51, 167-173.

Li,K., Azadi,P., Collins,R., Tolan,J., Kim,J.S. and Eriksson,K.-L. (2000) Relationships between activities of xylanases and xylan structures. *Enzyme and Microbial Technology* 27, 89-94.

Manji,A.H. (2005b) Utilização prolongada da enzima xilanase para melhoramento do branqueamento de polpa kraft de conífera. *O Papel* 66, 94-101.

Manji,A.H. (2005a) Utilização prolongada da enzima xilanase para melhoramento do branqueamento de polpa kraft de conífera. *O Papel* 66, 94-101.

Manji,A. (2005c) Xylanase lowers chemical load, boosts brightness of kraft pulp. *Pulp and Paper* 79, 44-49.

Ninawe,S. and Kuhad,R.C. (2006) Bleaching of wheat straw-rich soda pulp with xylanase from a thermoalkalophilic *Streptomyces cyaneus* SN32. *Bioresource Technology* 97, 2291-2295.

Paice,M., Renaud,S., Bourbonnais,R., Labonté,S. and Berry,R. (2004) The effect of xylanase on kraft pulp bleaching yield. *Journal of Pulp and Paper Science* 30, 241-245.

Popovici,C., Messier,M., Thibault,L. and Charron,D. (2004) Multiples avantages du xylanase dans une usine nexfor papiers frader de pâte kraft de feuillus, à Thurso, Québec. *Pulp and Paper Canada* 105, 72-75.

Robles,Y.A.M., Bem,E.C., Turner,O. and Ishii,E. (2006) Avaliação em escala laboratorial da inserção da tecnologia enzimática na seqüência de branqueamento ECF. 39° *Pulp and Paper International Congress and Exhibition ABTCP-TAPPI*.

Roncero,B., Torres,A.L., Colom,J. and Vidal,T. (2003a) Effect of xylanase on ozone bleaching kinetics and properties of Eucalyptus kraft pulp. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 78, 1023-1031.

Roncero,M.B., Colom,J. and Vidal,T. (2003b) Influencia de los tratamientos enzimáticos con xilanasas en la composición de hidratos de carbono de pastas para papel. *Afinidad* 60, 8-15.

- Roncero, M.B., Torres, A.L., Colom, J. and Vidal, T. (2000) Effects of xylanase treatment on fibre morphology in totally chlorine free bleaching (TCF) of Eucalyptus pulp. *Process Biochemistry* 36, 45-50.
- Roncero, M.B., Torres, A.L., Colom, J. and Vidal, T. (2005) The effect of xylanase on the lignocellulosic components during the bleaching of wood pulps. *Bioresource Technology* 96, 21-30.
- Siles, F.J., Torres, A.L., Colom, J. and Vidal, T. (1996) Blanqueo biológico de pasta fratta de frondosas. *Afinidad* 53, 92-102.
- Teixeira Duarte, M.C., Cristina da Silva, E., Menezes de, B.G., Nunes Ponezi, A., Princi Portugal, E., Roberto Vicente, J. and Davanzo, E. (2003) Xylan-hydrolyzing enzyme system from *Bacillus pumilus* CBMAI 0008 and its effects on Eucalyptus grandis kraft pulp for pulp bleaching improvement. *Bioresource Technology* 88, 9-15.
- Tolan, J. and Foody, B. (1997) Method for the use of enzymes in bleaching paper pulp. Patent 317828. USA.
- Tolan, J. and Thibault, L. (2000) Mill scale implementation of enzymes in pulp bleaching. *2000 TAPPI Pulping Process and Product Quality Conference (CD)*.
- Torres, A.L., Roncero, M.B., Colom, J., Pastor, F.I.J., Blanco, A. and Vidal, T. (2000) Effect of a novel enzyme on fibre morphology during ECF bleaching of oxygen delignified Eucalyptus kraft pulps. *Bioresource Technology* 74, 135-140.
- Valls, C., Gallardo, O., Pastor, F.I.J., Torres, A.L., Díaz, P. and Roncero, B. (2006) Aplicación de nuevas xilanasas en los procesos de blanqueo ECF de pastas de eucalipto. *CIADICYP. Congreso Iberoamericano de Investigación en Celulosa y Papel 2006*. pp. 6.4-1-6.4-6.
- Valls, C., Pastor, F.I.J. and Roncero, B. (2005) Elimination of hexenuronic acid by xylanases in ECF bleaching of industrial Eucalyptus kraft pulps. *2005 International Pulp Bleaching Conference* ed. STFi and SPCI pp. 230-232.
- Van der Brught, T., Tolan, J. and Thibault, L. (2002) US kraft mills lead in xylanase implementation. *2002 TAPPI Fall Technical Conference and Trade Fair*.
- Vicuña, R., Escobar, F., Osses, M. and Jara, A. (1997) Bleaching of eucalyptus kraft pulp with commercial xylanases. *Biotechnology Letters* 19, 575-578.
- Viikari, L. (2000) Enzymes in the pulp and paper industry. *TAPPI Pulping Process and product Quality Conference. CD*.
- Viikari, L., Ranua, M., Sundquist, J. and Linko, M. (1986) Bleaching with enzymes. *3th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry* pp. 67-69.

Vuorinen,T., Teleman,A., Fagerström,P., Buchert,J. and Tenkanen,M. (1996) Selective hydrolysis of hexuronic acid groups and its application in ECF and TCF bleaching of kraft pulps. *International Pulp Bleaching Conference* pp. 43-51.

Wong,K., de Jong,E., Saddler,J.N. and Allison,R.W. (1997) Mechanisms of xylanase aided bleaching of kraft pulp. Part I: process parameters. *Appita Journal* 50, 415-422.

Wong,K.K.Y., Allison,R.W. and Spehr,S. (2001a) Effects of alkali and oxygen extractions of kraft kulp on xylanase-aided bleaching. *Journal of Pulp and paper Science* 27, 229-234.

Wong,K.K.Y., Allison,R.W. and Spehr,S. (2001b) Effects of alkali and oxygen extractions of kraft kulp on xylanase-aided bleaching. *Journal of Pulp and paper Science* 27, 229-234.

Yee,E. and Tolan,J. (1997) Three years experience running enzymes continuously to enhance bleaching at Weyerhaeuser Prince Albert. *Pulp and Paper Canada* 98, 42-49.

Zhao,J., Li,X. and Qu,Y. (2006) Application of enzymes in producing bleached pulp from wheat straw. *Bioresource Technology* 97, 1470-1476.

Zhao,J., Li,X., Qu,Y. and Gao,P. (2002) Xylanase pretreatment leads to enhanced soda pulping of wheat straw. *Enzyme and Microbial Technology* 30, 734-740.