

Capítol 7

Optimització del sistema lacasa-mediador. Efecte del pretractament enzimàtic amb xilanasa (L i XL)

RESUM

S'avalua l'efectivitat del sistema lacasa-mediador (**L**) per a blanquejar i deslignificar la pasta kraft d'*Eucalyptus globulus* deslignificada amb oxigen, amb i sense pretractament enzimàtic. És a dir, s'aplica el tractament **L** directament en aquesta pasta i en una pasta a la que prèviament s'ha realitzat un pretractament enzimàtic amb xilanasa (X). L'etapa **L** s'optimitza aplicant un pla estadístic seqüencial de tres variables que són: dosi de lacasa (1-20 U/gps), dosi de mediador HBT (0, -2, %sps) i temps de tractament (1-7h). Les respostes que es modelitzen són les propietats d'índex kappa i blancor mesurades després de l'etapa **L**. Els resultats demostren que les tres variables influeixen i el temps de tractament és la variable més influent. S'escullen les millors condicions d'aplicació de l'etapa **L** les quals coincideixen entre seqüències però no entre les propietats d'Ík i blancor.

El pretractament enzimàtic amb xilanasa no varia la influència de les variables d'**L** però potencia l'efecte del sistema lacasa-mediador en disminuir l'Ík, efecte que no es tradueix en augment de blancor. Per un determinat Ík, un pretractament X pot permetre l'estalvi de lacasa, de mediador i reduir el temps de tractament.

7.1 INTRODUCCIÓ

En capítols anteriors (3-6) s'han aplicat varies xilanases noves i comercials a la pasta d'eucaliptus deslignificada amb oxigen abans d'una etapa D (etapa de blanqueig amb diòxid de clor), obtenint seqüències de blanqueig ECF. És conegut que la utilització de diòxid de clor comporta diferents efectes negatius en les seqüències de blanqueig, entre ells l'augment en la contaminació per AOX dels efluents (Björklund, 2002 i 2004; Gomes *et al.*, 2007). Per aquest motiu, l'estudi de seqüències TCF (totalment lliures de clor) està adquirint gran importància i s'han obtingut resultats molt prometedors en el blanqueig de pastes amb aquestes seqüències (García *et al.*, 2003; Roncero *et al.*,

2003 (b); Camarero *et al.*, 2004; Sigoillot *et al.*, 200 ; Ibarra *et al.*, 2006 (a)) on és freqüent l'ús d'etapes de tractament enzimàtic utilitzant xilanases o lacases.

Als capítols anteriors ja s'ha comentat que les xilanases són enzims hidrolítics que catalitzen la hidròlisi dels xilans, i no és que actuïn com una etapa de blanqueig ja que no actuen sobre la lignina sinó que potencien l'efecte en les posteriors etapes de blanqueig (Roncero *et al.*, 2003 (a); Shatalov i Pereira, 2007). D'altra banda, les lacases són oxidoreductasses ligninolítiques que necessiten la presència d'oxigen per actuar i oxidar els grups fenòlics de la lignina. El seu potencial redox no és gaire elevat el què limita la seva capacitat oxidativa i a més, el seu gran pes molecular li fa difícil l'accés a la lignina de la paret cel·lular (Bourbonnais i Paice, 199). Per aquest motiu és necessària la presència d'un mediador que és un compost de baix pes molecular que actua com intermediari redox i la seva forma oxidada és capaç de difondre's a la fibra i reaccionar amb les fraccions fenòliques i no fenòliques de la lignina i així deslignificar la pasta (Freudenreich, *et al.*, 1998) formant el conegut sistema lacasa-mediador (**L**). En varis estudis on s'avalua l'efectivitat del tractament **L** en pastes, sembla ser que el mediador HBT (1-hidroxibenzotriazol) és el més efectiu descrit fins el moment (Bourbonnais *et al.*, 1997; García, 2003; Camarero *et al.*, 2004; Sigoillot *et al.*, 200).

El tractament amb xilanases és viable industrialment i actualment algunes fàbriques de pasta l'han ja incorporat en les seves seqüències de blanqueig (Vicuña *et al.*, 1997; Bajpai, 2004; Popovici *et al.*, 2004). D'altra banda, la implantació industrial del procés de blanqueig **L** encara ha de fer front a alguns reptes com: la disponibilitat de la lacasa (ha de ser disponible en suficient quantitat per a la producció a fàbrica), el cost i possible toxicitat dels mediadors en els efluents (interessa reduir al mínim la seva dosi d'aplicació) i per últim el temps de tractament (interessa que sigui mínim per a poder ser integrat en els processos industrials de blanqueig).

Alguns autors (Nelson *et al.*, 1998; Ibarra *et al.*, 2006 (a i b); Gamelas *et al.*, 2007; Oudia *et al.*, 2007) demostren l'efectivitat d'**L** en pastes d'eucaliptus, però en aquest capítol, apart d'aplicar el sistema lacasa-mediador en aquesta pasta es volen optimitzar les condicions d'aplicació de les variables del tractament **L** mitjançant la utilització de plans experimentals. La utilització de plans experimentals s'ha utilitzat en seqüències TCF (Pedrola *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2004) i per a optimitzar el sistema lacasa-mediador en pasta kraft de coníferes (Chakar *et al.*, 1998) i en pasta de lli (García *et al.*, 2003 i Fillat *et al.*, 2007) però no se'n coneix la seva utilització per optimitzar el tractament **L** en pasta d'eucaliptus.

Un tema innovador d'aquest capítol, a part del comentat anteriorment, és l'ús d'una xilanasa nova abans de realitzar el tractament **L** per tal d'avaluar si el pretractament amb xilanasa és capaç de potenciar l'efecte del sistema lacasa-mediador. En treballs anteriors (Oksanen *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 1998; Surma-Slusarska i Leks-Stepien, 2001; Herpoël *et al.*, 2002) s'obté que el pretractament X facilita l'acció del tractament **L** degut a que es facilita l'accés de la lacasa a la lignina, però tots ells utilitzen xilanases comercials i avaluen l'efecte del tractament **L** en les pastes després d'etapes E o P, i no després de la mateixa etapa **L**.

Així doncs, en aquest capítol s'utilitza un pla estadístic seqüencial per a estudiar la influència de les variables del tractament amb el sistema lacasa-mediador (**L**): dosi de lacasa, dosi de mediador i temps de tractament, en les propietats de la pasta d'índex kappa i blancor després de l'etapa **L** en les seqüències **L** i **XL**. Paral·lelament s'avalua l'efecte del pretractament X en potenciar l'efecte d'**L** comparant els resultats de les dues seqüències.

7.2 MATERIALS I MÈTODES

7.2.1 Matèria prima

La matèria prima utilitzada en aquest estudi és pasta kraft d'eucaliptus (*Eucalyptus globulus*), deslignificada amb oxigen. És de procedència industrial i produïda per l'empresa Torras-Papel S.A. Abans d'aplicar-hi els tractaments, ha estat rentada al laboratori amb una solució de Tampó Tris-HCl 0 mM, a pH 7 i a temperatura ambient durant 30 minuts. Les característiques inicials d'aquesta pasta després del rentat són les que s'indiquen a la Taula 7-1.

Taula 7-1. Propietats de la pasta inicial

Índex kappa	8,4
Blancor (%ISO)	1,2

7.2.2 Pretractament enzimàtic amb xilanasa (X)

Per a l'etapa X la xilanasa utilitzada és l' X_G la qual en capítols anteriors ha resultat ser la més efectiva i correspon a la XynA de *Bacillus sp.* BP-7 que ha estat aïllada i caracteritzada per Gallardo *et al.*, 2004. El tractament X es realitza amb 3 U/gps de xilanasa, al 10% de consistència amb una solució tamponada de Tris-HCl a pH7, durant 2 hores i a temperatura de 0°C. Passades les 2 hores de tractament es recuperen els lleixius, es mesura el pH final d'aquests i es renta la pasta tres vegades

amb aigua descalcificada i una vegada amb destil·lada. Els resultats de les propietats de la pasta després del tractament amb xilanasa es mostren a la Taula 7-2.

Taula 7-2. Propietats de la pasta X

Índex kappa	8,4
Blancor (%ISO)	3,7

7.2.3 Tractament amb el sistema lacasa-mediador (L)

La lacasa utilitzada és una lacasa comercial de *Trametes villosa* (NS- 1002) proporcionada per NOVOZYMES®. El mediador utilitzat és l'HBT (1-hidroxibenzotriazol) de Fluka (Sigma-Aldrich). Els tractaments **L** s'efectuen al % de consistència amb una solució tamponada de tartrat de sodi 0 mM a pH 4. L'assaig es realitza en el reactor a pressió a 90 kPa, a 30°C i amb agitació a 60 rpm. La dosi de lacasa, la dosi de mediador i el temps de tractament són les tres variables del disseny experimental i les seves condicions s'especifiquen en el seu corresponent apartat. Al tractament **L** s'hi afegeixen unes gotes de Tween 80 al 0,0 % p/v com a tensioactiu. Després de l'etapa **L** es recuperen els lleixius i es renta la pasta abans de realitzar la caracterització de les pastes.

7.2.3.1 Disseny experimental

Els diferents tractaments enzimàtics es realitzen seguint un pla estadístic seqüencial 2^3 (dos nivells i tres variables) més tres repeticions en el punt central, donant lloc a 11 experiències. Les tres variables independents varien en els següents rangs: $x_1 \equiv$ dosi de lacasa (1-20 U/gps), $x_2 \equiv$ dosi de mediador (0, -2, % sps), $x_3 \equiv$ temps de tractament (1-7 h). L'assignació de les variables en cada cas són les que s'indiquen a la Taula 7-3.

Taula 7-3. Variables a estudiar amb els factors de cada nivell

	VARIABLES	-1	0	+1
x_1	Dosi de lacasa (U/gps)	1	10,	20
x_2	Dosi d'HBT (% sps)	0,	1,	2,
x_3	Temps de tractament (h)	1	4	7

Els resultats experimentals s'analitzen amb el programa "Excel" mitjançant el "mètode de regressió pas a pas cap enrere". Després d'un primer anàlisi del pla estadístic es determina que el terme quadràtic és significatiu tant per la seqüència **L** com per l'**XL** i per tant es realitzen dues experiències addicionals per a desconfondre'ls. En total es

realitzen 13 experiències per a cada seqüència (**L** i **XL**), les condicions de les quals s'especifiquen a la Taula 7-4.

Taula 7-4. Experiències del disseny experimental amb les seves condicions

Exp.	x ₁	x ₂	x ₃	Dosi de lacasa (U g-1)	Dosi d'HBT (%)	Temps (h)
1	-1	-1	-1	1	0,	1
2	1	-1	-1	20	0,	1
3	-1	1	-1	1	2,	1
4	1	1	-1	20	2,	1
5	-1	-1	1	1	0,	7
6	1	-1	1	20	0,	7
7	-1	1	1	1	2,	7
8	1	1	1	20	2,	7
9	0	0	0	10,	1,	4
10	0	0	0	10,	1,	4
11	0	0	0	10,	1,	4
12	1	0	0	20	1,	4
13	0	-1	0	10,	0,	4

7.2.4 Propietats de les pastes

Per a la caracterització de les pastes s'ha determinat per a cada experiència després de l'etapa **L** l'índex kappa i la blancor segons la normativa ISO corresponent indicada al capítol 2.

S'ha calculat per a cada experiència la disminució en l'índex kappa i l'augment en la blancor que es produeix després de l'etapa **L** respecte la pasta inicial segons les Eq. 7-1 i Eq. 7-2 respectivament. A les pastes de la seqüència **XL** es calcula la disminució en índex kappa i l'augment o increment de blancor que es produeix durant l'etapa **L** sense tenir en compte l'efecte que es produeix durant l'etapa **X** a partir de les Eq. 7-3 i Eq. 7-4.

$$\text{Disminució Ik (\%)} = \frac{\text{Ik}_i - \text{Ik}_L}{\text{Ik}_i} \quad \text{Eq. 7-1}$$

$$\text{Augment Blancor (\%)} = \frac{\text{Bl}_L - \text{Bl}_i}{\text{Bl}_L} \quad \text{Eq. 7-2}$$

$$\text{Dis minució Ik (\%)} L_{(XL)} = \text{Dis minució Ik (\%)} XL - \text{Dis minució Ik (\%)} X \quad \text{Eq. 7-3}$$

$$\text{Augment Blancor (\%)} L_{(XL)} = \text{Augment BI (\%)} XL - \text{Augment BI (\%)} X \quad \text{Eq. 7-4}$$

on "i" indica la pasta crua inicial i "L" la pasta tractada després de l'etapa amb el sistema lacasa-mediador.

7.3 RESULTATS I DISCUSSIÓ

Els resultats d'índex kappa i blancor de cada experiment mesurats després de l'etapa **L** (seqüències **L** i **XL**) es mostren a la Taula 7- . A la seqüència **L** els rangs de resultats per a l'índex kappa i per a la blancor varien de 8,4 a 6,3 i de 0,3 a 60,0 %ISO respectivament, mentre que a la seqüència **XL** el rang de resultats per a l'índex kappa i per a la blancor van de 7,1 a ,0 i de 0,4 a 60,2 %ISO respectivament.

Taula 7-5. Índex kappa i blancor de totes les experiències

Exp.	x ₁	x ₂	x ₃	L		XL	
				Índex kappa	Blancor (%ISO)	Índex kappa	Blancor (%ISO)
1	-1	-1	-1	8,3	0,3	7,1	0,4
2	1	-1	-1	8,4	4,8	6,2	,4
3	-1	1	-1	8,1	0,6	6,	4,0
4	1	1	-1	7,3	,	6,0	4,9
5	-1	-1	1	7,9	4,6	,9	7,2
6	1	-1	1	6,	9,	,2	8,2
7	-1	1	1	7,1	6,2	,1	9,3
8	1	1	1	6,3	60,0	,1	60,2
9	0	0	0	7,0	9,3	,4	9,7
10	0	0	0	7,1	8,2	,0	8,3
11	0	0	0	6,8	9,1	,3	8,4
12	1	0	0	6,6	6,3	,7	7,7
13	0	-1	0	6,	4,0	,	6,3

Si es comparen les propietats gràficament de blancor vs. índex kappa tal com es mostra a la Figura 7-1 s'observa que els punts experimentals segueixen una certa tendència lineal on una disminució de l'índex kappa comporta un augment en la

blancor. Aquests resultats concorden amb els obtinguts per Garcia *et al.*, 2003 en pasta de lli. Aquesta relació entre Ik i blancor s'observa en les dues seqüències **L** i **XL**, però en l'eix Ik les pastes **XL** estan desplaçades cap a l'esquerra indicant que en aquestes s'obté un Ik inferior a les pastes **L**; respecte l'eix de la blancor les dues línies es troben paral·leles el què indica que la blancor és semblant entre les dues. És a dir, a igualtat de blancor s'obté un Ik inferior amb la seqüència **XL**.

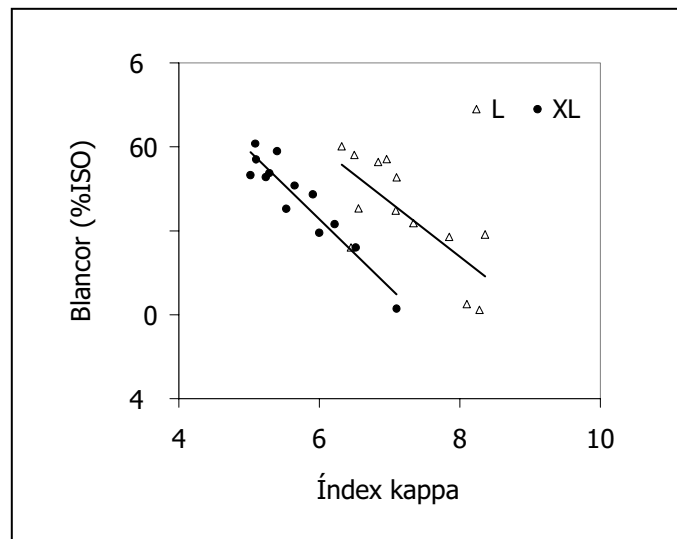


Figura 7-1. Relació entre l'índex kappa i la blancor de totes les experiències en les seqüències L i XL

A la Figura 7-2 es mostra la disminució en Ik que produeix cada experiència degut a l'etapa **L**, tant en les pastes **L** com **XL**. Un tractament **L** provoca una disminució de l'Ik de les pastes que depèn de les condicions del tractament i de si a la pasta s'hi ha aplicat o no una etapa de pretractament X. La disminució de l'índex kappa va del 0, al 24,8 % a la seqüència **L**, produint-se poca o cap disminució de l'Ik en les experiències 1, 2 i 3. En les pastes **XL** s'observa una disminució de l'Ik clarament superior que a les pastes L en tots els casos que va del 1, al 40,2%.

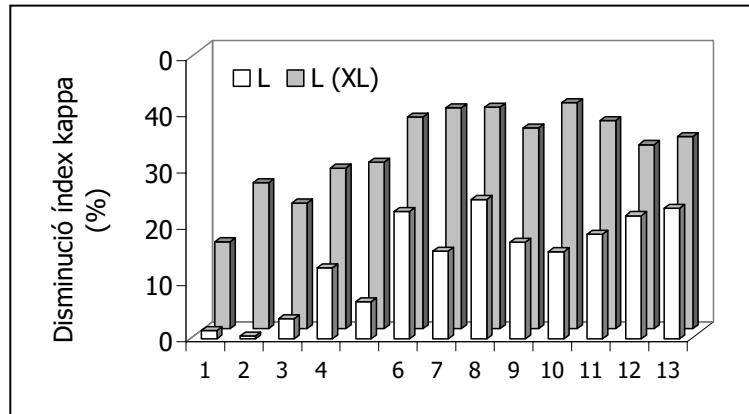


Figura 7-2. Disminució de l'índex kappa durant l'etapa L de totes les experiències en les seqüències L i XL

A la Figura 7-3 es mostra l'augment en blancor que produeix cada experiència degut a l'etapa L, tant en les pastes L com XL. Normalment el tractament L produeix un augment de la blancor de les pastes excepte en les experiències 1 i 3 (tant de les pastes L com XL) on les condicions de dues o tres de les variables són mínimes. L'augment de blancor a les pastes L va del 0 al 14,8 % i en les XL del 0 al 10,7 %; al contrari del què passa en l'Ik l'augment de blancor no és superior en les pastes de la seqüència XL sinó que o bé és igual entre les dues seqüències o bé és superior a la L.

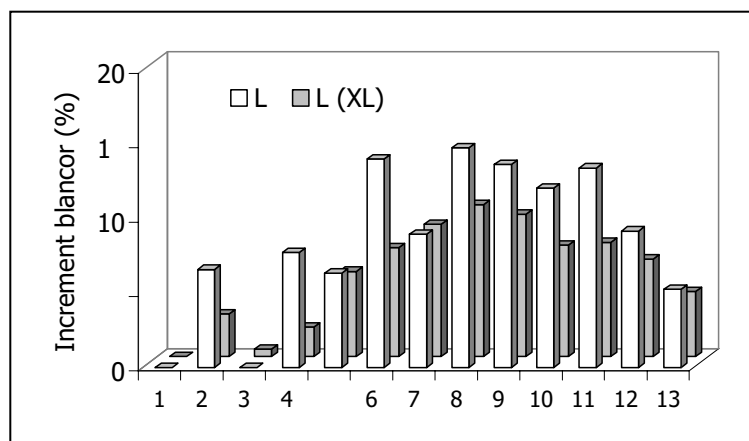


Figura 7-3. Increment de blancor durant l'etapa L de totes les experiències en les seqüències L i XL

7.3.1 Efecte de les variables en l'Ik i la blancor

Abans de realitzar els models de les respostes d'Ik i blancor, s'analiza l'efecte de cada variable en aquestes propietats a partir dels resultats experimentals. De la Figura 7-4 a la Figura 7-6 es representen els resultats d'Ik i blancor de les experiències agrupades en quatre blocs on estan fixats dues de les variables i la tercera varia entre el nivell -1 i +1, les dues primeres columnes de cada bloc corresponen a les pastes **L** i la tercera i la quarta a les pastes **XL**. L'objectiu és veure l'efecte que té augmentar una variable del nivell mínim al màxim i si això depèn de les condicions en les què es troben les altres dues.

7.3.1.1 Efecte de la dosi de lacasa (x_1)

A la Figura 7-4 (a) s'avalua l'efecte de la dosi de lacasa en l'Ik. A la seqüència **L**, quan la dosi de mediador i el temps estan a condicions mínimes (A) no afecta augmentar la dosi de la lacasa al nivell +1, en canvi sí que afecta quan una de les altres dues variables o totes dues es troben a condicions màximes (B, C i D). El major efecte de la lacasa és quan la dosi de mediador és -1 i el temps és +1 (C). A la seqüència **XL**, afegir lacasa disminueix l'Ik, excepte quan les altres dues variables estan al nivell +1 (D). No obstant, el menor Ik s'obté quan la dosi de mediador i el temps estan en el nivell alt (D) tant si la dosi de lacasa està al nivell alt com al baix.

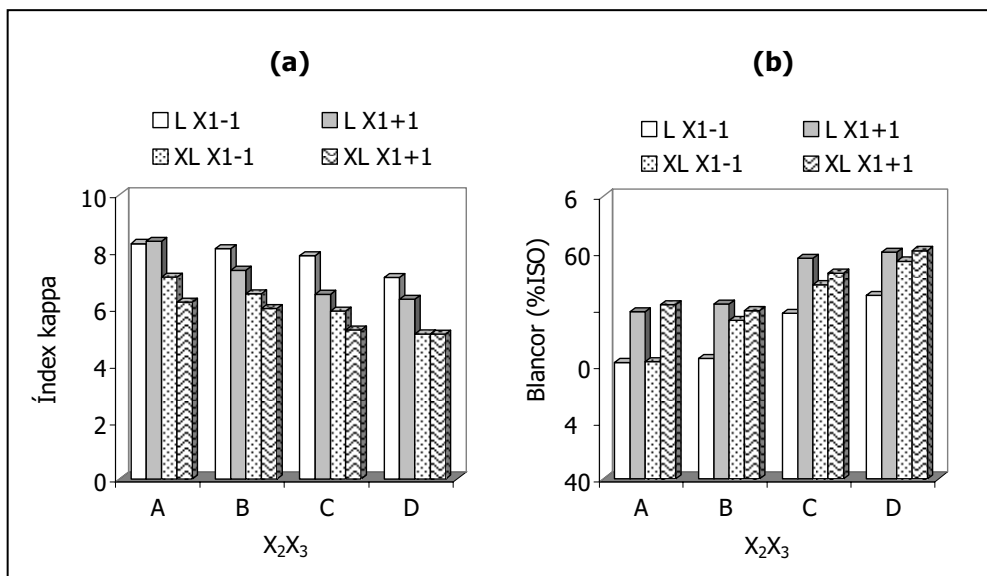


Figura 7-4. Efecte de la dosi de lacasa x_1 en l'índex kappa (a) i en la blancor (b) en les seqüències L i XL. A ($x_2=-1$; $x_3=-1$), B ($x_2=+1$; $x_3=-1$), C ($x_2=-1$; $x_3=+1$) i D ($x_2=+1$; $x_3=+1$)

A la Figura 7-4 (b) s'avalua l'efecte de la dosi de lacasa en la blancor. A la seqüència **L**, augmentar la dosi de lacasa sempre comporta un augment de blancor d'aproximadament %ISO independentment de les altres variables. A la seqüència **XL**, també augmentar la dosi de lacasa provoca sempre un augment de blancor però que depèn de les condicions de les altres variables, ja que quan la dosi de mediador i el temps de tractament són tots dos mínims (A), la blancor augmenta igual que en la **L** %ISO, mentre que en els altres casos, l'augment de blancor és inferior i d'1%ISO.

7.3.1.2 Efecte de la dosi de mediador (x_2)

A la Figura 7- (a) s'avalua l'efecte de la dosi de mediador en l'índex kappa. A la seqüència **L**, afegir mediador disminueix molt poc l'Ík quan les variables dosi de lacasa i temps estan les dues a condicions mínimes o màximes (A, D). Augmentar la dosi de mediador té més efecte quan x_1 i x_3 estan a diferent nivell (B i C), tenint més efecte quan la dosi de lacasa és màxima i el temps de tractament és mínim (B). A la seqüència **XL**, el mediador té poc efecte en B i quan les dues variables són màximes (D), en els altres casos té més efecte, sobretot en C.

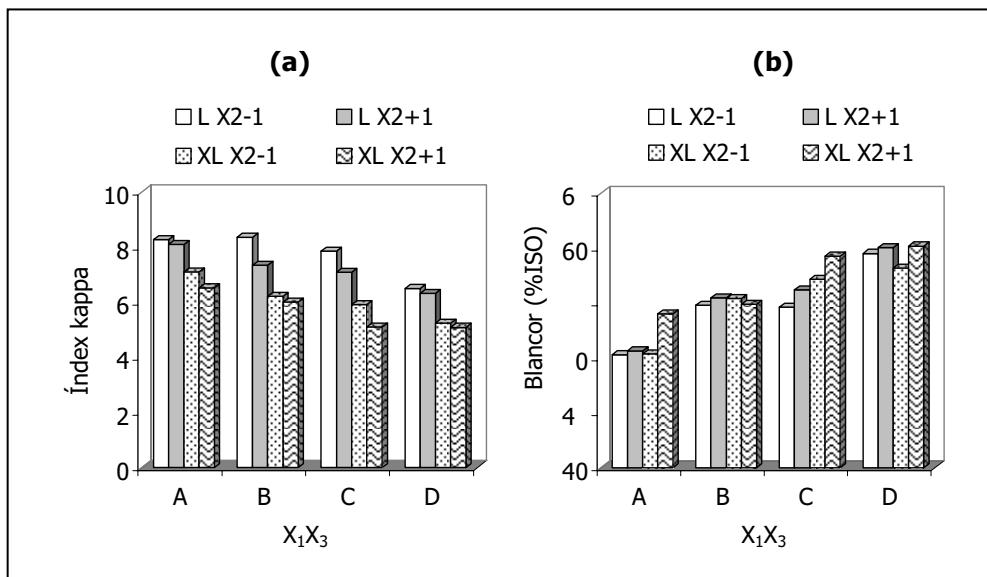


Figura 7-5. Efecte de la dosi de mediador x_2 en l'índex kappa (a) i en la blancor (b) en les seqüències L i XL. A ($x_1=-1; x_3=-1$), B ($x_1=+1; x_3=-1$), C ($x_1=-1; x_3=+1$) i D ($x_1=+1; x_3=+1$)

A la Figura 7- (b) s'avalua l'efecte de la dosi de mediador en la blancor. A la seqüència **L**, augmentar la dosi de mediador provoca un augment de blancor d'1,6%ISO en C quan la dosi de lacasa és mínima i el temps de tractament és màxim,

mentre que en les altres combinacions de les variables l'augment de blancor és molt baix. A la seqüència **XL**, augmentar la dosi de mediador comporta un augment en la blancor en tots els casos, excepte quan la dosi de lacasa és màxima i el temps de tractament és mínim (B); el major augment de blancor (3,6%ISO) es dona quan les dues variables x_1 i x_3 es troben al nivell mínim (A).

7.3.1.3 Efecte del temps de tractament (x_3)

A la Figura 7-6 (a) s'avalua l'efecte del temps de tractament en l'índex kappa. A la seqüència **L**, sempre augmentar el temps de tractament provoca disminució de l'Ík, però aquesta disminució és mínima quan les variables dosi de lacasa i mediador estan a nivells baixos (A) i màxima quan la dosi de lacasa és alta i la dosi de mediador mínima (B). A la seqüència **XL**, igual que en la **L**, augmentar el temps de tractament sempre disminueix l'Ík, i quan aquesta disminució és més gran és quan la dosi de lacasa és mínima i la dosi de mediador és màxima (C), contràriament a **L**.

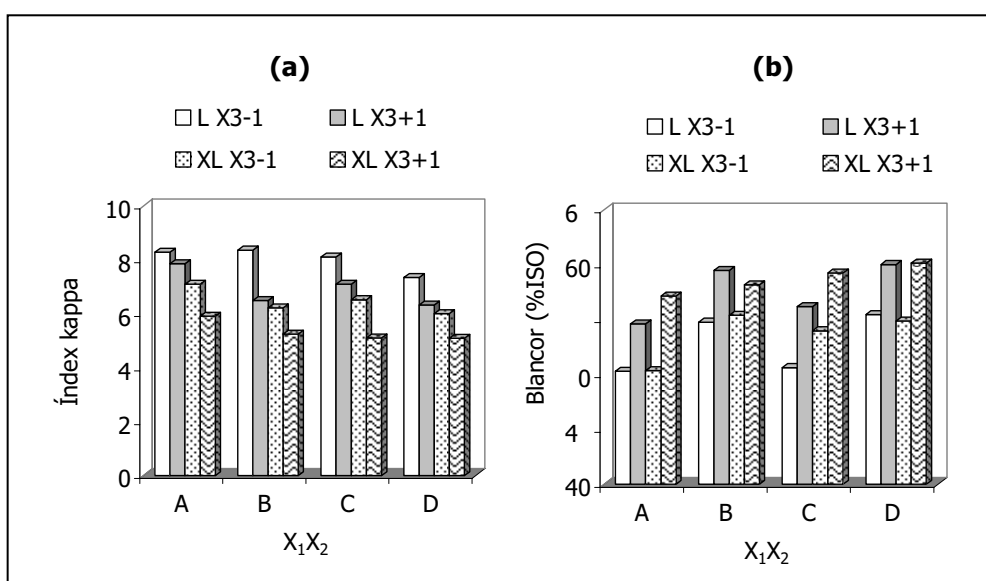


Figura 7-6. Efecte del temps de tractament x_3 en l'índex kappa (a) i en la blancor (b) en les seqüències L i XL. A ($x_1=-1$; $x_2=-1$); B ($x_1=+1$; $x_2=-1$); C ($x_1=-1$; $x_2=+1$); D ($x_1=+1$; $x_2=+1$)

A la Figura 7-6 (b) s'avalua l'efecte del temps de tractament en la blancor. A la seqüència **L**, l'augment del temps de tractament del nivell mínim al màxim, provoca sempre augment important de blancor en tots els casos, el qual és màxim (,6%ISO) quan la lacasa és mínima i el mediador és màxim (C). De manera similar passa a la

seqüència **XL**, on l'augment de blancor és màxim (6,8%ISO) quan la dosi de lacasa i mediador són mínimes (A).

Si es comparen la segona i la tercera columna de cada bloc de columnes de la Figura 7-4, la Figura 7- i la Figura 7-6, és a dir, si es comparen les propietats d'índex kappa i blancor quan les variables són màximes a la seqüència **L** (segona columna) amb les propietats d'índex kappa i blancor quan les variables són mínimes a la seqüència **XL** (tercera columna), s'observa que l'índex kappa que s'obté quan les variables són mínimes en **XL** és inferior a quan són màximes en **L**; aquest comportament no s'observa en la blancor. Així doncs, des del punt de vista d'Ik es podria pensar en una disminució de la dosi de lacasa i de mediador i del temps de tractament. A l'apartat 7.3.3.3 es discuteix més detalladament l'estalvi de reactius i del temps de tractament amb una etapa X.

A partir d'aquests resultats, i abans d'obtenir els models de les respostes d'índex kappa i blancor, s'observa que les tres variables tenen efecte tant en disminuir l'índex kappa com en augmentar la blancor. De tota manera, és convenient realitzar els models per tal d'avaluar els efectes en el punt central així com les interaccions entre variables.

7.3.2 Models

Les dades experimentals s'ajusten a un model utilitzant una equació polinòmica de segon ordre:

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^3 b_i x_{ni} + \sum_{i=1}^3 c_i x_{ni}^2 + \sum_{i=1; j=1}^3 d_{ij} x_{ni} x_{nj} \quad \text{Eq. 7-}$$

$$\text{on, } x_n = \frac{x - \bar{x}}{x_{\max} - x_{\min}} * 2 \quad \text{Eq. 7-6}$$

on x és el valor absolut de la variable, \bar{x} és el valor mig de la mateixa, x_{\max} el valor màxim i x_{\min} el valor mínim d'aquesta variable.

Les variables dependents (y) representen l'índex kappa i la blancor de les pastes. Les variables independents x_1 (1-20 U g⁻¹), x_2 (0, -2, % sps) i x_3 (1-7 h) es codifiquen en -1 i +1 per a comparar directament els coeficients de les equacions i entendre l'efecte de les variables en les respostes. En el cas del punt central les variables independents

són zero. Els coeficients a_0 , b_i , c_i i d_{ij} són els coeficients de regressió que han de ser estimats a partir de les dades experimentals. La regressió múltiple lineal es realitza utilitzant el mètode de "pas a pas cap enrere" (es descarten els termes amb probabilitat inferior a 0,0).

En els quatre casos (índex kappa i blancor seqüència **L**; índex kappa i blancor seqüència **XL**) s'analitza el model lineal 2^3 i seguidament s'afegeixen les tres experiències al centre on es determina que el terme quadràtic és significatiu, per aquest motiu són necessàries dues experiències addicionals per a determinar quina variable o variables tenen el terme quadràtic significatiu i desconfondre'l. Després d'un segon anàlisi es troben les equacions dels models per a les respostes d'índex kappa i blancor de les seqüències **L** i **XL** amb els seus corresponents ajusts (Eq. 7-7- Eq. 7-10).

Model índex kappa **L**

$$Y_{IKL} = 6,9 - 0,3 x_1 - 0,27x_2 - 0, \alpha_3 - 0,18x_1x_3 + 0,18x_1x_2x_3 - 0,77x_2^2 + 1,3x_3^2$$

$$R^2 = 0,99$$

Eq. 7-7

Model blancor **L**

$$Y_{BI(\%ISO)L} = 88 + 2,2 x_1 + 0,39x_2 + 2,4x_3 - 4,77x_1^2 - 4,4 x_2^2 + , \alpha_3^2$$

$$R^2 = 0,99$$

Eq. 7-8

Model índex kappa **XL**

$$Y_{IKXL} = ,2 - 0,26x_1 - 0,23x_2 - 0, \alpha_3 + 0,6 x_3^2$$

$$R^2 = 0,94$$

Eq. 7-9

Model blancor **XL**

$$Y_{BI(\%ISO)XL} = 846 + 1,04x_1 + 1,04x_2 + 2, \alpha_3 - 2,23x_1^2$$

$$R^2 = 0,89$$

Eq. 7-10

on $x_1 = (L-10)/9$, L = dosi de lacasa, $U g^{-1}$; $x_2 = (M-1)/1$, M =dosi de mediador HBT, %; $x_3 = (t-4)/3$, t = temps de tractament, h.

7.3.2.1 Model d'índex kappa per a la seqüència L

Segons el model obtingut per l'Ik de la seqüència L (Eq. 7-7), les tres variables x_1 dosi de lacasa, x_2 dosi de mediador i x_3 temps de tractament tenen influència sobre l'índex kappa i actuen disminuint-lo. Entre les tres variables individuals el coeficient més elevat el presenta la variable temps de tractament ($x_3 = -0,4$) la qual influeix 1,3 vegades més que la dosi de lacasa i el doble que la dosi de mediador.

La interacció doble entre la dosi de lacasa i el temps de tractament (x_1x_3) i la interacció triple entre les tres variables ($x_1x_2x_3$), també presenten lleugera influència en l'Ik, la primera amb un coeficient negatiu i la segona positiu. Els termes quadràtics de les variables dosi de mediador i temps de tractament són els que presenten uns coeficients més elevats en aquest model d'Ik; x_2^2 amb valor negatiu i x_3^2 amb valor positiu. Cal destacar que el coeficient d' x_3^2 és 1,3 que correspon a 2,4 vegades la variable individual x_3 .

A la Figura 7-7 (a-c) estan representades les superfícies estimades per a l'índex kappa per a dosis de lacasa, de mediador i temps constant, respectivament. A la Figura 7-7 (a i b) queda manifest l'efecte del temps de tractament en dues fases, una fase on l'Ik disminueix ràpidament d'1 a 4,6 hores i una segona fase de 4,6 a 7 hores on l'Ik es manté estable o augmenta lleugerament, en aquest punt es pot dir que s'arriba a un Ik límit a partir del qual el sistema ja no el pot disminuir; el fet que augmenti l'Ik podria ser degut a que a temps llargs hi ha reaccions de condensació de la lignina o bé a que el mediador hagi reaccionat amb la lignina i faci augmentar l'Ik com s'ha observat per Andreu, 2007. Aquest comportament en funció del temps, fa que el punt mig del temps doni lloc al menor Ik tal com s'observa a la Figura 7-7 (c). A la mateixa figura s'observa que a temps curts ($x_3 = -1$), l'Ik és independent de la dosi de lacasa mentre que a temps mitjos, i sobretot a temps llargs, sí que s'observa una dependència de la dosi de lacasa.

A les figures a i c s'observa que augmentar la dosi de mediador fins l'1,4% s'observa produeix un augment en l'Ik i a partir d'aquesta dosi l'Ik comença a disminuir, per aquest motiu, a la Figura 7-7 (b) quan la dosi de mediador està al punt mig és quan s'obté l'Ik més alt.

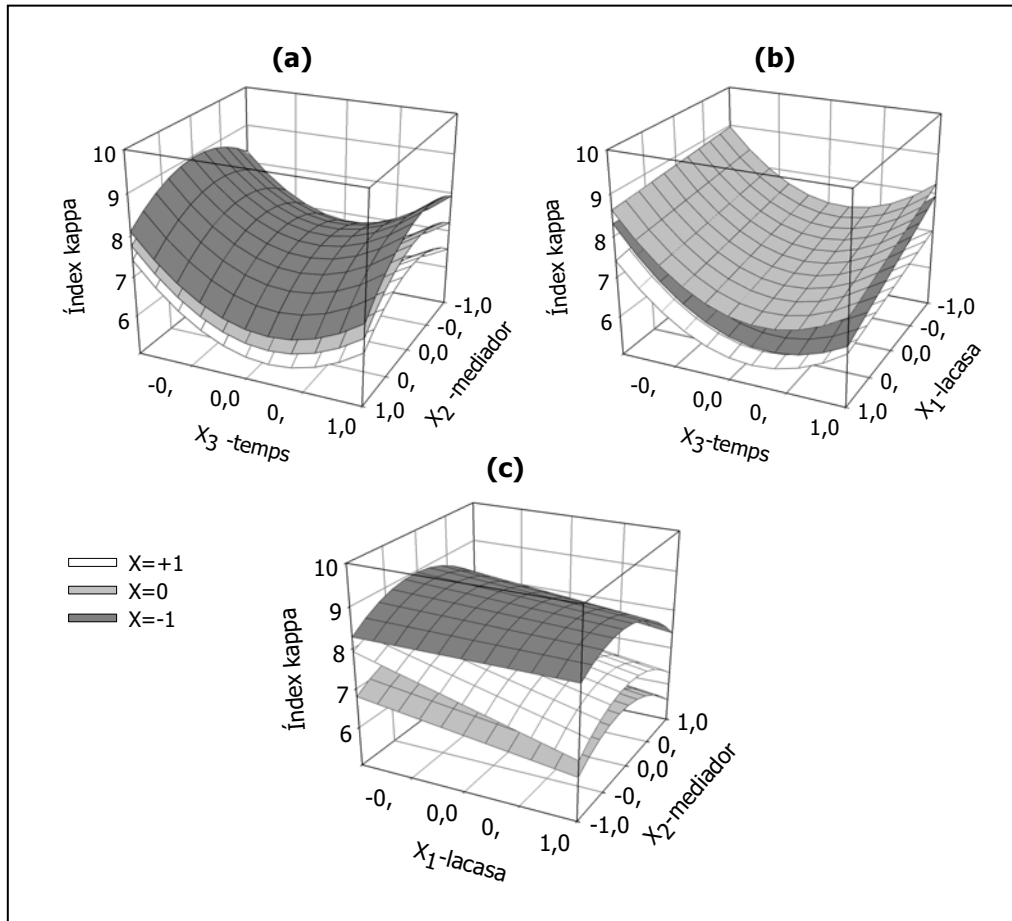


Figura 7-7. Superfícies estimades per a l'índex kappa en la seqüència L per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

7.3.2.2 Model de blancor per a la seqüència L

El model obtingut per a la blancor d'una etapa **L** (Eq. 7-8) prediu una blancor mitja de 8,8 %ISO. Les tres variables, x_1 dosi de lacasa, x_2 dosi de mediador i x_3 temps de tractament tenen influència augmentant la blancor de la pasta. La més influent és la variable temps seguida de prop de la dosi de lacasa, essent aquestes dues 6 vegades més influents que la dosi de mediador, la qual, igual que en l'índex kappa, presenta poca influència en la blancor com a variable individual. Cal destacar que els tres termes quadràtics de les variables tenen influència en la blancor amb coeficients alts; el major coeficient és pel temps ($x_3^2 = 6$) i x_1^2 i x_2^2 presenten coeficient negatiu i x_3^2 coeficient positiu.

A la Figura 7-8 (a-c) està representada la superfície que prediu la blancor de les pastes L a dosis constants de lacasa , mediador i temps.

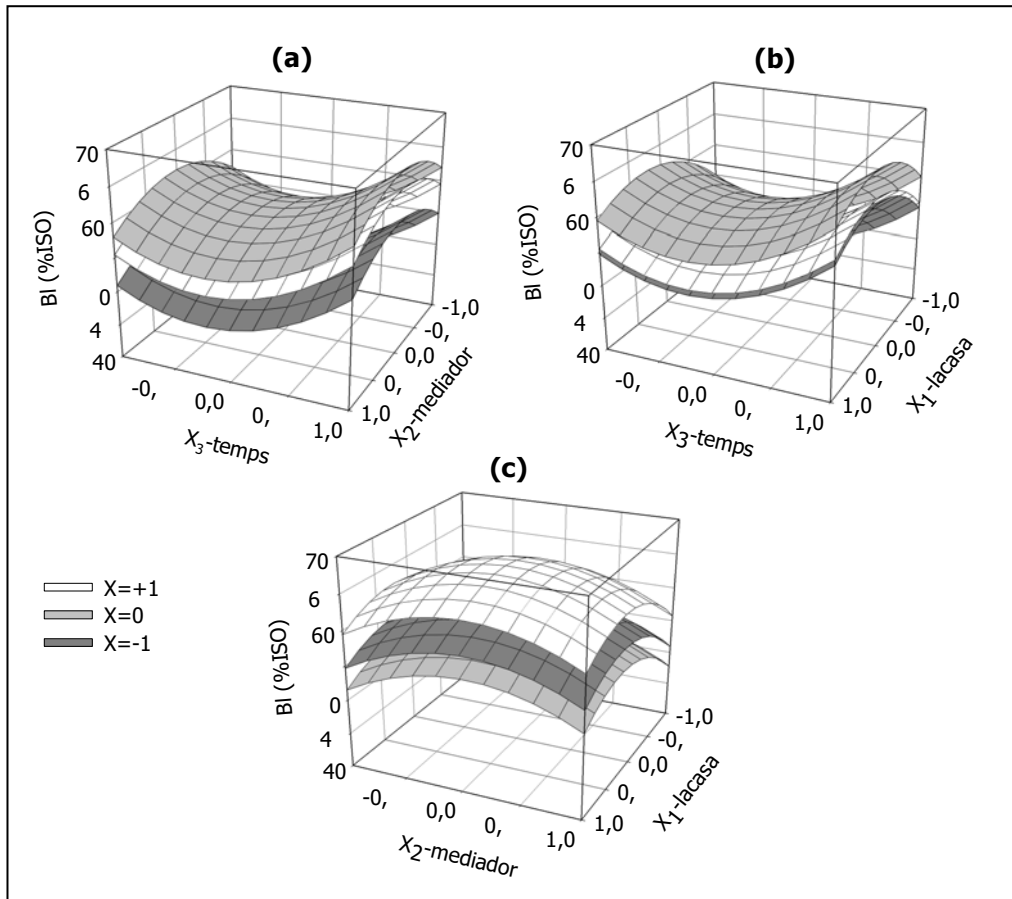


Figura 7-8. Superfícies estimades per a la blancor en la seqüència L per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

A la Figura 7-8 (a i b) s'observa, igual que en l'Ik el comportament en dues fases del temps, on en una primera fase que va d'1 a 3,4 hores la blancor es manté estable o disminueix lleugerament i en una segona fase que va de 3,4 a 7 hores la blancor augmenta; per aquest motiu la blancor inferior s'obté a temps mitjos de tractament tal com queda manifest a la Figura 7-8 (c). En les figures a, b i c s'hi observa també l'efecte quadràtic de la dosi de lacasa i mediador. Augmentar la dosi de lacasa d'1 a 13 U/gps fa augmentar la blancor i de 13 a 20 U/gps la blancor disminueix; de manera semblant passa amb la dosi de mediador on de 0, a 1, %sps la blancor augmenta i

d'1, a 2, %sps la blancor disminueix. Per aquest motiu, la major blancor s'obté a dosis mitges de lacasa i mediador (Figura 7-8 (a i b respectivament)).

7.3.2.3 Model d'índex kappa per a la seqüència XL

El model per a l'índex kappa de la seqüència **XL** (Eq. 7-9) prediu un Ik mig de ,2 que és influenciat per les tres variables dosi de lacasa (x_1), dosi de mediador (x_2) i temps de tractament (x_3), les tres de valor negatiu. La variable més influent és x_3 amb un coeficient de 0, 6 que és 2, vegades més alt que x_1 i x_2 . El terme quadràtic de la variable temps també influeix considerablement amb valor positiu. A la Figura 7-9 (a-c) estan representades les superfícies estimades per a l'índex kappa per a dosis de lacasa, de mediador i temps constant, respectivament.

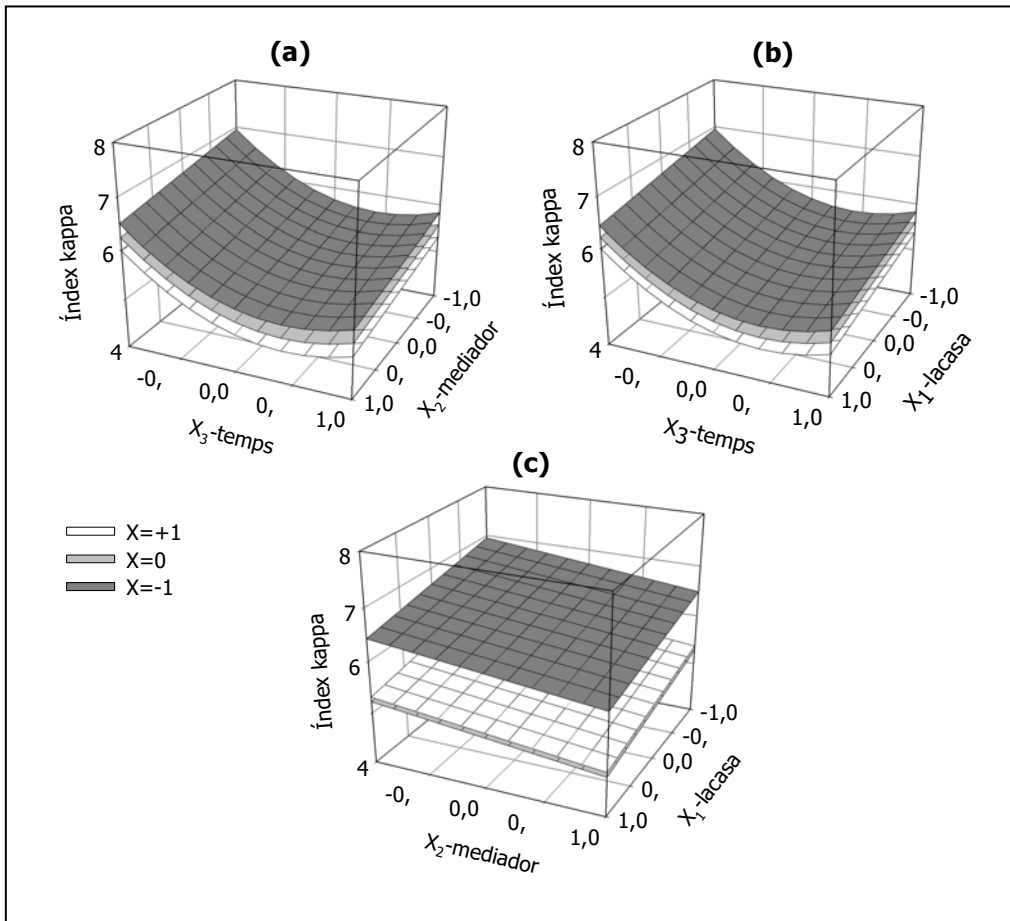


Figura 7-9. Superfícies estimades per a l'índex kappa en la seqüència XL per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

Igual que en l'Ik i la blancor de la seqüència **L**, el temps de tractament es comporta en dues fases tal com queda manifest a la Figura 7-9 (a i b), una primera fase va d'1 a ,3 hores on l'Ik disminueix ràpidament i una segona fase de ,3 a 7 hores on l'Ik es manté estable o augmenta lleugerament, indicant que s'arriba a un Ik límit a partir del qual el sistema ja no el disminueix; degut a aquest comportament del temps, el menor Ik s'obté a temps mitjos tal com queda reflectit a la Figura 7-9 (c). A la figura també s'observa la variació lineal de la dosi de lacasa i de mediador, però degut al baix coeficient d'aquestes variables la variació és de poca pendent.

7.3.2.4 Model de blancor per a la seqüència **XL**

El model per a la blancor de l'etapa **XL** (Eq. 7-10) prediu una blancor mitja 8,46 i és influenciada per les tres variables dosi de lacasa (x_1), dosi de mediador (x_2) i temps de tractament (x_3), les tres de valor positiu. La variable més influent és x_3 amb un coeficient de 2, 2 que és 2,4 vegades més alt que x_1 i x_2 . El terme quadràtic de la variable dosi de lacasa també influeix considerablement amb valor negatiu.

A la Figura 7-10 (a-c) està representada la superfície que prediu la blancor de les pastes **XL** a dosis constants de lacasa, mediador i temps de tractament.

Al contrari que en l'Ik i Bl de les pastes **L** i l'Ik de les pastes **XL**, no s'observa el comportament en dues fases del temps de tractament ja que tal com es reflexa a les figures a i b, sempre un augment del temps de tractament comporta un augment en la blancor de les pastes. A les figures b i c s'observa l'efecte quadràtic de la dosi de lacasa on augmentar la dosi d'1 a 12,7 U/gps augmenta la blancor però de 12,7 a 20 U/gps la blancor disminueix, per aquest motiu a la Figura 7-10 (a) la superfície de blancor superior s'obté quan la lacasa és a dosi mitja ($x_1=0$). Augmentar la dosi de mediador produeix un efecte lineal però gairebé insignificant sobre la blancor.

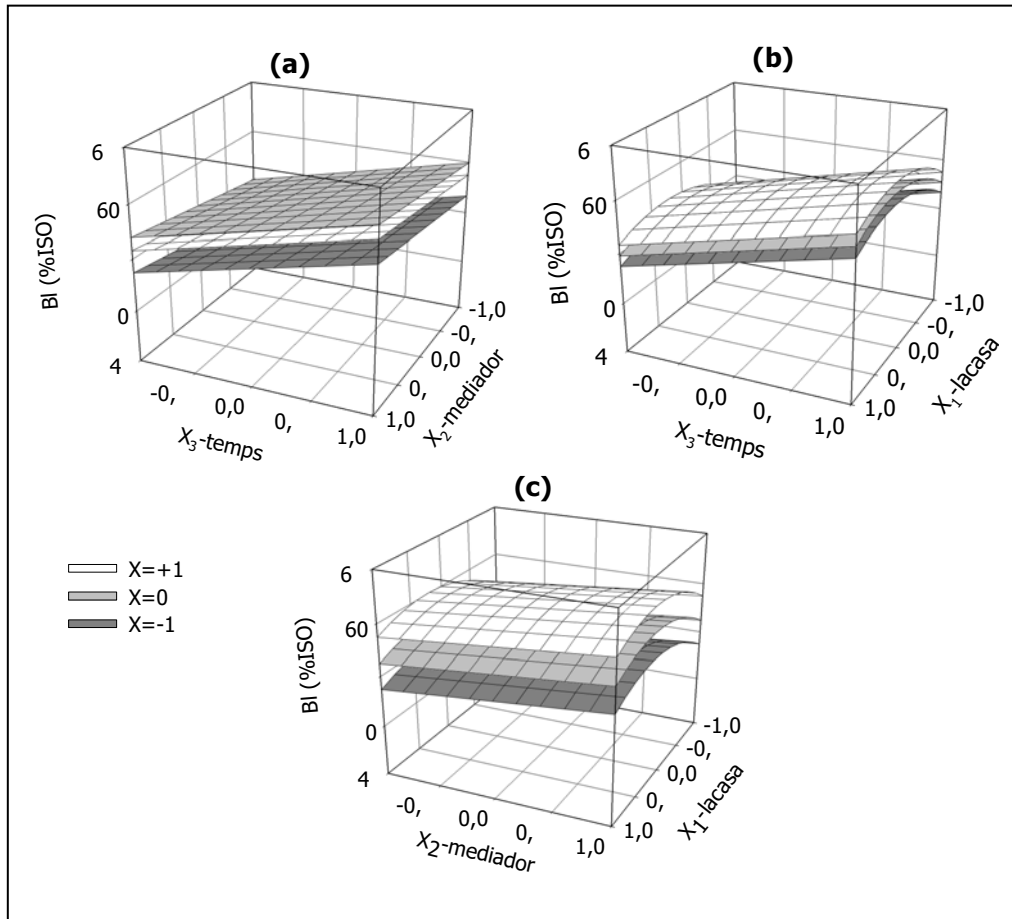


Figura 7-10. Superfícies estimades per la blancor en la seqüència XL per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

7.3.2.5 Comparació del comportament en índex kappa i blancor segons els models obtinguts

Seqüència L

Tant en el model d'índex kappa com en el model de blancor, les tres variables influeixen essent la variable temps la més influent, seguida de la variable dosi de lacasa i per últim la variable dosi de mediador. En el model d'índex kappa influeix la interacció doble entre la dosi de lacasa i el temps de tractament, la interacció triple entre les tres variables i els termes quadràtics de la dosi de mediador i temps de tractament; en el model de blancor no influeixen les interaccions entre variables però sí els tres termes quadràtics.

Augmentar la dosi de lacasa provoca sempre una disminució en l'índex kappa mentre que la blancor augmenta fins que s'arriba a la dosi de 13 U/gps a partir de la qual disminueix. L'augment de la dosi de mediador fins a l'1,4-1, %sps no produeix efectes en l'índex kappa però augmenta la blancor, mentre que a partir d'aquesta dosi fins a 2, %sps, provoca una disminució tant de l'índex kappa com de la blancor. Així, segons l'índex kappa calen dosis altes de mediador mentre que segons la blancor són millors les dosis mitges.

Un augment del temps de tractament d'1 a entre 3 i hores produeix una forta disminució en l'índex kappa mentre que la blancor disminueix lleugerament. A partir d'aquest temps fins a 7 hores l'Ik s'estabilitza i la blancor augmenta. El menor Ik s'obté a temps mitjos mentre que la major blancor s'obté a temps llargs.

S'observa per tant, que els models prediuen un comportament diferent de les tres variables sobre les propietats d'índex kappa i blancor.

Seqüència XL

Tant en l'índex kappa com en la blancor, les tres variables influeixen sent en els dos casos la variable temps la més influent seguida de les altres dues que influeixen igual. En el model Ik influeix també el terme quadràtic de la variable temps mentre que en el model de blancor influeix el terme quadràtic de la variable dosi de lacasa.

Augmentar la dosi de lacasa disminueix sempre l'índex kappa mentre que la blancor augmenta lleugerament fins a la dosi de 12,7 U/gps i a partir d'aquesta dosi la blancor disminueix lleugerament. L'augment de la dosi de mediador produeix sempre disminució en l'índex kappa i augment en la blancor tot i que el seu efecte és molt lleuger. Per últim, augmentar el temps de tractament disminueix l'índex kappa fins a les ,3 hores i a partir d'aquest punt s'estabilitza mentre que un augment del temps sempre comporta un augment en la blancor.

Cal destacar que en tres dels quatre models (IK i BI de les pastes **L** i Ik de les pastes **XL**) s'observa l'efecte del temps de tractament en dues fases.

7.3.2.6 Ajust dels models

Si es representen gràficament els valors experimentals de les propietats d'índex kappa i blancor front als valors calculats a partir dels models s'obtenen els gràfics de la Figura 7-11 (a-d). En els gràfics s'hi pot observar l'interval màxim de variació en cada cas. En els quatre casos els errors són petits indicant que els models obtinguts s'ajusten bé a

la realitat, com també ho demostraven els valors d'ajusts R^2 dels quatre models Eq. 7-7 - Eq. 7-10).

Per a la seqüència **L** els models s'ajusten millor que per a la **XL**. En el cas de la seqüència **L** els models d'índex kappa i blancor s'ajusten amb el mateix error ($\pm 2\%$) mentre que per a la **XL** s'ajusta millor el model de blancor ($\pm 3\%$) que el d'índex kappa ($\pm \%$).

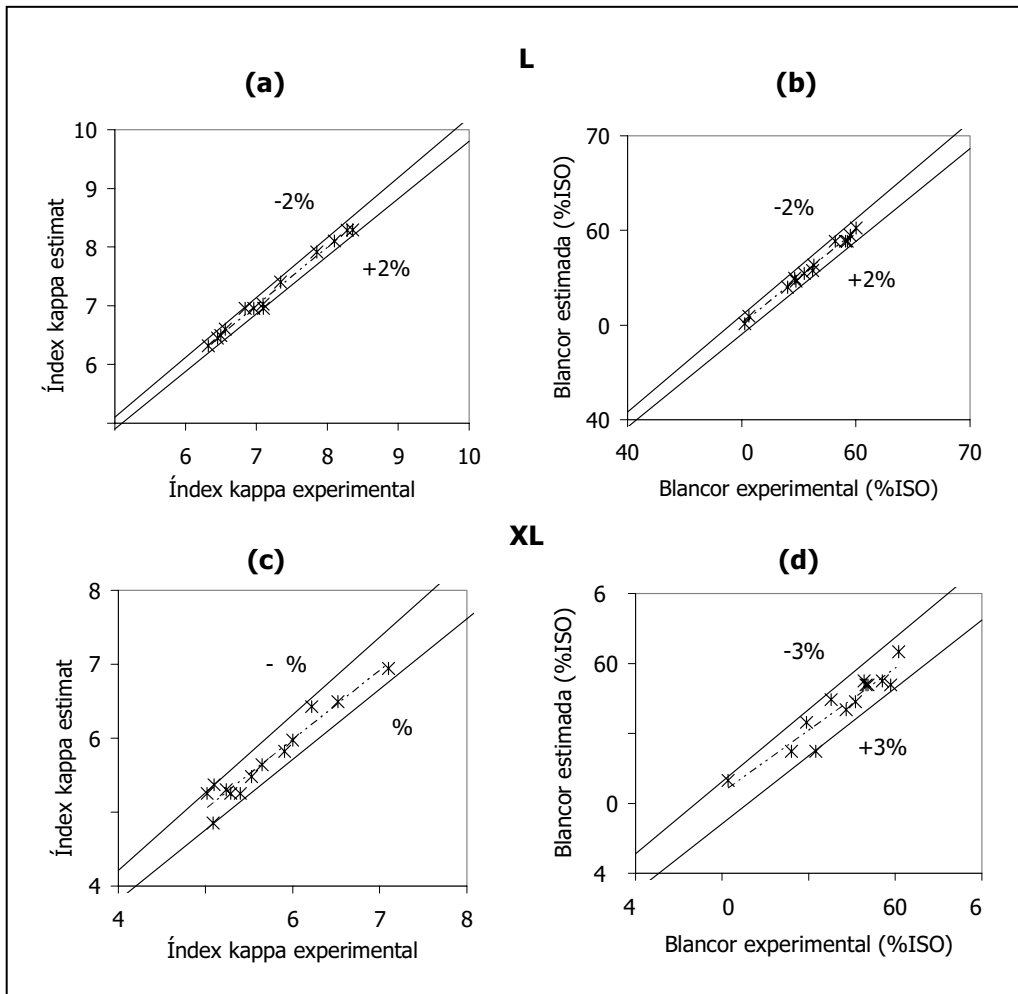


Figura 7-11. Resultats experimentals vs. valors estimats per l'Ík (a, c) i la blancor (b, d) de les seqüències L i XL respectivament, amb els seus corresponents errors

7.3.2.7 Elecció de les millors condicions d'aplicació

A partir dels models obtinguts es volen escollir les millors condicions d'aplicació de l'etapa **L**. A la Taula 7-6 es mostren els punts on segons els models obtinguts en les seqüències **L** i **XL** s'obté el menor índex kappa i la major blancor. En els casos on influeix el terme quadràtic d'alguna variable el punt d'inflexió s'ha calculat derivant el model respecte aquesta variable i igualant a 0 l'equació. Tal com s'observa a la taula, no coincideixen els punts de millor aplicació entre les propietats d'Ik i blancor d'una mateixa seqüència, i al punt on s'obté el menor Ik la blancor és baixa i al punt de màxima blancor l'Ik és alt.

Taula 7-6. Punts de menor Ik i màxima blancor de les seqüències L i XL segons els models

	x_1	x_2	x_3	Ik	BI (%ISO)
Ik L	+1	+1	0,2	5,5	3,0
BI L	0,24	0,04	+1	7,6	67,1
Ik XL	+1	+1	0,43	4,6	9,8
BI XL	-0,23	+1	+1	,1	62,1

L'índex kappa i la blancor s'han mesurat després de l'etapa **L**; en aquesta etapa el sistema lacasa-mediador oxida la lignina i es formen quinones i compostos colorejats que queden a la pasta i li donen color (Chakar i Ragauskas, 2001). Per aquest motiu, posteriorment a una etapa **L** se sol realitzar una etapa P o E per extreure la lignina no soluble que ha quedat a la pasta. Aquesta podria ser una explicació a la diferència de comportament prevista pels models obtinguts entre les propietats d'índex kappa i blancor.

Els punts que es mostren a la Taula 7-6 corresponen als menors Ik i a les majors blancors que s'obtenen segons els models obtinguts però aquests valors no s'assoleixen experimentalment ja que a la seqüència **L**, el menor Ik que s'ha assolit en les experiències és de 6,3 mentre que la major blancor és de 60%ISO i a la seqüència **XL** el menor Ik al què s'arriba experimentalment és de ,0 i la major blancor de 60,2%ISO. A la Figura 7-12 (a-d) es mostren representades les corbes de nivell dels quatre models, limitant-les als valors que s'assoleixen experimentalment i fixant bé la variable dosi de lacasa o bé la variable temps de tractament al seu nivell màxim. La finalitat de representar el gràfic de corbes de nivell és reduir al màxim el nivell de les diferents variables, donant prioritat a reduir principalment la dosi de mediador, seguit de disminuir el temps de tractament i per últim disminuir la dosi de lacasa i obtenint el menor Ik i la major blancor de les pastes.

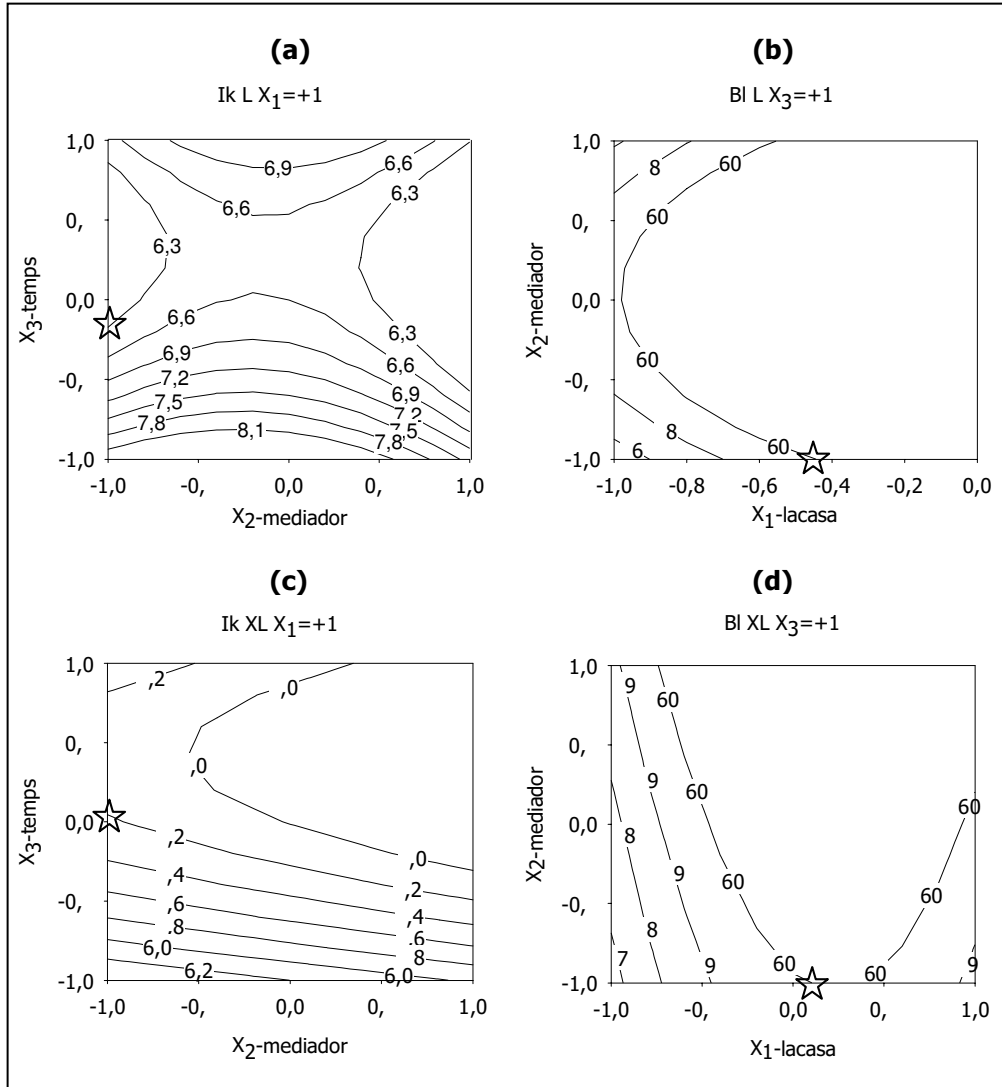


Figura 7-12. Corbes de nivell de la seqüència L: índex kappa quan $x_1=+1$ (a), blancor quan $x_3=+1$ (b) i de la seqüència XL: índex kappa quan $x_1=+1$ (c) i blancor quan $x_3=+1$ (d)

A la Figura 7-12 (a) està representat el gràfic de corbes de nivell per a l'Ik de la seqüència **L** fixant la dosi de lacasa al nivell màxim ($x_1=+1$). S'observa que si s'accepta un Ik de 6,3 es pot reduir la dosi de mediador fins al nivell mínim ($x_2=-1$) i el temps de tractament fins a $x_3=-0,2$. A la Figura 7-12 (b) es mostren les corbes de nivell per al model de blancor de la seqüència **L** fixant el temps al nivell màxim $x_3=+1$, (el model prediu unes blancors a les que no s'arriben experimentalment i per aquest motiu s'ha

limitat l'eix de la variable x_1 de -1 a 0). Amb una blancor del 60%ISO es pot reduir al mínim la dosi de mediador ($x_2=-1$) i la dosi de lacasa fins al punt -0,4.

A la Figura 7-12 (c) es mostra el gràfic de corbes de nivell per a l'Ik de la seqüència **XL** a dosi de lacasa màxima ($x_1=+1$); si s'accepta un Ik de 5,2 (enlloc de 6,3 que és el menor Ik assolit experimentalment) es pot reduir la dosi de mediador fins al mínim ($x_2=-1$) i el temps de tractament fins al punt 0. A la Figura 7-12 (d) es mostren les corbes de nivell de la blancor **XL** per a temps màxims de tractament ($x_3=+1$); amb una blancor del 60%ISO es pot reduir la dosi de mediador fins al mínim ($x_2=-1$) i la dosi de lacasa fins al punt 0,2.

D'aquesta manera, els punts d'aplicació d'**L** on s'obté el menor Ik i la màxima blancor per a cada seqüència són els que es mostren a la Taula 7-7. En els quatre casos la dosi de mediador s'ha reduït fins al nivell mínim i també en algun cas s'ha reduït la dosi de lacasa i el temps de tractament. Els punts d'aplicació coincideixen bastant entre les seqüències **L** i **XL** per una mateixa propietat, mentre segueixen sense coincidir entre l'Ik i la blancor. Es necessiten dosis de lacasa màximes per assolir el mínim Ik mentre que calen dosis mitges per assolir la màxima blancor. Per contra, calen temps de tractament mitjos per assolir el menor Ik i llargs per assolir la màxima blancor. La dosi de mediador ha de ser mínima en tots els casos.

Taula 7-7. Punts de menor Ik i màxima blancor de les seqüències L i XL segons els valors experimentals i reduint les variables

	x_1	x_2	x_3	Ik	BI (%ISO)
Ik L	+1	-1	-0,2	6,3	1,2
BI L	-0,4	-1	+1	7,	60,3
Ik XL	+1	-1	0	5,2	6,2
BI XL	0,2	-1	+1	,	60,1

Per tal de trobar un punt d'aplicació d'**L** de compromís entre les dues propietats per a cada seqüència, es dona prioritat a disminuir l'Ik ja que després de l'etapa **L** hi pot haver productes colorejats de la lignina que interfereixen en la blancor. Es fixa la dosi de lacasa al punt màxim $x_1=+1$ i es representen les corbes de nivell superposades de les dues propietats tal com es mostra a la Figura 7-13.

En aquesta figura, la variació amb la dosi de mediador es limita entre -1 i 0. La Figura 7-13 (a) correspon a la seqüència **L** i si es vol obtenir un Ik de 6,3 i mantenir al mínim la dosi de mediador, cal augmentar el temps de tractament fins al punt 0,8 si es vol assolir una blancor del 8%ISO. La Figura 7-13 (b) correspon a la seqüència **XL** i per

assolir un Ik de ,2 mantenint la dosi de mediador al seu nivell mínim s'ha d'augmentar el temps de tractament fins a 0 i la blancor que s'assoleix és de 6%ISO.

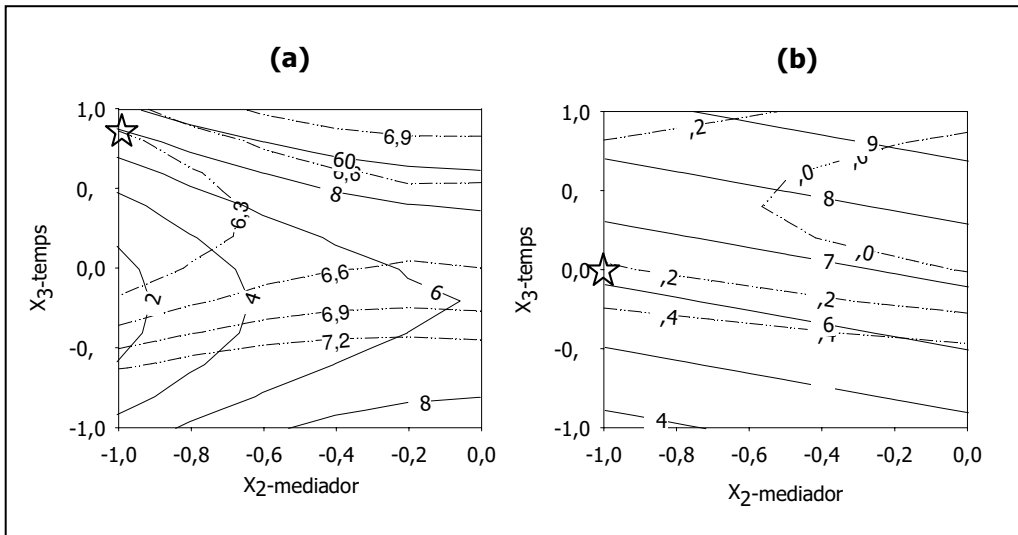


Figura 7-13. Corbes de nivell per a una dosi de lacasa constant ($x_1=+1$) de l'índex kappa i blancor a les seqüències L (a) i XL (b)

Així doncs, els punts escollits d'aplicació del tractament amb el sistema lacasa-mediador són els que es mostren a la Taula 7-8 i és gairebé igual entre les dues seqüències on la dosi de lacasa és la màxima (20 U/gps), la dosi de mediador la mínima (0, %sps) i el temps de tractament de 6,4 hores per la seqüència L i de 4 hores per a l'XL. L'índex kappa que s'obté és d'un punt inferior en XL respecte L, mentre que la blancor és superior en L.

Taula 7-8. Punts escollits d'aplicació d'L segons les seqüències L i XL

	Dosi de lacasa- x_1	Dosi de mediador- x_2	Temps de tractament- x_3	Ik	BI (%ISO)
L	+1 (20 U/gps)	-1 (0, %sps)	0,8 (6,4 hores)	6,3	8
XL	+1 (20 U/gps)	-1 (0, %sps)	0 (4 hores)	,2	6,2

De tota manera, aquests punts han estat escollits segons els resultats després de l'etapa L i caldria realitzar una etapa P o E per extreure la lignina no soluble que ha quedat a la pasta. En el capítol següent es realitza una etapa E i s'analitzen els resultats.

7.3.3 Efecte del pretractament enzimàtic amb xilanasa (X). Comparació de les seqüències L i XL

7.3.3.1 Efecte del pretractament amb xilanasa en l'índex kappa

A la Figura 7-14, on està representat l'índex kappa de totes les experiències, es comparen les pastes obtingudes de la seqüència **L** amb la seqüència **XL**. Realitzar una etapa X no redueix l'índex kappa de la pasta, per tant la pasta inicial abans de realitzar l'etapa **L** té el mateix kappa en les dues seqüències. Les pastes **XL** presenten totes un I_k aproximadament 1, punts inferior a les **L**, el què indica que amb un tractament X s'incrementa un 18% la disminució de l' I_k de la pasta per part del sistema lacasa-mediador. Tal com ja s'ha descrit en capítols anteriors, la xilanasa hidrolitza els xilans de la superfície de la fibra els quals dificulten l'accés a la penetració de reactius. Al desaparèixer aquests xilans la fibra queda més accessible (Roncero *et al.*, 2000), el què ha permès una major penetració del sistema lacasa-mediador a l'interior de les fibres i ha actuat més eficientment en disminuir l' I_k .

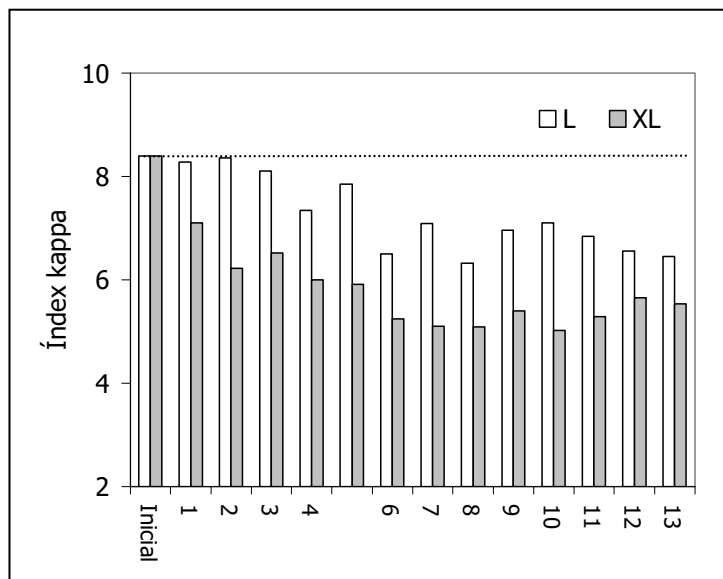


Figura 7-14. Índex kappa de totes les experiències comparant les seqüències L i XL

Tal com mostren les Eq. 7-7 i Eq. 7-9 en els dos models influeixen les tres variables individuals on el temps de tractament és la variable més influent seguida de la dosi de lacasa i la dosi de mediador que influeixen semblant; la variació quadràtica del temps de tractament també influeix en els dos models essent en **L** més influent, i produint l'efecte en dues fases, una d'1 a 7 hores on l' I_k disminueix i l'altra de 7 a 13 hores on

l'Ík s'estabilitza. De tota manera, el model de la seqüència **L** és més complex que el de l'**XL** ja que a més influeix també la interacció doble entre la dosi de lacasa i el temps de tractament, la interacció triple entre les tres variables i la variació quadràtica del mediador. A la Figura 7-1 s'han representat les superfícies estimades per a l'índex kappa de les seqüències **L** i **XL** quan s'obtenen menors Ík per a la seqüència **L**, és a dir quan x_1 i x_2 són màximes i quan x_3 és al punt mig i quan les variables són mínimes per **XL**.

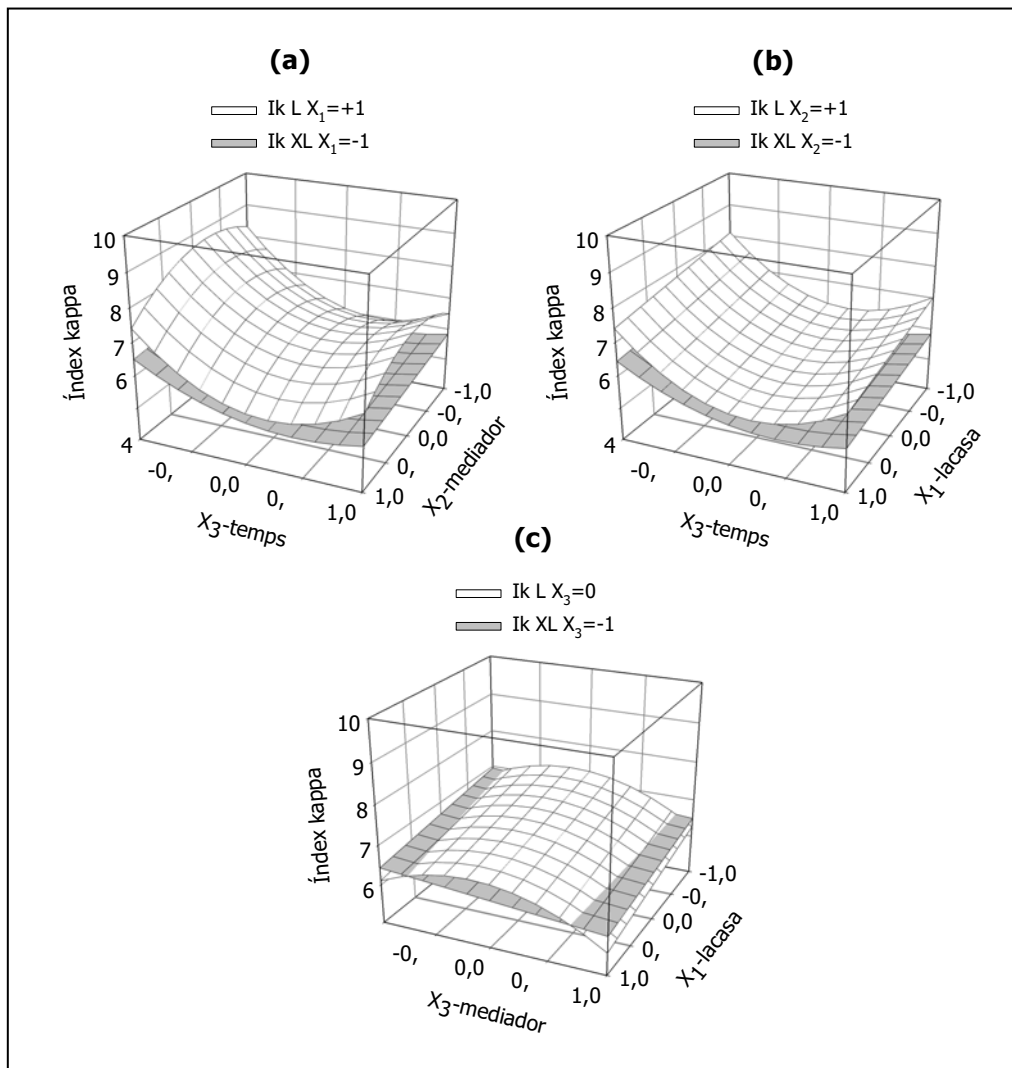


Figura 7-15. Superfícies estimades per a l'índex kappa per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), de mediador (x_2) constant (b), i per un temps de tractament (x_3) constant (c) al punt de menor Ík de la seqüència L i al nivell mínim en XL

S'observa que les superfícies previstes per **XL** estan sempre per sota de les superfícies d'**L**, excepte en alguns punts on el temps de tractament és constant com queda manifest a la Figura 7-1 (c).

Les variables individuals d'**L** no tenen més efecte després del pretractament X com havia estat observat per de la Rosa, 2003 on els reactius com el peròxid i l'hidròxid de sodi accedeixen millor a les fibres després d'aquesta etapa de pretractament enzimàtic, sinó que és tot el sistema lacasa-mediador que actua més eficientment en disminuir l'Ik després de l'etapa X. Això indica que amb un pretractament X es poden reduir les condicions d'aplicació d'**L** tal com es comenta més endavant a l'apartat 7.3.3.3.

7.3.3.2 Efecte del pretractament amb xilanasa en la blancor

La mateixa etapa de pretractament enzimàtic X fa augmentar la blancor el 2, %ISO respecte la pasta inicial i per tant, les pastes **XL** parteixen d'una blancor superior a les **L** abans de realitzar l'etapa amb el sistema lacasa-mediador. Tot i així, després del tractament **L**, les pastes de la seqüència **XL** no presenten una blancor superior a les pastes **L** com es pot observar a la Figura 7-16.

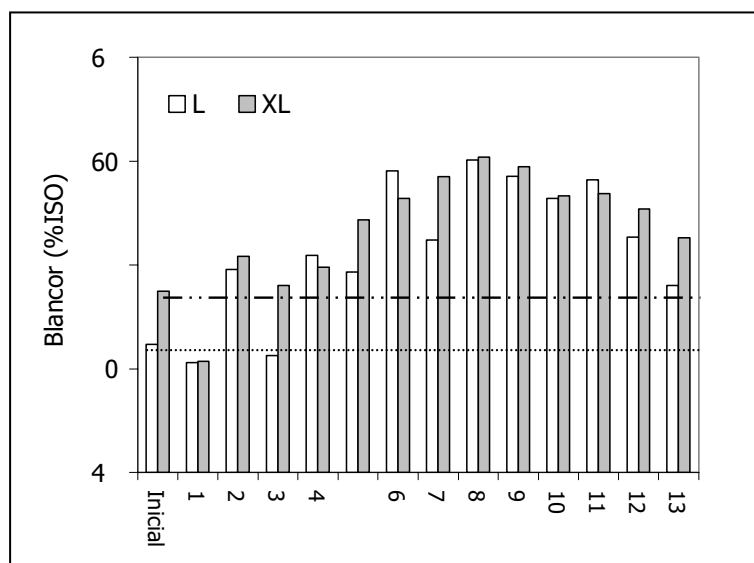


Figura 7-16. Blancor de totes les experiències comparant les seqüències L i XL

L'augment de blancor que es produeix durant l'etapa **L** en les experiències **L** és d'aproximadament el 8% i és superior al que es produeix en les experiències **XL** que és del %. Aquest comportament de la blancor no correspon amb el que s'ha obtingut en l'Ik on en les experiències **XL** la disminució en Ik és major que en les experiències

L; al comparar els models obtinguts entre les propietats d'Ík i blancor també s'ha observat un comportament diferent entre aquestes dues propietats.

El tractament amb el sistema lacasa-mediador oxida la lignina i es formen quinones i grups cromòfors que queden a la pasta després de l'etapa **L** (Chakar i Ragauskas, 2001). Aquesta podria ser una explicació del diferent comportament entre l'Ík i la blancor tot i que també podria ser que l'HBT oxidat es quedi adherit a les fibres i doni color. Al capítol següent es realitza una etapa d'extracció alcalina en aquestes mateixes pastes per tal d'extreure aquestes porcions de lignina que han quedat a la pasta durant l'etapa de tractament **L**.

Si es comparen els models de blancor obtinguts per a les dues seqüències (Eq. 7-8 i Eq. 7-10) s'observa que entre les variables individuals, la variable temps de tractament és la més influent i influeix aproximadament igual en els dos casos. La variable individual dosi de lacasa presenta més influència en **L** mentre que la dosi de mediador en **XL**; en els dos models influeix el terme quadràtic de la dosi de lacasa sent en **L** més influent. Igual que en els models d'Ík, el model de la seqüència **L** és més complex ja que a més també influeixen els termes quadràtics de la dosi de mediador i del temps de tractament.

A la Figura 7-17 estan representades les superfícies estimades per a la blancor de les seqüències **L** i **XL** fixant una de les variables al punt on s'obtenen majors blancors en **L** i al nivell mínim d' x_1 i x_2 i al màxim d' x_3 en **XL**. S'observa que les superfícies previstes per a la blancor **L** estan per sobre de les superfícies **XL**, per tant, segons la propietat de blancor mesurada després de l'etapa **L** (al contrari que en l'Ík) no es poden reduir les condicions d'aplicació d'**L** amb un pretractament X. De tota manera, la finalitat principal de l'etapa **L** és deslignificar més que blanquejar.

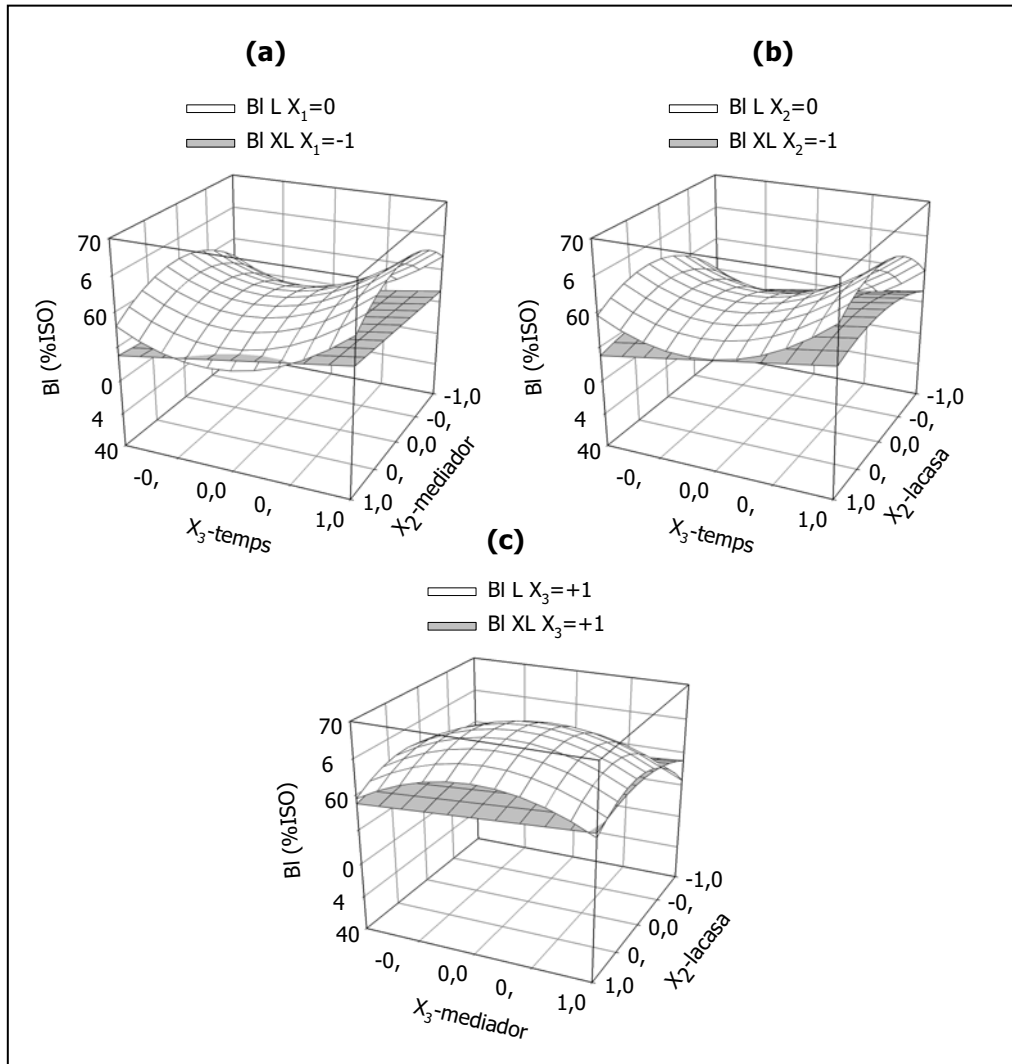


Figura 7-17. Superfícies estimades per a la blancor a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), de mediador (x_2) constant (b), i a un temps de tractament (x_3) constant (c) al punt de major blancor de la seqüència L i al nivell mínim o màxim en XL

7.3.3.3 Estalvi de reactius i de temps amb un pretractament amb xilanas

Tant a l'apartat 7.3.1 com als apartats 7.3.3.1 i 7.3.3.2 ja s'ha comentat que amb una etapa X prèvia al tractament L es pot reduir la dosi de lacasa o de mediador i temps de tractament obtenint un I_k inferior però no amb una blancor superior.

A partir dels models obtinguts es pot estudiar més detalladament aquesta reducció de les condicions del tractament amb el sistema lacasa-mediador amb una etapa de

pretractament enzimàtic amb xilanasa. Per això es realitzen els gràfics de corbes de nivell per a l'Ik de la seqüència **XL** en funció de la dosi de lacasa i del temps de tractament i es fixa la dosi de mediador al nivell mínim ja que és la variable que més interessa reduir en el sistema (Figura 7-18). Les corbes de nivell es limiten al menor Ik al què s'arriba en **L** experimentalment (6,3); aquest valor s'obté en **L** quan totes les variables es troben a condicions màximes (experiència 13).

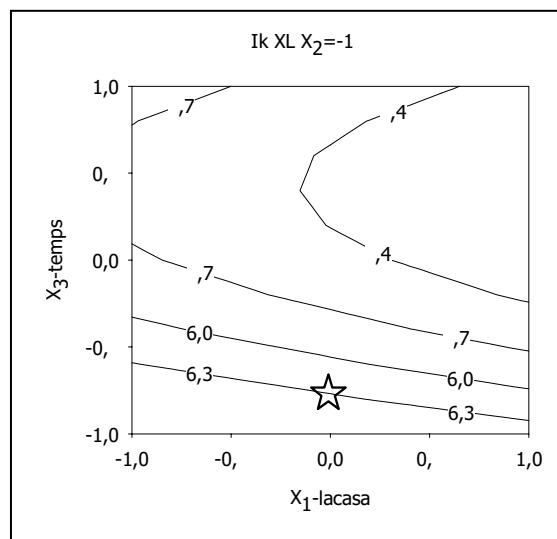


Figura 7-18. Corbes de nivell de la seqüència XL per a $x_2=-1$ fixant el límit del menor Ik assolit a la seqüència L

Per arribar a un Ik de 6,3 en **XL** es pot reduir la dosi de mediador fins al mínim, la dosi de lacasa fins al punt mig i el temps de tractament fins a -0,8. A la Taula 7-9 es mostren les condicions d'**L** en les quals s'assoleix el mínim Ik amb les propietats obtingudes en aquest punt així com les condicions requerides en **XL** per arribar al mateix Ik segons el model.

Amb un pretractament X es pot reduir la dosi de lacasa de 20 U/gps a 10, U/gps (que representa un 47, % menys de lacasa), la dosi de mediador de 2, al 0, %sps (que representa un estalvi del 80%) i el temps de tractament de 7 a 1,6 hores (és a dir, una reducció del temps de ,4 hores). Les pastes que s'obtenen presenten el mateix índex kappa però la blancor és inferior i per tant cal esperar veure què passa després de l'etapa E al capítol següent.

Taula 7-9. Mínim Ik i màxima blancor experimental obtinguda en L amb les seves condicions d'aplicació i condicions d'XL per a obtenir les mateixes propietats

	Dosi de lacasa- x_1 (U/gps)	Dosi de mediador- x_2 (%sps)	Temps de tractament- x_3 (hores)	Ik	BI (%ISO)
Mínim Ik L Experimental	+1 (20)	+1 (2,)	+1 (7)	6,3	60
Condicions XL	0 (10,)	-1 (0,)	-0,8 (1,6)	6,3	,6
Estalvi	9, U/gps	2 %sps	,4 hores		
Estalvi (%)	47,	80	77		

7.4 CONCLUSIONS

Amb una etapa de tractament amb el sistema lacasa-mediador (**L**) l'índex kappa de la pasta d'eucaliptus disminueix fins un 2 % i la blancor augmenta fins el 1 %. La disminució en Ik pot assolir el 40% si es realitza una etapa de pretractament enzimàtic amb xilanas (X) abans de l'etapa **L**. S'obtenen models que prediuen la variació de l'Ik i la blancor en funció de les variables del sistema que són la dosi de lacasa, la dosi de mediador i el temps de tractament per a seqüències **L** i **XL**. En tots els casos les tres variables influeixen sent el temps de tractament la variable més influent. La influència de les variables és molt semblant entre seqüències però l'índex kappa i la blancor es comporten diferent. S'han escollit les millors condicions d'aplicació del tractament **L** donant preferència a disminuir l'Ik i a disminuir la dosi de mediador i s'obté que si es manté la dosi de lacasa màxima (20 U/gps), es pot reduir la dosi de mediador a 0, %sps i el temps de tractament entre 4 i 6,4 hores aproximadament.

El pretractament enzimàtic amb xilanas fa obtenir pastes 1, unitats d'Ik inferior a les pastes sense aquest pretractament però no en fa augmentar la blancor. La influència de les variables en els models no varia significativament i els punts de millor aplicació d'**L** obtinguts són semblants entre les seqüències **L** i **XL**. Per obtenir un Ik determinat es pot estalviar un 47, % de lacasa, un 80% de mediador i reduir el temps de tractament ,4 hores amb una etapa de pretractament X, però la blancor de les pastes és inferior, degut principalment a la disminució del temps.

Les diferències de comportament entre la propietat d'Ik i blancor fa necessari realitzar una etapa posterior d'extracció alcalina sobre les pastes.

7.5 REFERÈNCIES

- Andreu, G. i Vidal, T. (2007) The use of laccase and natural mediators on bleaching of kenaf pulp. 10th International Congress on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry: Integrating biology with processes. Abstracts:73.
- Bajpai, P. (2004) Biological bleaching of chemical pulps. *Critical Reviews in Biotechnology* 24(1):1- 8.
- Bjorklund, M., Germgard, U., Jour, P. i Forsstrom, A. (2002) AOX formation in ECF bleaching at different kappa numbers - Influence of oxygen delignification and hexenuronic acid content. *Tappi Journal* 1(9):20-24.
- Bjorklund, M., Germgard, U. i Basta, J. (2004) Formation of AOX and OCI in ECF bleaching of birch pulp. *Tappi Journal* 3(8):7-12.
- Bourbonnais, R. i Paice, M. (199) Enzymatic delignification of krat pulp using laccase and a mediator. *Tappi Journal* 79():199-204.
- Bourbonnais, R., Paice, M.G., Freiermuth, B., Bodie, E. i Borneman, S. (1997) Reactivities of various mediators and laccases with kraft pulp and lignin model compounds. *Applied and Environmental Microbiology* 63(12):4627-4632.
- Camarero, S., Garcia, O., Vidal, T., Colom, J., del Rio, J.C., Gutierrez, A., Gras, J.M., Monje, R., Martinez, M.J. i Martinez, A.T. (2004) Efficient bleaching of non-wood high-quality paper pulp using laccase-mediator system. *Enzyme and Microbial Technology* 3 (2-3):113-120.
- Chakar, F.S. i Ragauskas, A.J. (2001) Formation of quinonoid structures in laccase-mediator reactions. *ACS Symposium Series* 78 :444-4 .
- Chakar, F.S., Ragauskas, A.J. i Nilvebrant, N. (1998) Biobleaching of high lignin content kraft pulps via laccase-mediator systems. *TAPPI Pulping Conference* 1:10.
- de la Rosa, A. (2003) Utilización papelera de fibras no madereras (kenaf y *Miscanthus sinensis*). Estudio de secuencias de blanqueo ECF y TCF. Tesis doctoral. Departament d'Enginyeria Tèxtil i Paperera. Escola Tècnica superior d'Engineria Industrial i Aeronàutica de Terrassa. Universitat Politècnica de Catalunya. Terrassa, Espanya.
- Fillat, U., Vidal, T. i Roncero, M.B. (2007) Application of an experimental design to modeling the laccase mediator stage in bleaching of flax pulp. 10th International Congress on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. Integrating biology with processes. Abstracts: 119.
- Freudenreich, J., Amann, M., Fritz-Langhals, E. i Stohrer, J. (1998) Understanding the Lignozym- Process. *International Pulp Bleaching Conference* 1:71-76.

- Gallardo, O., Díaz, P. i Pastor, F.I.J. (2004) Cloning and characterisation of xylanase A from the strain *Bacillus* sp. BP-7: comparison with alkaline pI-low molecular weight xylanases of family 11. *Current Microbiology* 48:276-279.
- Gamelas, J.A.F., Pontes, A.S.N., Evtuguin, D.V., Xavier, A.M.R.B. i Esculcas, A.P. (2007) New polyoxometalate-laccase integrated system for kraft pulp delignification. *Biochemical Engineering Journal*, 33(2):141-147.
- Garcia, O., Camarero, S., Colom, J.F., Martinez, A.T., Martinez, M.J., Monje, R. i Vidal, T. (2003) Optimization of a laccase-mediator stage for TCF bleaching of flax pulp. *Holzforchung* 7(): 13- 19.
- García, O. (2003) Utilización de fibras de lino en la fabricación de papel. Nuevas secuencias de blanqueo y aplicación de sistemas enzimáticos. Tesis doctoral. Departament d'Enginyeria Tèxtil i Paperera. Escola Tècnica superior d'Enginyeria Industrial i Aeronàutica de Terrassa. Universitat Politècnica de Catalunya. Terrassa, Espanya.
- Gomes, C.M., Colodette, J.L., Munteer, A.H., Del'antonio, N.R.N. i Silva, C.M. (2007) Characterization and biodegradability of effluents derived from hot acid hydrolysis and hot chlorine dioxide bleaching of eucalyptus pulp. *Appita Journal* 60(1):6 -69.
- Herpoël, I., Jeller, H., Fang, G., Petit-Conil, M., Bourbonnais, R., Robert, J.L., Asther, M. i Sigoillot, J.C. (2002) Efficient enzymatic delignification of wheat straw pulp by a sequential xylanase-laccase mediator treatment. *Journal of Pulp and Paper Science* 28 (3):67-71.
- Ibarra, D., Camarero, S., Romero, J., Martinez, M.J. i Martinez, A.T. (2006 (a)) Integrating laccase - Mediator treatment into an industrial-type sequence for totally chlorine-free bleaching of eucalypt kraft pulp. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81(7):11 9-116 .
- Ibarra, D., Romero, J., Martinez, M.J., Martinez, A.T. i Camarero, S. (2006 (b)) Exploring the enzymatic parameters for optimal delignification of eucalypt pulp by laccase-mediator. *Enzyme and Microbial Technology* 39(6):1319-1327.
- Nelson, P.J., Chin, C.W.J., Viikari, L. i Tenkanen, M. (1998) Use of a laccase mediator stage in bleaching eucalypt kraft pulps. *Appita Journal* 1(6):4 1-4 .
- Oksanen, T., Amann, M., Candussio, A., Buchert, J. i Viikari, L. (1997) Role of xylanase in laccase-mediator delignification of kraft pulps. 9th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry. Montréal, Canada 83:1-4.
- Oudia, A., Meszaros, E., Simoes, R., Queiroz, J. i Jakab, E. (2007) Pyrolysis-GC/MS and TG/MS study of mediated laccase biodelignification of *Eucalyptus globulus* kraft pulp. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 78(2):233-242.

- Pedrola, J., Roncero, M.B., Colom, J.F., Vidal, T. i Torres, A.L. (2004) Application of an experimental design to modelling the hydrogen peroxide stage in TCF bleaching of eucalypt pulp. *Appita Journal* 7(2):141-14 .
- Popovici, C., Messier, M., Thibault, L. i Charron, D. (2004) Multiples avantages du xylanase dans une usine nexfor papiers fraser de pâte kraft de feuillus. *Pulp & Paper Canada* 10 (12):278-281.
- Roncero, M.B., Torres, A.L., Colom, J.F. i Vidal, T. (2000) Effects of a xylanase treatment on fibre morphology in totally chlorine free bleaching (TCF) of Eucalyptus pulp. *Process Biochemistry* 36:4 - 0.
- Roncero, M.B., Torres, A.L., Colom, J.F. i Vidal, T. (2003a) TCF bleaching of wheat straw pulp using ozone and xylanase. Part A: paper quality assessment. *Bioresource technology* 87:30 -314.
- Roncero, M.B., Torres, A.L., Colom, J.F. i Vidal, T. (2003b) Effect of xylanase on ozone bleaching kinetics and properties of Eucalyptus kraft pulp. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 78(1):1023-1031.
- Shatalov, A.A. i Pereira, H. (2007) Xylanase pre-treatment of giant reed organosolv pulps: Direct bleaching effect and bleach boosting. *Industrial Crops and Products* 2 (3):248-2 6.
- Sigoillot, C., Camarero, S., Vidal, T., Record, E., Asther, M., Perez-Boada, M., Martinez, M.J., Sigoillot, J.C., Asther, M., Colom, J.F. i Martinez, A.T. (200) Comparison of different fungal enzymes for bleaching high-quality paper pulps. *Journal of Biotechnology* 11 (4):333-343.
- Surma-Slusarska, B. i Leks-Stepien, J. (2001) TCF bleaching of kraft pulps with laccase and xylanase. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 21(4):361-370.
- Torres, A.L., Roncero, M.B., Colom, J.F., Martínez, J.A. i Vidal, T. (2004) Application of an experimental design to modeling of ozone bleaching stage in TCF processes. *Ozone: Science and Engineering* 26():443-4 1.
- Vicuña, R., Escobar, F., Osses, M. i Jara, A. (1997) Bleaching of eucalyptus Kraft pulp with commercial xylanases. *Biotechnology Letters* 19(6): 7 - 78.