

# CAPÍTULO 5: ESTUDIO ESTADÍSTICO. ETAPA L

## 5.1 RESUMEN

La pasta de lino se blanquea mediante una etapa de tratamiento enzimático con lacasa y HBT como mediador (L). El sistema lacasa-mediador se optimiza aplicando un plan estadístico secuencial de cuatro variables. Los márgenes de variación de dichas variables son: dosis de lacasa (1 a 20 U·g<sup>-1</sup>), dosis de HBT (0,1 a 2 %odp), tiempo de aplicación (0,5 a 6,5 h) y presión de oxígeno en el reactor (0,2 a 0,6 MPa). Se estudia la influencia de estas variables en las propiedades de las pastas después de la etapa L.

Los resultados obtenidos presentan valores entre 6,9 y 10,1 de índice kappa, 35,1 y 41,2 %ISO de blancura y 939 mL·g<sup>-1</sup> y 835 mL·g<sup>-1</sup> de viscosidad. Se ha obtenido un modelo matemático que predice la propiedad de índice kappa en función de los factores del proceso. El índice kappa disminuye al aumentar los factores hasta un valor límite de 6,9 que corresponde a una dosis de lacasa de 13 U·g<sup>-1</sup>, dosis de HBT de 2 %odp y un tiempo de 6,5 h. El modelo predice una dosis de lacasa límite de 13 U·g<sup>-1</sup> a partir de la cual un aumento en la dosis no supone una disminución adicional de índice kappa. La variación de la presión de oxígeno en el reactor entre 0,2 y 0,6 MPa no influye en el índice kappa. No se ha logrado obtener un modelo de blancura después de la etapa L. La viscosidad de la pasta disminuye al aumentar las dosis de reactivos y el tiempo de tratamiento, pero esta diferencia no es lo suficientemente elevada para establecer un modelo matemático de la viscosidad en función de los factores de la etapa L.

## 5.2 INTRODUCCIÓN

El actual interés de la aplicación de biotecnología en los procesos de fabricación de pasta y papel es consecuencia de las posibilidades que ofrecen los tratamientos biológicos en cuanto a las restricciones ambientales mencionadas en anteriores capítulos. La aplicación en el área de blanqueo parece muy prometedora. Las enzimas del tipo oxidativas (lacasas, MnP y lignina peroxidasas), estudiadas por muchos autores en los últimos veinte años, sugieren mejoras en el blanqueo de pastas kraft y

ahorro de reactivos (Call and Mücke 1997;Paice et al. 1995;Viikari 2000). El bioblanqueo con este tipo de enzimas se encuentra aún en fase de desarrollo, pero, en algunos casos, está cerca su implementación industrial. Particularmente, las enzimas lacasas, que necesitan la presencia de un mediador para su actuación, son las más prometedoras (Eriksson 2000;Paice et al. 2002;Viikari 2000). Es lo que se denomina el sistema lacasa-mediador (LMS), en el cual la enzima oxida un mediador químico que, a su vez, oxida la lignina.

El sistema lacasa-mediador permite desarrollar secuencias de blanqueo TCF, sustituir la etapa de deslignificación con oxígeno o la de ozono, ahorrar reactivos, blanquear la pasta y reducir el índice kappa. En la literatura de la última década se demuestra que existen muy buenas perspectivas en el blanqueo de pasta aplicando tanto MnP, como lacasas en presencia de mediadores (Bajpai 1999;Bourbonnais et al. 1997;Chakar and Ragauskas 2000a;Chakar and Ragauskas 2000b;Nelson et al. 1998;Paice et al. 1995). El elevado coste y los problemas de contaminación de los mediadores han llevado a los investigadores a focalizar sus estudios en la búsqueda de mediadores alternativos y en su recuperación. Por lo que para solventar estos inconvenientes y de cara a una futura aplicación industrial se hace necesaria la optimización de las variables del proceso tales como las dosis de enzima y mediador, el tiempo de reacción y la adición de oxígeno.

En pocos trabajos se han aplicado enzimas oxidativas para el blanqueo de pastas no madereras (Camarero et al. 2004;Camarero et al. 2002;García 2003;Herpöel et al. 2002;Sigoillot et al. 2005;Wong et al. 1999). En la bibliografía la mayoría de los estudios tratan la influencia del sistema lacasa-mediador en reacciones con los compuestos modelo de la lignina para tiempos cortos de tratamiento (Balakshin et al. 2000;Balakshin et al. 2001). En general, los estudios de deslignificación de pasta mediante el sistema lacasa mediador no suelen analizar la degradación de la celulosa a partir de la medida de la viscosidad (Balakshin et al. 1999;García 2003). En cuanto a la influencia de la concentración de oxígeno en el sistema lacasa mediador, algunos autores indican que cuando el tratamiento se realiza en un reactor a presión, un aumento en la presión de oxígeno produce un aumento de la deslignificación de la pasta (Balakshin et al. 2001;Call and Mücke 1997). También se ha observado que se produce un aumento en la deslignificación de la pasta de lino y una disminución de la viscosidad después de aplicar la secuencia LP cuando el tratamiento se realiza en el reactor a presión respecto al tratamiento a presión atmosférica (García 2003).

En la bibliografía se encuentra un antecedente en la optimización de las dosis de reactivos y del tiempo en una secuencia con el sistema lacasa mediador y una etapa de peróxido de hidrógeno en pasta de lino a presión atmosférica (García et al. 2003). En este caso se pretende estudiar la influencia de las variables de proceso en las propiedades de la pasta después de la etapa de tratamiento enzimático. La

optimización del proceso se realiza en unas condiciones de trabajo más fácilmente aplicables en la industria, para ello en esta nueva optimización se han acotado las variables de dosis de mediador y tiempo y se han realizado los tratamientos en el reactor con presión de oxígeno.

En el presente capítulo se utiliza un plan estadístico secuencial para estudiar la influencia de las variables del tratamiento lacasa-mediador (dosis de lacasa, dosis de mediador, tiempo de actuación y presión de oxígeno en el reactor) en las propiedades de la pasta (blancura, índice kappa y viscosidad) después de una etapa de tratamiento enzimático.

### **5.3 MATERIALES Y MÉTODOS**

En este apartado se indican las materias primas utilizadas, las condiciones generales de aplicación de las distintas etapas y los análisis realizados en este capítulo. En el capítulo 2 “Materiales y Métodos” se describe la metodología de manera más detallada.

#### **5.3.1 MATERIA PRIMA**

La pasta inicial es la pasta cruda de lino después de un lavado ácido, sus propiedades se muestran en la Tabla 5-1. La enzima utilizada es una lacasa comercial de *Trametes villosa* proporcionada por Novozymes® (Ref. NS-51002) y tiene una actividad de 39,4 U·mL<sup>-1</sup>. El mediador utilizado es el HBT (Fluka, Ref. 54802).

**Tabla 5-1. Propiedades de la pasta inicial.**

<b>Índice kappa</b>	10,5
<b>Blancura (%ISO)</b>	36,5
<b>Viscosidad (mL·g<sup>-1</sup>)</b>	952

#### **5.3.2 ELECCIÓN DEL NIVEL ALTO PARA LA OPTIMIZACIÓN**

El objetivo de este estudio es determinar el valor del nivel alto de las variables a utilizar en la optimización del sistema lacasa mediador en el blanqueo de lino. Estos valores deben ser tales que permitan observar variaciones en las propiedades de la pasta. Para ello se realizan tratamientos en el reactor a presión a dosis altas de lacasa y mediador 25 U·g<sup>-1</sup> y 3 %odp, y a una presión de 0,6 MPa a distintos tiempos de tratamiento 1, 4 y 7 h. Se estudian la etapa L y las secuencias LE y LR.

### **5.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL**

Los diferentes tratamientos enzimáticos se realizan siguiendo un diseño secuencial, que consta de diseño factorial  $2^4$  con tres réplicas en el centro y una estrella de ocho experiencias. Las cuatro variables o factores varían en los siguientes márgenes:  $X_1$   $\equiv$  dosis de lacasa (1 a 20 U·g<sup>-1</sup>),  $X_2$   $\equiv$  dosis de HBT (0,1 a 2 %odp),  $X_3$   $\equiv$  tiempo de aplicación (0,5 a 6,5 h) y  $X_4$   $\equiv$  presión de oxígeno en el reactor (0,2 a 0,6 MPa).

Por cuestiones de estabilidad experimental y admitiendo que quizás será necesario en el estudio estadístico utilizar todas las experiencias previstas en el diseño secuencial, se decide realizar los 27 tratamientos de la etapa L “en bloque” al inicio del estudio. Los diferentes análisis de pastas y efluentes se realizan según los resultados estadísticos que se obtienen en el estudio del diseño secuencial. Los resultados experimentales se analizan con el programa “EXCEL” mediante la “Herramienta para análisis: Regresión” y mediante el “Método de regresión paso a paso hacia atrás”.

### **5.3.4 ETAPA CON EL SISTEMA LACASA MEDIADOR (ETAPA L)**

Los tratamientos se efectúan sobre 40 g de pasta inicial al 3 %odp de consistencia en una solución tamponada 50 mM en tartrato sódico a pH 4 a una temperatura de 30 °C. Se añade Tween 80 como tensoactivo. Las experiencias se llevan a cabo en un reactor a presión. La dosis de lacasa, la dosis de mediador, el tiempo de tratamiento y la presión de oxígeno son las cuatro variables del diseño experimental y se especifican en su correspondiente apartado.

### **5.3.5 ETAPA DE EXTRACCIÓN ALCALINA (ETAPA E)**

A las pastas obtenidas después de la etapa L se les realiza una etapa E de extracción alcalina. Mediante esta etapa se consigue solubilizar y extraer aquellas fracciones de lignina que no se han solubilizado durante la etapa de tratamiento enzimático ni en los correspondientes lavados. La etapa E se realiza en el reactor individual oscilante Easydye de Datacolor. Los tratamientos se efectúan sobre 5 g de pasta al 5 %odp de consistencia. Las condiciones de esta etapa son 1,5 % de NaOH durante 120 min a una temperatura de 90 °C.

### **5.3.6 ETAPA REDUCTORA (ETAPA R)**

El objetivo de esta etapa es evitar la degradación de los hidratos de carbono en posteriores etapas alcalinas, debido a la posible formación de grupos carbonilo en la celulosa en la etapa de tratamiento enzimático. La pasta se lleva a una consistencia del 5 %odp en una bolsa de polietileno, se introducen 2 g de NaBH<sub>4</sub> sólido. El tiempo de reacción son 30 min, cada 5 min se agita manualmente la bolsa.

### 5.3.7 PROPIEDADES DE LAS PASTAS

Después de realizar la etapa L se caracterizan las muestras, se miden las propiedades de blancura, índice kappa y viscosidad según la normativa ISO correspondiente.

## 5.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.4.1 EXPERIENCIA CONTROL

En la Tabla 5-2 se describen las propiedades de la experiencia control. En la experiencia control no se adiciona enzima ni mediador, se realiza a 6,5 h de tiempo de tratamiento y 0,6 MPa de presión de oxígeno, condiciones máximas de tiempo y presión en el plan estadístico. A partir de la experiencia control se pretende determinar el efecto de la temperatura, la presión de oxígeno y el lavado en el tratamiento cuando se realiza sin la presencia de enzima ni mediador.

Tabla 5-2. Propiedades de la pasta control.

	Índice kappa	Viscosidad (mL·g <sup>-1</sup> )
control	8,7 ± 0,2	947

Si se comparan las propiedades de la pasta inicial (Tabla 5-1) y la pasta control (Tabla 5-2), se observa que el índice kappa disminuye después del tratamiento control. Por lo que una parte de la lignina presente en la pasta se podría solubilizar por el efecto de la temperatura y de la aplicación de presión de oxígeno en la pasta o por la realización de lavados posteriores. La viscosidad de la pasta no se ve afectada por este tratamiento control.

### 5.4.2 ELECCIÓN DEL NIVEL ALTO PARA LA OPTIMIZACIÓN

Se han realizado tratamientos en el reactor a presión a dosis altas de lacasa y mediador 25 U·g<sup>-1</sup> y 3 %, y a una presión de 0,6 MPa a distintos tiempos de tratamiento 1, 4 y 7 h. El porcentaje de deslignificación de la pasta se calcula mediante la ecuación Ec. 5-1.

$$\text{porcentaje de deslignificación (\%)} = \frac{IK_0 - IK_f}{IK_0} \cdot 100 \quad \text{Ec. 5-1}$$

Donde,  $IK_0$  es el valor de índice kappa de la pasta inicial y  $IK_f$  es el índice kappa de la pasta después de la etapa L y E.

En la Tabla 5-3 y Fig. 5-1 se observa un comportamiento similar del índice kappa en función del tiempo en las tres secuencias estudiadas. Durante las primeras 4 h se produce una disminución importante del índice kappa. Entre 4 y 7 h la disminución es poco significativa en L y LR pero sí se observa una ligera disminución en la secuencia LE. Si se realiza una etapa E a la pasta inicial (sin etapa L) se produce una disminución del índice kappa de 1,8 unidades. De modo que una fracción de la lignina presente en la pasta inicial se disuelve en la etapa de extracción alcalina. Si se realiza la etapa L, el porcentaje de deslignificación de la pasta tratada después de la secuencia LE respecto al obtenido tras la etapa L es superior durante todo el tratamiento a 22 % (entre 43 y 51 %), Tabla 5-4.

**Tabla 5-3. Resultados de índice kappa, blancura y viscosidad al aplicar las secuencias L, LE, LR en el estudio preliminar.**

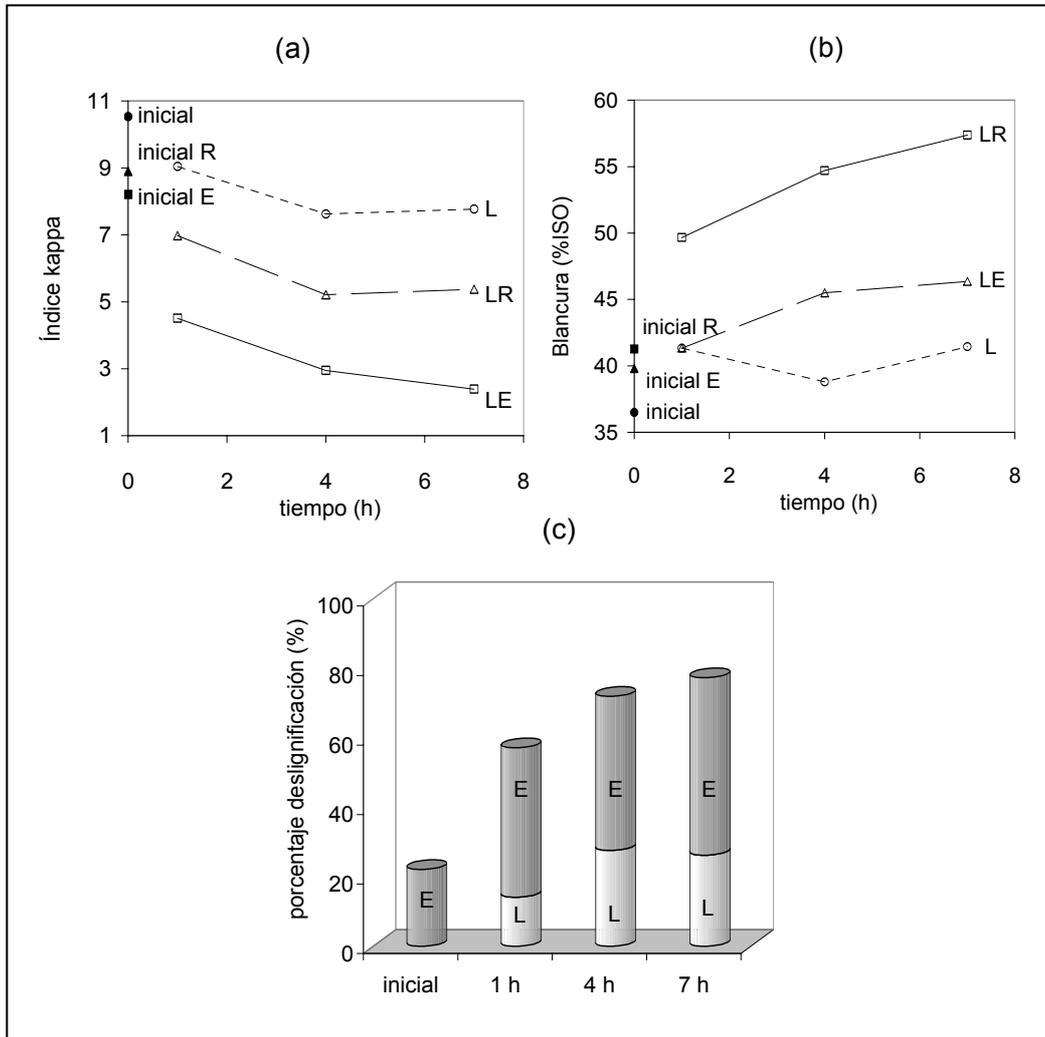
tiempo	índice kappa			Blancura (%ISO)			Viscosidad (mL·g <sup>-1</sup> )		
	L	LE	LR	L	LE	LR	L	LE	LR
inicial	10,5 ± 0,1	8,2 ± 0,3	8,9 ± 0,0	36,5	39,8	41,3	932 ± 9	858 ± 6	961 ± 3
1 h	9,0 ± 0,3	4,5 ± 0,1	7,0 ± 0,1	41,3	49,7	41,3	904 ± 22	745 ± 5	907 ± 46
4 h	7,6 ± 0,2	3,0 ± 0,1	5,2 ± 0,1	38,8	54,7	45,5	860 ± 16	736 ± 17	930 ± 16
7 h	7,8 ± 0,2	2,4 ± 0,4	5,4 ± 0,1	41,5	57,4	46,4	820 ± 30	671 ± 11	890 ± 12

Por lo que se puede deducir que durante la etapa L se producen modificaciones en la estructura de la lignina que provocan que ésta no sea soluble a pH 4 durante el tratamiento L, ni a pH neutro durante los lavados posteriores de la pasta y sin embargo esta lignina modificada se solubiliza en la etapa de extracción alcalina.

**Tabla 5-4. Porcentajes de deslignificación entre etapas y respecto a la pasta inicial.**

tiempo (h)	L - inicial	L - LE	LE - inicial
inicial	0,0	22	22
1	14	43	57
4	28	44	72
7	26	51	77

En cuanto a la blancura, se observa un comportamiento distinto después de la etapa L y las secuencias LE y LR, Tabla 5-3 y Fig. 5-1. En un estudio anterior (capítulo 4) se relaciona la disminución de blancura al inicio del tratamiento enzimático con la formación de grupos cromóforos en la pasta. La realización de las etapas E y R, a pH alcalino, produce una modificación de los grupos formados o una deslignificación de la pasta que lleva a un aumento de blancura. Al igual que se observa en el índice kappa, el aumento de blancura más importante se obtiene durante las cuatro primeras horas de tratamiento.



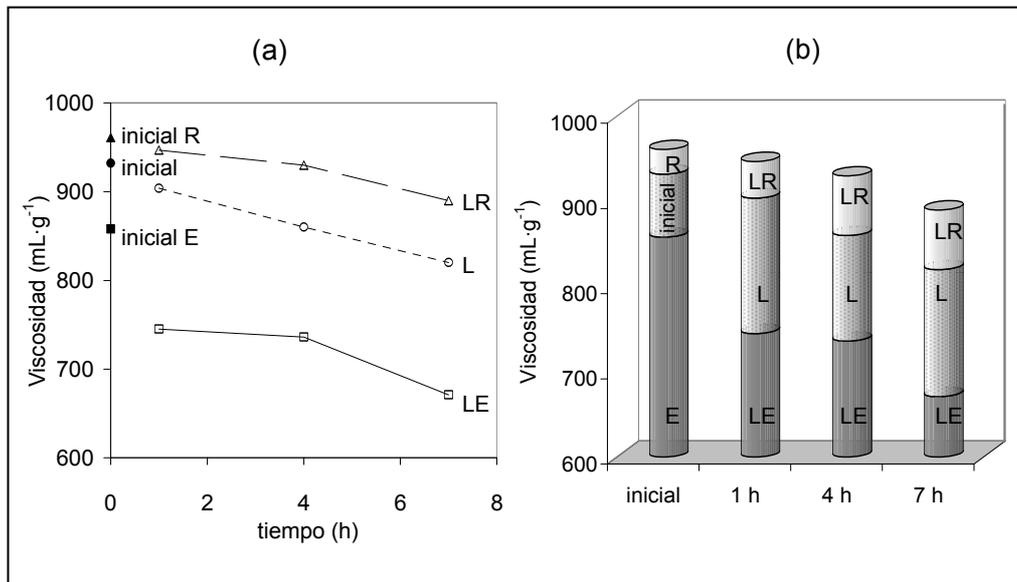
**Fig. 5-1. Resultados de índice kappa, blancura y porcentaje de deslignificación al aplicar las secuencias L, LE, LR en el estudio preliminar.**

La viscosidad de las pastas tras aplicar la etapa L y la secuencia LE disminuye durante todo el tiempo de tratamiento. La aplicación de la etapa de extracción alcalina supone una disminución de viscosidad de unos  $150 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  respecto a la de la etapa L, desde la primera hora de tratamiento, Fig. 5-2 y Tabla 5-3.

La etapa L puede producir dos efectos sobre la celulosa de la pasta; una degradación directa de la celulosa o puede también modificar los grupos funcionales de ésta, de manera que esta celulosa modificada se puede oxidar en un tratamiento alcalino posterior. La medida de viscosidad se realiza en medio alcalino, de modo que al medir la viscosidad después de la etapa L, se mide la degradación producida por ambos

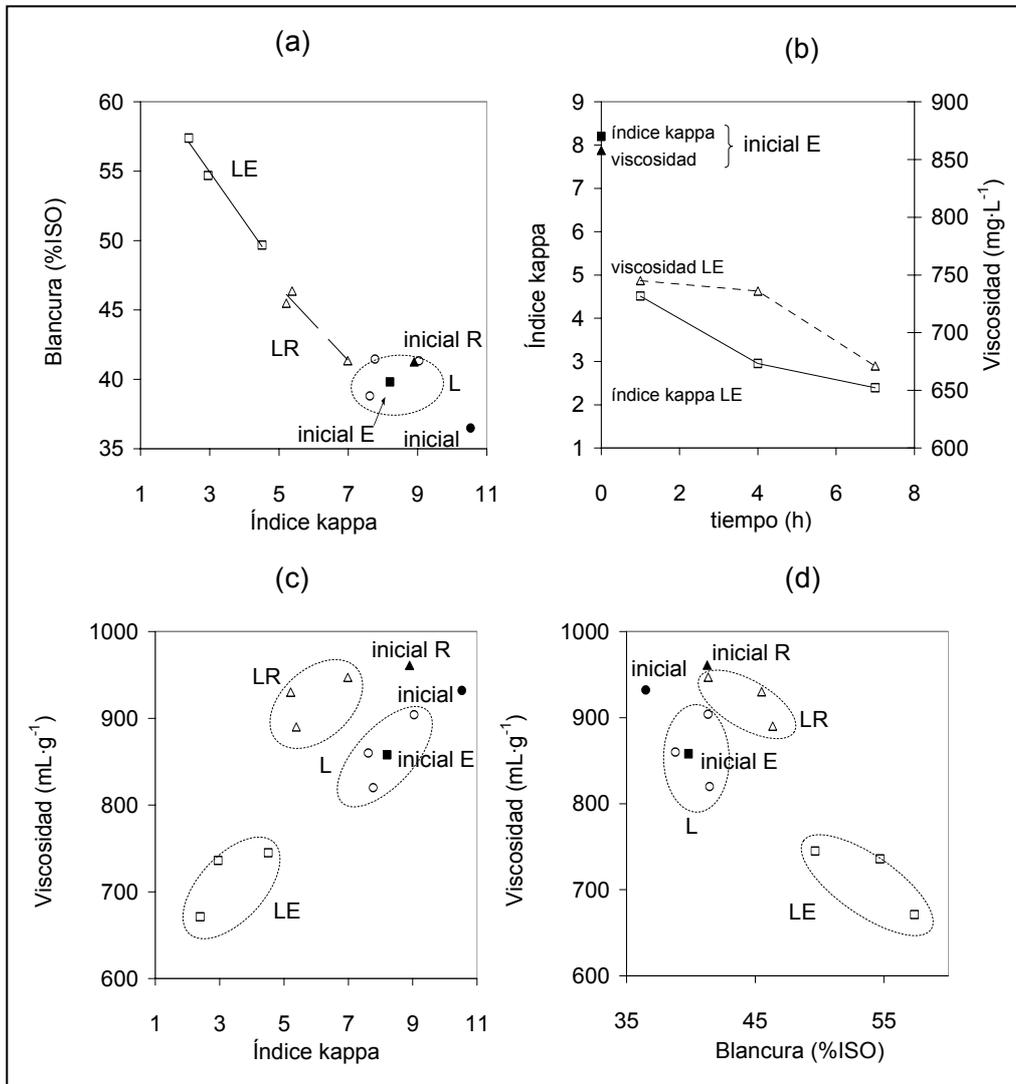
efectos. La etapa reductora R permite reducir los grupos funcionales de la celulosa que se han oxidado durante la etapa L, de manera que en una etapa alcalina posterior no se produce la degradación de esta celulosa modificada (Camarero et al. 2002;García et al. 2003).

La viscosidad después de aplicar la secuencia LR se mantiene prácticamente constante aunque se observa una ligera disminución durante las 7 h de tratamiento, entre 930 y 890 mL·g<sup>-1</sup>; y es superior en todos los casos a la viscosidad de las pastas después de la etapa L; por lo que la incorporación de la etapa reductora en la secuencia de blanqueo permitiría una cierta recuperación de la viscosidad en la etapa enzimática. La pérdida de viscosidad durante la etapa L, por tanto, se produce por los dos efectos comentados anteriormente.



**Fig. 5-2. Resultados de viscosidad al aplicar las secuencias L, LE, LR en el estudio preliminar.**

Si se comparan gráficamente las propiedades de las pastas después de cada una de las secuencias se observa que existe una relación entre el aumento de blancura y la disminución del índice kappa en las pastas tras aplicar las secuencias LR y LE. No se encuentra ninguna relación entre ambas propiedades después de la etapa L. La disminución de índice kappa supone una disminución de la viscosidad de las pastas después de aplicar la etapa L y la secuencia LE; en cambio al realizar la secuencia LR el índice kappa de la pasta disminuye pero la viscosidad se mantiene constante, Fig. 5-3.



**Fig. 5-3. Relación de las propiedades de índice kappa, blancura y viscosidad de las pastas en los ensayos preliminares.**

Idealmente el valor de las variables en el plan estadístico debe ser tal que exista una diferencia razonable entre la respuesta de la experiencia con los factores a nivel alto y la respuesta de la experiencia con los factores a nivel bajo. El segundo criterio es que las respuestas se encuentren en la zona de máxima pendiente de cambio de respuesta al pasar de uno a otro nivel. A partir de los resultados anteriores se decide disminuir los límites de tiempo a utilizar en el plan estadístico, ya que la variación de propiedades es más importante durante las cuatro primeras horas de tratamiento, de manera que se estudia el tratamiento entre 0,5 y 6,5 h. Uno de los objetivos de esta

optimización del tratamiento sistema lacasa medidor es el estudio de la dosificación de reactivos, tanto por el coste de los productos como por la toxicidad asociada al uso del medidor HBT, por lo que interesa disminuir estas dosis. La variación del índice kappa y la blancura inicial de la pasta en este estudio, hasta llegar a una pasta con 2,4 y 57,4 %ISO en la secuencia LE, es elevada. Por lo que se decide disminuir también las dosis a nivel alto de enzima y mediador en la optimización a 20 U·g<sup>-1</sup> y 2 %odp.

### 5.4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la realización del diseño factorial las variables se han codificado en factores de nivel -1, 0 y 1. En la Tabla 5-5 se muestra la relación entre las variables de proceso y los factores codificados de la etapa L.

**Tabla 5-5. Valor de las variables para cada nivel.**

Variables	Factores	Niveles		
		-1	0	1
dosis lacasa (U·g <sup>-1</sup> )	X <sub>1</sub>	1	10,5	20
dosis HBT (%odp)	X <sub>2</sub>	0,1	1,05	2,0
tiempo (h)	X <sub>3</sub>	0,5	3,5	6,5
presión oxígeno (MPa)	X <sub>4</sub>	0,2	0,4	0,6

El análisis estadístico de las propiedades de las pastas se ha realizado a partir de una planificación secuencial de las experiencias. Este diseño se basa en el análisis de las experiencias por etapas hasta completar el diseño. Después de cada una de las etapas se analizan los resultados obtenidos y se decide si es necesario realizar la siguiente etapa. La primera etapa en una planificación secuencial es el estudio del diseño factorial. Se requiere encontrar un modelo lineal que evalúe los efectos principales y sus interacciones (Etapa 1). Se realiza la prueba de homocedasticidad a partir de la variancia en el centro y el cuadrado medio residual del diseño factorial. Si la variancia es homogénea, el modelo es homocedástico, es decir, la variancia es constante en la región experimental estudiada y se puede continuar con el estudio de las posibles curvaturas (Etapa 2). Para ello se estima un modelo lineal a partir de los términos declarados significativos en el diseño factorial anterior y las repeticiones del centro para comprobar si alguno de los términos cuadráticos es significativo (Etapa 3). Si el término representativo cuadrático es significativo se amplía el diseño y se añade la estrella de experiencias para desconfundir los términos cuadráticos (Etapa 4). Por último se realiza la verificación del modelo obtenido (Etapa 5).

En primer lugar se estudia el diseño factorial fraccionado 2<sup>4-1</sup> a partir de las experiencias L 1, L 2, L 3, L 4, L 5, L 6, L 7 y L 8 (Tabla 5-6). Se realiza el gráfico probabilístico del modelo saturado (Ec. 5-2). En el análisis gráfico del modelo de

índice kappa y de blancura (Fig. 5-4), se observa que la distribución de puntos en el gráfico seminormal no es satisfactoria, esto puede ser debido a I) un problema de heterocedasticidad (la variancia no es constante en la región experimental), II) la poca influencia de los factores en la respuesta, III) un exceso de ruido experimental o IV) que se dispone de poca información para evaluar cambios muy pequeños en la respuesta. A partir de este diseño no se puede estimar ningún modelo. Así pues, se estudia en ambos casos el diseño secuencial a partir del factorial  $2^4$ .

$$Y_L = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 \quad \text{Ec. 5-2}$$

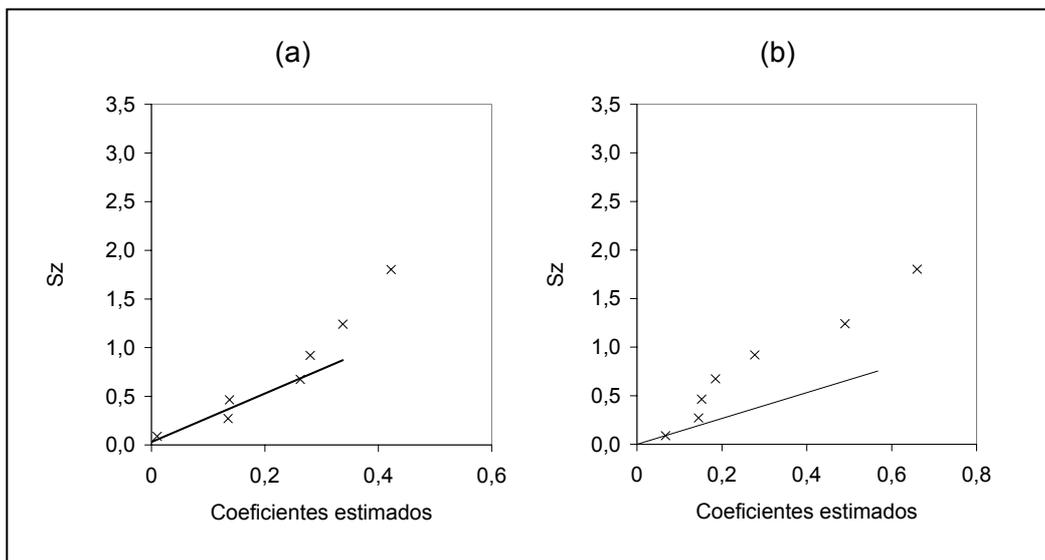


Fig. 5-4. Gráficos probabilísticos de las respuestas de índice kappa (a) y blancura (b) en la secuencia L a partir del diseño  $2^{4-1}$ .

#### 5.4.3.1 Análisis estadístico del índice kappa en la etapa L

##### a) Índice kappa. Estudio del diseño factorial $2^4$

Debido a que a partir del estudio del diseño factorial fraccionado  $2^{4-1}$  no ha sido posible la estimación del modelo de índice kappa, se procede al estudio del diseño factorial  $2^4$ . Este diseño se realiza a partir de las experiencias L 1 a L 8, L 12 a L 14 y L A a L E (Tabla 5-6). Se realiza el gráfico probabilístico del modelo saturado (Ec. 5 3, Tabla 5-7 y Fig. 5-5).

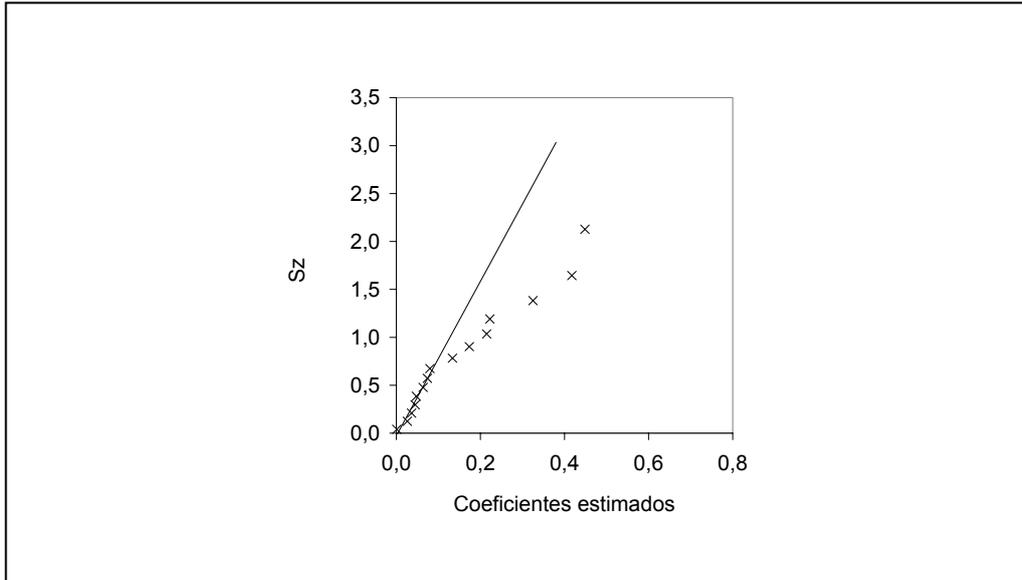
**Tabla 5-6. Índice kappa después de aplicar la etapa L.**

<b>x<sub>1</sub></b>	<b>x<sub>2</sub></b>	<b>x<sub>3</sub></b>	<b>x<sub>4</sub></b>	<b>Ref.</b>	<b>Índice kappa</b>
-1	-1	-1	-1	L 1	9,5 ± 0,1
1	-1	-1	-1	L A	9,6 ± 0,0
-1	1	-1	-1	L B	9,9 ± 0,2
1	1	-1	-1	L 4	8,6 ± 0,1
-1	-1	1	-1	L C	9,5 ± 0,0
1	-1	1	-1	L 6	8,8 ± 0,2
-1	1	1	-1	L 7	8,6 ± 0,1
1	1	1	-1	L D	7,2 ± 0,1
-1	-1	-1	1	L E	10,1 ± 0,1
1	-1	-1	1	L 2	8,7 ± 0,1
-1	1	-1	1	L 3	9,5 ± 0,2
1	1	-1	1	L 12	9,1 ± 0,1
-1	-1	1	1	L 5	9,1 ± 0,2
1	-1	1	1	L 14	9,0 ± 0,1
-1	1	1	1	L 13	9,1 ± 0,1
1	1	1	1	L 8	7,2 ± 0,2

**Tabla 5-7. Coeficientes estimados del modelo saturado de índice kappa en la etapa L.**

<b>Coeficientes</b>	<b>Coeficientes</b>	<b>Sz</b>
b <sub>4</sub>	0,00	0,04
b <sub>234</sub>	0,03	0,13
b <sub>34</sub>	0,04	0,21
b <sub>134</sub>	0,05	0,30
b <sub>14</sub>	-0,05	0,39
b <sub>13</sub>	-0,06	0,48
b <sub>24</sub>	0,07	0,57
b <sub>124</sub>	0,08	0,67
b <sub>123</sub>	-0,13	0,78
b <sub>12</sub>	-0,17	0,90
b <sub>23</sub>	-0,22	1,04
b <sub>1234</sub>	-0,22	1,19
b <sub>2</sub>	-0,33	1,38
b <sub>3</sub>	-0,42	1,64
b <sub>1</sub>	-0,45	2,13
b <sub>0</sub>	9,0	-

$$\begin{aligned}
 Y_{IK-L} = & b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 \\
 & + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{234}X_2X_3X_4 + \\
 & b_{124}X_1X_2X_4 + b_{134}X_1X_3X_4 + b_{1234}X_1X_2X_3X_4
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 5-3}$$



**Fig. 5-5. Gráfico seminormal del modelo saturado de índice kappa.**

A partir del análisis gráfico de este modelo saturado se eliminan los coeficientes considerados no significativos. Los coeficientes significativos son aquellos que se sitúan a la derecha de la recta de significación y se alejan de ella (Fig. 5-5).

#### **b) Índice kappa. Estudio del modelo obtenido con los coeficientes significativos**

Se estudia el modelo con los coeficientes declarados significativos en el análisis gráfico anterior (Ec. 5-4) y se determinan los coeficientes y su significación. En la Tabla 5-8 se observa que todos los términos del modelo obtenido son significativos (Probabilidad < 0,05).

$$\begin{aligned}
 Y_{IK-L} = & b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 + \\
 & b_{1234}X_1X_2X_3X_4
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 5-4}$$

**Tabla 5-8. Coeficientes del modelo estimado para el índice kappa en la etapa L.**

Coeficientes	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b <sub>0</sub>	9,0	0,05	170	0,00
b <sub>1</sub>	-0,45	0,05	-8,52	0,00
b <sub>2</sub>	-0,33	0,05	-6,17	0,00
b <sub>3</sub>	-0,42	0,05	-7,93	0,00
b <sub>12</sub>	-0,17	0,05	-3,30	0,01
b <sub>23</sub>	-0,22	0,05	-4,08	0,00
b <sub>123</sub>	-0,13	0,05	-2,54	0,03
b <sub>1234</sub>	-0,22	0,05	-4,22	0,00

**c) Índice kappa. Estudio de la variancia**

Para poder continuar con el estudio de las posibles curvaturas del modelo, se debe verificar si la variancia es constante en el campo experimental estudiado. A partir de la comparación del cuadrado medio residual (CMR) y la variancia de los tres puntos centrales ( $S_c^2$ ) se realiza la prueba de homocedasticidad, obteniendo que p value > 0,05, con lo que el modelo es homocedástico, es decir, la variancia es constante (Tabla 5-9).

**Tabla 5-9. Análisis de variancia del modelo de índice kappa en L.**

n	16	SCR	0,48
p	7	CMR	0,05
r	3	$S_c^2$	0,03
v <sub>R</sub>	9	F <sub>calc</sub>	0,54
v <sub>c</sub>	2	p value	0,80

**d) Índice kappa. ¿Influyen los términos cuadráticos?**

Para realizar el estudio de las posibles curvaturas, en el modelo obtenido en el estudio del diseño factorial 2<sup>4</sup> anterior se incluyen los 8 coeficientes ya declarados significativos y el coeficiente representante de los términos cuadráticos, de modo que se obtiene el modelo de la Ec. 5-5. Se incluyen en la matriz de diseño las experiencias centrales L 9, L 10 y L 11 (Tabla 5-10), diseño 2<sup>4</sup> con tres respuestas centrales, y se analizan las posibles curvaturas. Según el análisis estadístico (Tabla 5-11) el término representativo cuadrático tiene un coeficiente de 1,0 y resulta significativo (Probabilidad = 0,00). A partir de las experiencias centrales no se puede determinar qué factor influye de forma cuadrática en la respuesta, por lo que se deben añadir experiencias adicionales en el estudio estadístico.

Tabla 5-10. Índice kappa de las experiencias centrales después de aplicar la etapa L.

x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	x <sub>4</sub>	Ref.	Índice kappa
0	0	0	0	L 9	7,7 ± 0,3
0	0	0	0	L 10	8,0 ± 0,0
0	0	0	0	L 11	8,0 ± 0,0

$$Y_{IK-L} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{1234}X_1X_2X_3X_4 + b_{11}X_1X_1 \quad \text{Ec. 5-5}$$

Tabla 5-11. Coeficientes del modelo (Ec. 5-5) de índice kappa en la etapa L.

Coeficientes modelo	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b <sub>0</sub>	7,92	0,12	67,7	0,00
b <sub>1</sub>	-0,45	0,05	-8,85	0,00
b <sub>2</sub>	-0,33	0,05	-6,41	0,00
b <sub>3</sub>	-0,42	0,05	-8,23	0,00
b <sub>12</sub>	-0,17	0,05	-3,43	0,01
b <sub>23</sub>	-0,22	0,05	-4,24	0,00
b <sub>123</sub>	-0,13	0,05	-2,64	0,02
b <sub>1234</sub>	-0,22	0,05	-4,39	0,00
b <sub>11</sub>	1,04	0,13	8,18	0,00

#### e) Índice kappa. ¿Qué factores tienen un efecto cuadrático?

Para determinar cual de los factores tiene un efecto cuadrático en la respuesta se añaden la estrella de experiencias, experiencias L 15 a L 18 y L F a L I, necesarias para desconfundir los términos cuadráticos (Tabla 5-12). Se analiza el modelo Ec. 5-6 que se calcula a partir del diseño factorial 2<sup>4</sup> con tres experiencias centrales y ocho correspondientes a la estrella.

$$Y_{IK-L} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{1234}X_1X_2X_3X_4 + b_{11}X_1X_1 + b_{22}X_2X_2 + b_{33}X_3X_3 + b_{44}X_4X_4 \quad \text{Ec. 5-6}$$

**Tabla 5-12. Índice kappa de la estrella de experiencias después de aplicar la etapa L.**

X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	Ref.	Índice kappa
-1	0	0	0	L 15	9,7 ± 0,1
0	-1	0	0	L 16	9,5 ± 0,0
0	0	-1	0	L 17	9,2 ± 0,0
0	0	0	1	L 18	8,2 ± 0,0
1	0	0	0	L F	6,7 ± 0,1
0	1	0	0	L G	6,4 ± 0,1
0	0	1	0	L H	6,6 ± 0,0
0	0	0	-1	L I	7,4 ± 0,0

**f) Índice kappa. Obtención del modelo definitivo**

El modelo definitivo se ha obtenido a partir de 27 respuestas y corresponde a la ecuación Ec. 5-7, índice de determinación (R<sup>2</sup>) de 0,66 y una F crítica de 0,00. Se presentan en la Tabla 5-13 los coeficientes del modelo y su significación. El coeficiente cuadrático del modelo es de 0,96 similar al coeficiente del término cuadrático representativo calculado anteriormente.

$$Y_{IK-L} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 \quad \text{Ec. 5-7}$$

**Tabla 5-13. Coeficientes del modelo definitivo (Ec. 5-7) con 27 respuestas para el índice kappa en la etapa L.**

Coeficientes modelo	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b <sub>0</sub>	7,9	0,23	35,1	0,00
b <sub>1</sub>	-0,55	0,16	-3,47	0,00
b <sub>2</sub>	-0,46	0,16	-2,89	0,01
b <sub>3</sub>	-0,52	0,16	-3,24	0,00
b <sub>11</sub>	0,96	0,28	3,46	0,00

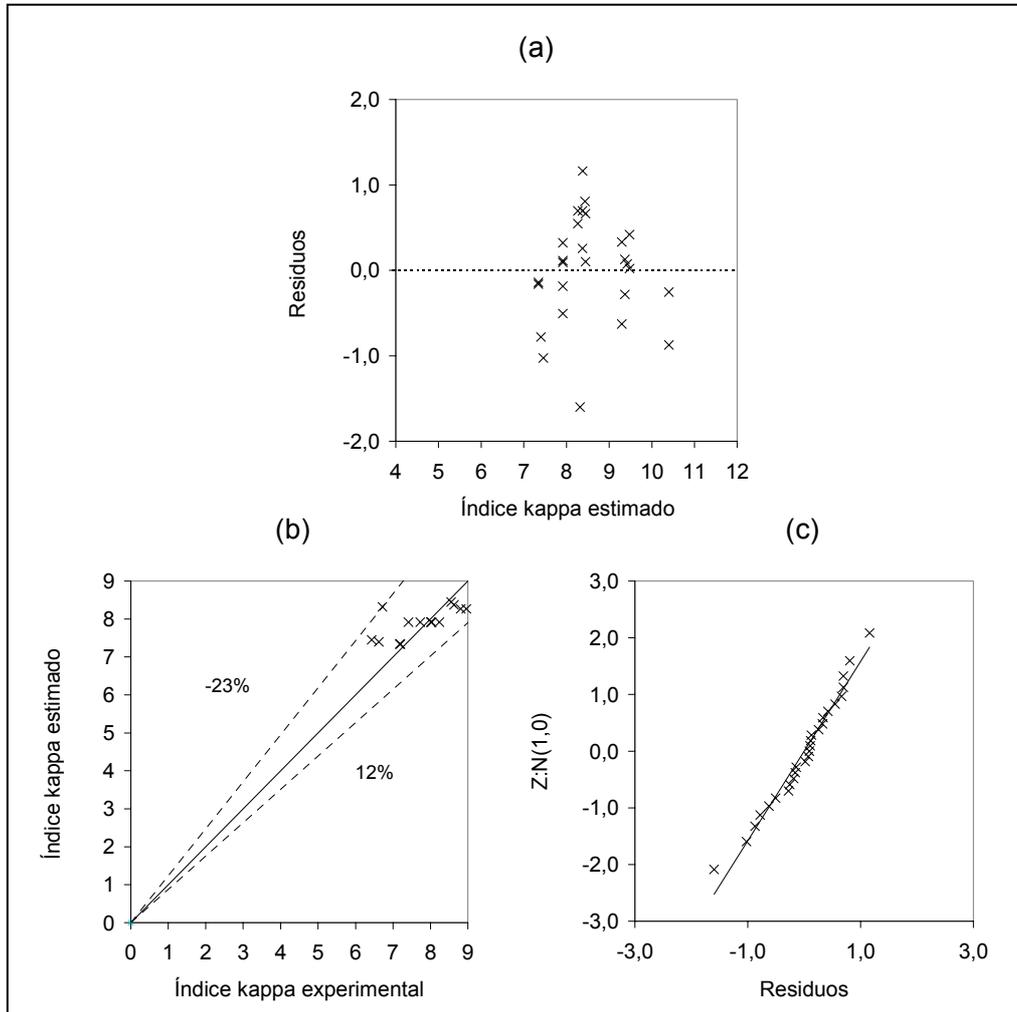
**g) Índice kappa. Verificación del modelo definitivo**

En la Tabla 5-14 se presenta el índice kappa estimado y los residuos obtenidos en el modelo.

**Tabla 5-14. Índice kappa estimado, residuos y valor de Z de la ley Normal para cada uno de los puntos del plan estadístico en L.**

Ref.	Índice kappa estimado	Residuos	Z:N(0,1)
L F	8,3	-1,6	-2,1
L G	7,5	-1,0	-1,6
L 1	10,4	-0,9	-1,3
L H	7,4	-0,8	-1,1
L 2	9,3	-0,6	-1,0
L I	7,9	-0,5	-0,8
L 5	9,4	-0,3	-0,7
L E	10,4	-0,3	-0,6
L 9	7,9	-0,2	-0,5
L 8	7,3	-0,2	-0,4
L D	7,3	-0,1	-0,3
L 3	9,5	0,0	-0,2
L 15	9,4	0,1	-0,1
L 11	7,9	0,1	0,0
L 7	8,4	0,1	0,1
L 10	7,9	0,1	0,2
L C	9,4	0,1	0,3
L 4	8,4	0,3	0,4
L 18	7,9	0,3	0,5
L A	9,3	0,3	0,6
L B	9,5	0,4	0,7
L 6	8,3	0,5	0,8
L 13	8,4	0,7	1,0
L 12	8,4	0,7	1,1
L 14	8,3	0,7	1,3
L 17	8,4	0,8	1,6

En la Fig. 5-6 se muestran los gráficos de verificación del modelo. La distribución de los residuos en función de las respuestas estimadas no sigue ningún tipo de tendencia, ver Fig. 5-6 (a). En la Fig. 5-6 (b) se observa que las respuestas de índice kappa pronosticadas por el modelo y las respuestas experimentales se sitúan en torno a una recta, las diferencias entre ambas respuestas se encuentran entre -23 % y 12 %. En el Gráfico Probabilístico Normal los valores de Z:N(0,1) en función de los residuos se ajustan a una recta Fig. 5-6 (c). Teniendo en cuenta estos resultados, el modelo se considera estadísticamente correcto.



**Fig. 5-6. Gráficos probabilísticos para el modelo de índice kappa, secuencia L. Residuos frente al índice kappa estimado (a), índice kappa estimado frente a índice kappa experimental (b), Residuos frente al valor de Z de la Ley Normal (c).**

**5.4.3.2 Análisis estadístico de la blancura al aplicar la etapa L**

**a) Blancura. Estudio del diseño factorial  $2^4$**

Debido a que a partir del estudio del diseño factorial fraccionado  $2^{4-1}$  no ha sido posible la estimación del modelo de blancura, se procede al estudio del diseño factorial  $2^4$ . Se lleva a cabo el diseño a partir de las experiencias L 1 a L 8; L 12 a L 14 y L A a L E (Tabla 5-15). Se realiza el gráfico probabilístico del modelo saturado (Ec. 5-8, Tabla 5-16 y Fig. 5-7).

Tabla 5-15. Blancura después de aplicar la etapa L.

$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	Ref.	Blancura (%ISO)
-1	-1	-1	-1	L 1	38,6
1	-1	-1	-1	L A	37,3
-1	1	-1	-1	L B	38,6
1	1	-1	-1	L 4	36,3
-1	-1	1	-1	L C	39,9
1	-1	1	-1	L 6	37,7
-1	1	1	-1	L 7	36,9
1	1	1	-1	L D	38,7
-1	-1	-1	1	L E	39,5
1	-1	-1	1	L 2	38,7
-1	1	-1	1	L 3	38,2
1	1	-1	1	L 12	36,8
-1	-1	1	1	L 5	39,1
1	-1	1	1	L 14	35,6
-1	1	1	1	L 13	36,1
1	1	1	1	L 8	38,7

Tabla 5-16. Coeficientes estimados del modelo saturado de blancura en L.

Coeficientes	Coeficientes	Sz
$b_{24}$	0,00	0,04
$b_{14}$	0,04	0,13
$b_4$	-0,07	0,21
$b_3$	-0,08	0,30
$b_{1234}$	0,11	0,39
$b_{134}$	-0,12	0,48
$b_{23}$	0,15	0,57
$b_{124}$	0,15	0,67
$b_{234}$	0,28	0,78
$b_{13}$	0,28	0,90
$b_2$	-0,37	1,04
$b_{34}$	-0,38	1,19
$b_1$	-0,43	1,38
$b_{12}$	0,52	1,64
$b_{123}$	0,73	2,13
$b_0$	37,92	-

$$Y_{B-L} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{234}X_2X_3X_4 + b_{124}X_1X_2X_4 + b_{134}X_1X_3X_4 + b_{1234}X_1X_2X_3X_4 \quad \text{Ec. 5-8}$$

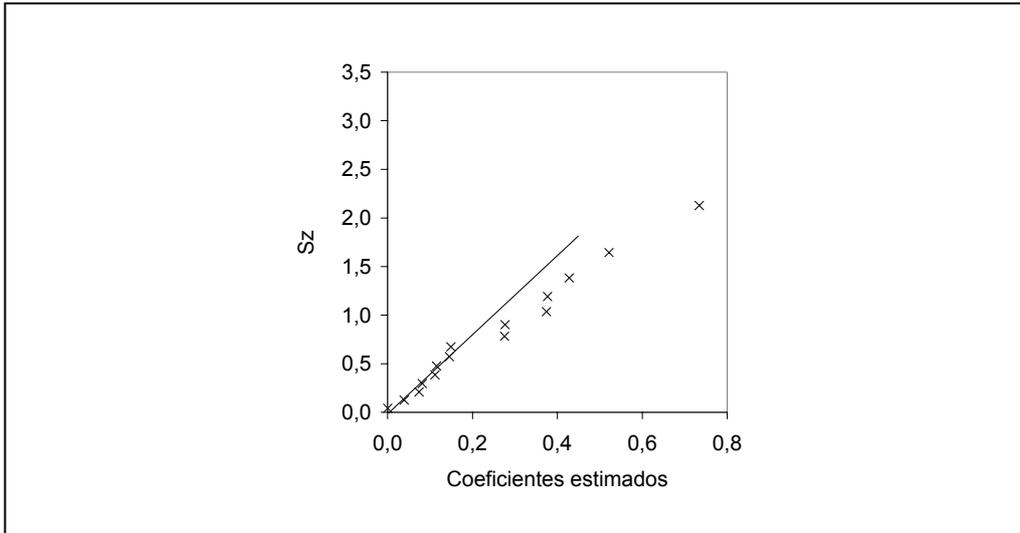


Fig. 5-7. Gráfico seminormal del modelo saturado de blancura en la etapa L.

La distribución de puntos en el gráfico de semizetas (Fig. 5-7) no es satisfactorio, esto puede ser debido a I) un problema de heterocedasticidad (variancia no constante), II) la poca influencia de los factores en la respuesta o III) un exceso de ruido experimental. A partir de los datos que se disponen no se ha logrado obtener un modelo de blancura después de la etapa L en función de los factores del proceso.

#### 5.4.4 ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES DE LA PASTA

##### 5.4.4.1 Modelo de índice kappa en la etapa L

El modelo que relaciona el índice kappa de la pasta después de aplicar la etapa L y las variables de proceso corresponde a la ecuación Ec. 5-9 y predice variaciones de índice kappa de 10,4 a 6,9.

$$Y_{IK-L} = 7,9 - 0,55X_1 - 0,46X_2 - 0,52X_3 + 0,96X_1^2 \quad \text{Ec. 5-9}$$

Donde  $X_1 = (L - 10,5) / 9,5$ , L = dosis de lacasa ( $U \cdot g^{-1}$ );  $X_2 = (M - 1,0) / 0,95$ , M = dosis de HBT (%odp);  $X_3 = (t - 3,5) / 3$ , t = tiempo de reacción (h).

### Análisis del modelo matemático de índice kappa

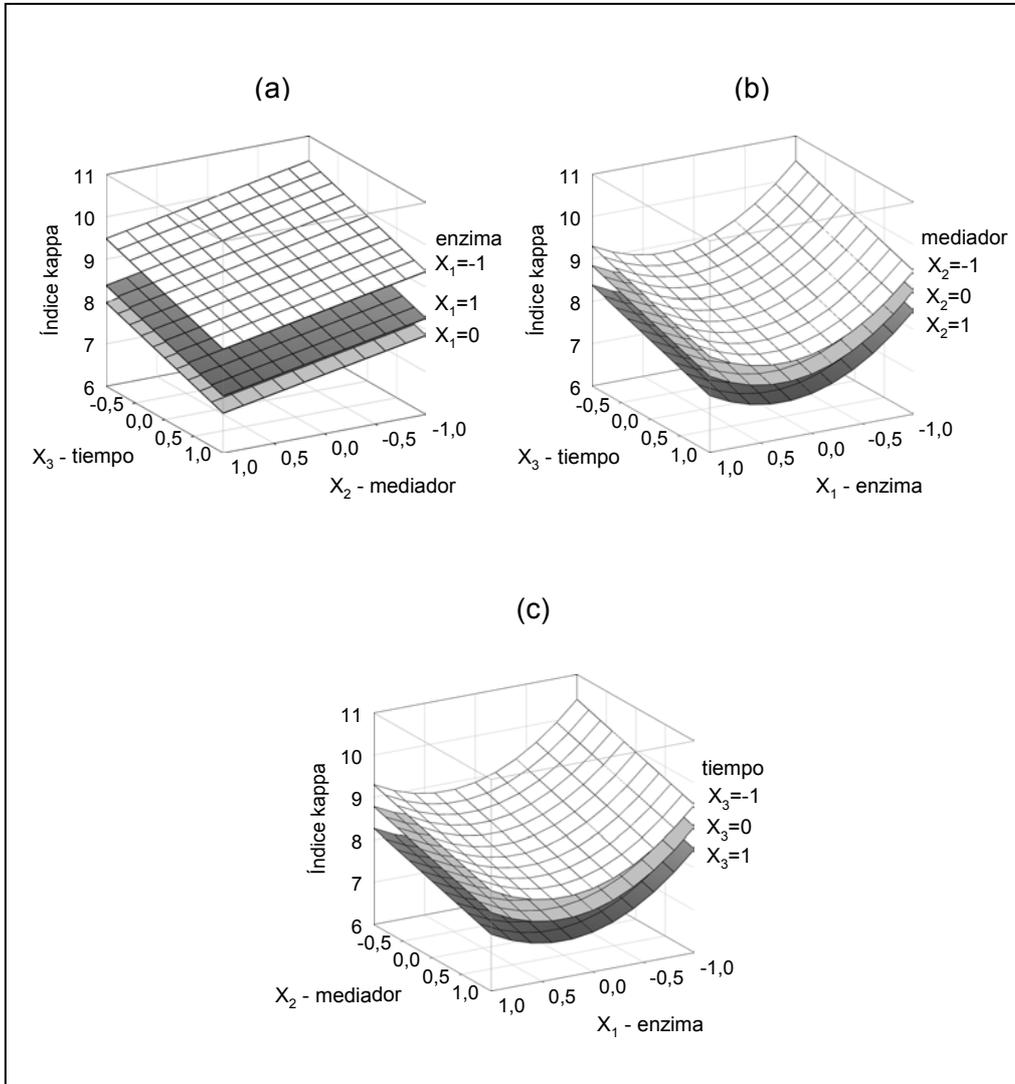
Según el modelo, las variables que influyen en el índice kappa son  $X_1$  dosis lacasa,  $X_2$  dosis mediador y  $X_3$  tiempo. La presión de oxígeno en el reactor,  $X_4$ , no tiene ningún tipo de influencia. La variable que tiene una mayor influencia en el margen estudiado es  $X_1$ , dosis de lacasa con un coeficiente de  $X_1 = -0,55$ . Las interacciones dobles entre las variables no tienen influencia en el modelo. El factor dosis de lacasa,  $X_1^2$ , tiene influencia cuadrática en la respuesta. Un aumento en los factores individuales provoca una disminución de índice kappa. El término cuadrático tiende a aumentarlo cuando los factores implicados se encuentran a niveles bajos o altos.

### Análisis gráfico del modelo de índice kappa

En la figura Fig. 5-8 se muestran los gráficos de superficie cuando cada una de las variables se encuentra en su nivel bajo, medio y alto. En la figura Fig. 5-9 se muestran las curvas de nivel cuando una de las variables se encuentra en su nivel alto.

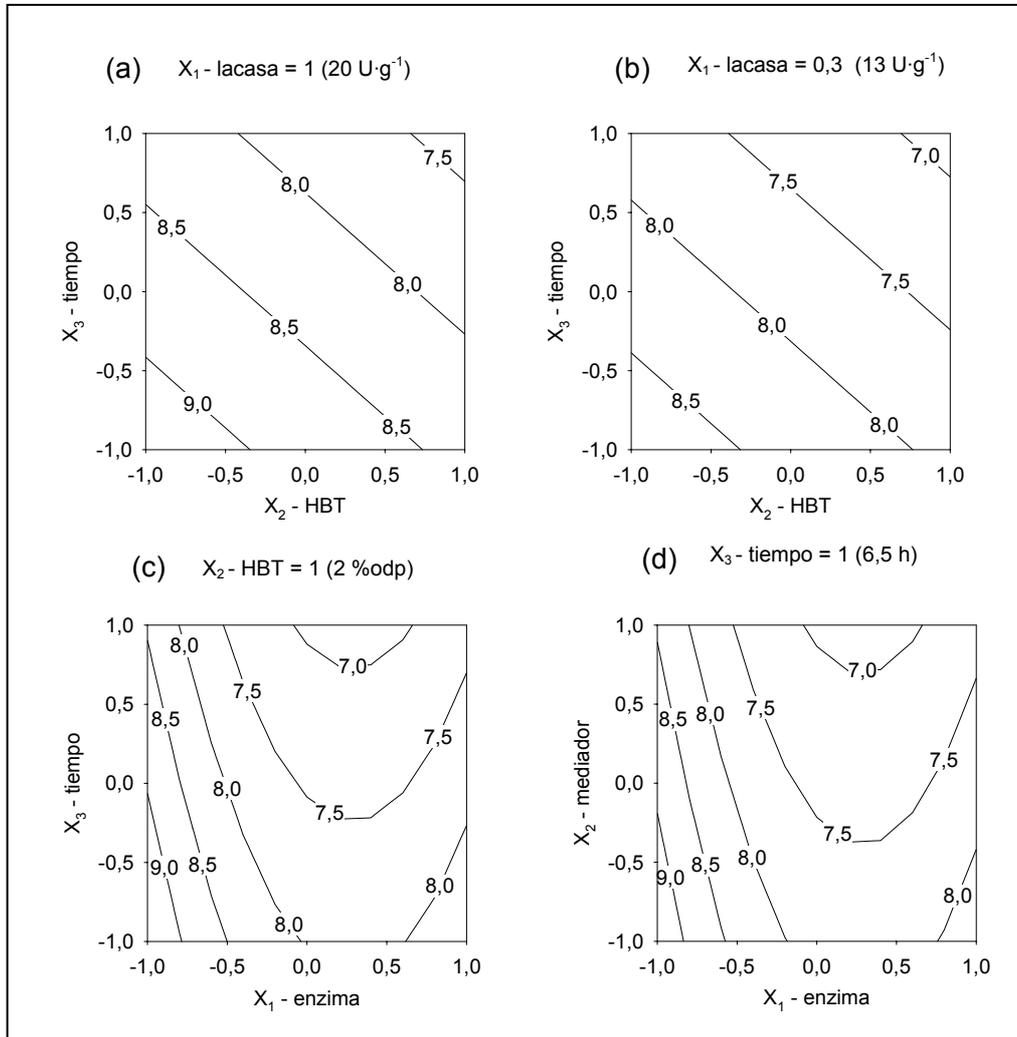
En general, el índice kappa disminuye al aumentar los factores hasta un valor de índice kappa límite a partir del cual se obtienen valores de índice kappa ligeramente superiores (Fig. 5-8 b y c). El índice kappa mínimo obtenido en el plan es de 6,9 y corresponde a las variables  $X_1 = 0,29$ ,  $X_2 = 1$  y  $X_3 = 1$ , o sea, dosis de lacasa de  $13 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , dosis de HBT de 2 %odp y un tiempo de 6,5 h. Se observa que este valor de índice kappa mínimo se obtiene a la dosis de HBT y al tiempo máximos estudiados en el plan. En el margen estudiado, un aumento de la dosis de HBT y del tiempo produce una disminución de índice kappa independientemente del valor de la dosis de lacasa (Fig. 5-8 a). En cuanto a la dosis de lacasa el modelo predice una dosis límite a partir de la cual un aumento de la dosis no supone una disminución adicional de índice kappa. Aunque según el modelo matemático obtenido un aumento en la dosis de lacasa límite produce un ligero aumento del índice kappa, experimentalmente se considera que éste aumento no es probable (aunque se podrían producir reacciones de condensación) y que se llega a un índice kappa límite.

En la Fig. 5-8 (a) se observa que cuando ambas dosis, dosis de lacasa y de HBT, se encuentran en el nivel más bajo ( $X_1 = -1$ ,  $X_2 = -1$ ) prácticamente no se produce deslignificación aunque se aumente el tiempo de tratamiento, siendo el índice kappa de 10,4 a los 30 min y de 9,4 a las 6,5 h. En cambio, cuando ambas dosis son altas ( $X_1 = 1$ ,  $X_2 = 1$ ) ya se observa deslignificación cuando el tiempo está en el nivel bajo ( $X_3 = -1$ ), siendo el índice kappa de 8,4 y disminuyendo hasta 7,3 a las 6,5 h.



**Fig. 5-8. Índice kappa en función de los factores del plan estadístico en L.**

En la Fig. 5-8 (c) se observa que cuando la dosis de lacasa es baja ( $X_1=-1$ ) y la dosis de HBT es alta ( $X_2=1$ ), el índice kappa casi no disminuye durante la primera media hora, siendo de 9,5. Al aumentar el tiempo de nivel bajo a alto, o sea de 0,5 a 6,5 h, disminuye hasta 8,5 (Fig. 5-9 c). Cuando la dosis de HBT es baja ( $X_2=-1$ ) y la dosis de lacasa es alta ( $X_1=1$ ), el índice kappa es de 9,3 en la primera media hora. Al aumentar el tiempo de tratamiento disminuye hasta 8,3 (Fig. 5-9 a). Según el modelo, el aumento de tiempo de 0,5 a 6,5 h produce una disminución de una unidad de índice kappa en todos los casos y las curvas para cada uno de los tiempos en la Fig. 5-8 (a y c) son paralelas.



**Fig. 5-9. Curvas de nivel de índice kappa en L. Índice kappa en función de las variables de proceso en L.  $X_1=1$  (a),  $X_1=0,3$  (b),  $X_2=1$  (c),  $X_3=1$  (d).**

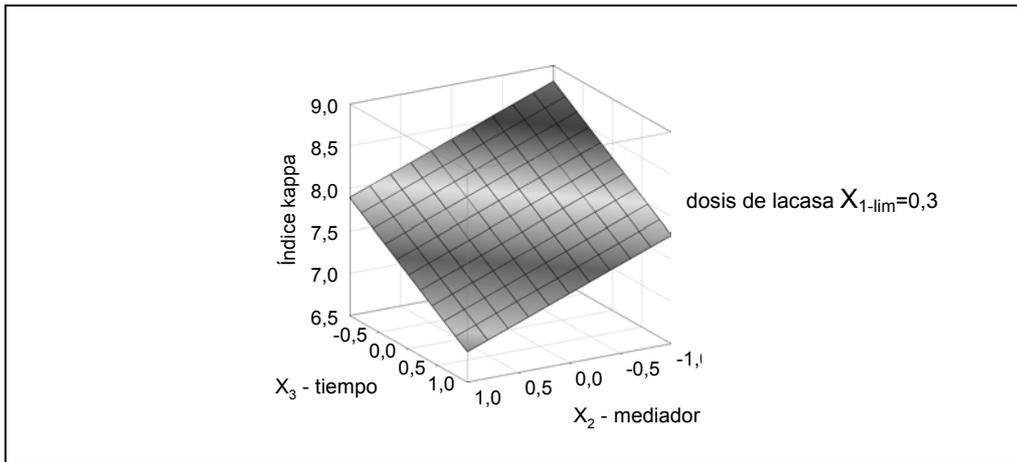
En cuanto al aumento de dosis de lacasa, se observan dos fases en el sistema (Fig. 5-8 b y c). Cuando la dosis de lacasa es baja, un determinado aumento en la dosis produce disminuciones importantes del índice kappa. A medida que la dosis es más elevada y el índice kappa se aproxima al índice kappa límite, para conseguir una ligera disminución de índice kappa se debe aumentar la dosis de lacasa considerablemente (Fig. 5-9 c y d). En cuanto al aumento de dosis de HBT, al igual que el tiempo, las curvas son paralelas (Fig. 5-8 a y c), por lo que un aumento en la dosis de nivel bajo a alto produce siempre una disminución de una unidad de índice kappa.

Estudio de la dosis límite de lacasa

La ecuación Ec. 5-10 se ha obtenido al derivar la ecuación del modelo respecto al factor  $X_1$  e igualar a cero. Esta ecuación permite calcular la dosis de lacasa límite ( $X_{1-lim}$ ) a partir de la cual un aumento en la dosis no supone una disminución de índice kappa.

$$X_{1-lim} = \frac{-b_1}{2 \cdot b_{11}} = 0,29 \qquad \text{Ec. 5-10}$$

Según la ecuación Ec. 5-10, la dosis límite de enzima lacasa corresponde a  $X_{1-lim}=0,3$  (13 U·g<sup>-1</sup>) a partir de la cual se obtiene un índice kappa límite de 6,9 (Fig. 5-10); no obstante, a una dosis inferior a la dosis límite ya se obtienen valores de índice kappa de ese mismo orden.



**Fig. 5-10. Índice kappa previsto por el modelo en L a partir de la dosis límite de lacasa.**

Estudio de la dosis óptima de lacasa

Para obtener un índice kappa inferior a 7,0, la variable tiempo debe ser  $X_3=1$  (Fig. 5-9 b y c), preferiblemente, y la dosis de lacasa inferior a  $X_1=1$  (Fig. 5-9 a). Siendo  $X_3=1$  y teniendo en cuenta que interesa la menor dosis de HBT, la dosis de lacasa ( $X_1$ ) debe ser superior a 0,3, mientras que el HBT ( $X_2$ ) como mínimo deberá ser superior a 0,6 (Fig. 5-9 d). En la Tabla 5-17 se muestran las dosis de reactivos óptimas para obtener un índice kappa de 7,5 y 7. Como se puede observar, aceptar sólo medio punto más de índice kappa (7,5 en lugar de 7), supone un ahorro de HBT del 30 %.

**Tabla 5-17. Dosis de reactivos óptimas en L.**

$X_1$	$X_2$	$X_3$	Dosis lacasa ( $U \cdot g^{-1}$ )	Dosis HBT (%odp)	Tiempo (h)	Índice kappa
0,3	0,6	1	13	1,6	6,5	7,0
0,0	-0,3	1	10	0,8	6,5	7,5

#### 5.4.4.2 Blancura

La blancura obtenida en el estudio varía entre 35,6 y 39,9 %ISO (Tabla 5-15). En el estudio del análisis estadístico de la blancura se ha comentado que no se ha logrado obtener ningún modelo matemático. Tal como se observa en la Fig. 5-11, la blancura de las pastas no se puede relacionar con ninguna de las variables del proceso. La blancura no correlaciona con el índice kappa, como suele ocurrir en los procesos de blanqueo convencionales (Fig. 5-13 a), por lo que no se relaciona con la disminución de la cantidad de lignina de la pasta. La disminución o aumento de la blancura de la pasta tratada enzimáticamente respecto a la pasta inicial se relaciona con la formación de grupos cromóforos en la pasta durante las primeras horas de tratamiento, tal como explica el estudio de cromaticidad de las pastas realizado en el capítulo 4.

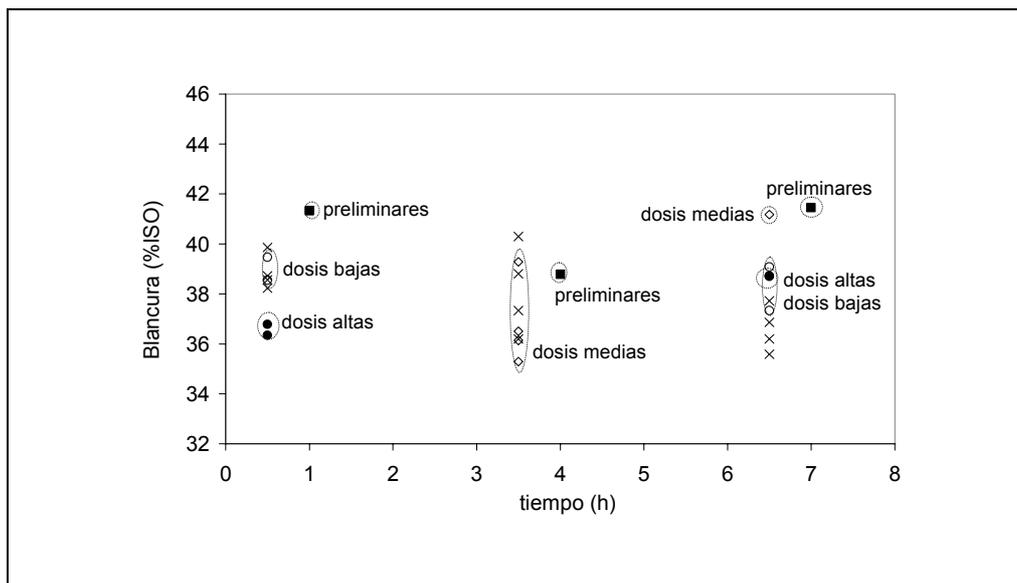


Fig. 5-11. Blancura en función del tiempo en la etapa L. En las figuras,  $X_1=X_2=-1$  (o),  $X_1=X_2=0$  ( $\diamond$ ),  $X_1=X_2=1$  ( $\bullet$ ),  $X_1 \neq X_2$  ( $\times$ ) y experiencias preliminares ( $\blacksquare$ ).

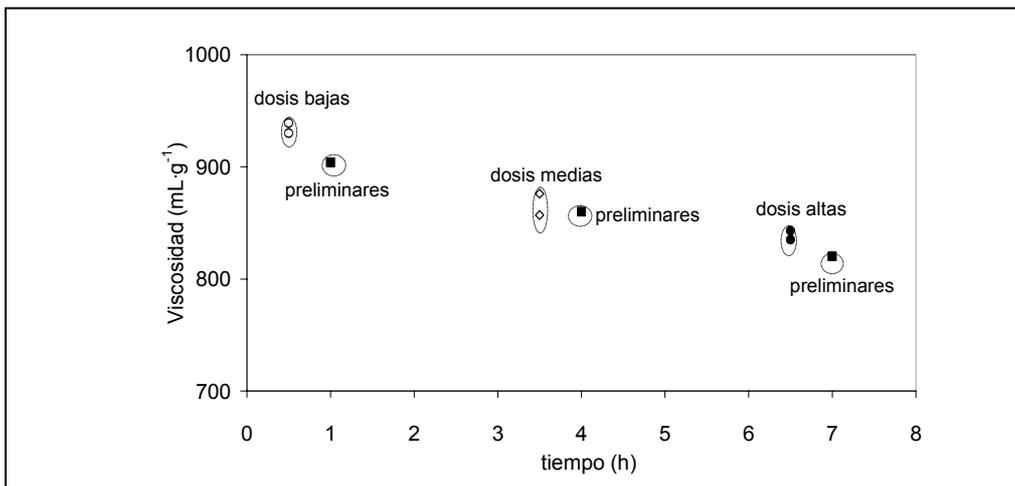
#### 5.4.4.3 Viscosidad

La viscosidad de las experiencias, cuando las variables están en su nivel bajo, medio y alto, medidas después de la etapa L se presentan en la Tabla 5-18. Las respuestas

de las experiencias realizadas varían entre  $939 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $835 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ . La viscosidad de la pasta disminuye al aumentar las dosis de reactivos y el tiempo de tratamiento (Fig. 5-12). A partir de los datos disponibles no se puede determinar directamente cual de los factores es el que influye en mayor medida en la pérdida de viscosidad. Esta pérdida se debe a una degradación directa de la celulosa, a una modificación de los grupos funcionales de ésta o a ambos efectos. La variación máxima de viscosidad es de  $104 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ , por lo que se considera que esta variación no es lo suficientemente elevada para establecer un modelo matemático de la viscosidad en función de los factores de la etapa L.

**Tabla 5-18. Viscosidad después de la etapa L.**

Dosis y tiempo	Dosis lacasa ( $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Dosis HBT (%odp)	Tiempo (h)	Presión (MPa)	Ref.	Viscosidad ( $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ )
bajo	0,5	0,1	0,5	0,2	L 1	$930 \pm 38$
				0,6	L E	$939 \pm 11$
medio	10	1,1	3,5	0,4	L 9	$876 \pm 16$
				0,4	L 10	$857 \pm 02$
alto	20	2	6,5	0,6	L 8	$843 \pm 08$
				0,2	L D	$835 \pm 15$
-	-	-	-	-	inicial	952
-	-	-	6,5	0,6	control	$947 \pm 20$



**Fig. 5-12. Viscosidad en función del tiempo en la etapa L. En las figuras,  $X_1=X_2=-1(\circ)$ ,  $X_1=X_2=0(\diamond)$ ,  $X_1=X_2=1(\bullet)$ ,  $X_1\neq X_2(\times)$  y experiencias preliminares ( $\blacksquare$ ).**

Si comparamos las propiedades de las pastas gráficamente (Fig. 5-13 b), se observa que las propiedades de viscosidad e índice kappa siguen una determinada tendencia, manteniendo una relación lineal, por lo que se puede ajustar una recta con un índice

de determinación ( $R^2$ ) de 0,94. De manera que es probable que la viscosidad siga un comportamiento frente a las variables de proceso similar al índice kappa.

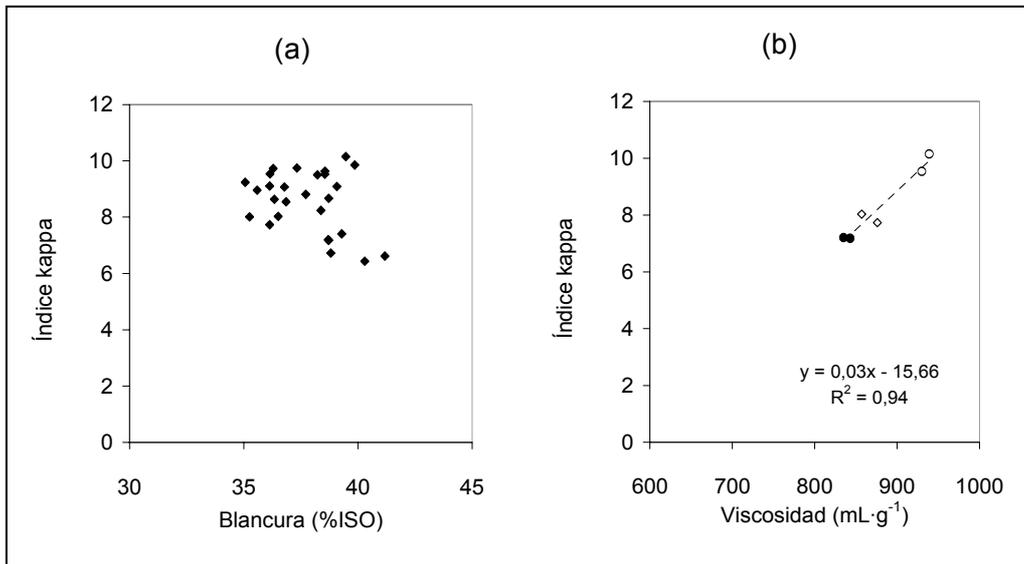


Fig. 5-13. Relación entre las propiedades de las pastas después de aplicar la etapa L. En la figura,  $X_1=X_2=-1$ (o),  $X_1=X_2=0$  (◇),  $X_1=X_2=1$  (●),  $X_1 \neq X_2$ (x).

## 5.5 CONCLUSIONES

Se realizan tratamientos con el sistema lacasa mediador en el reactor a presión a dosis altas de lacasa y mediador  $25 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  y 3 %odp, y a una presión de 0,6 MPa a distintos tiempos de tratamiento para establecer el nivel alto de las variables a utilizar en la optimización del sistema lacasa mediador en el blanqueo de pasta de lino. Las propiedades de las pastas después de las secuencias estudiadas, L, LE y LR no varían significativamente entre 4 y 7 h de tiempo de tratamiento. Teniendo esto en cuenta y que interesa disminuir las dosis de lacasa y HBT, se decide disminuir las dosis y el tiempo máximos a utilizar en la optimización.

Se realiza una optimización de la etapa L en la que los márgenes de las variables estudiadas son: dosis de lacasa (1 a  $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ), dosis de HBT (0,1 a 2 %odp), tiempo de aplicación (0,5 a 6,5 h) y presión de oxígeno en el reactor (0,2 a 0,6 MPa).

Si se comparan las propiedades de la pasta Control (8,7 de índice kappa y  $947 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  de viscosidad) con las propiedades de las pastas obtenidas después de la etapa L se observa que en aquellos tratamientos en los que ambas dosis de reactivos son bajas, tanto la dosis de lacasa como la de HBT, las propiedades de las pastas son del mismo

orden que las obtenidas en la pasta Control. De manera que el sistema lacasa mediador no es efectivo cuando la dosis de lacasa es de  $1 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  y la dosis de HBT es de  $0,1 \text{ \%odp}$ .

Se ha obtenido un modelo que relaciona el índice kappa con las variables del proceso. Las respuestas de las experiencias realizadas varían de 6,9 a 10,1. El aumento de presión de oxígeno de 0,2 a 0,6 MPa no influye en la designificación, por lo que la presión de 0,2 MPa es suficiente. El índice kappa disminuye al aumentar los factores hasta un valor de índice kappa límite de 6,9 y corresponde a una dosis de lacasa de  $13 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , dosis de HBT de  $2 \text{ \%odp}$  y un tiempo de 6,5 h. El modelo predice una dosis de lacasa límite de  $13 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  a partir de la cual un aumento en la dosis no supone una disminución adicional de índice kappa, no obstante, a una dosis inferior a esta dosis límite ya se obtienen valores de índice kappa de ese mismo orden. Por otro lado, el modelo no predice una dosis límite de HBT ni un tiempo límite, por lo que se podría pensar que un aumento de la dosis de HBT y del tiempo, por encima de  $2 \text{ \%odp}$  y 6,5 h, produciría una disminución adicional de índice kappa por debajo de 6,9. El índice kappa obtenido en la experiencia realizada con las variables de proceso algo más elevadas (a  $25 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $3 \text{ \%odp}$ , 7 h y 0,6 MPa) es de 7,8, superior incluso al índice kappa mínimo obtenido en el plan. Por lo que cabe esperar que un aumento adicional de la dosis de HBT y/o del tiempo no logre disminuir significativamente el índice kappa. Un aumento en la dosis de HBT de 0,1 a  $2 \text{ \%odp}$ , así como un aumento del tiempo de 0,5 h a 6,5 h, produce una disminución de una unidad de índice kappa cuando se mantienen constantes las demás variables de proceso.

La blancura obtenida en el estudio varía entre 35,6 y 39,9 %ISO. No se ha logrado obtener ningún modelo matemático ni se puede relacionar esta propiedad con las variables de proceso. La blancura no correlaciona con el índice kappa, como suele ocurrir en los procesos de blanqueo convencionales, por lo que la blancura no se relaciona con la disminución de la cantidad de lignina de la pasta. Este comportamiento, así como la disminución o aumento de la blancura de la pasta tratada enzimáticamente respecto a la pasta inicial, se relaciona con la formación de grupos cromóforos en la pasta durante las primeras horas de tratamiento.

La viscosidad de las experiencias realizadas varía entre  $939 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $835 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ . La viscosidad de la pasta disminuye al aumentar las dosis de reactivos y el tiempo de tratamiento. Esta pérdida de viscosidad se debe a una degradación directa de la celulosa, a una modificación de los grupos funcionales de ésta o a ambos efectos. La variación máxima de viscosidad es de  $104 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ , por lo que se considera que esta variación no es lo suficientemente elevada para establecer un modelo matemático de la viscosidad en función de los factores de la etapa L.

## 5.6 BIBLIOGRAFÍA

Bajpai,P. (1999) Application of enzymes in the pulp and paper industry. *Biotechnology Progress* 15, 147-157.

Balakshin,M., Chen,C.-L., Gratzl,J., Kirkman,A. and Jakob,H. (2000) Kinetic studies on oxidation of veratryl alcohol by laccase-mediator system. Part 2. The kinetics of dioxygen uptake. *Holzsforschung* 54, 171-175.

Balakshin,M., Chen,C.-L., Gratzl,J., Kirkman,A. and Jakob,H. (2001) Biobleaching of pulp with dioxygen in laccase-mediator system - effect of variables on the reaction kinetics. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 16, 205-215.

Balakshin,M., Chen,C.-L., Gratzl,J., Kirkman,A. and Jakob,H. (1999) Biobleaching of pulp with dioxygen in the laccase-mediator system. Part 1. Kinetics of delignification. *Holzforschung* 54, 390-396.

Bourbonnais,R., Paice,M.G., Freiermuth,B., Bodie,E. and Borneman,S. (1997) Reactivities of various mediators and laccases with kraft pulp and lignin model compounds. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 4627-4632.

Call,H.P. and Mücke,I. (1997) History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator systems (LignozymR-process). *Journal of Biotechnology* 53, 163-202.

Camarero,S., García,O., Vidal,T., Colom,J., del Río,J.C. and Gutiérrez,A. (2002) Flax pulp bleaching and residual lignin modification by laccase-mediator systems. *Biotechnology in the Pulp and Paper Industry* 21, 213-221.

Camarero,S., García,O., Vidal,T., Colom,J., del Río,J.C., Gutiérrez,A., Gras,J.M., Monje,R., Martínez,M.J. and Martínez,A.T. (2004) Efficient bleaching of non-wood high-quality paper pulp using laccase-mediator system. *Enzyme and microbial Technology* 35, 113-120.

Chakar,F.S. and Ragauskas,A. (2000a) The kismet of residual lignins during LMS delignification of high-kappa kraft pulps. *Holzforschung* 54, 647-653.

Chakar,F.S. and Ragauskas,A.J. (2000b) The 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, 169-184.

Eriksson, K.-E. (2000) An overview of biotechnology in the pulp and paper industry. *Pulping/Process and Product Quality Conference*.

García,O., Camarero,S., Colom,J.F., Martínez,A.T., Martínez,M.J., Monje,R. and Vidal,T. (2003) Optimization of a laccase-mediator stage for TCF bleaching of flax pulp. *Holzforschung* 57, 513-519.

García, O. (2003) Utilización de fibras de lino en la fabricación de papel. Nuevas secuencias de blanqueo y aplicación de sistemas enzimáticos. Universidad Politécnica de Cataluña. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de Terrassa. Departamento de Ingeniería Textil y Papelera.

Herpöel, I., Jeller, H., Fang, G., Petit-Conil, M., Bourbonnais, R., Robert, J.L., Asther, M. and 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, 67-71.

Nelson, P., Chin, C., Viikari, L. and Tenkanen, M. (1998) The use of a laccase mediator stage in bleaching eucalypt kraft pulps. *Appita Journal* 51, 451-455.

Paice, M., Bourbonnais, R., Renaud, S. and Labonte, S. (2002) *Pilot plant bleaching trials with laccase and mediator*. Elsevier.

Paice, M.G., Bourbonnais, R., Reid, I.D., Archibald, F.S. and Jurasek, L. (1995) Oxidative bleaching enzymes: a review. *Journal of Pulp and Paper Science* 21, 280-284.

Sigoillot, C., Camarero, S., Vidal, T., Record, E., Asther, M., Perez-Boada, M., Martínez, M.J., Sigoillot, J.C., Asther, M., Colom, J.F. and Martínez, A.T. (2005) Comparison of different fungal enzymes for bleaching high-quality paper pulps. *Journal of Biotechnology* 115, 333-343.

Viikari, L. (2000) Enzymes in the pulp and paper industry. *TAPPI Pulping Process and product Quality Conference*. CD.

Wong, K.K.Y., Anderson, R. and Kibblewhite, P. (1999) Effects of the laccase-mediator system on the handsheet properties of two high kappa kraft pulps. *Enzyme & Microbial Technology* 25, 125-131.