

Capítol 8

Optimització del sistema lacasa-mediador. Efecte del pretractament enzimàtic amb xilanasa (LE i XLE)

RESUM

S'avalua l'efectivitat de seqüències **LE** i **XLE**, sent L tractament amb el sistema lacasa-mediador, E una etapa d'extracció alcalina i X una etapa de pretractament enzimàtic amb xilanasa, per a deslignificar i blanquejar la pasta kraft d'*Eucalyptus globulus* deslignificada amb oxigen. L'etapa L s'optimitza aplicant un pla estadístic seqüencial de tres variables que són: dosi de lacasa, dosi de mediador i temps de tractament. Les propietats de les pastes es mesuren després de l'etapa E i les respostes que es modelitzen són les propietats d'índex kappa i blancor. Els resultats demostren que les tres variables influeixen, sent el temps de tractament la variable més influent i la dosi de mediador la que menys influeix en el sistema. S'escullen les millors condicions d'aplicació de l'etapa L amb l'objectiu d'estalviar lacasa i sobretot mediador i reduir el temps de tractament, sense alterar les propietats d'índex kappa i blancor.

El pretractament enzimàtic amb xilanasa no varia significativament la influència de les variables d'L però potencia l'efecte del sistema lacasa-mediador en disminuir l'Ik, i fa obtenir pastes amb major blancor. Per una determinada blancor, un pretractament X pot permetre l'estalvi de lacasa, de mediador i reduir el temps de tractament obtenint pastes amb menor índex kappa.

8.1 INTRODUCCIÓ

Al capítol anterior s'han optimitzat les variables del sistema lacasa-mediador (L) després de la mateixa etapa L en seqüències L i XL utilitzant un pla estadístic seqüencial. Les respostes optimitzades han estat les propietats d'índex kappa i blancor i s'ha observat que aquestes dues no es comporten de la mateixa manera en els models i que el pretractament amb xilanasa (X) facilita l'acció del sistema lacasa-mediador en disminuir l'índex kappa però no s'obtenen pastes amb major blancor.

D'altra banda, la majoria de treballs descrits a la bibliografia avaluen l'efecte del tractament L després d'una etapa posterior alcalina o bé després d'una etapa amb peròxid d'hidrogen (Herpoël *et al.*, 00 ; García *et al.*, 003; Camarero *et al.*, 004; Sigoillot *et al.*, 005; Gamelas *et al.*, 007; Oudia *et al.*, 007).

Segons Call i Muecke, (1997) i Freudenreich *et al.*, (1998) durant l'etapa L es produeixen fraccions de lignina que no són solubles en el pH de l'etapa enzimàtica i que queden a la pasta, la qual cosa fa necessari realitzar una etapa posterior alcalina (E) per a extreure aquestes fraccions. Segons Chakar i Ragauskas, (000 i 001), quan s'aplica un tractament L en pastes kraft de coníferes (d'alt contingut en Ik) s'obté una pèrdua de blancor que es recupera després d'una etapa E, degut a la formació de quinones durant el tractament L. L'extracció alcalina redueix les quinones degut a la reactivitat de l'hidròxid de sodi amb aquestes estructures ja que addiciona ions hidroxil que n'augmenten la seva solubilitat. Una etapa E no és blanquejant sinó que l'augment de blancor es produeix per la dissolució dels productes cromòfors que s'han format durant l'etapa L.

També és conegut que el sistema lacasa-mediador introdueix grups carbonil i carboxil a la lignina (García *et al.*, 003), aquests últims fan que la lignina sigui més hidrofílica i en una etapa posterior pot ser dissolta (Poppius-Levlin *et al.*, 1999; Chakar i Ragauskas, 000). Per tant, és necessari aplicar aquesta etapa alcalina posterior per a extreure la lignina que ha modificat el sistema.

Així doncs, en aquest capítol es realitza una etapa d'extracció alcalina a les diferents pastes obtingudes al capítol anterior i de la mateixa manera, s'aplica un pla estadístic seqüencial per a estudiar la influència de les variables del sistema lacasa-mediador (L): dosi de lacasa, dosi de mediador i temps de tractament en les propietats de la pasta després de l'etapa E en les seqüències **LE** i **XLE**. El tractament L s'optimitza a partir de les propietats d'índex kappa i blancor. Simultàniament s'avalua l'efecte del pretractament enzimàtic amb xilanasas (X) en potenciar l'efecte del tractament L comparant els resultats entre les dues seqüències.

8.2 MATERIALS I MÈTODES

8.2.1 Matèria prima

La matèria prima utilitzada en aquest estudi és pasta Kraft d'eucaliptus (*Eucalyptus globulus*), designificada amb oxigen. És de procedència industrial i cedida 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 50 mM, a pH 7 i a temperatura ambient durant 30 minuts. Les característiques de la pasta crua es mostren a la Taula 8-1.

Taula 8-1. Propietats de les pastes inicial i X

	Inicial	X
Índex kappa	8,4	8,4
Blancor (%ISO)	51,	53,7

8.2.2 Pretractament amb xilanasa (X)

Per a l'etapa X la xilanasa utilitzada és la X_G la qual en capítols anteriors (3-8) ha resultat ser la més efectiva i correspon a la XynA de *Bacillus sp.* BP-7. Aquesta xilanasa ha estat aïllada i caracteritzada per Gallardo *et al.*, 004. 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 hores i a temperatura de 50°C. Passades les 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. Les característiques d'aquesta pasta s'indiquen a la Taula 8-1.

8.2.3 Tractament amb el sistema lacasa-mediador (L)

La lacasa utilitzada és una lacasa comercial de *Trametes villosa* (S-5100) proporcionada per OVOZYMES®. El mediador utilitzat és l'HBT (1-hidroxibenzotriazol) de Fluka (Sigma-Aldrich). Els tractaments L es realitzen al 5% de consistència amb una solució tamponada 50mM de tartrat de sodi a pH 4. L'assaig es realitza en el reactor a pressió a 590 kPa, a 30°C 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 s'especifiquen en el seu corresponent apartat. Al tractament L s'hi afegixen unes gotes de Tween 80 al 0,05% p/v com tensioactiu. Després de l'etapa L es recuperen els lleixius i es renta la pasta abans de realitzar l'extracció alcalina.

8.2.3.1 Disseny experimental

Els diferents tractaments enzimàtics es realitzen seguint un pla estadístic seqüencial 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: x₁ ≡ dosi de lacasa (1- 0 U/gps), x₂ ≡ dosi d'HBT (0,5- ,5% sps), x₃ ≡ temps de tractament (1-7 h). L'assignació de les variables i les dosis en cada cas són les que s'indiquen a la Taula 8- .

Taula 8-2. Variables a estudiar amb els factors de cada nivell

	VARIABLES	-1	0	+1
x_1	Dosi de lacasa (U/gps)	1	10,5	0
x_2	Dosi d'HBT (% sps)	0,5	1,5	,5
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 **LE** com per l'**XLE** i per tant es realitzen dues experiències addicionals per a desconfondre'ls. En total es realitzen 13 experiències per a cada seqüència (**LE** i **XLE**), les condicions de les quals s'especifiquen a la Taula 8-3.

Taula 8-3. 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	0,5	1
2	1	-1	-1	0	0,5	1
3	-1	1	-1	1	,5	1
4	1	1	-1	0	,5	1
5	-1	-1	1	1	0,5	7
6	1	-1	1	0	0,5	7
7	-1	1	1	1	,5	7
8	1	1	1	0	,5	7
9	0	0	0	10,5	1,5	4
10	0	0	0	10,5	1,5	4
11	0	0	0	10,5	1,5	4
12	1	0	0	0	1,5	4
13	0	-1	0	10,5	0,5	4

8.2.4 Etapa d'extracció alcalina (E)

De les pastes obtingudes després de l'etapa L se'ls realitza una etapa E d'extracció alcalina. L'etapa E es realitza en el reactor individual oscil·lant Easydye de Datacolor. Els tractaments s'efectuen al 5 % de consistència, 1,5 % de aOH durant 1 0 min a una temperatura de 90 °C. Passat el temps de tractament, es recuperen els lleixius i es renta la pasta abans de determinar-ne les seves propietats.

8.2.5 Propietats de les pastes

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

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 E respecte la pasta inicial segons les Eq. 8-1 i Eq. 8-2 respectivament. A les pastes de la seqüència **XLE** es calcula la disminució en índex kappa i l'augment de blancor que es produeix durant les etapes L i E sense tenir en compte l'efecte que es produeix durant l'etapa X a partir de les Eq. 8-3 i Eq. 8-4.

$$\text{Disminució Ik (\%)} = \frac{\text{Ik}_i - \text{Ik}_E}{\text{Ik}_i} \quad \text{Eq. 8-1}$$

$$\text{Augment Blancor (\%)} = \frac{\text{Bl}_E - \text{Bl}_i}{\text{Bl}_E} \quad \text{Eq. 8-2}$$

$$\text{Dism. Ik (\%)}_{LE(XLE)} = \text{Dism. Ik (\%)}_{XLE} - \text{Dism. Ik (\%)}_X \quad \text{Eq. 8-3}$$

$$\text{Augment Blancor (\%)}_{LE(XLE)} = \text{Augment Bl (\%)}_{XLE} - \text{Augment Bl (\%)}_X \quad \text{Eq. 8-4}$$

on "i" indica la pasta crua inicial i "E" la pasta tractada després de l'etapa d'extracció alcalina.

8.3 RESULTATS I DISCUSSIÓ

Els resultats d'índex kappa i blancor de cada experiment mesurats després de l'etapa E (seqüències **LE** i **XLE**) es mostren a la Taula 8-4. En la seqüència **LE** els rangs de resultats per l'índex kappa i la blancor van de 4,7 a 6,4 i de 56,1 a 68,9%ISO respectivament, mentre que a la seqüència **XLE** el rang de resultats per a l'índex kappa i la blancor va de 3,8 a 5,6 i de 57,9 a 71,4 %ISO respectivament.

Taula 8-4. Índex kappa i blancor de totes les experiències

Exp.	x ₁	x ₂	x ₃	LE		XLE	
				Índex kappa	Blancor (%ISO)	Índex kappa	Blancor (%ISO)
1	-1	-1	-1	6,4	56,1	5,6	57,9
2	1	-1	-1	5,	60,7	4,7	66,6
3	-1	1	-1	6,	57,	4,8	6 ,0
4	1	1	-1	5,1	63,7	4,1	67,8
5	-1	-1	1	5,5	60,9	4,6	66,4
6	1	-1	1	5,	66,7	4,	71,3
7	-1	1	1	5,3	63,9	4,	69,7
8	1	1	1	4,7	68,8	3,8	71,4
9	0	0	0	5,1	68,3	3,8	70,3
10	0	0	0	4,8	66,7	4,1	70,1
11	0	0	0	5,0	65,7	4,	70,
12	1	0	0	4,9	68,9	4,3	70,4
13	0	-1	0	5,5	66,5	4,4	67,8

Si es comparen gràficament les propietats de blancor vs. índex kappa (Figura 8-1) s'observa que els punts experimentals segueixen una certa tendència lineal on una disminució de l'índex kappa comporta un augment de blancor.

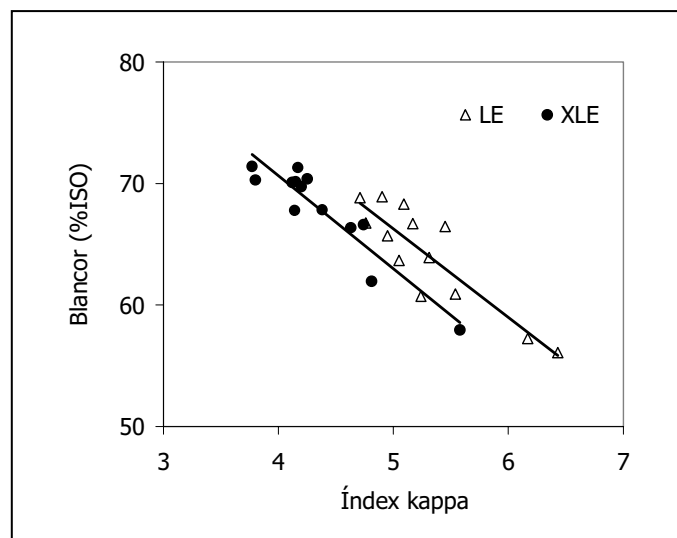


Figura 8-1. Relació entre l'índex kappa i la blancor de totes les experiències en les seqüències LE i XLE

Aquests resultats concorden amb els obtinguts per Garcia, *et al.* (003) en pasta de lli. En el capítol anterior on s'estudien aquestes propietats després de l'etapa L s'ha vist que a igualtat de blancor entre experiències les pastes XL presenten sempre 1- punts menys d'índex kappa. Al comparar ara les mateixes pastes després de l'etapa E, a igualtat de blancor també les **XLE** presenten un Ik inferior (1 punt) però les experiències **XLE** presenten sempre una blancor superior a les **LE** (d'1,4 a 6% ISO depenent de l'experiència).

Al capítol anterior s'ha vist que durant L es produïa disminució de l'Ik i augment de la blancor en gairebé totes les experiències i que la disminució de l'Ik era superior en XL mentre que l'augment de blancor era igual entre seqüències o bé major en L. A la Figura 8- (a i b) es mostren els resultats de disminució de l'Ik i increment de blancor que es produeix durant **LE** en les seqüències **LE** i **XLE**.

Després de l'etapa E en les seqüències **LE** i **XLE** es produeix una disminució de l'Ik i un augment de la blancor en totes les experiències realitzades. La disminució d'Ik (Figura 8- (a)) va del 3 al 43% en la seqüència **LE** i del 33 al 55% en la seqüència **XLE**, el què va d'acord amb el que han obtingut altres autors en pasta d'eucaliptus (Oudia *et al.*, 007; elson *et al.*, 1998; Ibarra *et al.*, 006) i en palla de blat (Herpoël *et al.*, 00). L'increment de blancor (Figura 8- (b)) va del 9 al 6% en la seqüència **LE** i del 7 al 4% en la seqüència **XLE**. Aquest augment de blancor és superior a l'obtingut per Herpoël *et al.*, (00) en palla de blat i per Oksanen *et al.*, (1997) en pi i bedoll i va d'acord amb el que Ibarra *et al.*, 006 han obtingut en pasta d'eucaliptus.

Així doncs, la disminució en l'Ik és sempre superior en **XLE**, el què va d'acord amb l'obtingut per Herpoël *et al.*, (00) on es diu que el pretractament amb xilanasa facilita l'accessibilitat de la lacasa a la lignina residual. D'altra banda, l'augment de blancor és semblant entre les dues seqüències, segurament perquè les pastes **XLE** parteixen d'una blancor superior el que fa més difícil d'augmentar-la; tot i així les pastes **XLE** presenten sempre una blancor superior.

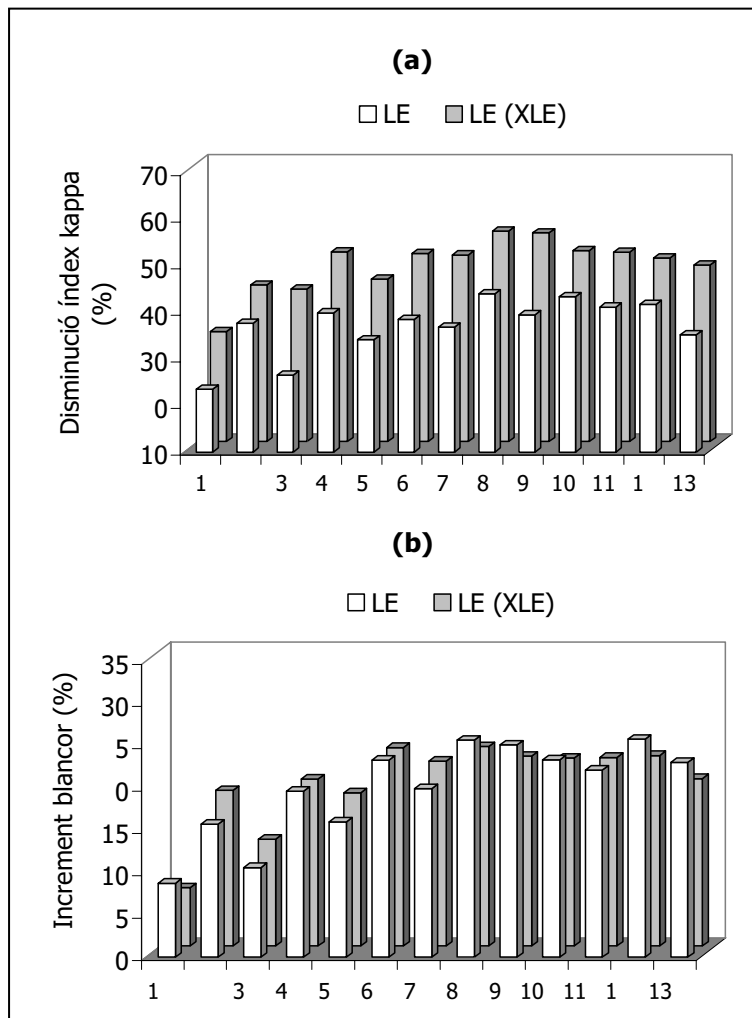


Figura 8-2. Disminució de l'índex kappa (a) i increment de blancor (b) durant LE de totes les experiències en les seqüències LE i XLE

8.3.1 Efecte de les variables en l'Ík i la blancor

Abans de realitzar els models de les respostes d'Ík i blancor, s'analitza l'efecte de cada variable en aquestes propietats a partir dels resultats experimentals. De la Figura 8-3 a la Figura 8-5 es representen els resultats d'Ík i blancor de les experiències agrupades en quatre blocs on estan fixats dues de les variables i la tercera varia entre el nivell -1 (nivell mínim) i +1 (nivell màxim), les dues primeres columnes de cada bloc corresponen a les pastes **LE** i la tercera i la quarta a les pastes **XLE**. 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.

8.3.1.1 Efecte de la dosi de lacasa (x_1)

A la Figura 8-3 (a) s'avalua l'efecte de la dosi de lacasa en l'índex kappa. A la seqüència **LE**, passar de dosi de lacasa mínima a màxima provoca una disminució de l'Ík de 0,3 a 1, punts depenent de les condicions de les altres dues variables; el màxim efecte es produeix quan la dosi de mediador (x_2) i el temps de tractament (x_3) es troben al nivell mínim (A) i el mínim efecte quan la dosi de mediador és mínima i el temps de tractament és màxim (C). A la seqüència **XLE**, la disminució d'Ík produïda per la lacasa va de 0,4 a 0,9, produint-se el màxim efecte quan les altres dues variables es troben al nivell mínim (A).

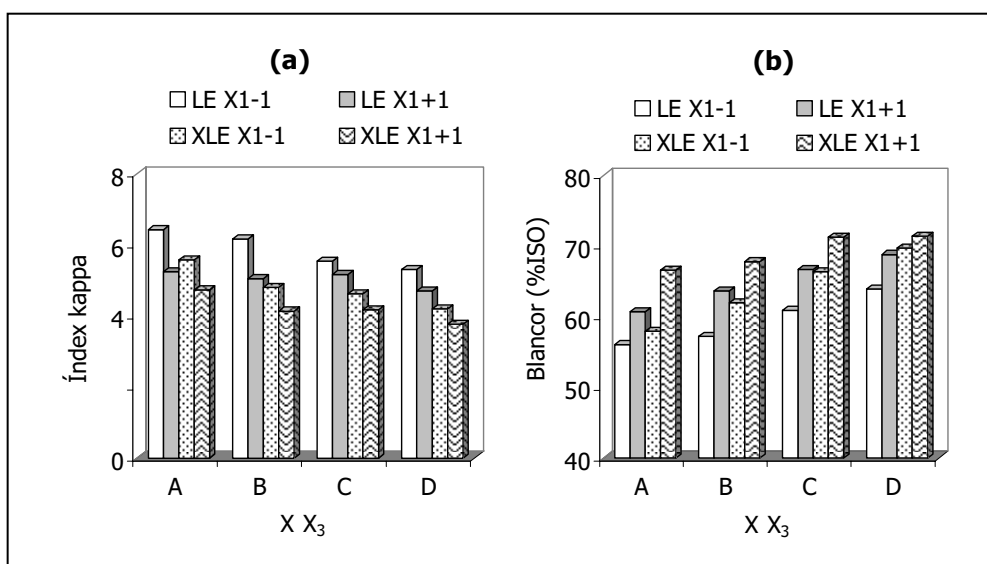


Figura 8-3. Efecte de la dosi de lacasa x_1 en l'índex kappa (a) i en la blancor (b) en les seqüències LE i XLE. A ($x_2=-1$; $x_3=-1$); B ($x_2=+1$; $x_3=-1$); C ($x_2=-1$; $x_3=+1$); D ($x_2=+1$; $x_3=+1$)

A la Figura 8-3 (b) s'avalua l'efecte de la dosi de lacasa en la blancor. A la seqüència **LE**, l'augment de blancor produït per l'efecte de la lacasa va de 4,6 a 6,5, l'augment mínim es dona quan les variables x_2 i x_3 són mínimes (A), mentre que l'augment màxim es dona quan x_2 és màxim i x_3 és mínim (B). A la seqüència **XLE**, l'augment de blancor produït per la lacasa va d'1,7 quan x_2 i x_3 són les dues màximes (D) a 8,7 quan les altres dues variables són mínimes (A).

Si es comparen la segona i la tercera columna de cada bloc de columnes, és a dir, si es comparen les propietats d'índex kappa i blancor quan la lacasa és màxima a la seqüència **LE** (segona columna) amb les propietats d'índex kappa i blancor quan la

lacasa és mínima a la seqüència **XLE** (tercera columna) es pot estudiar un possible estalvi de lacasa si a la pasta se li aplica un pretractament X. En l'índex kappa (a), s'observa (excepte en A on x_1 i x_3 són mínimes) que quan la lacasa és mínima en **XLE** s'obté menor I_k que quan la lacasa és màxima en **LE**, el que indica que si es realitza una etapa de pretractament enzimàtic amb xilanasa abans del tractament amb el sistema lacasa-mediador (L) es pot reduir fins al mínim la dosi de lacasa i l'índex kappa que s'obté encara és inferior al que s'obté en **LE** a dosi màxima de lacasa. Pel que fa a la blancor (b), tot i que en les pastes **XLE** sempre és més alta que en **LE**, només es veu aquest efecte en C i D.

8.3.1.2 Efecte de la dosi de mediador (x_2)

A la Figura 8-4 (a) s'avalua l'efecte de la dosi de mediador en l'índex kappa. A la seqüència **LE**, la disminució d' I_k produïda per l'augment de la dosi de mediador va de 0,1 a 0,5 i el major efecte es veu quan les altres dues variables es troben al nivell màxim (D). A la seqüència **XLE**, la disminució d' I_k pel mediador va de 0,4 a 0,8 punts d' I_k , i on es produeix més disminució de l' I_k és quan les altres dues variables són mínimes (A).

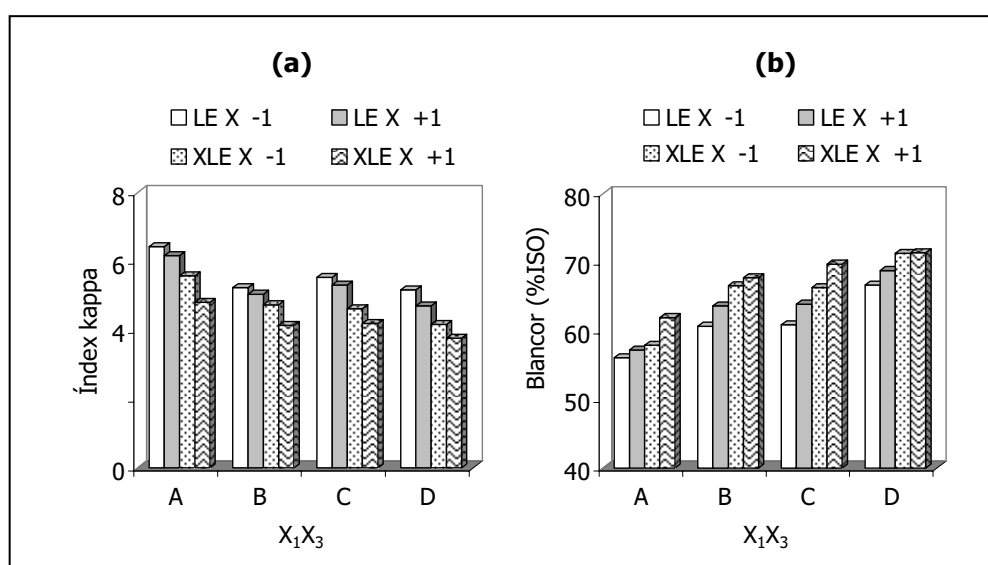


Figura 8-4. Efecte de la dosi de mediador x_2 en l'índex kappa (a) i en la blancor (b) en les seqüències LE i XLE. A ($x_1=-1$; $x_3=-1$); B ($x_1=+1$; $x_3=-1$); C ($x_1=-1$; $x_3=+1$); D ($x_1=+1$; $x_3=+1$)

A Figura 8-4 (b) s'avalua l'efecte de la dosi de mediador en la blancor. A la seqüència **LE**, l'augment de blancor pel mediador va d'1,1 a 3 %ISO, el mínim augment es

produeix quan les altres dues variables són mínimes (A), mentre que el màxim augment es produeix en els dos casos que les variables x_1 i x_3 presenten diferent nivell (C i D). A la seqüència **XLE**, l'augment de blancor va de 0,1 a 4,1 %ISO, el mínim augment es produeix quan les altres dues variables són màximes (D) mentre que el màxim augment es produeix quan les altres dues variables són mínimes (A).

Igual que s'ha fet en la dosi de lacasa, si es comparen la segona i la tercera columna de cada bloc de columnes, es pot estudiar un possible estalvi de mediador si a la pasta se li aplica un pretractament X. S'observa que quan la dosi de mediador és mínima en **XLE**, s'obté un menor I_k i una major blancor que quan la dosi de mediador és màxima en **LE**, el qual resulta interessant ja que si a la pasta se li realitza un pretractament X es podria reduir la dosi de mediador del tractament L fins al mínim obtenint-se inclús millors propietats de les pastes que quan la dosi de mediador és màxima sense aquest pretractament.

8.3.1.3 Efecte del temps de tractament (x_3)

A la Figura 8-5 (a) s'avalua l'efecte del temps de tractament en l'índex kappa. A la seqüència **LE**, la disminució de l' I_k produïda al passar del temps mínim al màxim va de 0 (B) a 0,9 (A i C). A la seqüència **XLE**, es produeix la mínima disminució d' I_k (0,3) quan les variables x_1 i x_3 es troben les dues al nivell màxim (D), mentre que quan les variables x_1 i x_3 es troben les dues al nivell mínim (A), la disminució de l' I_k és màxima (1).

A la Figura 8-5 (b) s'avalua l'efecte del temps de tractament en la blancor. A la seqüència **LE**, l'augment de la blancor produïda pel temps de tractament va de 4,8 a 6,7 %ISO, sent mínim en A i màxim en C. A la seqüència **XLE**, l'augment de blancor va de 3,6 a 8,5 %ISO, sent mínim quan les altres dues variables es troben al nivell màxim (D) i sent màxim quan les altres dues variables són mínimes (A).

Igual que s'ha fet amb la dosi de lacasa i mediador, si es comparen la segona i la tercera columna de cada bloc de columnes, s'observa que l'índex kappa que s'obté quan el temps de tractament és mínim en la seqüència **XLE** és inferior que quan el temps de tractament és màxim en la seqüència **LE** en tots els casos excepte quan les variables dosi de lacasa i dosi de mediador són mínimes (A) on l' I_k és el mateix. En la blancor (b) no passa el mateix ja que excepte en B on la blancor és la mateixa quan el temps **XLE** és mínim i el temps **LE** és màxim, en els altres casos tot i la blancor ser superior en **XLE** respecte **LE** per temps de tractaments màxims en ambdós casos, quan el temps de tractament és mínim en **XLE** la blancor és inferior a quan el temps de tractament és màxim en **LE**.

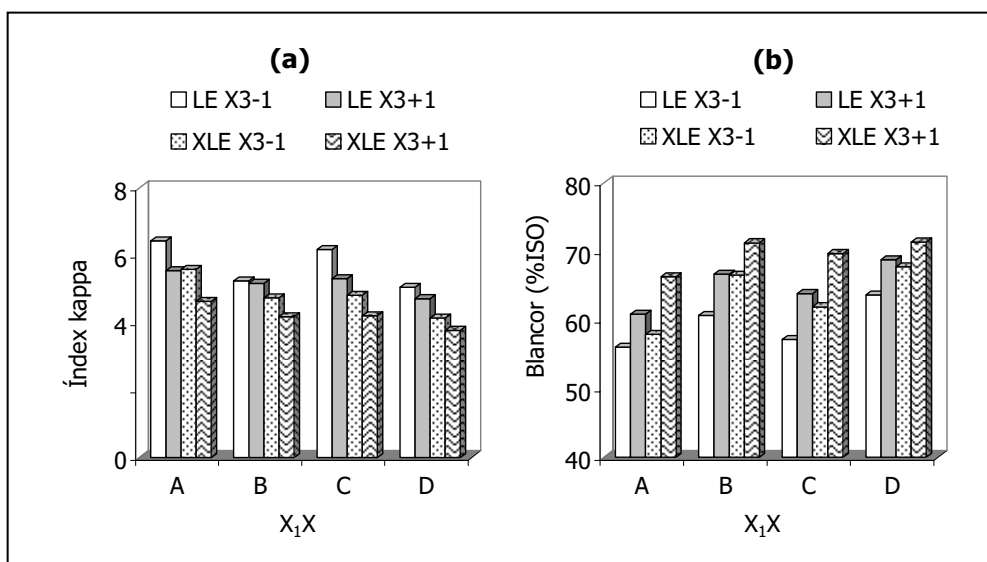


Figura 8-5. Efecte del temps de tractament x_3 en l'índex kappa (a) i en la blancor (b) en les seqüències LE i XLE. A ($x_1=-1$; $x_2=-1$); B ($x_1=+1$; $x_2=-1$); C ($x_1=-1$; $x_2=+1$); D ($x_1=+1$; $x_2=+1$)

A 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.

Un aspecte important d'aquests resultats és que amb un pretractament X es podria reduir tant la dosi de lacasa i la dosi de mediador com el temps de tractament fins al nivell mínim i l'Ík que s'obtingria seguiria sent menor que quan aquestes variables es troben al nivell màxim quan no hi ha una etapa prèvia de pretractament X (seqüència **LE**). En la blancor de les pastes passaria el mateix amb la dosi de mediador, la dosi de lacasa i el temps de tractament que també es podrien disminuir tot i que no fins al nivell mínim. A l'apartat 8.3.3.3 es discuteix més detalladament l'estalvi de reactius i del temps de tractament amb una etapa X.

8.3.2 Models

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

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^3 b_i x_{ni} + \sum_{i=1}^3 c_i x_{ni} + \sum_{i=1; j=1}^3 d_{ij} x_{ni} x_{nj} \quad \text{Eq. 8-5}$$

$$\text{on } x_n = \frac{x - \bar{x}}{x_{\max} - x_{\min}} * \quad \text{Eq. 8-6}$$

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- 0 U g⁻¹), x_2 (0,5- ,5 % 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 pas a pas cap enrere (es descarten els termes amb probabilitat inferior a 0,05).

En els quatre casos (índex kappa i blancor per les seqüències **LE** i **XLE**) s'analitza el model lineal ³ i seguidament s'afegeixen les tres experiències en el 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 **LE** i **XLE** amb els seus corresponents ajusts (Eq. 8-7 - Eq. 8-10).

Model índex kappa **LE**

$$Y_{IKLE} = 5,0 - 0,4 x_1 - 0,17x_2 - 0,17x_3 + 0,17x_1x_3 + 0,4 x_1x_2 \quad \text{Eq. 8-7}$$

$$R^2 = 0,94$$

Model blancor **LE**

$$Y_{BI(\%ISO)LE} = 66,9 + 0,65x_1 + 1,07x_2 + 0,84x_3 - 4,65x_3^2 \quad \text{Eq. 8-8}$$

$$R^2 = 0,98$$

Model índex kappa XLE

$$Y_{IkXLE} = 4,04 - 0,30x_1 - 0,31x_3 + 0,47x_3^2$$

$$R = 0,94$$

Eq. 8-9

Model blancor XLE

$$Y_{BI(\% ISO)XLE} = 70,15 + 0,63x_1 + 1,09x_2 + 3,07x_3$$

$$- 0,77x_1x_2 - 0,99x_1x_3 - 0,35x_1^2 - 1,18x_2^2$$

$$R = 1,00$$

Eq. 8-10

on $x_1 = (L-10,5)/9,5$, L= dosi de lacasa, U g⁻¹; $x_2 = (M-1,5)/1$, M=dosi de mediador HBT, %; $x_3 = (t-4)/3$, t= temps de tractament, hores.

Com es pot observar en els valors d'ajusts R , els quatre models s'ajusten bé, tot i que s'ajusten millor els models de blancor que d'índex kappa.

8.3.2.1 Model d'índex kappa per a la seqüència LE

El model Ik per a la seqüència **LE** (Eq. 8-7) que prediu un Ik que pot anar de 6,5 a 4,6, és influenciat per les tres variables x_1 dosi de lacasa, x_2 dosi de mediador i x_3 temps de tractament, les quals actuen disminuint-lo. La interacció doble entre la dosi de lacasa i el temps de tractament (x_1x_3) així com el terme quadràtic de la dosi de lacasa (x_1^2) també tenen influència en l'índex kappa, amb coeficients positius.

La dosi de lacasa (x_1) influeix 1,5 vegades més que el temps (x_3) i 0,5 vegades més que el mediador i la interacció x_1x_3 , essent doncs la variable més influent en l'Ik, inclús en el seu terme quadràtic.

A la Figura 8-6 (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 (a) s'observa gran disminució de l'índex kappa al passar de la dosi de lacasa baixa a dosi mitja, mentre que entre dosis mitges i altes l'índex kappa és semblant, això és degut a l'efecte quadràtic de la lacasa que tal com queda manifest a les figures b i c, l'índex kappa disminueix al augmentar la dosi de lacasa fins que s'arriba a una dosi límit de 13 U/gps a partir de la qual l'Ik s'estabilitza i augmenta lleugerament. El temps de tractament influeix més en disminuir l'Ik quan la lacasa presenta dosis baixes o mitges que dosis altes com s'observa a la figura (a).

La dosi de mediador i el temps de tractament influeixen linealment en els models (figures a, b i c) el què vol dir que augmentar la dosi de mediador o bé el temps de tractament sempre provoca disminució de l'índex kappa, tot i que la influència del mediador és molt lleugera.

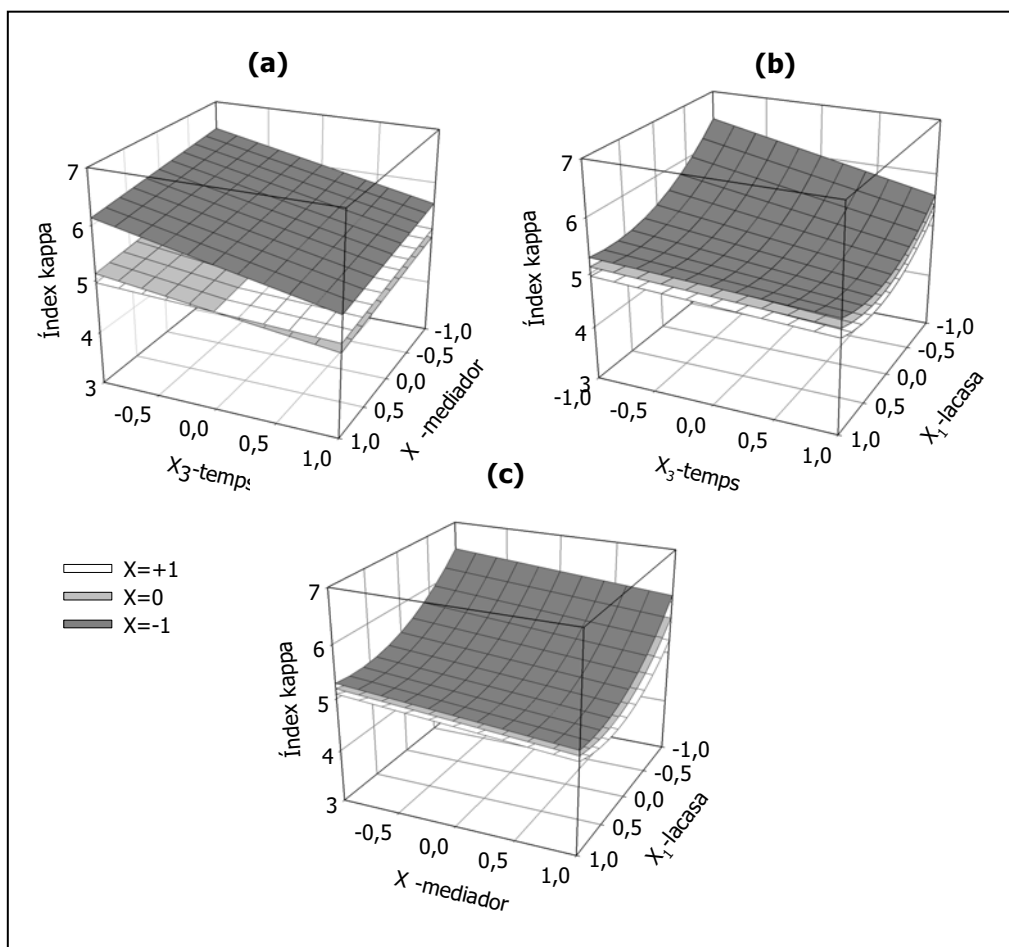


Figura 8-6. Superfícies estimades per a l'índex kappa en la seqüència LE per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

8.3.2.2 Model de blancor per a la seqüència LE

El model de blancor **LE** (Eq. 8-8) prediu que es poden obtenir blancors des de 55,7 fins a 71 %ISO. Les tres variables x_1 dosi de lacasa, x_2 dosi de mediador i x_3 temps de tractament influeixen augmentant la blancor de les pastes. Les variables que més influència tenen són el temps de tractament seguit de la dosi de lacasa les quals

presenten coeficients que són més del doble del coeficient de la dosi de mediador. El terme quadràtic de la variable temps de tractament (x_3) també influeix en aquest model de blancor amb un coeficient negatiu i 1,6 vegades més alt que la variable individual x_3 .

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

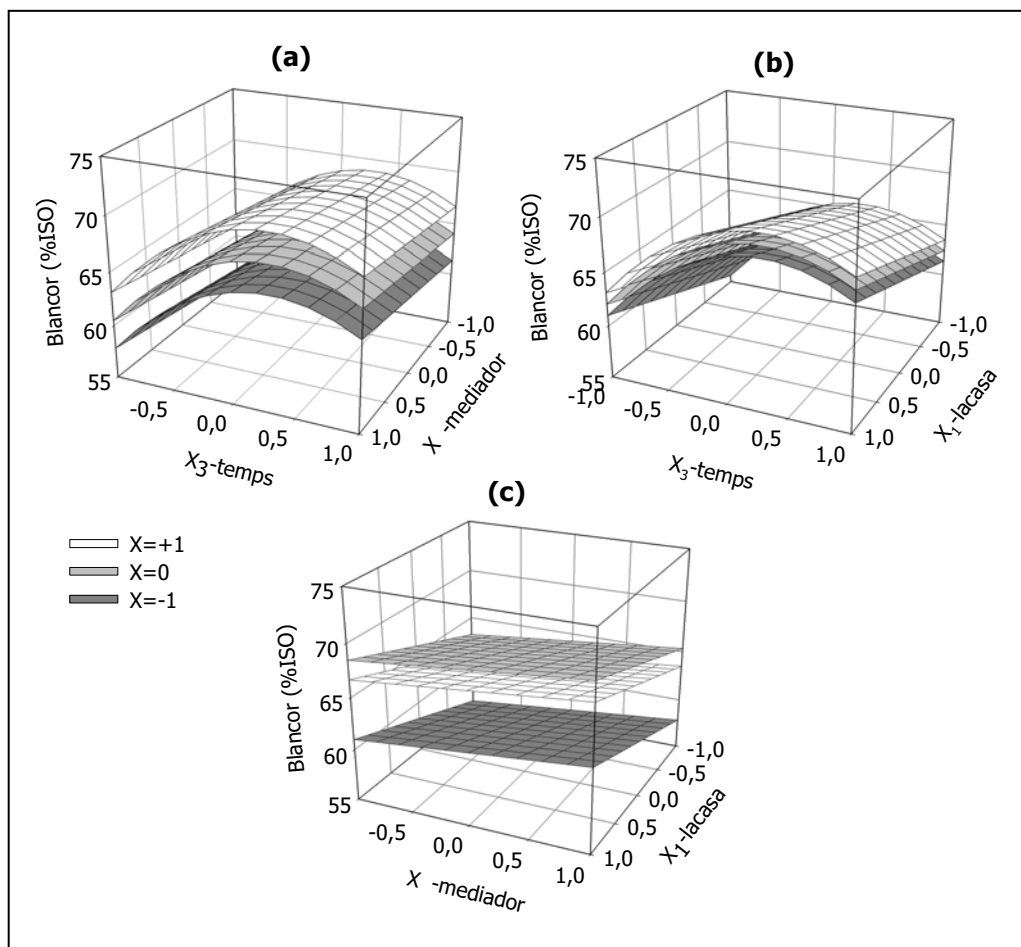


Figura 8-7. Superfícies estimades per a la blancor en la seqüència LE per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

S'observa que tant la dosi de lacasa com de mediador tenen influència lineal en la blancor, és a dir, que un augment en la seva dosi augmenta la blancor de les pastes mentre que s'observen dues fases de comportament en funció del temps de

tractament (a i b), una que va d'1 a 4,6 hores on la blancor augmenta i una segona fase de 4,6 a 7 hores on un augment del temps de tractament fa disminuir la blancor, per aquest motiu a la figura c s'obté major blancor a temps mitjos que a temps alts.

8.3.2.3 Model d'índex kappa per a la seqüència XLE

El model d'Ík XLE (Eq. 8-9) prediu un Ík que pot anar de 5,4 a 3,4. Les tres variables x_1 dosi de lacasa, x_2 dosi de mediador i x_3 temps de tractament influeixen de forma semblant fent disminuir l'índex kappa amb un coeficient de l'ordre de 0,3. El terme quadràtic de la variable temps és el que presenta el coeficient més elevat i positiu. A la Figura 8-8 (a-c) estan representades les superfícies estimades per a l'índex kappa per a dosis de lacasa, de mediador i temps constant, respectivament.

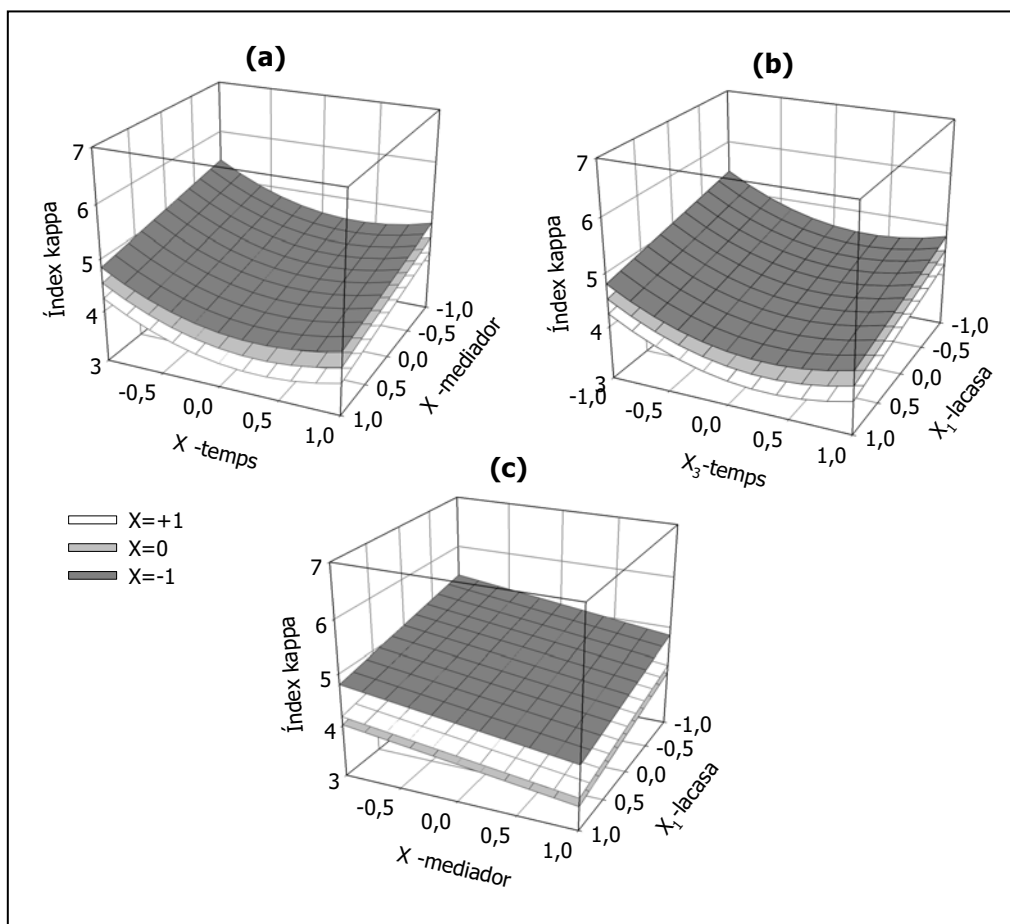


Figura 8-8. Superfícies estimades per a l'índex kappa en la seqüència XLE per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

S'observa l'efecte lineal de les variables dosi de lacasa i dosi de mediador, de tal manera que un augment en les seves dosis representa sempre una disminució de l'índex kappa. En funció del temps de tractament, s'observa la resposta quadràtica quan les variables x_1 i x_2 són constants (a i b), mostrant un comportament en dues fases, la primera fase va d'1 a 4,6 hores on un augment del temps de tractament sempre comporta disminuir l'Ik, i a partir d'aquest punt fins a les 7 hores s'arriba a un Ik límit on un augment del temps de tractament ja no comporta disminució en l'Ik i aquest augmenta lleugerament. Per aquest motiu, a la figura (c) s'obtenen Ik més baixos a temps mitjos que a temps alts.

8.3.2.4 Model de blancor per a la seqüència XLE

El model de blancor per a la seqüència **XLE** (Eq. 8-10) que prediu una blancor que pot anar de 58,1 a 73,6 %ISO, és influenciada per les tres variables x_1 dosi de lacasa, x_2 dosi de mediador i x_3 temps de tractament; aquesta última és la més influent, inclús 8,8 vegades més que la x_1 . Els termes quadràtics x_1^2 i x_2^2 també influeixen de forma important, en canvi les interaccions dobles x_1x_2 i x_1x_3 tenen una menor influència.

A la Figura 8-9 (a-c) està representada la superfície que prediu la blancor a dosis constants de lacasa, mediador i temps, respectivament. A la figura (a) s'observa gran augment de blancor al passar de dosi mínima de lacasa a dosi mitja, però entre la dosi mitja i màxima la blancor és semblant i només varia en funció de les altres variables: degut a la interacció doble entre la dosi de lacasa i el temps de tractament, a temps curts s'obté major blancor quan la lacasa és màxima mentre que a temps llargs s'obté major blancor quan la dosi de lacasa és al punt mig, això passa perquè el temps de tractament influeix més quan la dosi de lacasa és mitja que quan és alta; quan el temps és al voltant del punt mig, també depèn de la dosi de mediador utilitzada. A les figures b i c queda manifest l'efecte quadràtic de la lacasa on augmentar la seva dosi fins aproximadament 1,4 U/gps augmenta la blancor i a partir d'aquest punt la blancor disminueix.

A la figura (b) s'observa que quan la lacasa és a dosis baixes s'obté la major blancor quan la dosi de mediador és màxima mentre que quan la lacasa es troba a dosis mitges o altes la major blancor s'obté quan el mediador és a dosi mitja, aquest comportament passa degut a la interacció doble entre la dosi de lacasa i de mediador. A les figures a i c queda manifest l'efecte quadràtic del mediador on augmentar la seva dosi fins a 1,7% s'aproximadament augmenta la blancor i a partir d'aquest punt la blancor disminueix.

A la figura (c) s'observa que la major blancor s'obté quan el temps de tractament és màxim i a les figures a i b queda manifest l'efecte lineal del temps de tractament que indica que augmentar el temps de tractament sempre comporta augmentar la blancor.

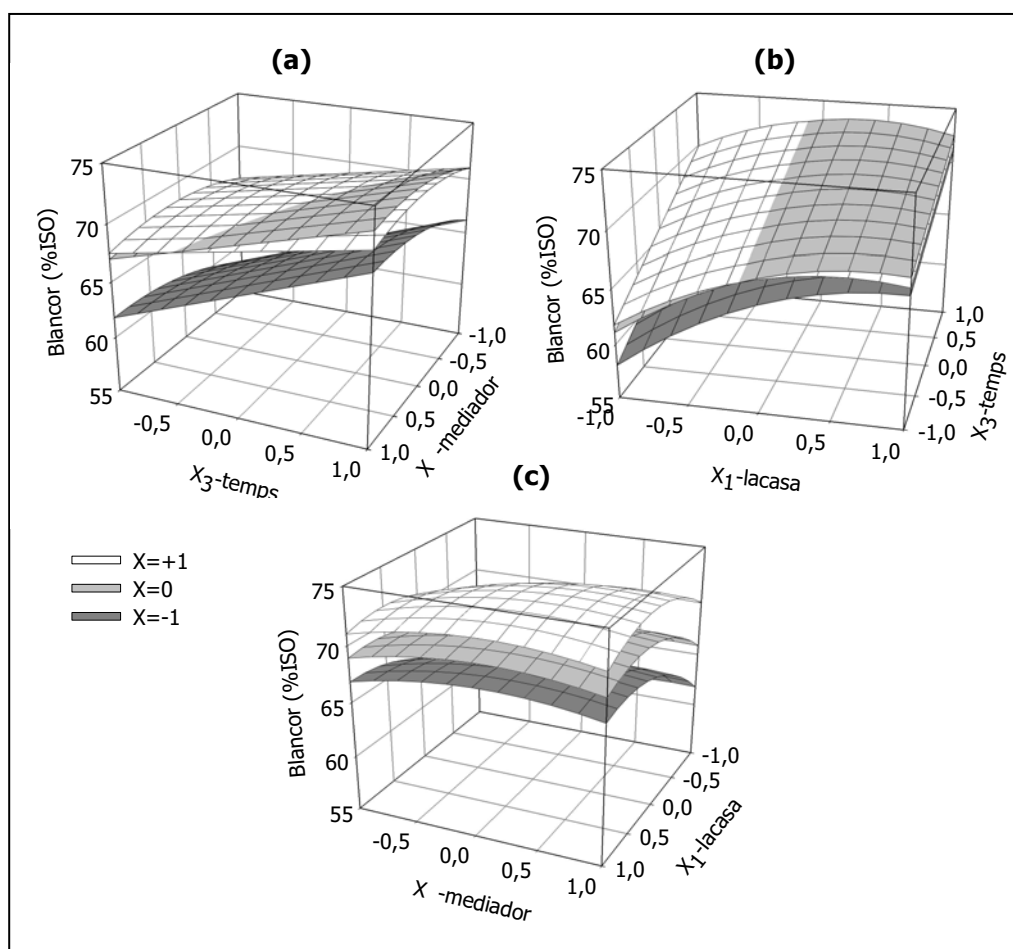


Figura 8-9. Superfícies estimades per la blancor en la seqüència XLE per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), una dosi de mediador (x_2) constant (b) i per un temps de tractament (x_3) constant (c)

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

Seqüència LE

Tant en el model d'índex kappa com en el de blancor influeixen les tres variables però en el model Ik **LE** la més influent és la dosi de lacasa, seguida del temps de

tractament i de la dosi de mediador, mentre que en la blancor **LE** la més influent és el temps de tractament, seguida de la dosi de lacasa i de la dosi de mediador. Segons el model Ik, s'arriba a una dosi límit de lacasa (13 U/gps) a partir de la qual aquest ja no disminueix sinó que s'estabilitza, efecte que no es veu en la blancor on sempre un augment en la dosi de lacasa comporta un augment de blancor. En els dos models la dosi de mediador influeix lineal i lleugerament.

En la blancor s'observen dues fases de comportament en funció del temps de tractament, d'1 a 4,6 hores la blancor augmenta i de les 4,6 a les 7 hores la blancor s'estabilitza o disminueix; aquest efecte no es veu en l'Ik que sempre disminueix al augmentar el temps de tractament. Aquest comportament suggereix que a partir de les 4,6 hores de tractament es formen grups cromòfors a la pasta que no contribueixen en l'Ik i no s'extreuen de la pasta amb una etapa d'extracció alcalina. Garcia *et al.*, (003) també van observar una reversió de la blancor a partir de més de 1 hores de tractament que justifiquen per la formació de grups carbonil a la cadena de cel·lulosa durant el tractament L.

Seqüència XLE

Tant en els models d'índex kappa com de blancor influeixen les tres variables però en l'índex kappa influeixen les tres per igual mentre que en la blancor la més influent és el temps de tractament seguida per la dosi de lacasa i per últim la dosi de mediador. En l'índex kappa s'observen dues fases de comportament del temps de tractament on l'Ik disminueix fins a les 4,6 hores i a partir d'aquest punt l'índex kappa s'estabilitza i augmenta lleugerament; aquest comportament no s'observa en la blancor ja que aquesta sempre augmenta al augmentar el temps de tractament. Es pot dir per tant, que a partir de les 4,6 hores queda algun component a les fibres que dóna Ik però que no és colorejada, ja que la blancor augmenta. En la blancor s'ha dit que en les variables dosi de lacasa i mediador s'arriba a una dosi límit que passar-la implica una disminució de la blancor però en canvi l'índex kappa sempre disminueix, el que podria ser degut a que es forma algun producte de la lacasa o del mediador en les fibres que dóna color però que no dóna índex kappa.

8.3.2.6 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 8-10 (a-d). Als gràfics s'hi pot observar l'interval màxim de variació en cada cas. En els quatre casos els errors són petits i acceptables segons l'error dels mètodes d'Ik i blancor de la normativa ISO corresponent, indicant que els models obtinguts s'ajusten

bé a la realitat, com també ho demostraven els valors d'ajusts R dels quatre models (Eq. 8-7 - Eq. 8-10).

Els models de blancor s'ajusten millor que els models d'índex kappa, sent el model que millor s'ajusta el de la blancor **XLE** amb un error molt baix ($\pm 0,4\%$), mentre que l'error màxim correspon al model Ik **XLE** amb un error de $\pm 6\%$.

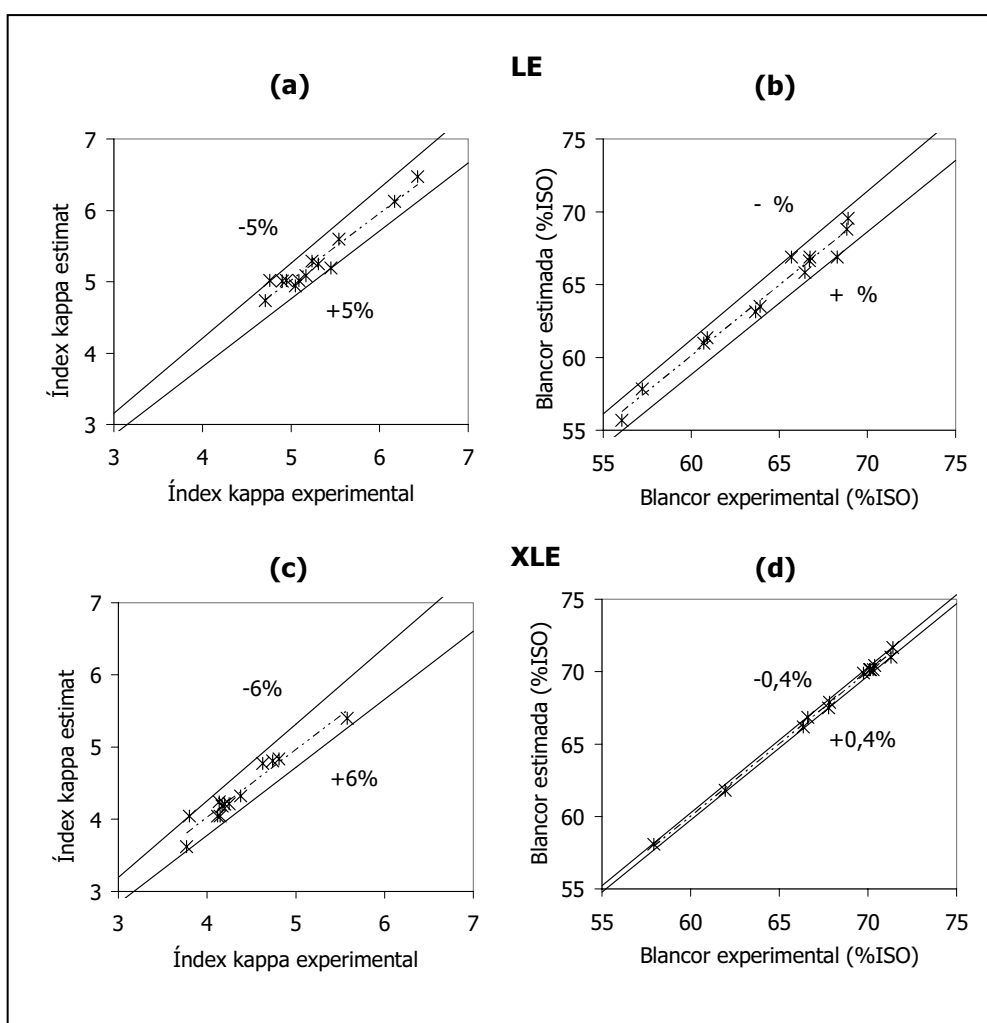


Figura 8-10. Resultats experimentals vs. valors estimats per a l'Ík (a, c) i la blancor (b, d) de les seqüències LE i XLE, respectivament amb els seus corresponents errors

8.3.2.7 Elecció de les millors condicions d'aplicació

A partir dels models obtinguts d'índex kappa i blancor després de l'etapa E es volen escollir les millors condicions d'aplicació de l'etapa L. Com s'ha comentat anteriorment, els models no es comporten sempre igual entre les dues propietats i això dificulta trobar un punt d'aplicació on s'obtinguin les millors propietats. Al capítol anterior s'han escollit unes condicions d'aplicació de l'etapa L segons les propietats d'índex kappa i blancor mesurades després de la mateixa etapa L, on s'ha donat prioritat a reduir l'Ik que a augmentar la blancor ja que el sistema lacasa-mediador oxida la lignina i forma quinones i compostos colorejats que poden interferir en la blancor (Chakar i Ragauskas, 001). L'etapa d'extracció alcalina es realitza per a extreure aquestes fraccions, per tant després de l'etapa E interessa més augmentar la blancor amb un Ik el més baix possible.

Per escollir aquestes condicions d'aplicació del tractament L també s'ha de tenir en compte que l'interès prioritari és reduir la dosi de mediador, seguit de disminuir el temps de tractament i per últim disminuir la dosi de lacasa.

A la Taula 8-5 es mostren els punts on segons els models obtinguts en les seqüències **LE** i **XLE** s'obté el menor índex kappa i la major blancor. En els casos on influeix el terme quadràtic d'alguna variable el punt d'inflecció s'ha calculat derivant el model respecte aquesta variable i igualant a 0 l'equació.

Taula 8-5. Punts de menor Ik i màxima blancor de les seqüències LE i XLE segons els models

	x₁	x₂	x₃	Ik	BI (%ISO)
Ik LE	0,3	+1	+1	4,5	67,0
BI LE	+1	+1	0,3	4,8	71
Ik XLE	+1	+1	0,3	3,4	70
BI XLE	0,	0,	+1	4,1	73,6

Aquests són els punts que prediuen els models però s'ha de tenir en compte els índex kappa i blancors als què s'arriben experimentalment, en **LE** el menor Ik al qual s'arriba experimentalment és de 4,7 i la màxima blancor de 68,9, i en **XLE** el menor Ik és de 3,8 i la màxima blancor de 71,4. També s'ha de tenir en compte la influència que té cada variable en els models i els canvis que comportaria en les propietats reduir-ne els seus valors, ja que per exemple, en gairebé tots els models es diu que el mediador ha de ser màxim, però aquest no presenta molta influència en alguns models i cal veure el canvi d'índex kappa o blancor que comportaria disminuir-ne la seva dosi. Per aquest motiu, fixant bé la variable dosi de lacasa o bé la variable temps de tractament al seu

nivell màxim, s'han representat les corbes de nivell (Figura 8-11 (a-d)) dels models en funció de les altres dues variables, amb l'objectiu de reduir principalment la dosi de mediador.

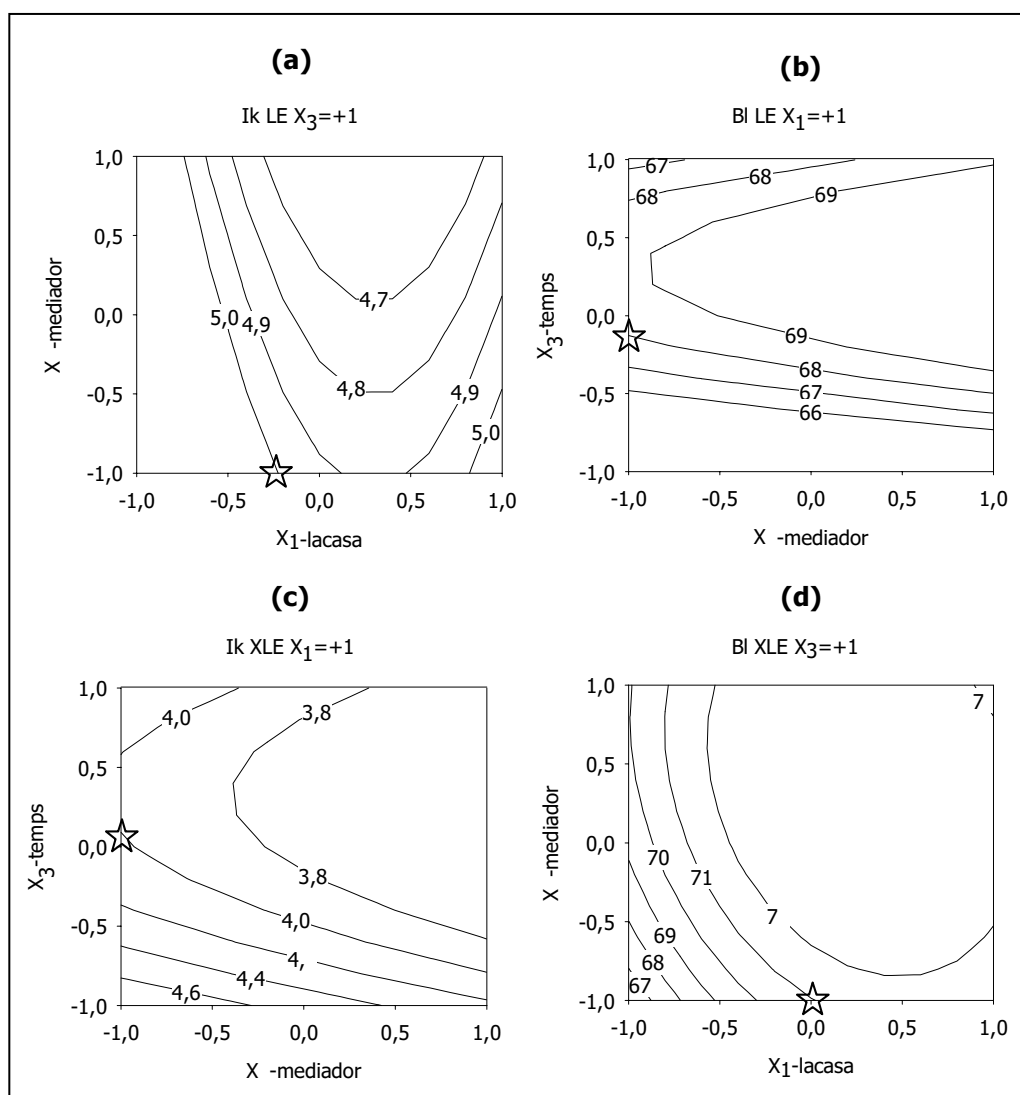


Figura 8-11. Corbes de nivell de la seqüència LE: índex kappa quan $x_3=+1$ (a), blancor quan $x_1=+1$ (b) i de la seqüència XLE: índex kappa quan $x_1=+1$ (c) i blancor quan $x_3=+1$ (d)

A la Figura 8-11 (a) es mostra el gràfic de corbes de nivell per a l'Ik de la seqüència **LE** a temps de tractament màxim ($x_3=+1$) i s'observa que si s'accepta un Ik de 5,0, quan la variable dosi de lacasa està al punt -0, , es pot reduir la dosi de mediador fins al

mínim. A la Figura 8-11 (b) es mostra el gràfic de corbes de nivell per a la blancor de la seqüència **LE** a dosi màxima de lacasa ($x_1=+1$) i per una blancor del 68%ISO es pot reduir el mediador fins al mínim i el temps fins al punt -0, .

A la Figura 8-11 (c) es mostra el gràfic de corbes de nivell per l'índex kappa de la seqüència **XLE** a dosi màxima de lacasa ($x_1=+1$) i si s'accepta un I_k de 4,0 la dosi de mediador es pot reduir fins a al mínim i el temps de tractament fins a 0, . A la Figura 8-11 (d) es mostra el gràfic de corbes de nivell per a la blancor de la seqüència **XLE** a temps de tractament màxim ($x_3=+1$) i per una blancor del 71%ISO es pot reduir la dosi de mediador fins al mínim i la dosi de lacasa fins al punt 0.

A la Taula 8-6 es mostren de nou els punts de menor índex kappa i major blancor tenint en compte les consideracions anteriors, on en tots els casos es pot arribar a reduir la dosi de mediador fins al mínim. D'altra banda, igual que s'ha vist al capítol anterior després de l'etapa L, les condicions on s'obté el menor I_k no coincideixen amb les condicions on s'obté la màxima blancor (al contrari que l'obtingut per Garcia *et al.*, (003) en pasta de lli) i tampoc coincideixen entre seqüències per a una mateixa propietat, la qual cosa dificulta l'elecció d'un punt òptim d'aplicació d'L.

Taula 8-6. Punts de menor I_k i màxima blancor de les seqüències LE i XLE segons els valors experimentals i reduint les variables

	x_1	x_2	x_3	I_k	BI (%ISO)
I_k LE	-0,	-1	+1	5,0	63,5
BI LE	+1	-1	-0,	5,	68
I_k XLE	+1	-1	0,	4,0	69,3
BI XLE	0	-1	+1	4,5	71

A la Figura 8-1 s'han representat les corbes de nivell de l'índex kappa i blancor per a una dosi de lacasa constant ($x_1=+1$). El punt més interessant per a la seqüència **LE** (a) correspon al punt escollit de la blancor **LE: $x_1=+1, x_2=-1, x_3=-0,2$** on l' I_k és 5, i la blancor del 68%. El punt més interessant per a la **XLE** correspon al punt escollit per a l' I_k **XLE $x_1=+1, x_2=-1, x_3=0,2$** on l' I_k és de 4,0 i la blancor de 69,3%ISO.

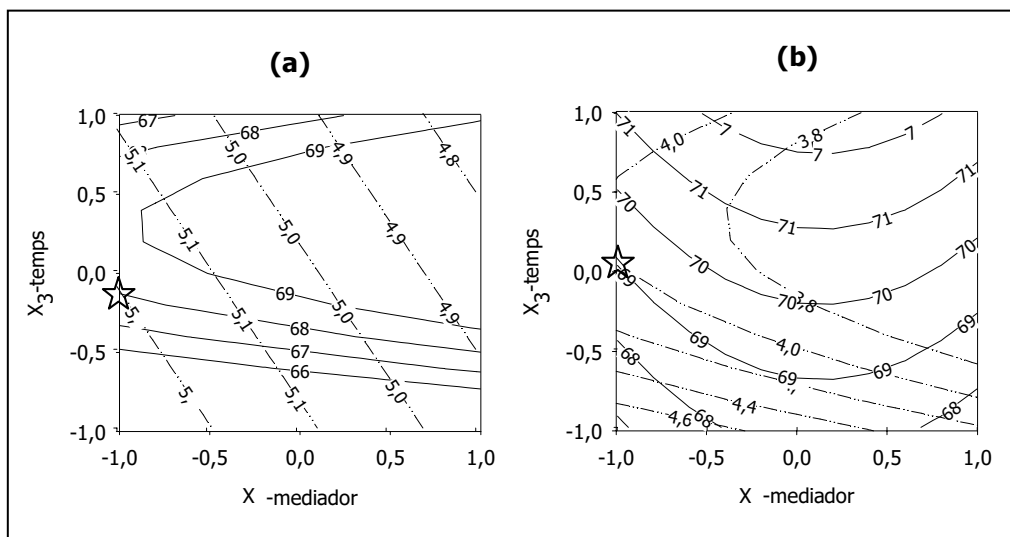


Figura 8-12. Corbes de nivell per a una dosi de lacasa constant ($x_1 = +1$) de l'índex kappa i blancor a les seqüències LE (a) i XLE (b)

Així doncs, els punts escollits d'aplicació del tractament amb el sistema lacasa-mediador són els que es mostren a la Taula 8-7 i són gairebé iguals entre les dues seqüències, on es pot reduir la dosi de mediador i el temps de tractament. Ibarra *et al.*, 006 també argumenten que es pot reduir el temps de tractament ja que obtenen que les millors propietats s'obtenen durant les dues primeres hores del tractament amb el sistema lacasa-mediador.

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

	Dosi de lacasa- x_1	Dosi de mediador- x_2	Temps de tractament- x_3	Ik	BI (%ISO)
LE	+1 (0 U/gps)	-1 (0,5%sp)	-0, (3,4 hores)	5,	68
XLE	+1 (0 U/gps)	-1 (0,5%sp)	0, (4,6 hores)	4,0	69

En el punt escollit doncs, s'obté una blancor del 68%-69% ISO on la dosi de lacasa és la màxima (0 U/gps), la dosi de mediador és mínima (0,5%sp) i el temps de tractament de 3,4 hores per la seqüència **LE** i de 4,6 hores per a l'**XLE**. Amb la seqüència **XLE**, l'índex kappa és un punt inferior a l'**LE** i la blancor l'1%ISO superior.

8.3.3 Efecte del pretractament enzimàtic amb xilanasa (X). Comparació de les seqüències LE i XLE

8.3.3.1 Efecte del pretractament X en l'índex kappa

A la Figura 8-13 on està representat l'índex kappa de totes les experiències es comparen les pastes obtingudes de la seqüència **LE** amb les de la seqüència **XLE**.

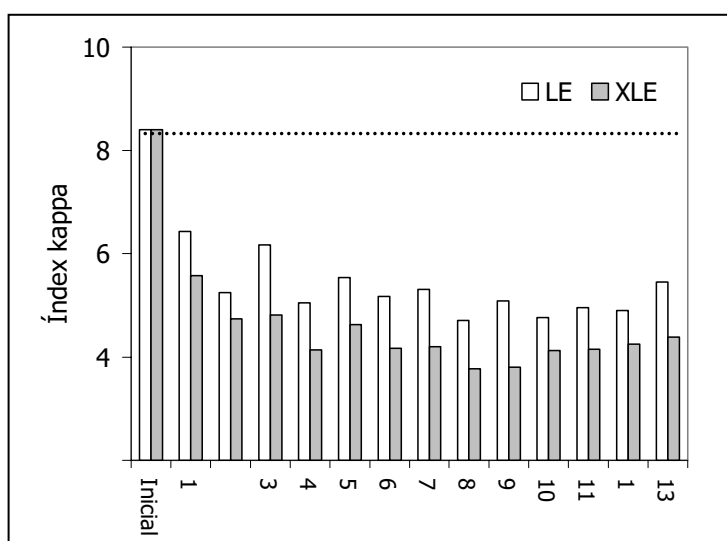


Figura 8-13. Índex kappa de totes les experiències comparant les seqüències LE i XLE

Com ja s'ha comentat les dues seqüències parteixen del mateix Ik abans de realitzar l'etapa L, ja que l'etapa X realitzada no ha fet disminuir l'Ik de les pastes. Els resultats mostren que totes les pastes **XLE** presenten un Ik aproximadament un punt inferior a les **LE**, el què indica que amb un tractament X s'incrementa un 11% la disminució de l'Ik de la pasta per part de la lacasa.

Els autors Oksanen *et al.*, (1997), elson *et al.*, (1998), Surma-Slusarska i Leks-Stepien, (001) i Herpoël *et al.*, (00) també comenten aquest efecte potenciador de la xilanasa i es diu que el pretractament amb xilanasa facilita l'accés de la lacasa a la lignina. 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.*, 000), el què ha permès una major penetració del sistema lacasa-mediador a l'interior de les fibres actuant més eficientment en disminuir l'Ik. Aquest efecte s'ha vist després d'L al capítol anterior i se segueix veient després de l'etapa E.

En els models obtinguts que preveuen l'Ik en les seqüències **LE** i **XLE** (Eq. 8-7 i Eq. 8-9) les tres variables influeixen, però en el model **LE** la dosi de lacasa és la més influent seguida del temps de tractament i de la dosi de mediador mentre que en **XLE** les tres variables són igual d'influents. o s'observa major efecte de les variables en **XLE** ja que la dosi de lacasa és lleugerament més influent en **LE** i la dosi de mediador en **XLE**, de la Rosa, 003 obté que els reactius com el peròxid d'hidrogen i l'hidròxid de sodi accedeixen millor a les fibres després d'una etapa de pretractament enzimàtic X; en aquest cas es pot dir que és tot el sistema lacasa-mediador que actua més eficientment en disminuir l'Ik després de l'etapa enzimàtica.

En el model **LE** també presenta influència la interacció doble entre la dosi de lacasa i el temps de tractament i el terme quadràtic de la dosi de lacasa indicant que a la seqüència **LE** s'arriba a una dosi límit de lacasa a partir de la qual l'Ik ja no disminueix. Aquest comportament no s'observa en **XLE**, i en aquesta hi ha l'efecte quadràtic del temps de tractament que indica que a partir de les 4,6 hores de tractament l'Ik de la pasta ja no disminueix.

A la Figura 8-14 estan representades les superfícies estimades per a l'índex kappa de les seqüències **LE** i **XLE** quan una de les variables és constant i igual al punt de mínim Ik en **LE** i igual al seu nivell mínim o mig en **XLE**.

En les superfícies previstes quan la dosi de lacasa o la dosi de mediador són constants (a i b), l'Ik de l'**XLE** sempre està per sota de l'**LE**, excepte en algun punt on el temps és mínim. Això indica que amb una etapa X es pot estalviar lacasa i mediador per arribar a unes determinades condicions, o bé es poden aconseguir unes millors propietats finals. Quan el temps de tractament (c) és màxim en **LE** l'Ik de l'**XLE** quan el temps de tractament és mínim és inferior només en alguns punts, mentre que sempre és inferior quan el temps de tractament és mig. Per tant, amb una etapa X es podria disminuir el temps de tractament però depenent de les condicions de les altres variables (a l'apartat 8.3.3.3 es comenta més detalladament l'estalvi de reactius i temps amb una etapa X).

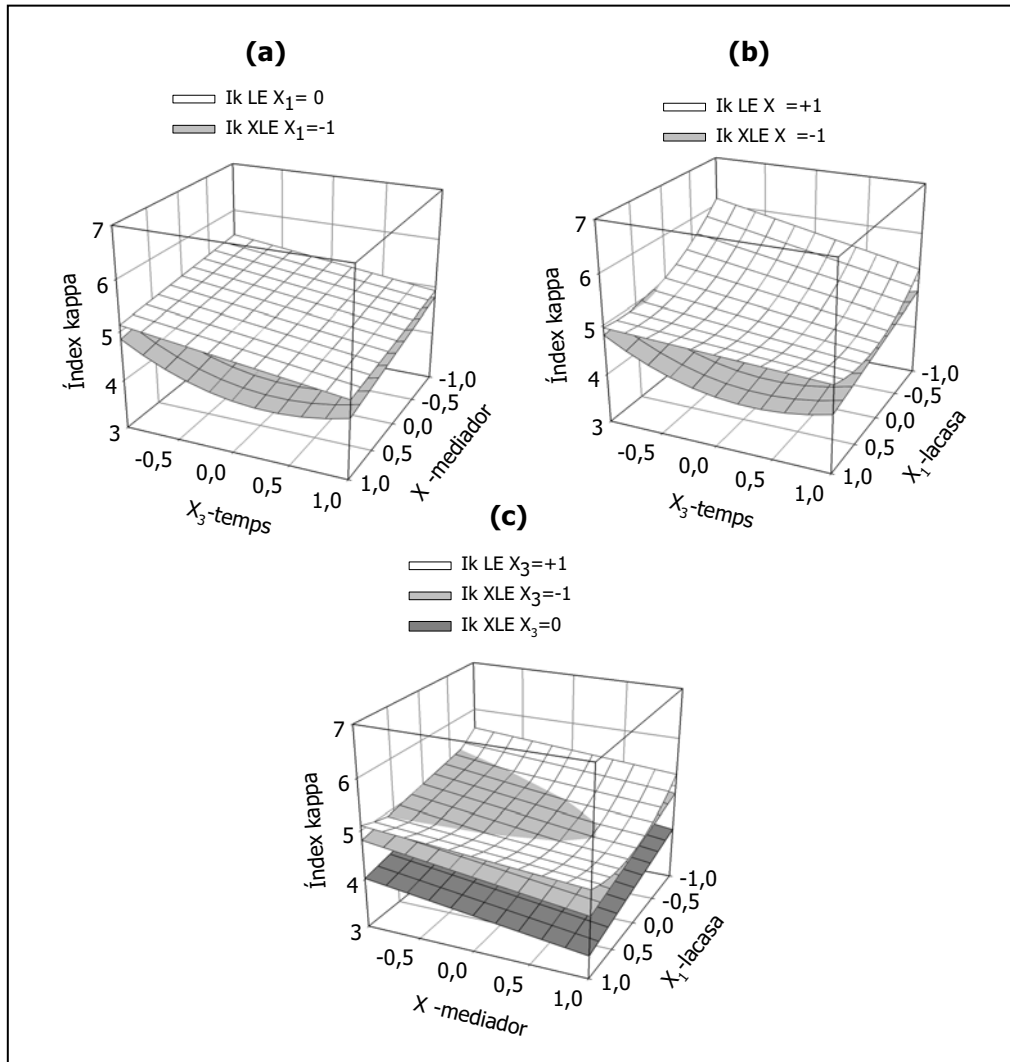


Figura 8-14. Superfícies estimades per a l'índex kappa per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), de mediador (x_2) constant (b), i per un temps de tractament (x_3) constant (c) al punt de menor Ik de la seqüència LE i al nivell mínim o mig en XLE

8.3.3.2 Efecte del pretractament X en la blancor

A la Figura 8-15 es comparen els resultats de blancor de les experiències de les seqüències **LE** i **XLE**. La pasta X presenta una blancor superior a la pasta inicial i per tant les pastes **XLE** parteixen d'una blancor superior. Al capítol anterior on es comenten els resultats després de l'etapa L, s'ha vist que les pastes XL no presenten una blancor superior a les L, i s'ha comentat que podria ser degut a que un tractament L pot formar quinones i grups cromòfors que donin color a la pasta, a més el mediador

HBT quan és oxidat dóna color i aquest es podria haver quedat retingut a la pasta X al tenir les fibres més accessibles.

Després de l'etapa E no s'observa el mateix efecte que en L, ja que les pastes de la seqüència **XLE** presenten un blancor superior a les **LE**. La diferència de blancor entre una mateixa experiència de les dues seqüències va de l'1,5%ISO al 6%ISO. En pocs treballs es parla d'un augment de blancor de les pastes pretractades amb xilanasa, elson *et al.*, (1998) comenta que la seqüència amb xilanasa no fa augmentar la blancor en pasta eucaliptus, però Oksanen *et al.*, (1997) van observar que les pastes XLP presentaven major blancor que les LP en pastes de pi i bedoll.

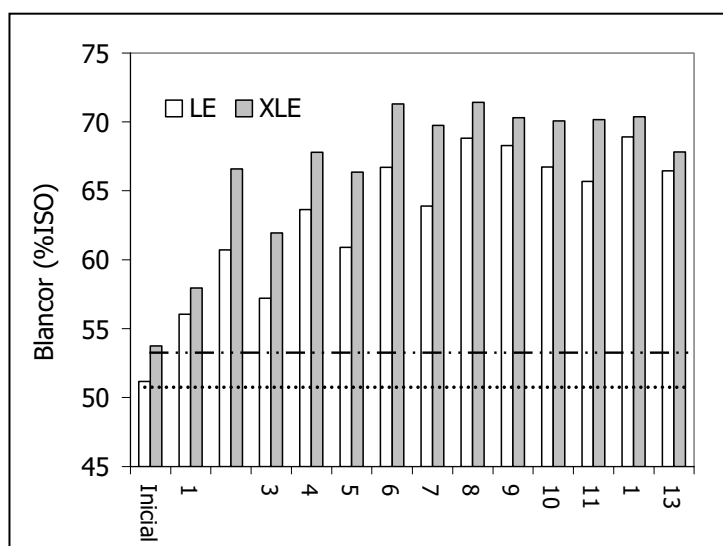


Figura 8-15. Blancor de totes les experiències comparant la seqüència LE i XLE

De tota manera, si es calcula l'increment de blancor durant les etapes **LE** (a la **XLE** se li resta l'efecte d'X), s'obté que s'incrementa la blancor una mitjana d'un 0% en ambdós casos, indicant que si la blancor és superior és degut a la major blancor de la qual es parteix amb una etapa X (aquest comportament ja s'havia observat al capítol 6 amb una seqüència ECF).

Els models de blancor (Eq. 8-8 i Eq. 8-10) indiquen que en les dues seqüències les tres variables tenen influència i els seus coeficients són molt semblants entre elles. El model **LE** és més senzill ja que a part de les tres variables només influeix la variable temps en terme quadràtic (x_3) i amb un coeficient bastant alt i negatiu. El model per la blancor **XLE** és més complex ja que tenen efecte les interaccions dobles entre lacasa i mediador i entre lacasa i temps, i també els termes quadràtics per a la lacasa i

mediador. A la Figura 8-16 estan representades les superfícies estimades per a la blancor de les seqüències **LE** i **XLE** quan una de les variables és constant i igual al punt on s'obté màxima blancor en **LE** i igual al nivell mig i mínim en **XLE**.

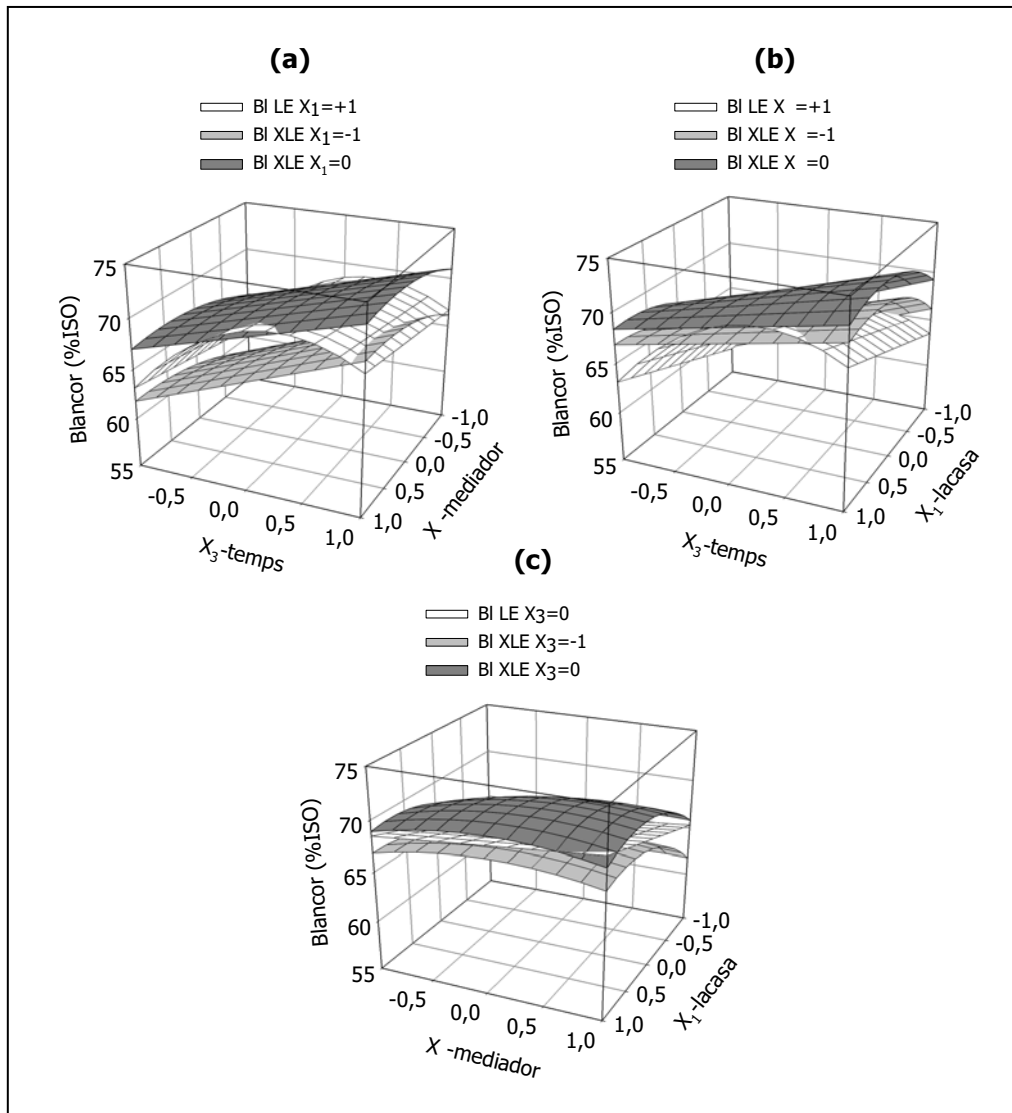


Figura 8-16. Superfícies estimades per a la blancor per a una dosi de lacasa (x_1) constant (a), de mediador (x_2) constant (b), i per un temps de tractament (x_3) constant (c) al punt de major blancor de la seqüència LE i al nivell mínim i mig en XLE

Quan la dosi de lacasa (a) és màxima en **LE** no s'obté major blancor amb l'**XLE** si es redueix la dosi de lacasa fins al mínim però sí si es redueix la dosi de lacasa fins al

punt mig. Quan la dosi de mediador (b) és màxima en **LE** s'obté major blancor amb l'**XLE** tant si es redueix la dosi de lacasa fins al mínim com fins al punt mig. Pel què fa al temps de tractament (c), la major blancor en **LE** s'obté al punt mig, si en **XLE** es redueix el temps al mínim no s'obté major blancor tot i que sí que s'obté major blancor a temps mitjos.

Així doncs, amb un pretractament X es podria estalviar lacasa i mediador obtenint pastes amb una blancor superior.

8.3.3.3 Estalvi de reactius i de temps amb un pretractament X

Als apartats 8.3.1., 8.3.3.1 i 8.3.3. ja s'ha comentat que amb una etapa X prèvia al tractament **LE** es podria arribar a reduir la dosi de lacasa i de mediador així com el temps de tractament. Pel què a fa a la dosi de mediador tant en les propietats d'Ik i blancor es podria arribar a reduir fins al mínim i les propietats de les pastes serien sent millors en **XLE**. Respecte la dosi de lacasa i el temps de tractament segons l'Ik les variables es podrien reduir fins al mínim però segons la blancor, es podrien reduir tot i que no fins al nivell mínim. L'estalvi de reactius amb un pretractament X també es comenta per de la Rosa, 003 amb una seqüència XOp en pasta de kenaf.

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 xilanasas. Per això es realitzen els gràfics de corbes de nivell dels models d'Ik i blancor de la seqüència **XLE** en funció de la dosi de lacasa i del temps de tractament fixant la dosi de mediador al nivell mínim ja que és la variable que més interessa reduir en el sistema (Figura 8-17 (a i b)).

Les corbes de nivell es limiten al menor Ik que s'obté en **LE** experimentalment (4,7) que correspon al punt on totes les variables es troben a condicions màximes (exp. 8), tal com es mostra a la figura (a). Així mateix, a la figura (b) les corbes de nivell es limiten a la major blancor (68,9%ISO) assolida en **LE** que s'obté en el punt +100 (exp. 1). Tal com s'observa a la Figura 8-17, si es redueix fins al mínim la dosi de mediador en **XLE** ja s'assoleixen aquests valors i valors inclús inferiors per a l'Ik i superiors per a la blancor. S'han escollit els punts donant prioritat a reduir el temps de tractament que a reduir la dosi de lacasa; d'aquesta manera, per assolir un Ik de 4,7 en **XLE**, mantenint la dosi de lacasa màxima es pot reduir la dosi de mediador fins al mínim, i el temps de tractament a -0,9. Per assolir la blancor màxima de 68,9 a la que s'arriba a **LE**, amb una **XLE** es podria reduir la dosi de lacasa a 0,4 i la dosi de mediador al mínim, mantenint el temps de tractament al punt 0.

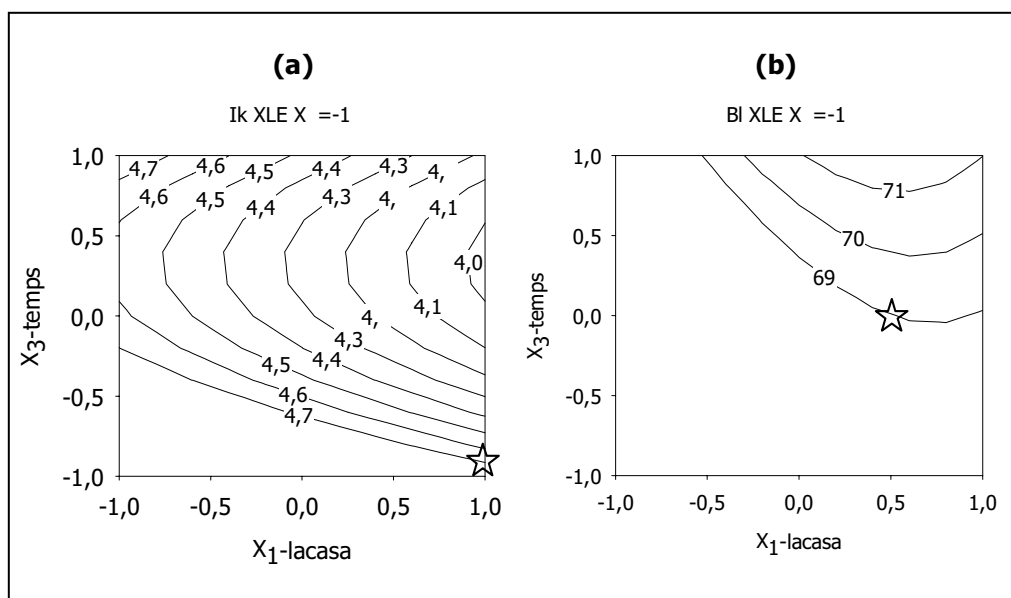


Figura 8-17. Corbes de nivell de la seqüència XLE per a $x_2 = -1$ fixant els límits de menor Ik i major blancor de la seqüència LE. Índex kappa (a) i blancor (b)

A la Taula 8-8 es mostren les condicions d'LE en les quals s'assoleix el mínim Ik i la màxima blancor amb les propietats obtingudes en aquests punts així com les condicions requerides en XLE per arribar al mateix Ik i a la mateixa blancor segons els models.

Taula 8-8. Mínim Ik i màxima blancor experimental obtinguda en LE amb les seves condicions d'aplicació i condicions d'XLE per a obtenir les mateixes propietats

	x_1	x_2	x_3	Ik	BI (%ISO)
Mínim Ik LE Experimental	+1	+1	+1	4,7	68,8
Condicions XLE	+1	-1	-0,9	4,7	67,1
Màxima BI LE Experimental	+1	0	0	4,9	68,9
Condicions XLE	0,4	-1	0	4,	68,9

Per tal d'arribar a un punt de compromís entre les dues propietats, a la Figura 8-18 es representen les corbes de nivell de les dues propietats juntes ja que pot resultar útil per a buscar un punt comú entre l'índex kappa i la blancor. Un punt d'elecció pot ser quan la blancor és màxima (69%ISO) en el punt on es creua amb l'índex kappa 4, que correspon a les condicions: $x_1 = 0,4$; $x_2 = -1$ i $x_3 = 0$. En aquest punt on la blancor és de 68,9 %ISO en les dues seqüències, l'Ik és inferior en XLE.

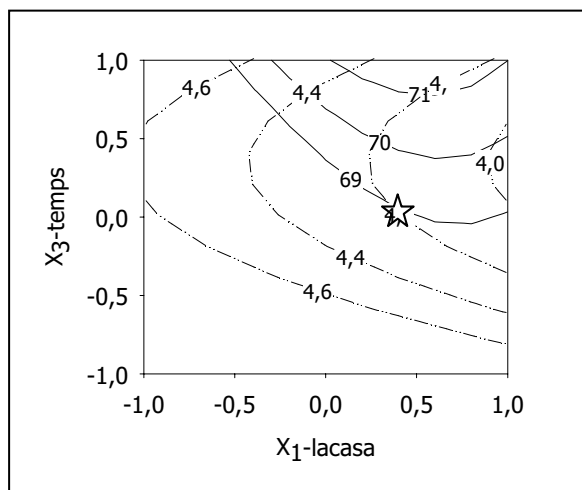


Figura 8-18. Corbes de nivell per a l'Ik i la blancor de la seqüència XLE per a $x_2=-1$ fixant els límits de menor Ik i major blancor obtinguts per la seqüència LE

S'escull doncs aquest punt per a **XLE** i es compara amb les condicions d'**LE** tal com es mostra a la Taula 8-9. Amb un pretractament X es pot reduir la dosi de lacasa de 0 U/gps a 14,3 U/gps (que representa un 8,5% menys de lacasa), la dosi de mediador de ,5 al 0,5 % (que representa un estalvi del 80%) i el temps de tractament de 7 hores a 4 hores (és a dir, una reducció del temps de 3 hores), obtenint pastes amb un índex kappa inferior i la mateixa blancor.

Taula 8-9. Estalvi de reactius i de temps amb una etapa X

	Dosi de lacasa- x_1 (U/gps)	Dosi de mediador- x_2 (%sps)	Temps de tractament- x_3 (hores)	Ik	BI (%ISO)
LE	(+1) 0	(+1) ,5	(+1) 7	4,7	68,8
XLE	(0,4) 14,3	(-1) 0,5	(0) 4	4,	68,9
Estalvi	5,7 U/gps	%sps	3 hores		
Estalvi (%)	8,5	80	43		

8.4 CONCLUSIONS

En el present capítol es demostra que si es tracta la pasta d'eucaliptus deslignificada amb oxigen amb una seqüència **LE**, sent L una etapa de tractament amb el sistema lacasa-mediador i E una etapa d'extracció alcalina, es pot disminuir l'Ik fins al 43% i augmentar la blancor fins un 6%. Si abans de la seqüència **LE** es realitza una etapa de pretractament enzimàtic amb xilanasa (X), es pot augmentar la disminució de l'Ik

d'aquestes etapes un 1 %. S'obtenen models que prediuen la variació de l'Ik i la blancor en funció de les variables del tractament L que són la dosi de lacasa, la dosi de mediador i el temps de tractament per a seqüències **LE** i **XLE**. En tots els casos les tres variables influeixen sent el temps de tractament la variable més influent i la dosi de mediador la que menys influeix. Segons els models, l'índex kappa i la blancor no sempre es comporten de la mateixa manera, però es pot arribar a un punt de compromís entre les dues propietats i s'escull un punt de millor aplicació d'L que permet reduir la dosi de mediador fins al mínim (0,5%sp) i també es redueix el temps de tractament entre 3,6 i 4,6 hores mantenint la dosi de lacasa màxima (0 U/gps).

El pretractament enzimàtic amb xilanasa fa obtenir pastes 1 unitat d'Ik inferior a les pastes sense aquest pretractament i amb una blancor fins al 6%ISO superior. És tot el sistema lacasa-mediador el que actua més eficientment després d'una etapa X ja que la influència de les variables en els models no varia significativament i els punts escollits d'aplicació d'L són semblants entre les seqüències **LE** i **XLE**. Per obtenir una blancor determinada es pot estalviar un 8,5% de lacasa, un 80% de mediador i reduir el temps de tractament 3 hores amb una etapa de pretractament X, obtenint pastes amb la mateixa blancor i menor índex kappa.

8.5 REFERÈNCIES

- Call, H.P. i Muecke, I. (1997) History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozym-process). *Journal of Biotechnology* 53():163- 0 .
- 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. (004) Efficient bleaching of non-wood high-quality paper pulp using laccase-mediator system. *Enzyme and Microbial Technology* 35(-3):113-1 0.
- Chakar, F.S. i Ragauskas, A.J. (000) Effects of oxidative alkaline extraction stages after laccase_{HBT} and laccase_{HAA} treatments-an MR study of residual lignins. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 0():169-184.
- Chakar, F.S. i Ragauskas, A.J. (001) Formation of quinonoid structures in laccase-mediator reactions. *ACS Symposium Series* 785:444-455.
- de la Rosa, A. (003) Utilización papelera de fibras no madereras (kenaf y *Miscanthus sinensis*). Estudio de secuencias de blanqueo ECF y TCF. Tesi doctoral. Departament d'Enginyeria Tèxtil i Paperera. Escola Tècnica superior d'Enginyeria Industrial i Aeronàutica de Terrassa. Universitat Politècnica de Catalunya. Terrassa, Espanya.

- 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. (004) 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: 76- 79.
- Gamelas, J.A.F., Pontes, A.S. ., Evtuguin, D.V., Xavier, A.M.R.B. i Esculcas, A.P. (007) ew polyoxometalate–laccase integrated system for kraft pulp delignification. Biochemical Engineering Journal 33():141-147.
- Garcia, O., Camarero, S., Colom, J.F., Martinez, A.T., Martinez, M.J., Monje, R. i Vidal, T. (003) Optimization of a laccase-mediator stage for TCF bleaching of flax pulp. Holzforschung 57(5):513-519.
- Herpoël, I., Jeller, H., Fang, G., Petit-Conil, M., Bourbonnais, R., Robert, J.L., Asther, M. i Sigoillot, J.C. (00) Efficient enzymatic delignification of wheat straw pulp by a sequential xylanase-laccase mediator treatment. Journal of Pulp and Paper Science 8(3):67-71.
- Ibarra, D., Romero, J., Martinez, M.J., Martinez, A.T. i Camarero, S. (006) Exploring the enzymatic parameters for optimal delignification of eucalypt pulp by laccase-mediator. Enzyme and Microbial Technology 39(6):1319-13 7.
- elson, 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 51(6):451-455.
- 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. (007) Pyrolysis-GC/MS and TG/MS study of mediated laccase biodelignification of Eucalyptus globulus kraft pulp. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 78(): 33- 4 .
- Poppius-Levlin, K., Wang, M., Tamminen, T., Hortling, B., Viikari, L. i iku-Paavola, M.L. (1999) Effects of laccase/HBT treatment on pulp and lignin structures. Journal of Pulp and Paper Science 5(3):90-94.
- Roncero, M.B., Torres, A.L., Colom, J.F. i Vidal, T. (000) Effects of a xylanase treatment on fibre morphology in totally chlorine free bleaching (TCF) of Eucalyptus pulp. Process Biochemistry 36:45-50.
- 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. (005) Comparison of different fungal enzymes for bleaching high-quality paper pulps. Journal of Biotechnology 115(4):333-343.

Surma-Slusarska, B. i Leks-Stepien, J. (001) TCF bleaching of kraft pulps with laccase and xylanase. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 1(4):361-370.