

Capítol 10

Efecte del sistema lacasa-mediador en les diferents propietats de les pastes. Efecte del pretractament amb xilanasa

RESUM

A partir de tres diferents condicions d'aplicació del sistema lacasa-mediador (L), s'analitzen els efectes que es produeixen en les propietats d'índex kappa, blancor, àcids hexenurònics (HexA), índex kappa degut a la lignina ($I_{k_{lig}}$) i viscositat de les pastes d'eucaliptus al llarg de les seqüències LE i XLE. Les propietats d'índex kappa i blancor estan ben relacionades amb la lignina de les pastes. D'altra banda, els HexA també disminueixen al llarg de les etapes L i E i el pretractament enzimàtic amb xilanasa en potencia la seva eliminació per part del sistema lacasa-mediador. La influència d'aquests àcids en l' I_k augmenta al llarg de les etapes L i E.

10.1 INTRODUCCIÓ

En capítols anteriors (7-9) s'ha optimitzat el tractament amb el sistema lacasa-mediador segons les propietats d'índex kappa i blancor després de les etapes L i E. Paral·lelament s'ha analitzat l'efecte del pretractament X en l'evolució d'aquestes propietats. S'ha obtingut que tant l'etapa L com l'etapa E són deslignificants i blanquejants, és a dir, que en les dues disminueix l' I_k i augmenta la blancor. De tota manera, s'ha calculat la deslignificació com a disminució de l' I_k de les pastes i és conegut (Vuorinen *et al.*, 1999; Li i Gellerstedt, 2002; Costa i Colodette, 2007; Li *et al.*, 2002(a)) que els àcids hexenurònics (HexA) també contribueixen a l' I_k en gran proporció, per tant, al mesurar la disminució de l' I_k no queda clar si el que realment està disminuint és la lignina o bé són els HexA.

Els àcids hexenurònics han adquirit gran importància en els últims anys degut als efectes negatius en el blanqueig de les pastes que comporten (Jiang *et al.*, 2000). En concret la pasta kraft d'eucaliptus es caracteritza per a contenir gran quantitat d'aquests àcids com s'ha demostrat als capítols 5 i 6; en aquests capítols també s'ha demostrat que un pretractament enzimàtic amb xilanasa contribueix a eliminar aquests

àcids i a més en facilita l'eliminació durant una etapa posterior amb diòxid de clor. Un dels objectius d'aquest capítol és veure si el tractament amb el sistema lacasa-mediador és capaç d'eliminar HexA ja que en pocs treballs s'estudia l'evolució d'aquests àcids al llarg del tractament L (Ibarra *et al.*, 2006; Gamelas *et al.*, 2007; Oudia *et al.*, 2007). De la mateixa manera, s'avalua l'evolució de l'índex kappa degut a la lignina ($I_{k_{lg}}$) al llarg de les etapes L i E i així es poden obtenir els valors de "deslignificació real" al llarg dels tractaments. García, 2003 obté que un tractament L pot degradar la cel·lulosa de la pasta degut a la formació de grups carbonil, per aquest motiu també es determina la viscositat de la pasta a diferents condicions d'aplicació d'L.

Per últim, als capítols 7 i 8 s'ha demostrat que el pretractament enzimàtic amb xilanasas potencia la disminució de l' I_k després de les etapes L i E i augmenta la blancor després de l'etapa E, en el present capítol s'avalua també l'efecte del pretractament X en l'evolució dels HexA, de l' $I_{k_{lg}}$ i la viscositat.

Així doncs, es determina l'evolució al llarg de les etapes L i E de l' I_k , de la blancor, del contingut en HexA, de l' $I_{k_{lg}}$ i de la viscositat a diferents pastes tractades a tres condicions d'L diferents. Paral·lelament s'avalua l'efecte del pretractament enzimàtic amb xilanasas en aquestes propietats.

10.2 MATERIALS I MÈTODES

10.2.1 Matèria prima

La matèria prima utilitzada en aquest estudi és pasta kraft d'eucaliptus (*Eucalyptus globulus*), deslignificada amb oxigen. És de procedència industrial i cedida per l'empresa Torraspapel, 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 inicials d'aquesta pasta s'indiquen a la Taula 10-1.

Taula 10-1. Propietats de les pastes inicial i X

	Inicial	X
Índex kappa	8,4	8,4
Blancor (%ISO)	51,2	53,7
Viscositat (ml/g)	972±20	986±31
HexA* (µmol/gps)	38,0±1,1	32,5±0,8

*HexA: contingut en àcids hexenurònics de la pasta

10.2.2 Seqüències

S'han estudiat les seqüències de blanqueig TCF: **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.

10.2.3 Pretractament enzimàtic amb xilanasa

Per a l'etapa X la xilanasa utilitzada és la X_G la qual en capítols anteriors (3-6) 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.*, 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 50°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. Les característiques d'aquesta pasta s'indiquen a la Taula 10-1.

10.2.4 Tractament amb el sistema lacasa-mediador (L)

La lacasa utilitzada és una lacasa comercial de *Trametes villosa* (NS-51002) proporcionada per NOVOZYMES®. 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 50 mM 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. Al tractament L s'hi afegixen unes gotes de Tween 80 com tensioactiu al 0,05% p/v. Després de l'etapa L es recuperen els lleixius i es renta la pasta abans de realitzar l'extracció alcalina. La dosi de lacasa, la dosi de mediador i el temps de tractament varien segons les condicions d'aplicació del tractament (baixes, mitges o altes) tal com s'especifica a la Taula 10-2.

Taula 10-2. Condicions d'aplicació del tractament L

	VARIABLES	Baixes	Mitges	Altes
x₁	Dosi de lacasa (U/gps)	1	10,5	20
x₂	Dosi d'HBT (% sps)	0,5	1,5	2,5
x₃	Temps de tractament (h)	1	4	7

10.2.5 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 NaOH durant 120 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.

10.2.6 Propietats de les pastes

Per a la caracterització de les pastes s'ha determinat l'índex kappa, la blancor i la viscositat segons la normativa ISO corresponent indicada al capítol 2. També s'ha determinat el contingut en àcids hexenurònics (HexA) i l'índex kappa degut a la lignina ($I_{k_{lig}}$). El contingut en HexA s'ha determinat segons el mètode proposat per Gellerstedt i Li el 1996 i modificat el 2003, el qual es basa en l'anàlisi per espectroscopia UV (Chai *et al.*, 2001). L' $I_{k_{lig}}$ consisteix a mesurar l' I_k de les pastes obtingudes a partir del mètode de determinació dels HexA, en aquestes se'ls realitza una hidròlisi àcida amb acetat de mercuri a pH 5 per eliminar-ne els HexA i posteriorment la pasta es renta amb aigua destil·lada. Totes les propietats es mesuren després de les etapes L i E.

S'ha calculat la disminució dels HexA i de l' $I_{k_{lig}}$ que es produeix després de les etapes L i E respecte la pasta inicial segons les Eq. 10-1 i Eq. 10-2, respectivament.

$$\text{Disminució HexA (\%)} = \frac{\text{HexA}_i - \text{HexA}_{L/E}}{\text{HexA}_i} \quad \text{Eq. 10-1}$$

$$\text{Disminució } I_{k_{lig}} (\%) = \frac{I_{k_{lig}i} - I_{k_{lig}L/E}}{I_{k_{lig}i}} \quad \text{Eq. 10-2}$$

on "i" indica la pasta crua inicial i "L/E" la pasta tractada després de les etapes L o E.

Per a calcular la disminució dels HexA o l' $I_{k_{lig}}$ que es produeix durant l'etapa E, es resta l'efecte que es produeix durant l'etapa L a l'efecte que es produeix després de l'etapa E en cada cas.

De les pastes obtingudes a partir de la seqüència XLE, es resta l'efecte que es produeix durant l'etapa X.

10.3 RESULTATS I DISCUSSIÓ

A continuació s'analitzen les diferents propietats de les pastes obtingudes a partir de les tres condicions d'aplicació de l'etapa L al llarg de les seqüències LE i XLE.

Primerament s'analitzen les propietats d'índex kappa i blancor en aquests tres punts a partir dels resultats obtinguts als capítols anteriors 7 i 8, seguidament s'analitza l'evolució dels àcids hexenurònics en els diferents tractaments, l'índex kappa degut a la lignina (Ik_{lig}) així com la influència que la lignina i els HexA presenten en l'índex kappa de les pastes. Finalment s'estudia l'evolució de la viscositat al llarg de les seqüències i es comparen entre elles les diferents propietats.

10.3.1 Evolució de l'índex kappa i la blancor al llarg de les seqüències LE i XLE

A la Figura 10-1 s'ha representat gràficament l'índex kappa i la blancor al llarg de les seqüències LE i XLE tant de les pastes inicial i X com de les pastes tractades a les tres diferents condicions d'aplicació d'L.

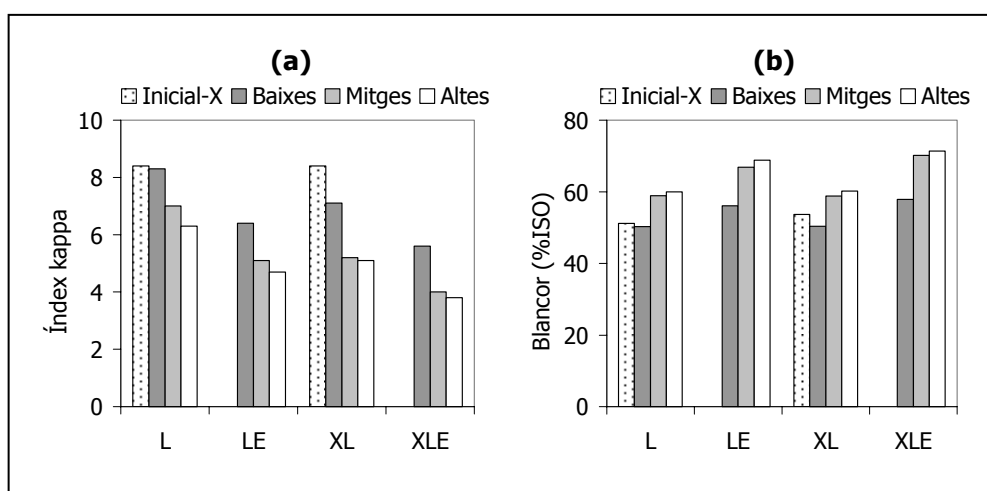


Figura 10-1. Índex kappa (a) i blancor (b) de les seqüències LE i XLE després de cada etapa a les tres diferents condicions d'aplicació de l'etapa L

L'índex kappa i la blancor presenten una mateixa tendència front les diferents condicions: a condicions baixes és on es produeix el menor efecte tant en disminuir l'Ik com en augmentar la blancor, al passar de condicions baixes a mitges es produeix un salt en millorar les dues propietats i al passar de condicions mitges a altes sembla que aquestes s'estabilitzen ja que els efectes en disminuir l'Ik i augmentar la blancor són molt lleugers. Aquest efecte queda manifest després de les etapes L i E, on en tots els casos després de l'etapa E s'obtenen menors valors d'Ik i blancors superiors. La disminució en Ik que es produeix va del 24 al 55% i l'augment de blancor del 9 al 28%.

A la figura també s'observa que l'Ik de la seqüència XLE és sempre inferior a l'LE al llarg de les etapes L i E mentre que la blancor és superior en XLE només després de l'etapa E, tal com s'ha comentat als capítols anteriors.

10.3.2 Evolució dels àcids hexenurònics (HexA) al llarg de les seqüències LE i XLE

A la Taula 10-3 es mostren els resultats del contingut en HexA tant de les pastes inicials com de les dues seqüències LE i XLE després de cada etapa i a les diferents condicions d'aplicació de l'etapa L. S'observa que els HexA són presents a les pastes inicials, tot i que a la pasta X en menor quantitat ja que com s'ha comentat en capítols anteriors, un tractament amb xilanasa elimina HexA degut a la hidròlisi de xilans de la superfície de la fibra els quals contenen HexA. Per tant, les pastes tractades segons la seqüència XLE partiran d'un contingut en HexA inferior abans de realitzar-hi el tractament amb el sistema lacasa-mediador (L).

Taula 10-3. Contingut en HexA ($\mu\text{mol/gps}$) per etapes en les seqüències LE i XLE

	L	LE	XL	XLE
Inicial-X	38 \pm 1,1		32,5 \pm 0,8	
Baixes	39,6 \pm 0,9	33,8 \pm 0,4	29,2 \pm 1,3	25,0 \pm 1
Mitges	36,1 \pm 0,9	33,9 \pm 0,7	27,1 \pm 0,4	24,9 \pm 0,6
Altes	34 \pm 0,5	29,5 \pm 0,5	24,8 \pm 0,9	21,2 \pm 0,9

Aquests mateixos resultats s'han representat gràficament a la Figura 10-2 per tal de d'interpretar millor els resultats on s'observa que els HexA disminueixen al llarg de les etapes L i E. Després de l'etapa L els HexA disminueixen en gairebé tots els casos tant si es parteix de la pasta inicial (pastes L) com de la pasta X (pastes XL), aquesta disminució és major al augmentar les condicions de l'etapa L; tant en les pastes L com XL s'observa la mateixa tendència on augmentar les condicions del tractament L comporta més disminució d'HexA, aquesta disminució és de 4,0 $\mu\text{mol/gps}$ a condicions altes de les pastes L respecte la pasta inicial i fins a 7,7 $\mu\text{mol/gps}$ a condicions altes de les pastes XL respecte la pasta X.

Després de l'etapa E el contingut en HexA de totes les pastes és inferior que després de l'etapa L, ja no hi ha diferències entre el contingut en HexA de les pastes tractades a condicions baixes i mitges però sí a condicions altes on s'obté el menor contingut en HexA; a condicions altes després de l'etapa E, el contingut en HexA de les pastes disminueix 8,5 $\mu\text{mol/gps}$ a la seqüència LE respecte la pasta inicial i 11,3 $\mu\text{mol/gps}$ a la seqüència XLE respecte la pasta X.

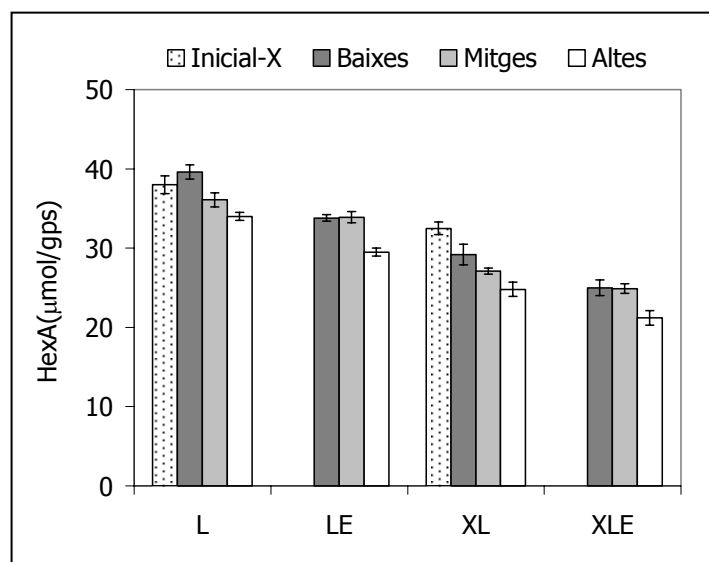


Figura 10-2. Contingut en HexA de les seqüències LE i XLE després de cada etapa a diferents condicions d'aplicació de l'etapa L

Una altra manera d'interpretar aquests resultats és calculant la disminució dels HexA en tant per cent que es produeix durant les etapes L i E, tal com es mostra a la Figura 10-3. Amb una seqüència LE (a), els HexA disminueixen un 11% a condicions baixes i mitges i un 22% a condicions altes, a condicions baixes la disminució dels HexA es produeix durant l'etapa E mentre que a condicions mitges i altes és produït la meitat a l'etapa L i l'altra meitat a l'etapa E. Amb una seqüència XLE, es produeix un 23% de disminució d'HexA en els tractaments realitzats a condicions baixes i mitges i un 35% a condicions altes, aquesta disminució és produïda entre les etapes L i E.

Per tant, segons aquests resultats es pot dir que el tractament amb el sistema lacasa-mediador elimina àcids hexenurònics i aquesta eliminació depèn de les condicions d'aplicació d'L, així, durant la mateixa etapa enzimàtica (L) la disminució dels HexA va del 0 a l'11% a les pastes L i del 9 al 20% a les pastes XL. Durant l'etapa E també es produeix eliminació d'HexA que va del 6 al 13% i en aquesta etapa la disminució no depèn de les condicions d'aplicació d'L.

L'eliminació d'HexA durant l'etapa L es deu produir per l'oxidació de l'HexA per part del sistema lacasa-mediador mentre que durant l'etapa E és degut probablement a l'extracció d'HexA units a xilà sota condicions alcalines (Colodette *et al.*, 2002 i Li *et al.*, 2002(b)).

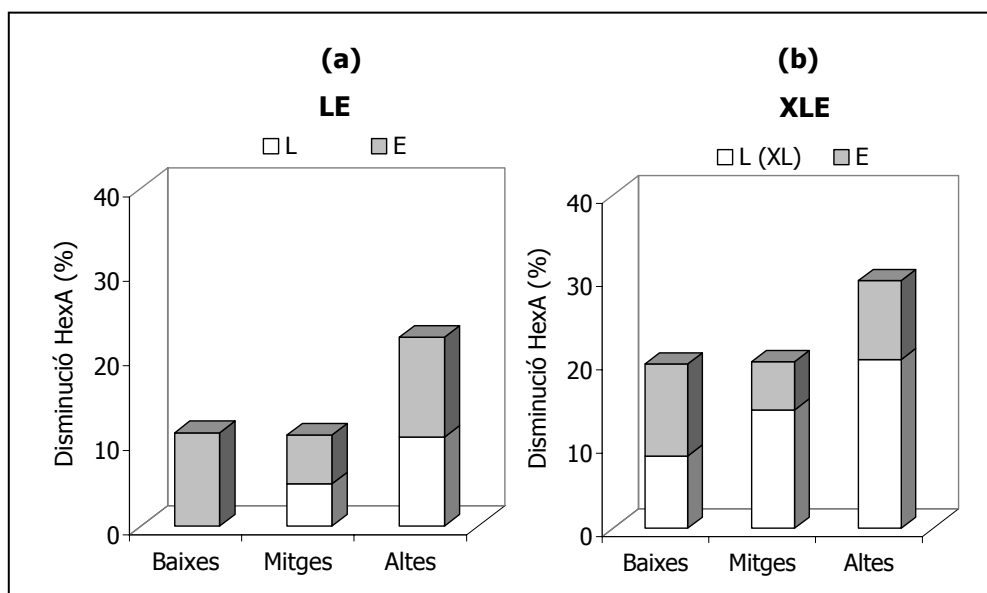


Figura 10-3. Disminució dels HexA durant les seqüències LE (a) i XLE (b)

Quan es parla de condicions baixes, mitges o altes es refereix a que tant la dosi de lacasa com la dosi de mediador com el temps de tractament es troben al punt d'aplicació baix, mig o alt i per tant no es pot dir si la major eliminació en HexA es produeix a causa d'una de les variables en concret. Gamelas *et al.*, (2007), van obtenir una major disminució dels HexA a mesura que augmentava el temps de tractament en una seqüència LE, en canvi, Oudia *et al.*, (2007) i Ibarra *et al.*, (2006) obtenen que els HexA no varien durant el tractament amb el sistema lacasa-mediador.

10.3.2.1 Efecte del pretractament enzimàtic amb xilanasa (X) en els HexA

A la Figura 10-2 s'ha observat que les pastes L i XL segueixen una mateixa tendència en el contingut en HexA de les pastes on la disminució depèn de les condicions de l'etapa L. De tota manera, sempre el contingut en HexA de les pastes XL és notablement inferior a les L, això és degut en part a que parteixen d'un menor contingut en HexA de la pasta inicial X (el pretractament X elimina un 15% dels HexA de les pastes), però també és degut a que el tractament L elimina més quantitat d'HexA després de l'etapa X tal com queda manifest al comparar les figures a i b de la Figura 10-3. Així doncs, si a les pastes se'ls realitza una etapa de pretractament enzimàtic amb xilanasa es produeix el 10% més d'eliminació d'HexA durant l'etapa L; d'altra banda, durant l'etapa E gairebé no hi ha diferències entre tractaments.

Cal destacar que a les condicions baixes de la seqüència XLE el contingut en HexA (25,0 $\mu\text{mol/gps}$) és inferior a les condicions altes en LE (29,5 $\mu\text{mol/gps}$). Això indica que d'alguna manera el tractament amb xilanasa "facilita" l'eliminació d'HexA per part del sistema lacasa-mediador. Alguns autors (Oksanen *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 1998 i Herpoël *et al.*, 2002) han observat una major disminució de l'índex kappa per part del tractament L si a les pastes se'ls aplica una etapa X i Surma-Slusarska i Leks-Stepien (2001) conclouen que el pretractament amb xilanasa facilita l'accés de la lacasa a la lignina. Cap d'ells comenta que aquesta major disminució de l'índex kappa sigui deguda a que el pretractament amb xilanasa faciliti l'accés de la lacasa als HexA tot i que Nelson *et al.*, (1998) també va obtenir una disminució lleugerament superior dels HexA després d'una etapa X.

Al capítol 6 s'ha observat que la diferència d'HexA entre pastes D i XD és de 4,6 $\mu\text{mol/gps}$ mentre que entre L i XL és de 10 $\mu\text{mol/gps}$ i entre LE i XLE és de 8-9 $\mu\text{mol/gps}$, això indica que després d'una etapa X el tractament L "facilita" més l'eliminació d'HexA que el diòxid de clor.

10.3.3 Evolució de l'índex kappa degut a la lignina ($I_{k_{\text{lig}}}$) al llarg de les seqüències LE i XLE

El mètode de determinació dels àcids hexenurònics es basa en una hidròlisi àcida de les pastes amb acetat de mercuri i a partir del filtrat se'n determina el contingut en HexA, les pastes que en resulten no contenen HexA i per tant, si se'n determina el seu índex kappa, aquest serà degut a la lignina ($I_{k_{\text{lig}}}$) i a altres estructures minoritàries (Li i Gellerstedt, 2002; Costa i Colodette, 2007). En aquest estudi no es tenen en compte les estructures minoritàries i se suposa que l' I_k és degut únicament a la lignina i als HexA.

Els resultats d' $I_{k_{\text{lig}}}$ de les diferents pastes tractades segons les seqüències LE i XLE després de cada etapa es mostren a la Taula 10-4. Aquests resultats són inferiors als obtinguts a partir de l' I_k total de les pastes i això indica que els HexA influenciaven a l' I_k . També s'observa que la pasta X conté menor $I_{k_{\text{lig}}}$ que la pasta inicial degut a que el pretractament amb xilanasa ha eliminat lignina atrapada entre els xilans (Roncero *et al.*, 2005) tal com també s'ha observat en capítols anteriors.

Taula 10-4. $I_{k_{lig}}$ per etapes en les seqüències LE i XLE

	L	LE	XL	XLE
Inicial-X	4,9		3,8	
Baixes	4,2	3,3	3,6	3
Mitges	2,7	1,7	2,6	1,4
Altes	2,6	1,4	2,6	1,3

A la Figura 10-4 s'han representat gràficament els resultats d' $I_{k_{lig}}$ i s'observa que la lignina disminueix tant durant l'etapa L com durant l'etapa E. Igual que s'ha vist en la propietat d' I_k , la disminució de l' $I_{k_{lig}}$ depèn de les condicions d'aplicació d'L on l'efecte és superior a condicions mitges i altes que a condicions baixes tant a les pastes L com XL. Aquests resultats indiquen que un tractament L provoca oxidació de la lignina de la pasta i a aquesta oxidació és major al augmentar les condicions de les variables d'L fins al punt mig, però si les tres variables passen al nivell superior ja no s'oxida més lignina que la del punt mig. Després de l'etapa E també disminueix l' $I_{k_{lig}}$ degut a l'extracció de les fraccions de lignina no solubles al pH de l'etapa enzimàtica i s'observa la mateixa tendència que a l'etapa anterior segons les condicions del tractament L.

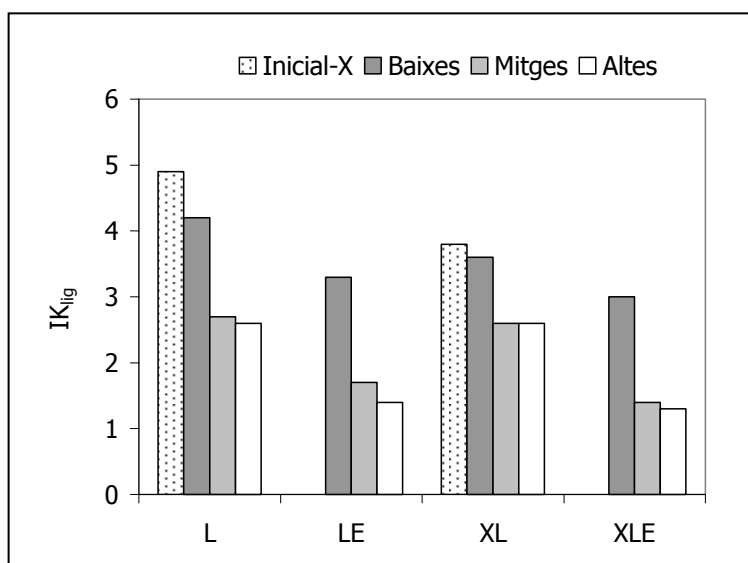


Figura 10-4. $I_{k_{lig}}$ de les seqüències LE i XLE després de cada etapa a diferents condicions d'aplicació de l'etapa L

Una altra manera d'interpretar aquests resultats és mesurant el tant per cent de disminució de l' $I_{k_{lig}}$ per etapes, aquesta mesura equival a la "deslignificació real" que es produeix a la pasta (Figura 10-5). En aquesta figura s'observa que la disminució de

$I'k_{lig}$ o "deslignificació real" que es produeix durant la seqüència LE (a) va del 33 al 71% depenent de les condicions d'L i del 16 al 51% a la seqüència XLE (b), la "deslignificació real" es produeix tant durant l'etapa L com durant l'etapa E. Durant la seqüència LE el tractament L produeix una "deslignificació real" entre el 14 i el 47%, que augmenta al passar de condicions baixes a mitges però no al passar de condicions mitges a altes. A la seqüència XLE (b) la "deslignificació real" que es produeix durant el tractament L va del 4 al 24%. L'etapa d'extracció alcalina produeix "deslignificació real" sobre totes les pastes que no depèn de les condicions d'aplicació d'L i que va del 12 al 27%.

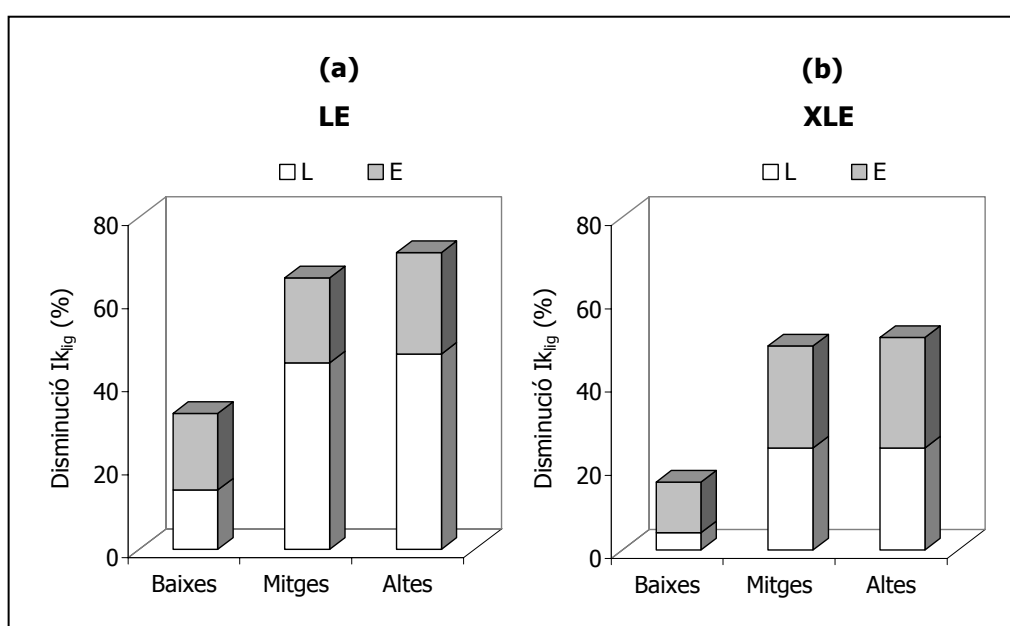


Figura 10-5. Disminució de $I'k_{lig}$ durant les seqüències LE (a) i XLE (b)

10.3.3.1 Efecte del pretractament enzimàtic amb xilanas (X) en $I'k_{lig}$

A continuació s'avalua si el pretractament enzimàtic X influeix en la "deslignificació real" que produeix el sistema lacasa-mediador. Tal com mostren els resultats de la Taula 10-4 les pastes X contenen menor $I'k_{lig}$ que la pasta inicial i per tant les pastes de la seqüència XLE parteixen d'un $I'k_{lig}$ inferior abans de realitzar el tractament amb el sistema lacasa-mediador. A la Figura 10-5 s'ha representat gràficament la disminució en aquest $I'k_{lig}$ en tant per cent o "deslignificació real" que es produeix a les pastes i al contrari que s'ha observat amb els àcids hexenurònics la "deslignificació real" produïda durant l'etapa L a les pastes XL és inferior a la produïda a les pastes L, potser perquè

al partir de menys quantitat de lignina a la pasta X aquesta és més difícil d'eliminar amb un tractament L; durant l'etapa E no hi ha diferències significatives de "deslignificació real" entre tractaments.

Així doncs, tot i que les pastes XLE parteixen d'un $I_{k_{lig}}$ inferior, al llarg de les etapes L i E la diferència d' $I_{k_{lig}}$ amb les pastes LE disminueix. Per tant, no es pot dir que el pretractament enzimàtic amb xilanasa faciliti l'acció del sistema lacasa-mediador en eliminar lignina.

10.3.4 Influència de la lignina i dels HexA en l'índex kappa

En el mètode estàndard de determinació de l'índex kappa, el consum del permanganat potàssic no és només degut a la lignina sinó també als HexA i altres compostos minoritaris que contenen dobles enllaços i/o grups carbonil (Li i Gellerstedt, 1997, 1998 i 2002, i Vuorinen, *et al.*, 1999) i que donen lloc a una mesura errònia del contingut en lignina de la pasta. Com ja s'ha comentat, en aquest estudi només es considera que l' I_{k} és degut a la lignina i als HexA, per tant, l'índex kappa de les pastes és igual a la suma de l' I_{k} de la lignina ($I_{k_{lig}}$) i a l' I_{k} dels HexA ($I_{k_{HexA}}$) tal com es mostra a l'Eq. 10-3.

$$\text{Índex kappa} = I_{k_{lig}} + I_{k_{HexA}} \quad \text{Eq. 10-3}$$

Si a l'índex kappa de les pastes se li resta l' $I_{k_{lig}}$ s'obté l' $I_{k_{HexA}}$ el qual correspondria a l' I_{k} degut als àcids hexenurònics. A partir de les Eq. 10-4 i Eq. 10-5 s'ha calculat la influència de l' $I_{k_{lig}}$ i l' $I_{k_{HexA}}$ sobre l' I_{k} total tant a les pastes inicials com a les pastes tractades al llarg de les seqüències LE i XLE a condicions altes d'aplicació de l'etapa L i s'ha representat gràficament a la Figura 10-6.

$$\text{Influència } I_{k_{lig}} (\%) = 100 * \frac{I_{k_{lig}}}{\text{Índex kappa}} \quad \text{Eq. 10-4}$$

$$\text{Influència } I_{k_{HexA}} (\%) = 100 * \frac{I_{k_{HexA}}}{\text{Índex kappa}} \quad \text{Eq. 10-5}$$

A la pasta inicial la lignina presenta més influència que els HexA els quals influeixen en un 40%, mentre al llarg de les etapes L i E de la seqüència LE, la influència dels HexA augmenta fins al 70% després de l'etapa E. A la pasta X els HexA influeixen el 55% i

després del tractament L (XL) els HexA i la lignina influencien igual en l'Ik (50%), després de l'etapa E (XLE) la influència dels HexA augmenta fins el 66%.

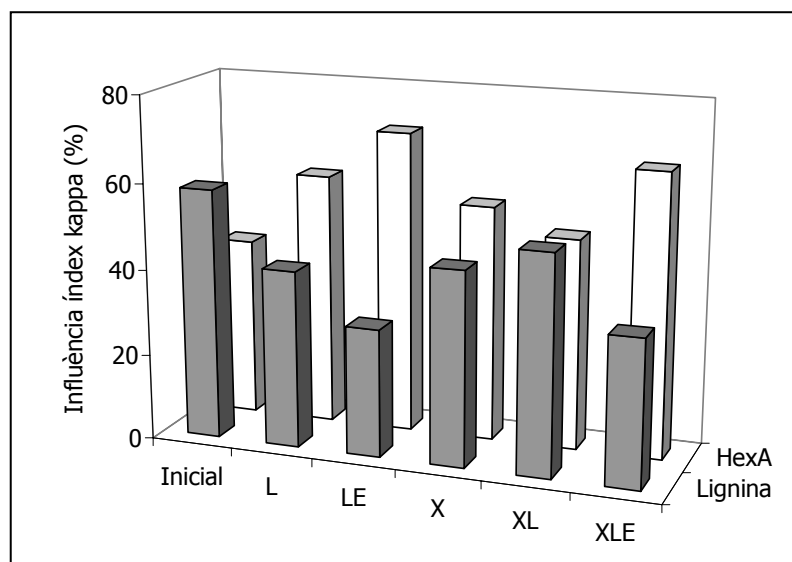


Figura 10-6. Influència de la lignina i dels HexA en l'índex kappa de les pastes inicials i al llarg de les seqüències LE i XLE a condicions altes de tractament L

Aquests resultats ajuden a entendre el comportament dels diferents tractaments en eliminar HexA i lignina ja que si augmenta la influència d'un d'ells és perquè l'altre ha disminuït en major proporció. Així, al llarg de les etapes L i E de la seqüència LE, tot i que els HexA també disminueixen, s'elimina lignina en major proporció i per aquest motiu augmenta la influència dels HexA en l'Ik. D'altra banda, al llarg de les etapes L i E de la seqüència XLE s'elimina més quantitat d'HexA degut a que el pretractament enzimàtic amb xilanaso facilita l'accés del sistema lacasa-mediador en aquests àcids, per aquest motiu la influència dels HexA a les pastes XL és inferior a les pastes L; després de l'etapa E, augmenta la influència dels HexA degut a que en aquesta etapa s'elimina lignina en major proporció.

Segons Nelson *et al.*, (1998) la influència dels HexA en l'Ik augmenta amb una etapa L degut a l'eliminació de lignina en aquesta etapa i no d'HexA, i Ibarra, *et al.*, (2006) van observar que la contribució dels HexA en l'índex kappa al final d'una seqüència TCF era del 50%. Oudia, *et al.*, (2007) comenta que més del 95% de la disminució de l'Ik durant la seqüència LE és degut a la disminució de la lignina mentre que en aquest treball s'ha vist que els HexA també disminueixen en el tractament L, sobretot si abans s'ha aplicat una etapa de pretractament X a les pastes.

Per tant, es pot dir que durant la seqüència LE, s'eliminen HexA i lignina però aquesta última en major proporció i per això augmenta la influència dels HexA en l'índex kappa mentre que durant la seqüència XLE, com que el pretractament X facilita l'eliminació d'HexA pel sistema lacasa-mediador i no de lignina, la influència dels HexA en l'índex kappa és lleugerament inferior.

10.3.5 Evolució de la viscositat al llarg de les seqüències LE i XLE

Segons García, 2003, durant el tractament amb el sistema lacasa-mediador es formen radicals lliures (OH \cdot) que faciliten la deslignificació però que també poden actuar no selectivament sobre la cel·lulosa ja que aquest radical dóna lloc a la formació de grups carbonil, que en posteriors etapes alcalines produeix el trencament de la cadena cel·lulòsica i la disminució del seu grau de polimerització (Roncero, 2001; Roncero *et al.*, 2003(b)). García, 2003 també comenta que la formació d'aquests grups va en augment a mesura que el temps de tractament és major.

D'altra banda, Herpoël *et al.*, 2002 obtenen que un tractament amb xilanasa i amb el sistema lacasa-mediador no implica degradació significativa de la cel·lulosa indicant l'acció específica dels tractaments amb xilanasa i lacasa. Altres autors únicament fan referència a que existeix una degradació de la pasta que s'atribueix a l'efecte del sistema per si mateix, i no a l'oxidació de la cel·lulosa (Nelson *et al.*, 1998; Chakar i Ragauskas, 2000; Sealey *et al.*, 2000).

A la Taula 10-5 es mostren els resultats de viscositat de la pasta inicial i X i de les pastes tractades després de l'etapa L.

Taula 10-5. Viscositat (mL/gps) per etapes en les seqüències L i XL

	L	XL
Inicial-X	972±20	986±31
Baixes	983±6	1001±16
Mitges	840±17	935±78
Altes	859±28	893±57

Després de l'etapa L hi ha una lleugera disminució de la viscositat a condicions mitges i altes de 100 mL/g, de tota manera, s'ha demostrat que l'alteració oxidativa de la cel·lulosa pel sistema lacasa-mediador pot ser reversible mitjançant una etapa reductora (Roncero *et al.*, 2003(a)). Les pastes pretractades amb xilanasa presenten una viscositat superior en tots els casos després de l'etapa L.

Després de l'etapa L la viscositat segueix la mateixa tendència que l'Ik, la blancor i l'Ik_{lig} on a condicions baixes d'L no disminueix la viscositat de la pasta, mentre sí que disminueix a condicions mitges, i no hi ha diferències entre condicions mitges i altes.

10.3.6 Relació entre les diferents propietats de les pastes

En aquest apartat es comparen les diferents propietats de les pastes obtingudes. En les propietats d'Ik i blancor s'ha comentat que a condicions baixes d'aplicació d'L es produeixen pocs efectes mentre que al passar a condicions mitges es produeix un salt en millorar aquestes propietats i al passar a condicions altes milloren només lleugerament indicant que s'arriba un punt d'estabilització. Aquest comportament va lligat amb la propietat d'Ik_{lig} on s'observa la mateixa tendència front les diferents condicions d'aplicació d'L, mentre que l'evolució dels HexA és diferent ja que entre condicions baixes i mitges aquests no varien i és a condicions altes on es produeix la major disminució d'aquests àcids. Una possible explicació d'aquest comportament seria que fins unes condicions s'elimina lignina i a partir d'aquestes es comencen també a eliminar HexA.

A la Figura 10-7 es relacionen els resultats d'índex kappa i Ik_{lig} amb la blancor de les pastes i s'observa que la correlació entre l'Ik_{lig} i la blancor és més elevada que entre l'índex kappa total de les pastes, tal com indiquen els coeficients de regressió corresponents.

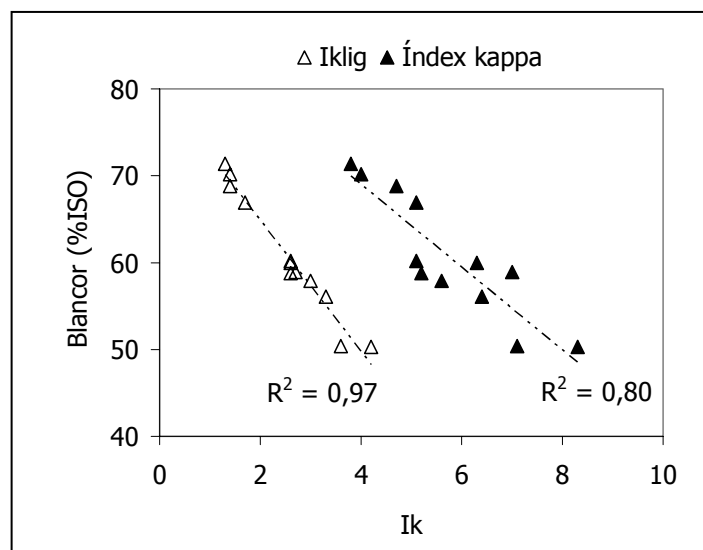


Figura 10-7. Ik_{lig} i índex kappa vs. blancor de les diferents pastes obtingudes

Aquests resultats suggereixen que el que fa augmentar la blancor de la pasta és principalment la oxidació de la lignina. A més, també s'ha demostrat que durant la seqüència LE es produeix una "deslignificació real" que arriba fins el 71% i que és superior a la disminució de l'Ik, això és degut a la gran influència que presenten els HexA a l'Ik que arriba fins al 70% després de l'etapa E.

Per últim, s'ha demostrat que les pastes pretractades amb xilanasa (XLE), sempre tenen un Ik inferior a les LE, però en canvi la lignina és aproximadament igual entre les dues seqüències tal com indiquen els resultats d'Ik_{lig}. Per tant, és principalment la major eliminació d'HexA després del pretractament X el que fa que les pastes XLE tinguin un menor Ik.

10.4 CONCLUSIONS

En aquest capítol es mesuren diferents propietats de les pastes a diferents condicions d'aplicació del sistema lacasa-mediador. Al passar de condicions baixes a mitges milloren significativament les propietats d'Ik, blancor i Ik_{lig}, mentre que al passar a condicions altes disminueixen els HexA.

S'ha demostrat que els HexA disminueixen entre l'11 i el 35% en les seqüències LE i XLE, i aquesta disminució es produeix tant durant l'etapa L com durant l'etapa E i és influenciada per les condicions d'aplicació de l'etapa L i per l'etapa de pretractament X. D'altra banda, l'Ik_{lig} disminueix entre el 21 i el 71% i aquesta disminució es produeix tant durant l'etapa L com durant l'etapa E i depèn de les condicions d'aplicació d'L. La viscositat de les pastes és lleugerament afectada durant l'etapa enzimàtica L.

L'etapa de pretractament enzimàtic amb xilanasa fa augmentar el 10% la disminució dels HexA per part del tractament amb el sistema lacasa-mediador, mentre que no influencia la disminució de la lignina. Amb una etapa L sense etapa prèvia X, s'ataca sobretot la lignina de la pasta que és la que fa disminuir l'Ik, en canvi, si hi ha una etapa de pretractament X abans d'L, la disminució de l'Ik és deguda tant a que baixa la lignina com a que baixen els HexA. Es pot dir doncs, que l'etapa X "facilita" d'alguna manera l'eliminació d'HexA per part del sistema lacasa-mediador.

Al mesurar la influència dels HexA i de la lignina en l'índex kappa de les pastes es conclou que durant les seqüències LE i XLE, tot i que els HexA també disminueixen, la lignina s'elimina en major proporció i per aquest motiu augmenta la influència dels HexA en l'Ik fins al 70% després de l'etapa E. Així, durant la seqüència LE la "deslignificació real" que arriba fins al 71% és superior a la disminució de l'Ik. A més, es demostra que la disminució de l'Ik_{lig} està relacionada amb l'augment de blancor i

per tant l'augment de blancor en L és degut principalment a que el sistema lacasa-mediador oxida la lignina.

10.5 REFERÈNCIES

- Chai, X.S., Zhu, J.Y. i Li, J. (2001) A Simple and Rapid Method to Determine Hexeneuronic Acid Groups in Chemical Pulps. *Journal of Pulp and Paper Science* 27(5):165-170.
- Chakar, F.S. i Ragauskas, A.J. (2000) Effects of oxidative alkaline extraction stages after laccase_{HBT} and laccase_{NHAA} treatments-an NMR study of residual lignins. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 20(2):169-184.
- Colodette, J.L., Gomide, J.L., Girard, R., Jaaskelainen, A. i Argyropoulos, D.S. (2002) Influence of pulping conditions on eucalyptus kraft pulp yield, quality, and bleachability. *Tappi Journal* 1(3):14-20.
- Costa, M.M. i Colodette, J.L. (2007) The impact of kappa number composition on eucalyptus kraft pulp bleachability. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 24(1):61-71.
- 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.
- García, O. (2003) Utilización de fibras de lino en la fabricación de papel. Nuevas secuencias de blanqueo y aplicación de sistemas enzimáticos. Tesi doctoral. Departament d'Enginyeria Tèxtil i Paperera. Escola Tècnica superior d'Enginyeria Industrial i Aeronàutica de Terrassa. Universitat Politècnica de Catalunya. Terrassa, Espanya.
- Gellerstedt, G. i Li, J. (1996) An HPLC method for the quantitative determination of hexeneuronic acid groups in chemical pulps. *Carbohydrate Research* 294:41-45.
- 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) 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):1159-1165.
- Jiang, Z., Van Lierop, B. i Berry, R. (2000) Hexenuronic acid groups in pulping and bleaching chemistry. *Tappi Journal* 83(1):167-175.
- Li, J. i Gellerstedt, G. (1997) The contribution to kappa number from hexeneuronic acid groups in pulp xylan. *Carbohydrate Research* 302:213-218.
- Li, J. i Gellerstedt, G. (1998) On the structural significance of the kappa number measurement. *Nordic Pulp & Paper Research Journal* 13:153-158.
- Li, J. i Gellerstedt, G. (2002) Oxymercuration-demercuration kappa number: An accurate estimation of the lignin content in chemical pulps. *Nordic Pulp and Paper Research Journal* 17:410-414.
- Li, J., Sevastyanova, O. i Gellerstedt, G. (2002 (a)) The relationship between kappa number and oxidizable structures in bleached kraft pulps. *Journal of Pulp and Paper Science* 28:262-266.
- Li, J., Sevastyanova, O. i Gellerstedt, G. (2002 (b)) The distribution of oxidizable structures in ECF-and TCF-bleached kraft pulps. *Nordic Pulp and Paper Research Journal* 17:415-419.
- 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* 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. (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.
- Roncero, M.B. (2001) Obtención de una secuencia "TCF" con la aplicación de ozono y enzimas, para el blanqueo de pastas madereras y de origen agrícola. Optimización de la etapa Z. Análisis de los efectos en la fibra celulósica y sus componentes. Tesis doctoral. Departament d'Enginyeria Tèxtil i Paperera. Escola Tècnica superior d'Enginyeria Industrial i Aeronàutica de Terrassa. Universitat Politècnica de Catalunya. Terrassa, Espanya.
- Roncero, M.B., Colom, J.F. i Vidal, T. (2003(a)) Cellulose protection during ozone treatments of oxygen delignified Eucalyptus kraft pulp. *Carbohydrate Polymers* 51(3):243-254.

- Roncero, M.B., Colom, J.F. i Vidal, T. (2003(b)) Why oxalic acid protects cellulose during ozone treatments? *Carbohydrate Polymers* 52(4):411-422.
- Roncero, M.B., Torres, A.L., Colom, J.F. i Vidal, T. (2005) The effect of xylanase on lignocellulosic components during the bleaching of wood pulps. *Bioresource Technology* 96(1):21-30.
- Sealey, J.E., Runge, T.M. i Ragauskas, A.J. (2000) Laccase N-hydroxybenzotriazole full-sequence bleaching with hydrogen peroxide and chlorine dioxide. *Tappi Journal* 83:1.
- 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.
- Vuorinen, T., Fagerström, P., Buchert, J., Tenkanen, M. i Teleman, A. (1999) Selective hydrolysis of hexenuronic acid groups and its application in ECF and TCF bleaching of kraft pulps. *Journal of Pulp and Paper Science* 25(5):155-162.