

CAPÍTULO 6: ESTUDIO ESTADÍSTICO. SECUENCIA LE

RESUMEN

La pasta de lino se blanquea mediante la secuencia TCF (LE) incluyendo una etapa de tratamiento enzimático con lacasa y HBT como mediador (etapa L), y una etapa de extracción alcalina (etapa E). 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 $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$), dosis de HBT ($0,1$ a 2 \%odp), tiempo de aplicación ($0,5$ a $6,5 \text{ h}$) y presión de oxígeno en el reactor ($0,2 \text{ MPa}$ a $0,6 \text{ MPa}$). Se estudia la influencia de estas variables en las propiedades de las pastas después de aplicar la etapa E en la secuencia LE.

Los resultados obtenidos presentan valores entre $7,0$ y $3,0$ unidades de índice kappa y $43,8$ y $56,5 \text{ \%ISO}$ de blancura. Se han obtenido modelos matemáticos que predicen las propiedades de índice kappa y blancura en función de los factores del proceso. Según los modelos obtenidos en los márgenes estudiados, las variables más influyentes en las propiedades de la pasta son la dosis de lacasa, la dosis de HBT y el tiempo. La variación de la presión de oxígeno en el reactor entre $0,2 \text{ MPa}$ y $0,6 \text{ MPa}$ no influye en las propiedades de índice kappa y blancura.

6.1 INTRODUCCIÓN

El efecto principal de la extracción alcalina en los procesos de blanqueo industrial es la disolución de la lignina, que tiene lugar por la ionización de los grupos ácidos formados en la lignina durante las etapas previas (Dence and Reeve 1996). Además de la eliminación de material orgánico, esta etapa permite la reactivación de la lignina residual. Las oxidaciones ácidas llevan a una modificación de la estructura molecular de la lignina y a la formación de grupos que la bloquean y que impiden su oxidación en etapas de blanqueo posteriores, estos grupos se pueden eliminar en condiciones alcalinas. Después de una etapa de blanqueo aunque el oxidante se encuentre en exceso, queda una lignina residual en la pasta. Si se realiza una extracción alcalina, la pasta se puede blanquear en etapas posteriores. La oxidación de la pasta durante el

proceso de blanqueo puede introducir grupos carbonilo en la estructura de carbohidratos de la celulosa. Estos grupos se degradan en una posterior etapa de extracción alcalina, por lo que se puede producir una disminución de la viscosidad de la pasta (Dence and Reeve 1996).

Es sabido que el sistema lacasa mediador introduce grupos carbonilo y carboxilo en la estructura de la lignina. Estos últimos hacen que la lignina sea más hidrofílica y que se pueda disolver en una etapa alcalina posterior (Chakar and Ragauskas 2000;Dence and Reeve 1996;Poppius-Levlin et al. 1999). Por lo que es necesario aplicar dicha etapa alcalina posterior para extraer la lignina que ha modificado el sistema enzimático (Call and Mücke 1997;Freudenreich et al. 1998).

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). 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. 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. 2000;Balakshin et al. 2001;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 en el sistema produce un aumento de la deslignificación de la pasta (Balakshin et al. 1999;Balakshin et al. 2001;Call and Mücke 1997;Oudia et al. 2004). 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 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 realizar una etapa de extracción alcalina posterior al tratamiento enzimático.

6.2 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.

6.2.1 MATERIA PRIMA

La pasta inicial es la pasta cruda de lino después de un lavado ácido, sus propiedades se muestran en la Tabla 6-1. 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⁻¹. El mediador utilizado es el HBT (Fluka, Ref. 54802).

Tabla 6-1. Propiedades de la pasta inicial.

Índice kappa	10,5
Blancura (%ISO)	36,5
Viscosidad (mL·g⁻¹)	952

6.2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los diferentes tratamientos enzimáticos se realizan siguiendo un diseño secuencial, que consta de un diseño factorial 2⁴ con tres réplicas en el centro y una estrella de ocho experiencias. Las cuatro variables o factores varían en los siguientes márgenes: X₁ ≡ dosis de lacasa (1 a 20 U·g⁻¹), X₂ ≡ dosis de HBT (0,1 a 2 %odp), X₃ ≡ tiempo de aplicación (0,5 a 6,5 h) y X₄ ≡ presión de oxígeno en el reactor (0,2 a 0,6 MPa).

Por cuestiones de estabilidad experimental y admitiendo que se espera que en el estudio estadístico se utilicen todas las experiencias previstas en el diseño secuencial, se decide realizar los 27 tratamientos de la etapa L “en bloque” al inicio del estudio. La etapa E y 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”.

6.2.3 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 de 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.

6.2.4 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 AHIBA de Datacolor. Los tratamientos se efectúan sobre 5 g de pasta al 5 %odp de consistencia. Las condiciones de esta etapa son 1,5 %odp de NaOH durante 120 min a una temperatura de 90 °C.

6.2.5 PROPIEDADES DE LAS PASTAS

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

6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1 EXPERIENCIA CONTROL

En la Tabla 6-2 se describen las propiedades de la pasta inicial y de la experiencia control después de aplicar la etapa E. 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 6-2. Propiedades de la pasta inicial y la pasta control después de la etapa E.

Ref.	Índice kappa	Blancura (%ISO)	Viscosidad (mL·g ⁻¹)
inicial E	8,2 ± 0,2	41,5 ± 0,5	772 ± 20
control E	6,8 ± 0,2	46,0 ± 0,5	760 ± 17

Si se comparan las propiedades de la pasta inicial (Tabla 6-1) con las propiedades de la pasta tras realizar una etapa E (Tabla 6-2), se observa que la realización de la etapa de extracción alcalina supone una disminución del índice kappa, un aumento de blancura y una disminución de la viscosidad de la pasta. Una parte de la lignina presente en la pasta se solubiliza en la etapa E.

6.3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la realización del diseño factorial las variables se han codificado en factores de nivel -1, 0 y 1. En la Tabla 6-3 se muestra la relación entre las variables de proceso y los factores codificados de la etapa L.

Tabla 6-3. Valor de las variables para cada nivel.

Variables	Factores	Niveles		
		-1	0	1
Dosis lacasa ($U \cdot g^{-1}$)	X_1	1	10,5	20
Dosis HBT (%odp)	X_2	0,1	1,05	2,0
Tiempo (h)	X_3	0,5	3,5	6,5
Presión oxígeno (MPa)	X_4	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^{4-1} a partir de las experiencias LE 1, LE 2, LE 3, LE 4, LE 5, LE 6, LE 7 y LE 8 (Tabla 6-4). Se realiza el gráfico probabilístico del modelo saturado (Ec. 6-1). En el análisis gráfico del modelo de índice kappa y de blancura (Fig. 6-1) 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) a la poca influencia de los factores en la respuesta, III) a un exceso de ruido experimental o IV) a 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 , para ello se realizan las 16 experiencias que se muestran en la Tabla 6-4.

$$Y_{LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 \quad \text{Ec. 6-1}$$

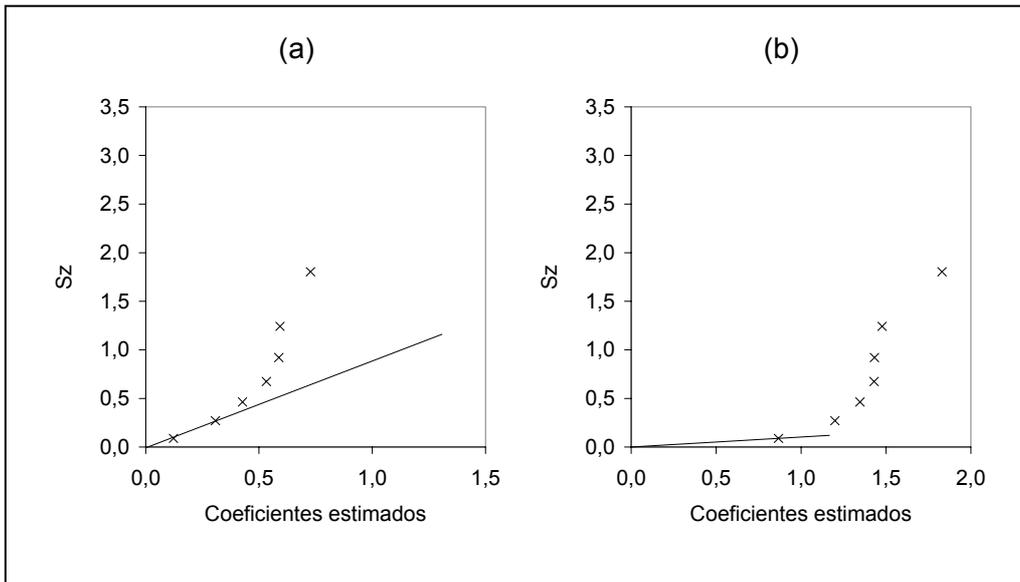


Fig. 6-1. Gráficos probabilísticos de las respuestas de índice kappa (a) y blancura (b) en la secuencia LE.

6.3.2.1 Análisis estadístico del índice kappa en la secuencia LE

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 estudia a partir de las experiencias LE 1 a LE 8, LE 12 a LE 14 y LE A a LE E (Tabla 6-4). Se realiza el gráfico probabilístico del modelo saturado (Ec. 6-2, Tabla 6-5 y Fig. 6-2).

$$Y_{IK-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{234}X_2X_3X_4 + b_{124}X_1X_2X_4 + b_{134}X_1X_3X_4 + b_{1234}X_1X_2X_3X_4 \quad \text{Ec. 6-2}$$

Tabla 6-4. Índice kappa después de aplicar la secuencia LE.

x_1	x_2	x_3	x_4	Ref.	Índice kappa
-1	-1	-1	-1	LE 1	$7,0 \pm 0,1$
1	-1	-1	-1	LE A	$6,9 \pm 0,0$
-1	1	-1	-1	LE B	$6,9 \pm 0,0$
1	1	-1	-1	LE 4	$6,1 \pm 0,2$
-1	-1	1	-1	LE C	$7,1 \pm 0,2$
1	-1	1	-1	LE 6	$6,6 \pm 0,1$
-1	1	1	-1	LE 7	$5,8 \pm 0,1$
1	1	1	-1	LE D	$3,3 \pm 0,3$
-1	-1	-1	1	LE E	$7,0 \pm 0,2$
1	-1	-1	1	LE 2	$7,1 \pm 0,0$
-1	1	-1	1	LE 3	$7,2 \pm 0,2$
1	1	-1	1	LE 12	$5,7 \pm 0,1$
-1	-1	1	1	LE 5	$7,3 \pm 0,1$
1	-1	1	1	LE 14	$6,0 \pm 0,2$
-1	1	1	1	LE 13	$5,5 \pm 0,0$
1	1	1	1	LE 8	$3,0 \pm 0,0$

Tabla 6-5. Coeficientes estimados del modelo saturado de índice kappa en la secuencia LE.

Coeficientes	Coeficientes	Sz
b_{234}	0,01	0,04
b_{124}	-0,01	0,13
b_{134}	-0,02	0,21
b_{24}	-0,03	0,30
b_{123}	-0,05	0,39
b_4	-0,06	0,48
b_{34}	-0,07	0,57
b_{14}	-0,08	0,67
b_{1234}	0,11	0,78
b_{13}	-0,28	0,90
b_{12}	-0,34	1,04
b_{23}	-0,46	1,19
b_1	-0,57	1,38
b_3	-0,58	1,64
b_2	-0,72	2,13
b_0	6,2	-

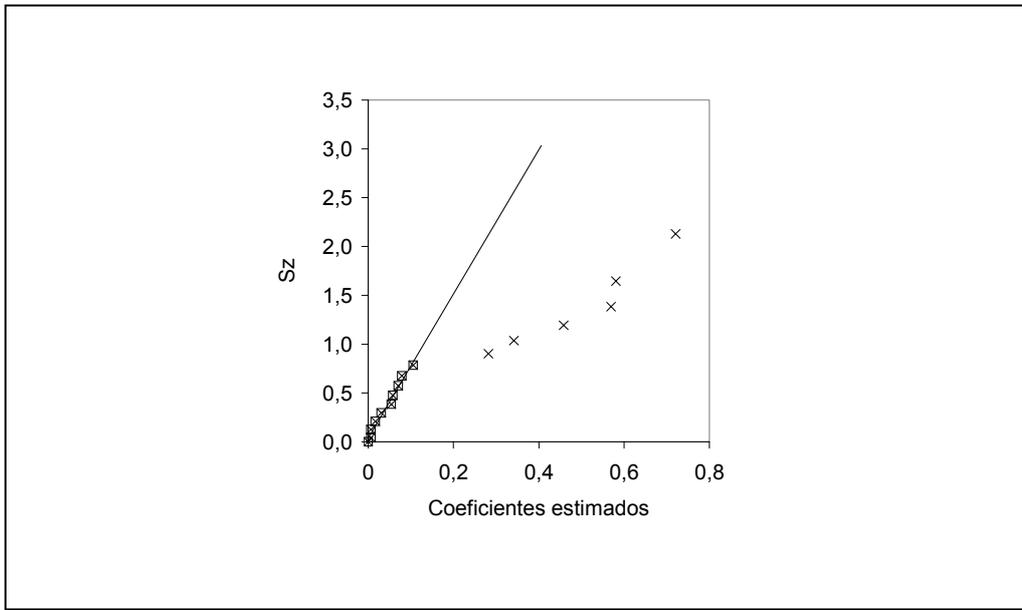


Fig. 6-2. Gráfico seminormal del modelo saturado de índice kappa.

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. 6-2).

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. 6-3) y se determinan los coeficientes y su significación. En la Tabla 6-6 se muestran los términos del modelo y se observa que todos ellos son significativos (Probabilidad < 0,05).

Tabla 6-6. Coeficientes del modelo (Ec. 6-3) estimado para el índice kappa en la secuencia LE.

Coeficientes	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b ₀	6,2	0,06	106	0,00
b ₁	-0,57	0,06	-9,85	0,00
b ₂	-0,72	0,06	-12,46	0,00
b ₃	-0,58	0,06	-10,04	0,00
b ₁₂	-0,34	0,06	-5,91	0,00
b ₁₃	-0,28	0,06	-4,87	0,00
b ₂₃	-0,46	0,06	-7,92	0,00

$$Y_{IK-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 \quad \text{Ec. 6-3}$$

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 6-7).

Tabla 6-7. Análisis de variancia del modelo para el índice kappa en la secuencia LE.

n	16	SCR	0,48
p	7	CMR	0,05
r	3	S_c^2	0,03
v _R	9	F _{calc}	0,54
v _c	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 2^4 anterior se incluyen los 7 coeficientes ya declarados significativos y el coeficiente representante de los términos cuadráticos, de modo que se obtiene el modelo de la Ec. 6-4. Se incluyen en la matriz de diseño las experiencias centrales LE 9, LE 10 y LE 11 (Tabla 6-8), diseño 2^4 con tres respuestas centrales, y se analizan las posibles curvaturas. Según el análisis estadístico (Tabla 6-9) el término representativo cuadrático tiene un coeficiente de 1,43 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 6-8. Índice kappa de las experiencias centrales después de aplicar la secuencia LE.

x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	Ref.	Índice kappa
0	0	0	0	LE 9	4,9 ± 0,1
0	0	0	0	LE 10	4,6 ± 0,1
0	0	0	0	LE 11	4,7 ± 0,0

$$Y_{IK-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1X_1 \quad \text{Ec. 6-4}$$

Tabla 6-9. Coeficientes del modelo (Ec. 6-4) estimado para el índice kappa en la secuencia LE.

Coeficientes	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b ₀	4,73	0,13	37,0	0,00
b ₁	-0,57	0,06	-10,29	0,00
b ₂	-0,72	0,06	-13,02	0,00
b ₃	-0,58	0,06	-10,49	0,00
b ₁₂	-0,34	0,06	-6,18	0,00
b ₁₃	-0,28	0,06	-5,09	0,00
b ₂₃	-0,46	0,06	-8,28	0,00
b ₁₁	1,43	0,14	10,27	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 añade la estrella de experiencias, experiencias LE 15 a LE 18 y LE F a LE I, necesarias para desconfundir los términos cuadráticos (Tabla 6-10). Se analiza el modelo Ec. 6-5 que se calcula a partir del diseño factorial 2⁴ con tres experiencias centrales y ocho correspondientes a la estrella.

$$Y_{IK-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1X_1 + b_{22}X_2X_2 + b_{33}X_3X_3 + b_{44}X_4X_4 \quad \text{Ec. 6-5}$$

Tabla 6-10. Índice kappa de la estrella de experiencias después de aplicar la secuencia LE.

X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Ref.	Índice kappa
-1	0	0	0	LE 15	6,7 ± 0,1
0	-1	0	0	LE 16	6,7 ± 0,0
0	0	-1	0	LE 17	6,7 ± 0,2
0	0	0	1	LE 18	4,3 ± 0,1
1	0	0	0	LE F	4,0 ± 0,0
0	1	0	0	LE G	3,8 ± 0,1
0	0	1	0	LE H	3,4 ± 0,1
0	0	0	-1	LE I	4,4 ± 0,1

Se obtiene el modelo que corresponde a la ecuación Ec. 6-6 a partir de las 27 respuestas; el índice de determinación (R^2) es de 0,90 y la F es de 20,2. Se presentan en la Tabla 6-11 los coeficientes del modelo y su significación.

$$Y_{IK-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 \quad \text{Ec. 6-6}$$

Tabla 6-11. Coeficientes del modelo (Ec. 6-6) con 27 respuestas de índice kappa en la secuencia LE.

Coefficientes modelo	Coefficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b ₀	4,68	0,19	24,9	0,00
b ₁	-0,66	0,12	-5,28	0,00
b ₂	-0,80	0,12	-6,42	0,00
b ₃	-0,70	0,12	-5,57	0,00
b ₁₂	-0,34	0,13	-2,58	0,02
b ₁₃	-0,28	0,13	-2,13	0,05
b ₂₃	-0,46	0,13	-3,46	0,00
b ₁₁	0,77	0,29	2,67	0,02
b ₂₂	0,69	0,29	2,38	0,03

f) Índice kappa. Análisis del intervalo de predicción de la respuesta

Debido a que la experiencia LE 17 presenta un residuo elevado se calcula el intervalo de predicción de esta respuesta, $Int_{LE\ 17}$ (Tabla 6-12). El valor de la respuesta experimental no se encuentra dentro del intervalo de predicción de la respuesta, por lo que esta respuesta se considera errónea, se puede eliminar del estudio y obtener nuevamente los coeficientes del modelo.

Tabla 6-12. Intervalo de predicción de la respuesta LE 17 para el modelo de índice kappa en la secuencia LE.

$X_0'(X'X)^{-1}X_0$	0,18
n-p	18
$t_{0,025,18}$	2,1
CMR	0,28
S²	0,53
Int_{LE 17}	5,4 - 6,6
Respuesta_{LE 17}	6,7

g) Índice kappa. Obtención del modelo definitivo

El modelo definitivo se ha obtenido a partir de 26 respuestas y corresponde a la ecuación Ec. 6-6; el índice de determinación (R^2) es de 0,94 y la probabilidad asociada a F_{calc} es de 0,00. Se presentan en la Tabla 6-13 los coeficientes del modelo y su significación. La suma de los coeficientes cuadráticos del modelo es de 1,5 similar al coeficiente del término cuadrático representativo calculado anteriormente (apartado d).

Tabla 6-13. Coeficientes del modelo definitivo con 26 respuestas de índice kappa en la secuencia LE.

Coeficientes modelo	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b_0	4,5	0,16	27,9	0,00
b_1	-0,66	0,10	-6,62	0,00
b_2	-0,80	0,10	-8,05	0,00
b_3	-0,61	0,10	-5,91	0,00
b_{12}	-0,34	0,11	-3,24	0,00
b_{13}	-0,28	0,11	-2,67	0,02
b_{23}	-0,46	0,11	-4,34	0,00
b_{11}	0,88	0,23	3,77	0,00
b_{22}	0,79	0,23	3,40	0,00

h) Índice kappa. Verificación del modelo definitivo

En la Tabla 6-14 se presenta el índice kappa estimado y los residuos obtenidos en el modelo. En la Fig. 6-3 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. 6-3 (a). En la Fig. 6-3 (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 -18

% y 10 %. En el Gráfico Probabilístico Normal los valores de $Z:N(0,1)$ en función de los residuos se ajustan a una recta (Fig. 6-3 c). Teniendo en cuenta estos resultados, el modelo se considera estadísticamente correcto.

Tabla 6-14. Índice kappa estimado, residuos y valor de Z de la ley Normal para cada una de las experiencias del modelo definitivo de índice kappa en la secuencia LE.

Ref.	Índice kappa estimado	Residuos	Z:N(0,1)
LE F	4,7	-0,7	-2,1
LE G	4,5	-0,7	-1,6
LE H	3,9	-0,4	-1,3
LE C	7,4	-0,3	-1,1
LE B	7,1	-0,2	-0,9
LE 14	6,2	-0,2	-0,8
LE A	7,1	-0,2	-0,7
LE 18	4,5	-0,2	-0,6
LE 1	7,1	-0,1	-0,5
LE E	7,1	-0,1	-0,3
LE 5	7,4	-0,1	-0,2
LE I	4,5	-0,1	-0,2
LE 13	5,6	-0,1	-0,0
LE 8	3,0	-0,0	0,1
LE 12	5,7	0,0	0,2
LE 2	7,1	0,0	0,2
LE 3	7,1	0,1	0,3
LE 10	4,5	0,0	0,5
LE 7	5,6	0,2	0,6
LE 11	4,5	0,2	0,7
LE D	3,0	0,3	0,8
LE 6	6,2	0,4	0,9
LE 4	5,7	0,4	1,1
LE 9	4,5	0,4	1,3
LE 16	6,1	0,6	1,6
LE 15	6,0	0,7	2,1

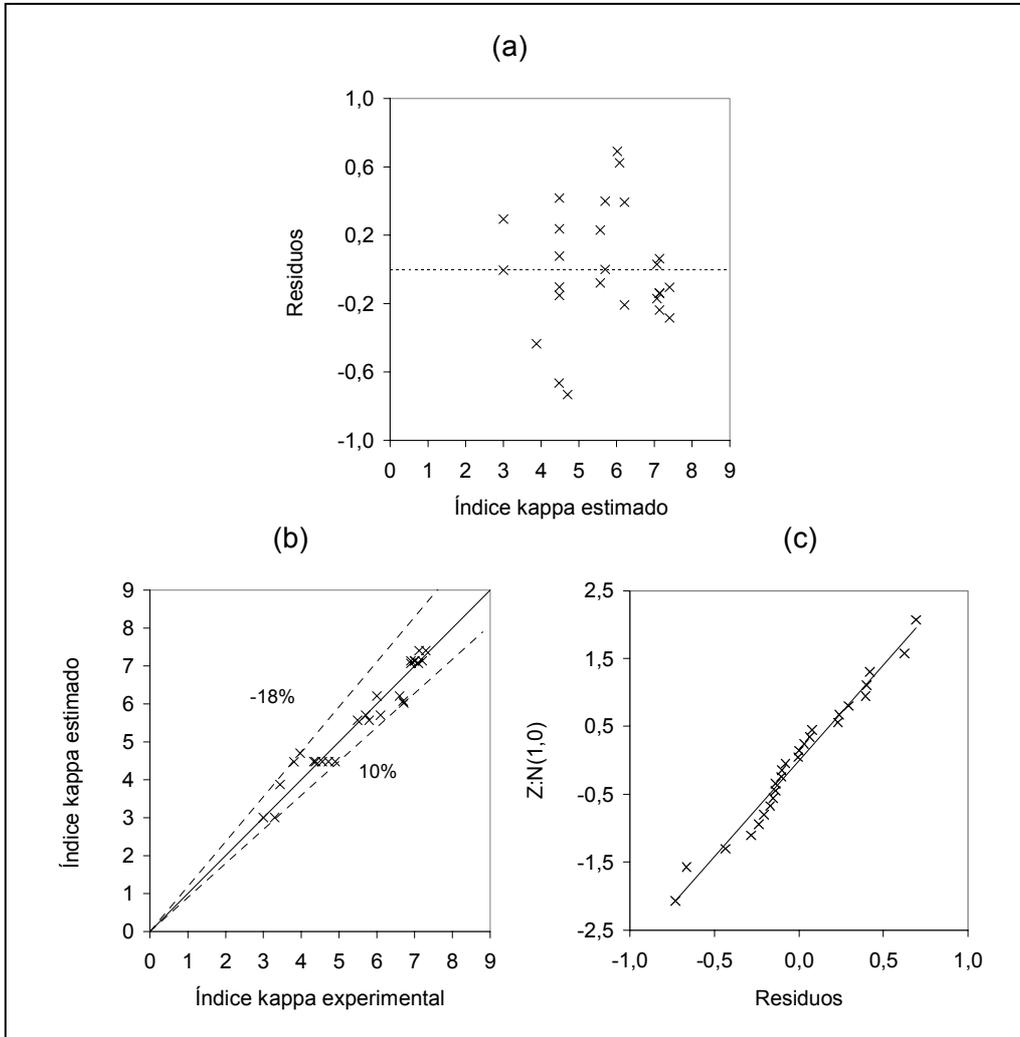


Fig. 6-3. Gráficos probabilísticos para el modelo de índice kappa en la secuencia LE. Residuos frente al índice kappa estimado (a), índice kappa estimado frente a índice kappa experimental (b), residuos frente al valor de Z de la Ley Normal (c).

6.3.2.2 Análisis estadístico de la blancura en la secuencia LE

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 estudia el diseño a partir de las experiencias LE 1 a LE 8, LE 12 a LE 14 y LE A a LE E (Tabla 6-15). Se realiza el gráfico probabilístico del modelo saturado (Ec. 6-7, Tabla 6-16 y Fig. 6-4).

Tabla 6-15. Blancura después de aplicar la secuencia LE.

x_1	x_2	x_3	x_4	Ref.	Blancura (%ISO)
-1	-1	-1	-1	LE 1	45,3
1	-1	-1	-1	LE A	44,9
-1	1	-1	-1	LE B	45,2
1	1	-1	-1	LE 4	45,8
-1	-1	1	-1	LE C	45,0
1	-1	1	-1	LE 6	44,7
-1	1	1	-1	LE 7	46,6
1	1	1	-1	LE D	55,5
-1	-1	-1	1	LE E	45,2
1	-1	-1	1	LE 2	44,5
-1	1	-1	1	LE 3	44,5
1	1	-1	1	LE 12	47,8
-1	-1	1	1	LE 5	46,1
1	-1	1	1	LE 14	46,2
-1	1	1	1	LE 13	48,5
1	1	1	1	LE 8	55,8

Tabla 6-16. Coeficientes estimados del modelo saturado de blancura en la secuencia LE.

Coeficientes	Coeficientes	Sz
b_{124}	0,05	0,04
b_{14}	0,07	0,13
b_{24}	0,09	0,21
b_{234}	-0,15	0,30
b_{134}	-0,23	0,39
b_{34}	0,24	0,48
b_{1234}	-0,33	0,57
b_4	0,34	0,67
b_{123}	0,71	0,78
b_{134}	0,83	0,90
b_1	1,19	1,04
b_{23}	1,33	1,19
b_{12}	1,34	1,38
b_3	1,57	1,64
b_2	1,75	2,13
b_0	47,0	-

$$\begin{aligned}
 Y_{B-LE} = & b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 \\
 & + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{234}X_2X_3X_4 + \\
 & b_{124}X_1X_2X_4 + b_{134}X_1X_3X_4 + b_{1234}X_1X_2X_3X_4
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 6-7}$$

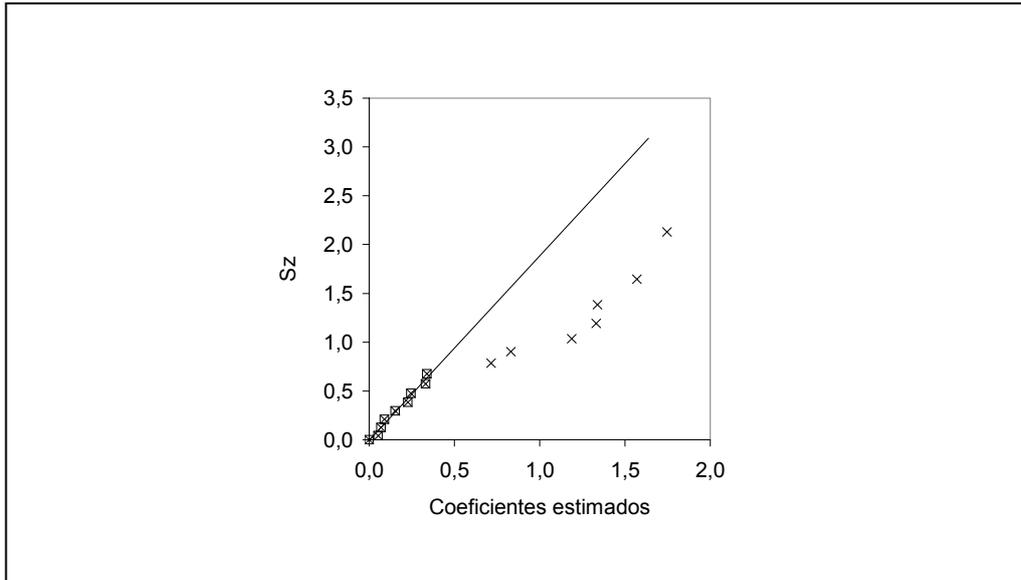


Fig. 6-4. Gráfico seminormal del modelo saturado para la blancura en LE.

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. 6-4).

b) Blancura. Estudio del modelo obtenido con los coeficientes significativos

Se estudia el modelo con los coeficientes declarados significativos (Ec. 6-8) en el análisis gráfico anterior y se determinan los coeficientes y su significación. En la Tabla 6-17 se observa que todos los términos del modelo son significativos (Probabilidad < 0,05).

$$\begin{aligned}
 Y_{B-LE} = & b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + \\
 & b_{123}X_1X_2X_3
 \end{aligned}
 \tag{Ec. 6-8}$$

Tabla 6-17. Coeficientes del modelo (Ec. 6-8) estimado para la blancura en la secuencia LE.

Coeficientes	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b_0	47,0	0,22	2,18	0,00
b_1	1,19	0,22	5,49	0,00
b_2	1,75	0,22	8,08	0,00
b_3	1,57	0,22	7,26	0,00
b_{12}	1,34	0,22	6,19	0,00
b_{13}	0,83	0,22	3,84	0,00
b_{23}	1,33	0,22	6,16	0,00
b_{123}	0,71	0,22	3,31	0,01

c) Blancura. 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 y la variancia de los tres puntos centrales se realiza la prueba de homocedasticidad, obteniendo que $p \text{ value} > 0,05$, con lo que el modelo es homocedástico, es decir, la variancia es constante (Tabla 6-18).

Tabla 6-18. Análisis de variancia del modelo de blancura en la secuencia LE.

n	16	SCR	0,48
p	7	CMR	0,05
r	3	S_c^2	0,03
v_R	9	F_{calc}	0,54
v_c	2	p value	0,80

d) Blancura. ¿Influyen los términos cuadráticos?

Para realizar el estudio de las posibles curvaturas, en el modelo obtenido en el estudio del diseño factorial 2^4 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. 6-9. Se incluyen en la matriz de diseño las experiencias centrales LE 9, LE 10 y LE 11 (Tabla 6-19) diseño 2^4 con tres respuestas centrales, y se analizan las posibles curvaturas. Según el análisis estadístico el término representativo cuadrático tiene un coeficiente de -1,9 y resulta significativo (Probabilidad = 0,00) (Tabla 6-20). 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 6-19. Blancura de las experiencias centrales después de aplicar la secuencia LE.

x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	Ref.	Blancura (%ISO)
0	0	0	0	LE 9	49,2
0	0	0	0	LE 10	48,4
0	0	0	0	LE 11	49,2

$$Y_{B-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{11}X_1X_1 \quad \text{Ec. 6-9}$$

Tabla 6-20. Coeficientes del modelo (Ec. 6-9) estimado a partir del factorial y las tres respuestas centrales para la blancura en la secuencia LE.

Coeficientes	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b ₀	48,9	0,46	105,6	0,00
b ₁	1,19	0,20	5,91	0,00
b ₂	1,75	0,20	8,70	0,00
b ₃	1,57	0,20	7,82	0,00
b ₁₂	1,34	0,20	6,67	0,00
b ₁₃	0,83	0,20	4,14	0,00
b ₂₃	1,33	0,20	6,63	0,00
b ₁₂₃	0,71	0,20	3,56	0,01
b ₁₁	-1,92	0,51	-3,80	0,00

e) Blancura. ¿Qué factores tienen un efecto cuadrático?

Para determinar cual de los factores tiene un efecto cuadrático en la respuesta se añade la estrella de experiencias, experiencias LE 15 a LE 18 y LE F a LE I, necesarias para desconfundir los términos cuadráticos (Tabla 6-21). Se analiza el modelo Ec. 6-10 que se calcula a partir del diseño factorial 2⁴ con tres experiencias centrales y ocho correspondientes a la estrella.

$$Y_{B-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 + b_{11}X_1X_1 + b_{22}X_2X_2 + b_{33}X_3X_3 + b_{44}X_4X_4 \quad \text{Ec. 6-10}$$

Tabla 6-21. Blancura de la estrella de experiencias después de aplicar la secuencia LE.

x_1	x_2	x_3	x_4	Ref.	Blancura (%ISO)
-1	0	0	0	LE 15	44,8
0	-1	0	0	LE 16	43,8
0	0	-1	0	LE 17	42,9
0	0	0	1	LE 18	47,9
1	0	0	0	LE F	53,7
0	1	0	0	LE G	54,4
0	0	1	0	LE H	56,5
0	0	0	-1	LE I	53,0

f) Blancura. Obtención del modelo definitivo

El modelo definitivo se ha obtenido a partir de 27 respuestas y corresponde a la ecuación Ec. 6-11; el índice de determinación (R^2), es de 0,72 y la probabilidad asociada a F_{calc} es de 0,00. Se presentan en la Tabla 6-22 los coeficientes del modelo y su significación. El coeficiente cuadrático del modelo final es de -2,3 algo superior al coeficiente del término cuadrático representativo calculado anteriormente (apartado d).

$$Y_{B-LE} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{23}X_2X_3 + b_{22}X_2^2 \quad \text{Ec. 6-11}$$

Tabla 6-22. Coeficientes modelo definitivo de blancura en la secuencia LE.

Coeficientes modelo	Coeficientes estimados	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
b_0	49,5	0,80	61,7	0,00
b_1	1,55	0,57	2,73	0,01
b_2	2,14	0,57	3,76	0,00
b_3	2,09	0,57	3,68	0,00
b_{12}	1,34	0,60	2,22	0,04
b_{23}	1,33	0,60	2,21	0,04
b_{22}	-2,32	0,98	-2,36	0,03

g) Blancura. Verificación del modelo definitivo

En la Tabla 6-23 se presenta el índice kappa estimado y los residuos obtenidos en el modelo.

Tabla 6-23. Blancura estimada, residuos y valor de Z de la ley Normal para cada uno de los puntos del plan estadístico en el modelo definitivo de la secuencia LE.

Ref.	Blancura estimada (%ISO)	Residuos	Z:N(0,1)
LE 17	47,5	-3,5	-2,1
LE 7	49,9	-3,3	-1,6
LE 15	48,0	-3,3	-1,3
LE 4	48,8	-3,0	-1,1
LE 6	46,1	-1,4	-1,0
LE 13	49,9	-1,4	-0,8
LE 16	45,1	-1,3	-0,7
LE 10	49,6	-1,2	-0,6
LE 12	48,8	-1,0	-0,5
LE C	45,6	-0,6	-0,4
LE 11	49,6	-0,4	-0,3
LE 9	49,6	-0,3	-0,2
LE D	55,7	0,0	-0,1
LE 2	44,5	0,0	0,0
LE 8	55,7	0,1	0,1
LE 14	46,1	0,2	0,2
LE 5	45,6	0,4	0,3
LE A	44,5	0,4	0,4
LE 18	49,6	0,5	0,5
LE I	49,6	0,7	0,6
LE E	44,1	1,1	0,7
LE 1	44,1	1,2	0,8
LE 3	43,1	1,5	1,0
LE B	43,1	2,2	1,1
LE F	51,1	2,6	1,3
LE H	51,6	4,9	1,6
LE G	49,4	4,9	2,1

En la Fig. 6-5 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. 6-5 (a). En la Fig. 6-5 (b) se observa que las respuestas de blancura pronosticadas por el modelo y las respuestas experimentales se sitúan en torno a una recta, las diferencias entre ambas respuestas se encuentran entre -8 % y 9 %. En el Gráfico Probabilístico Normal los valores de Z:N(0,1) en función de los residuos se ajustan a una recta (Fig. 6-5 c). Teniendo en cuenta estos resultados, el modelo se considera estadísticamente correcto.

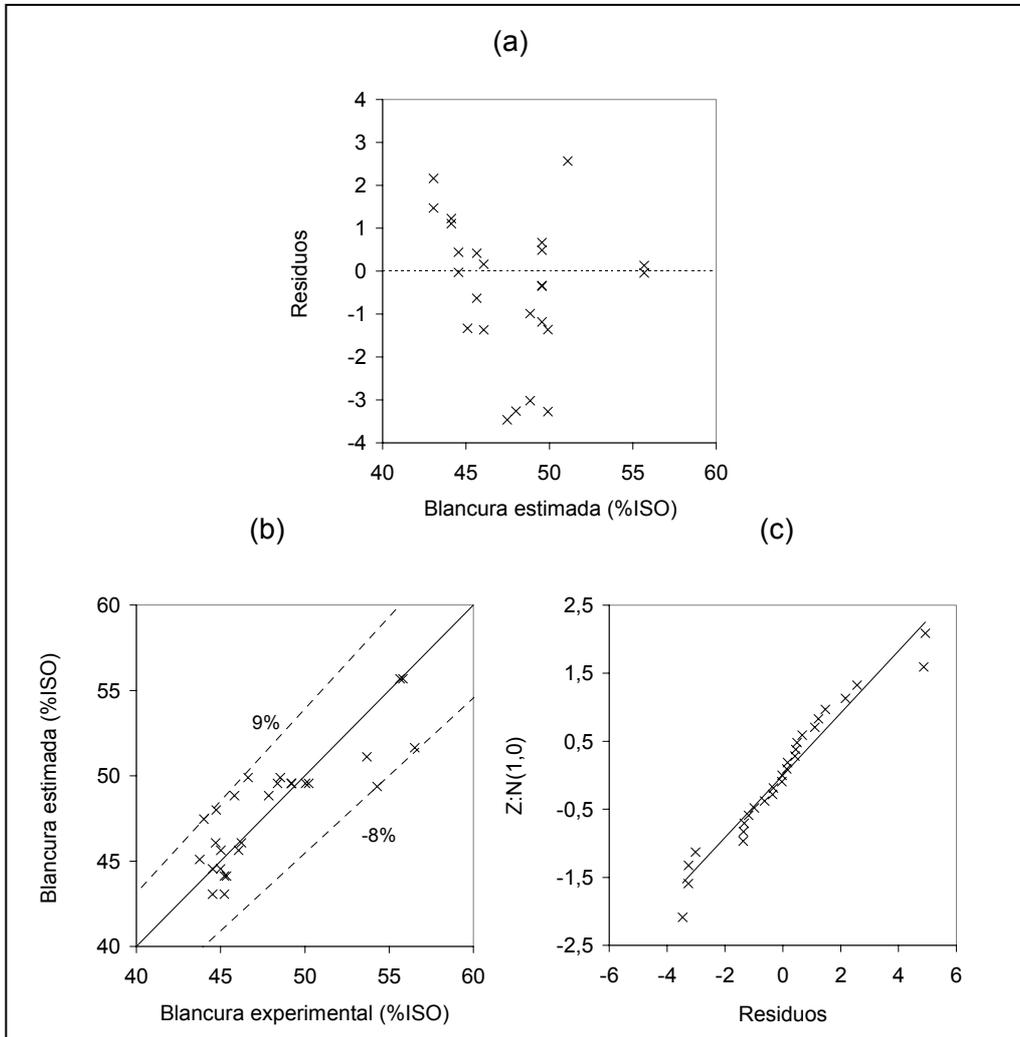


Fig. 6-5. Gráficos probabilísticos para el modelo de blancura en la secuencia LE. Residuos frente a la blancura estimada (a), blancura estimada frente a blancura experimental (b), residuos frente al valor de Z de la Ley Normal (c).

6.3.3 ESTUDIO DE LOS MODELOS DE PROPIEDADES DE PASTA

6.3.3.1 Modelo de índice kappa en la secuencia LE

El modelo que relaciona el índice kappa de la pasta después de aplicar la secuencia LE y las variables de proceso corresponde a la ecuación Ec. 6-12 y predice valores de índice kappa entre 3,0 a 7,4.

$$Y_{IK-LE} = 4,48 - 0,66X_1 - 0,80X_2 - 0,61X_3 - 0,34X_1X_2 - 0,28X_1X_3 - 0,46X_2X_3 + 0,88X_1^2 + 0,79X_2^2 \quad \text{Ec. 6-12}$$

Donde $X_1=(L-10,5)/9,5$, L=dosis de lacasa ($U \cdot g^{-1}$); $X_2=(M-1,05)/0,95$, 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_2 , dosis de HBT con un coeficiente de $X_2=-0,80$.

Todas las interacciones dobles entre las variables dosis de lacasa, mediador y tiempo tienen influencia; de manera que ordenadas de mayor a menor influencia en el modelo se encuentra la interacción X_2X_3 (dosis mediador - tiempo), X_1X_2 (dosis lacasa - dosis mediador) y X_1X_3 (dosis lacasa - tiempo). En el modelo los factores dosis de lacasa y dosis de HBT, X_1^2 y X_2^2 tienen influencia cuadrática en la respuesta. Un aumento en los factores individuales provoca una disminución de índice kappa. Las interacciones dobles tienden a disminuir el índice kappa cuando los factores implicados se encuentran a niveles bajos o altos, mientras que los términos cuadráticos tienden a aumentarlo.

Análisis gráfico del modelo de índice kappa

En la figura Fig. 6-6 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. 6-7 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 mínimo a partir del cual se obtienen valores de índice kappa ligeramente superiores (Fig. 6-6 c). Aunque según el modelo matemático obtenido, un aumento en la dosis de lacasa por encima de $17 U \cdot g^{-1}$ 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. El índice kappa mínimo obtenido en el plan es de 2,9 y corresponde a las variables $X_1=0,72$, $X_2=0,95$ y $X_3=1,0$, o sea, dosis de lacasa de $17 U \cdot g^{-1}$, 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 del tiempo provoca una disminución de índice kappa independientemente del valor de las demás variables (Fig. 6-6 a y b), por lo que el

índice kappa mínimo se obtiene a un tiempo $X_3=1$ (6,5 h), en principio, se podría obtener un índice kappa menor a 2,9 al aumentar el tiempo por encima de 6,5 h. En cuanto a la dosis de lacasa y HBT, el modelo predice unas dosis límite de reactivos a partir de las cuales un aumento de éstas no supone una disminución adicional de índice kappa.

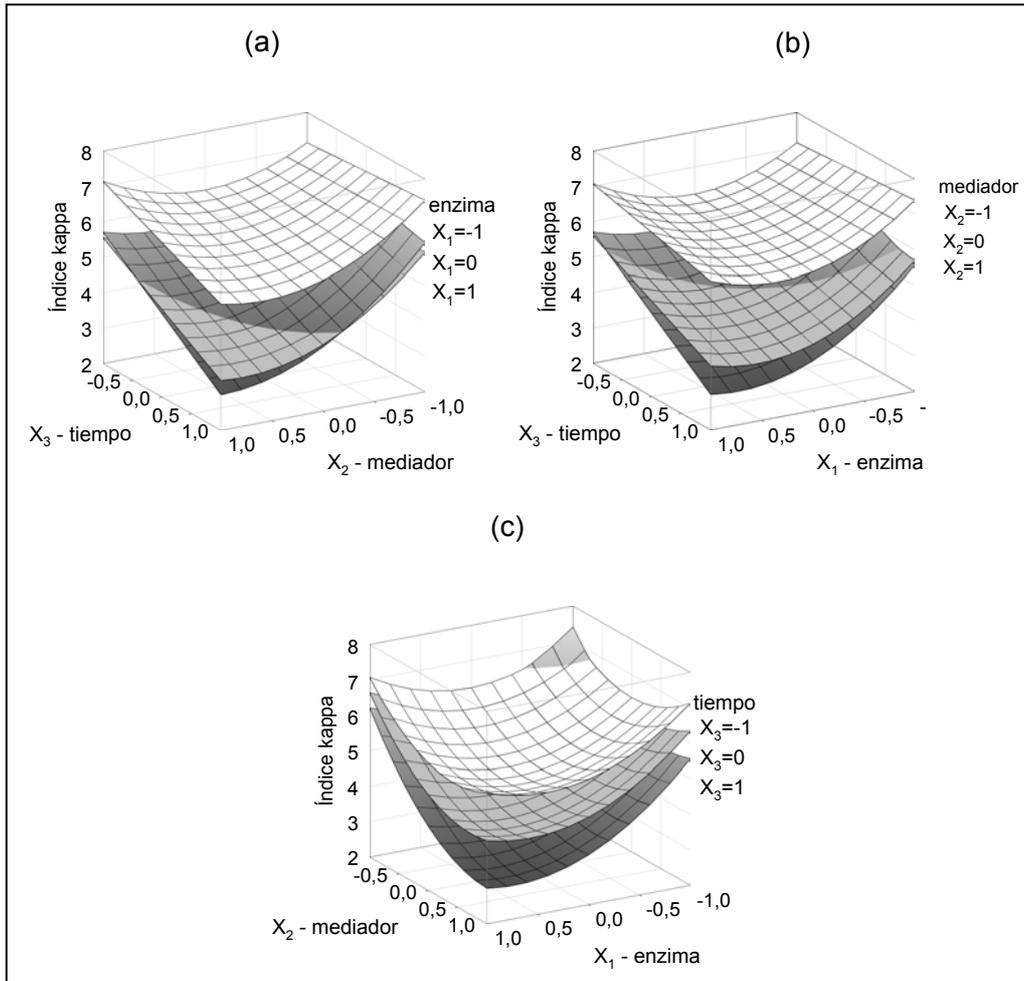


Fig. 6-6. Índice kappa en función de los factores del plan estadístico en la secuencia LE.

En la Fig. 6-6 (a y b) 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 alrededor de 7,3. 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 5,7.

En la Fig. 6-6 (b) se observa que cuando la dosis de lacasa es baja ($X_1=-1$) y las demás variables, dosis de mediador y tiempo se encuentran en su valor óptimo, el índice kappa disminuye hasta 5,8. En cambio, cuando la dosis de mediador es baja ($X_2=-1$) y aunque las demás variables, dosis de lacasa y tiempo se encuentren en su valor óptimo, el índice kappa disminuye hasta 5,4. Por lo que la dosis de HBT baja de 0,1 %odp, limita algo más la disminución de índice kappa en el proceso que la dosis baja de lacasa.

En cuanto al aumento de dosis de lacasa y de HBT, se observan dos fases en el sistema (Fig. 6-6 a y c). Cuando la dosis de reactivo 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 reactivo considerablemente (Fig. 6-7 c).

En la Fig. 6-6 (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 no disminuye durante la primera media hora, siendo de 7,1. Al aumentar el tiempo de nivel bajo a alto, o sea de 0,5 a 6,5 h, disminuye hasta 5,6; una disminución de 1,5 (Fig. 6-7 c). La dosis de lacasa de $1 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ tiene un efecto positivo en la pasta si se adiciona la dosis de HBT adecuada y a un tiempo superior a 0,5 h. En la Fig. 6-6 (c) se observa que cuando la dosis de lacasa es alta ($X_1=1$) y la dosis de HBT es alta ($X_2=1$), el índice kappa disminuye durante la primera media hora hasta 5,7, disminución de 1,6. Al aumentar el tiempo de nivel bajo a alto, o sea de 0,5 a 6,5 h, disminuye hasta 3,0; una disminución de 2,7 unidades (Fig. 6-7 a). Cuando la dosis de HBT es baja ($X_2=-1$) y la dosis de lacasa es alta ($X_1=1$), el índice kappa tampoco disminuye durante la primera media hora. Al aumentar el tiempo de tratamiento disminuye hasta 6,2, disminución de una unidad (Fig. 6-7 a).

El aumento en las dosis de reactivos influye tanto en la deslignificación que se produce en los primeros 30 min de tratamiento, como en la deslignificación a un tiempo de 6,5 h. Además, este efecto positivo del aumento de dosis es superior a medida que aumenta el tiempo, tal como se observa en la Fig. 6-6 (c), ya que las curvas para cada uno de los tiempos no son paralelas.

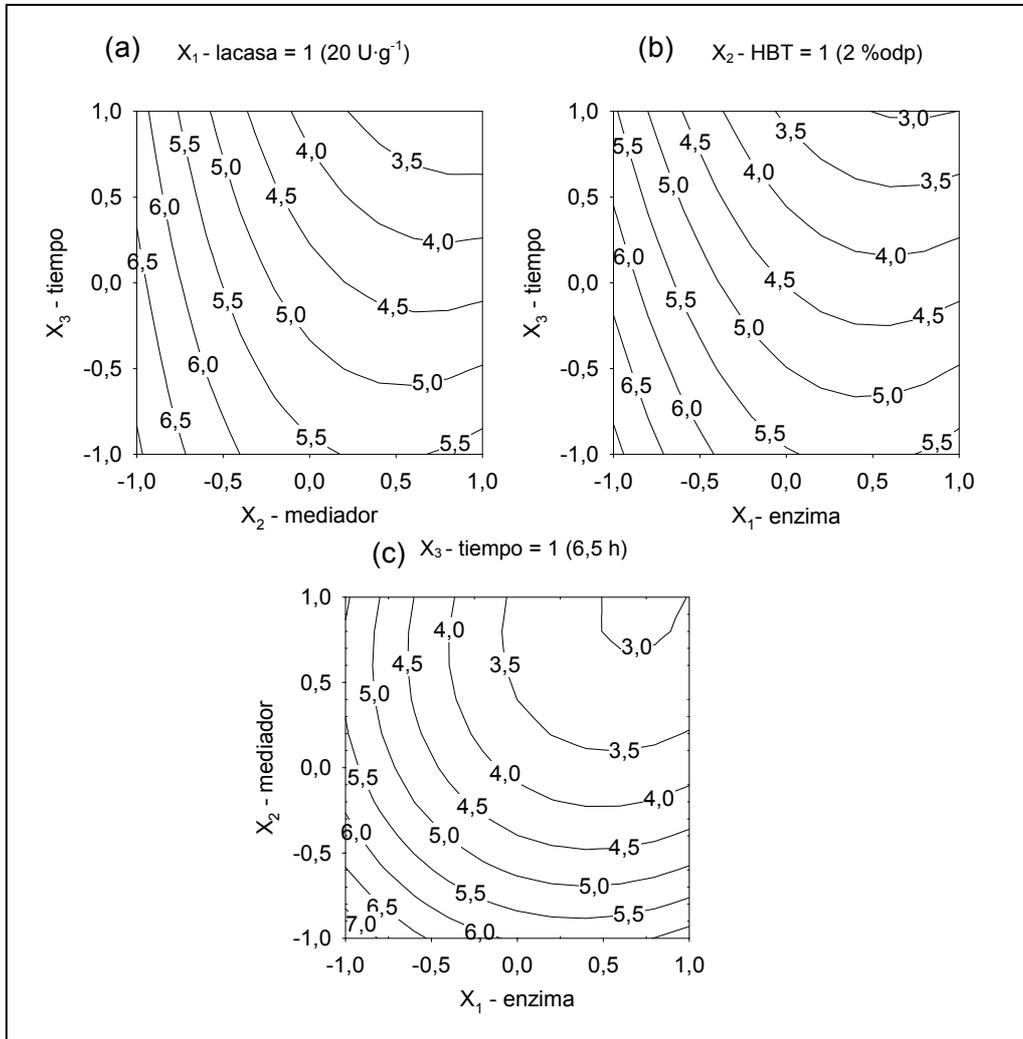


Fig. 6-7. Curvas de nivel de índice kappa de la secuencia LE, para una dosis de lacasa $X_1=1$ (a), una dosis de mediador de $X_2=1$ (b) y un tiempo $X_3=1$ (c).

Estudio de las dosis límites de reactivos

Las ecuaciones Ec. 6-13 y Ec. 6-14 se han obtenido al derivar la ecuación del modelo respecto a los factores X_1 y X_2 e igualar a cero. Estas ecuaciones permiten calcular las dosis de lacasa y de mediador límites (X_{1-lim} y X_{2-lim} , respectivamente) a partir de las cuales un aumento en las dosis no supone una disminución del índice kappa. Estas dosis dependen del valor de las demás variables del modelo. De manera que la dosis límite de lacasa aumenta al aumentar la dosis de HBT y el tiempo de tratamiento. De igual manera, la dosis límite de HBT aumenta al aumentar la dosis de lacasa y el tiempo de tratamiento (Fig. 6-8).

$$X_{1-lim} = \frac{-(b_1 + b_{12}X_2 + b_{13}X_3)}{2 \cdot b_{11}} \quad \text{Ec. 6-13}$$

$$X_{2-lim} = \frac{-(b_2 + b_{12}X_1 + b_{23}X_3)}{2 \cdot b_{22}} \quad \text{Ec. 6-14}$$

Si en las ecuaciones se substituye los factores X_1 , X_2 y X_3 por el nivel bajo (-1,-1,-1) y por el nivel alto (1, 1, 1) de las tres variables en el plan se obtienen los valores de X_{1-lim} y X_{2-lim} e índice kappa que se muestran en la Tabla 6-24 y Tabla 6-25. Se observa que, independientemente del tiempo de tratamiento, cuando una de las dosis de reactivo es baja (X_1 o X_2), aunque la dosis del otro reactivo se encuentre en su valor límite (X_{1-lim} y X_{2-lim}), prácticamente no se produce deslignificación.

Tabla 6-24. Dosis límites de lacasa (X_{1-lim}) según dosis de HBT (X_2) y tiempo (X_3) (Ec. 6-13).

X_2	X_3	X_{1-lim}	Índice kappa
-1	-1	0,02	6,2
-1	1	0,34	5,8
1	-1	0,41	5,4
1	1	0,73	2,9

Tabla 6-25. Dosis límites de HBT (X_{2-lim}) según dosis de lacasa (X_1) y tiempo (X_3) (Ec. 6-14).

X_1	X_3	X_{2-lim}	Índice kappa
-1	-1	0,00	6,3
-1	1	0,58	5,4
1	-1	0,43	5,4
1	1	1,01	3,0

Según las ecuaciones Ec. 6-13 y Ec. 6-14, las dosis límite de lacasa y de HBT cuando $X_3=1$ corresponden a $X_{1-lim}=0,72$ y $X_{2-lim}=0,95$, a partir de las cuales se obtiene un índice kappa límite de 2,9; no obstante, a unas dosis inferiores a las dosis límite ya se obtienen valores de índice kappa de ese mismo orden. En la Fig. 6-8 se puede observar a partir de qué combinaciones de dosis de reactivos y tiempo es posible alcanzar un determinado índice kappa cuando una de las variables se encuentra en su valor límite.

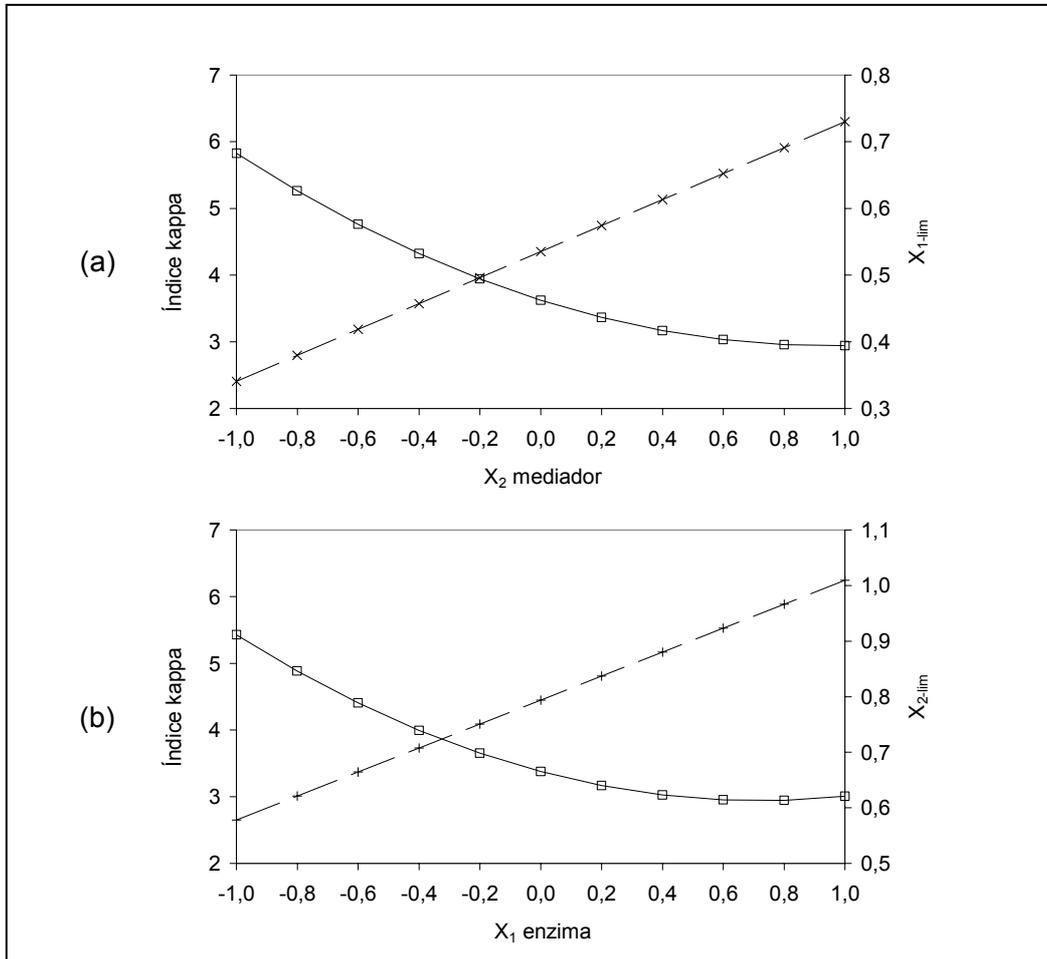


Fig. 6-8. Índice kappa (línea continua) obtenido a partir de una determinada dosis de HBT y la dosis límite de lacasa (línea discontinua) a $X_3=1$ (a). Índice kappa (línea continua) obtenido a partir de una determinada dosis de lacasa y la dosis límite de HBT (línea discontinua) a $X_3=1$ (b).

Estudio de las dosis óptimas de reactivos

Como se ha comentado anteriormente, cuando las dosis de reactivos son bajas, un aumento en las dosis de reactivos produce disminuciones importantes del índice kappa (Fig. 6-6 a y c y Fig. 6-7 c). A medida que las dosis son más elevadas y el índice kappa se acerca al índice kappa límite, para conseguir la misma disminución de índice kappa se deben aumentar las dosis considerablemente.

Para obtener un índice kappa inferior a 3,5, la variable tiempo debe ser $X_3=1$ (Fig. 6-7 b), preferiblemente. 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 0,4, mientras que el HBT (X_2) como mínimo deberá ser superior a 0,1 (Fig. 6-7 a y c). En la Tabla 6-26 se muestran las dosis de reactivos óptimas para obtener un índice kappa de 3 y 3,5. Como se puede observar, aceptar sólo medio punto más de índice kappa (3,5 en lugar de 3), supone un ahorro de HBT del 25 %; a un tiempo de $X_3=0,5$ aceptar medio punto más de índice kappa también supone un ahorro importante de HBT.

Tabla 6-26. Dosis de reactivos óptimas según el modelo de índice kappa en la secuencia LE para $X_3=1$ y $X_3=0,5$.

X_1	X_2	X_3	Dosis lacasa ($U \cdot g^{-1}$)	Dosis HBT (%odp)	tiempo (h)	Índice kappa
0,6	0,6	1	17	1,6	6,5	3,0
0,4	0,1	1	14	1,1	6,5	3,5
0,6	0,6	0,5	16	1,6	5	3,5
0,3	0,0	0,5	13	1,1	5	4,0

6.3.3.2 Modelo de la blancura en la secuencia LE

El modelo que relaciona la blancura de la pasta después de aplicar la secuencia LE y las variables de proceso corresponde a la ecuación Ec. 6-15 y predice valores de blancura entre 43,0 y 55,6 %ISO.

$$Y_{B-LE} = 49,5 + 1,55X_1 + 2,14X_2 + 2,09X_3 + 1,34X_1X_2 + 1,33X_2X_3 - 2,32X_2^2 \quad \text{Ec. 6-15}$$

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 blancura

Según el modelo, las variables que influyen en la blancura 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 en la respuesta. La variable que tiene una mayor influencia en el margen estudiado es X_2 , dosis de HBT, con un coeficiente de 2,1.

La interacción doble X_1X_2 (dosis lacasa - dosis mediador) y la interacción doble X_2X_3 (dosis mediador - tiempo) influyen en la blancura. La interacción X_1X_3 (dosis lacasa - tiempo) no tiene influencia en el modelo. El factor dosis de HBT, X_2^2 , tiene influencia cuadrática en la respuesta. En el modelo de índice kappa de la secuencia LE obtenido en el apartado anterior influyen las mismas variables, interacciones dobles y término cuadrático que en el modelo de blancura; aunque en el modelo de índice kappa la respuesta depende también de la interacción doble X_1X_3 y el término cuadrático X_1^2

asociado a la dosis de lacasa. Un aumento en los factores individuales provoca aumento de la blancura. Las interacciones dobles tienden a aumentar la blancura cuando los factores implicados se encuentran a niveles bajos o altos, mientras que el término cuadrático tiende a disminuir la blancura.

Análisis gráfico del modelo de blancura

En la figura Fig. 6-9 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. 6-10 se muestran las curvas de nivel cuando una de las variables se encuentra en su nivel alto.

La blancura aumenta al aumentar los factores hasta un valor de blancura máximo a partir del cual la blancura no aumenta (Fig. 6-9). La blancura máxima obtenida en el plan es de 55,6 %ISO y corresponde a las variables $X_1=1$, $X_2=1$ y $X_3=1$, o sea, dosis de lacasa de $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, dosis de HBT de 2 %odp y un tiempo de 6,5 h. Se observa que este valor de blancura máximo se obtiene con la dosis de lacasa, la dosis de HBT y al tiempo máximos estudiados en el plan. En el margen estudiado, un aumento de la dosis de lacasa o del tiempo provoca un aumento de blancura independientemente del valor de la dosis de HBT (Fig. 6-9 a y c), por lo que la blancura máxima se obtiene a una dosis de lacasa $X_1=1$ ($20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$) y un tiempo $X_3=1$ (6,5 h), en principio, un aumento en la dosis de lacasa y del tiempo por encima de estos valores produciría un aumento de blancura. En cuanto a la dosis HBT, el modelo predice una dosis límite a partir de la cual un aumento de esta dosis supone una disminución de blancura (Fig. 6-9 a y c).

En la Fig. 6-9 (b) se observa que cuando la dosis de HBT se encuentra en el nivel más bajo ($X_2=-1$) no se produce aumento de blancura, se mantiene alrededor de 45 %ISO, aunque se aumente la dosis de lacasa y/o el tiempo de tratamiento. Al igual que se observa en el modelo de índice kappa, la dosis baja de HBT, 0,1 %odp, es la que limita el aumento de blancura en el proceso. En cambio cuando ambas dosis son altas ($X_1=1$, $X_2=1$) ya se observa aumento de la blancura cuando el tiempo está en el nivel bajo ($X_3=-1$), Fig. 6-9 (c). En cambio, en la Fig. 6-9 (b) se observa que cuando la dosis de lacasa es baja ($X_1=-1$) y las demás variables, dosis de mediador y tiempo se encuentran en su valor óptimo, la blancura aumenta hasta 50,5 %ISO.

En cuanto al aumento de dosis de HBT, se observan dos fases en el sistema (Fig. 6-9 a y c). Cuando la dosis de HBT es baja, un determinado aumento en la dosis produce aumentos importantes de la blancura. A medida que la dosis es más elevada y la blancura se aproxima a la blancura límite, para conseguir un ligero aumento de blancura se debe aumentar la dosis de HBT considerablemente (Fig. 6-10 c).

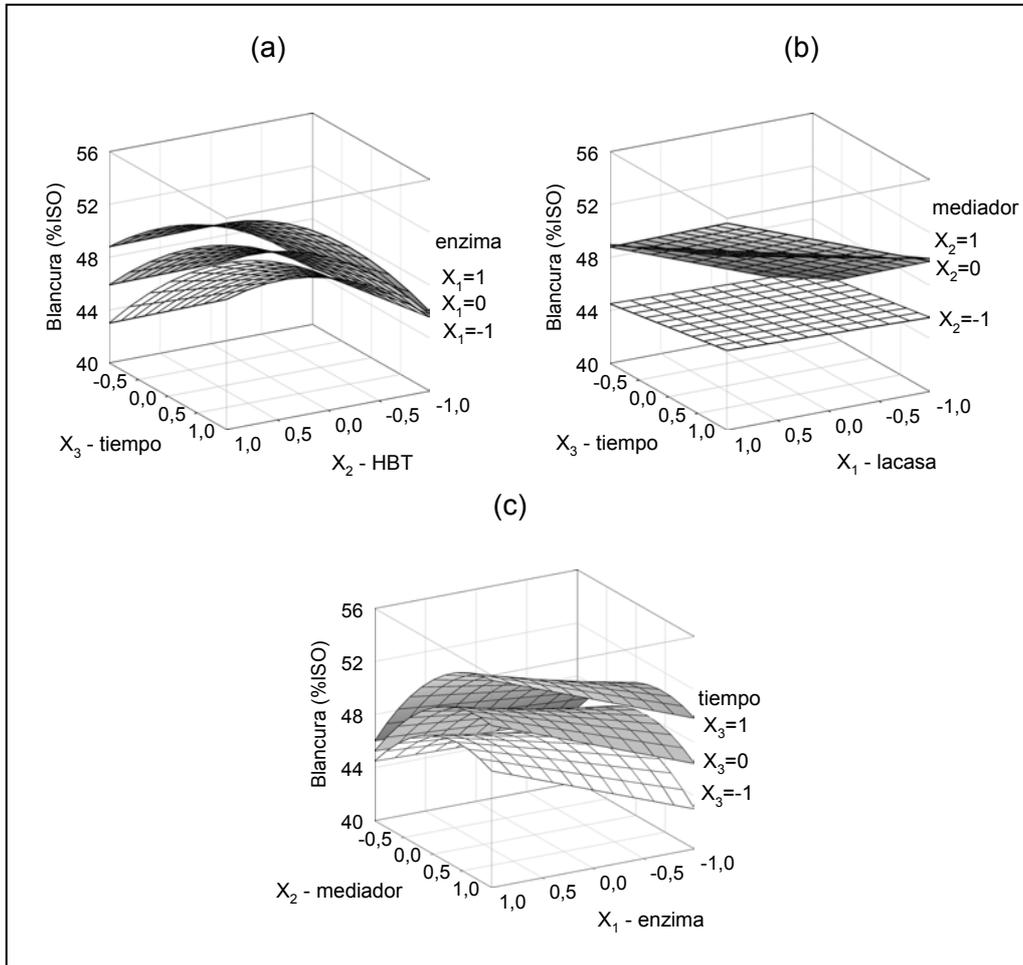
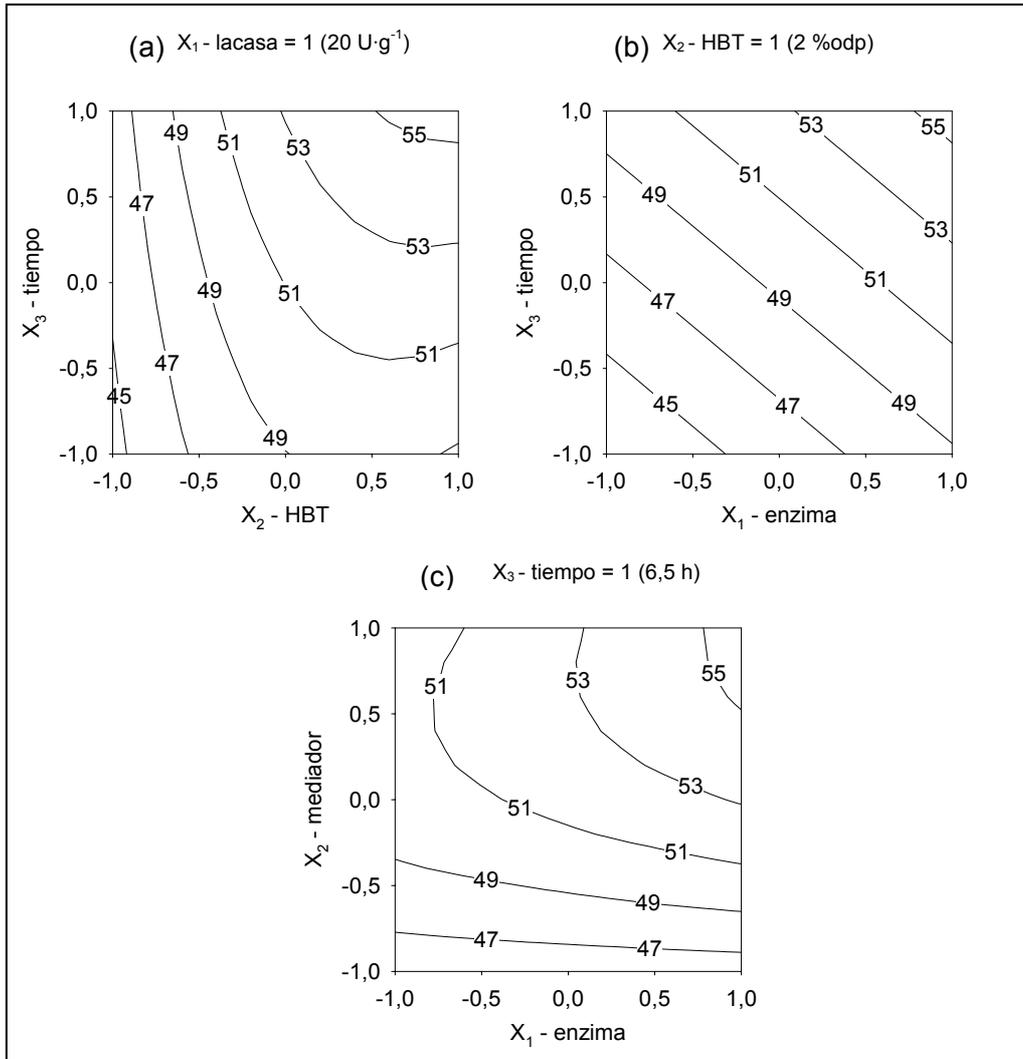


Fig. 6-9. Blancura en función de los factores del plan estadístico en la secuencia LE.

En la Fig. 6-9 (c) se observa que cuando la dosis de lacasa es baja ($X_1=-1$) y la dosis de HBT es alta ($X_2=1$), la blancura no aumenta durante la primera media hora, siendo de 43,0 %ISO. Al aumentar el tiempo de nivel bajo a alto, o sea de 0,5 a 6,5 h, aumenta hasta 49,9 %ISO; un aumento de 7 %ISO (Fig. 6-9 c). La dosis de lacasa de $1 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ tiene un efecto positivo en la pasta si se adiciona la dosis de HBT adecuada y a un tiempo superior a 0,5 h. En la Fig. 6-9 (c) se observa que cuando la dosis de lacasa es alta ($X_1=1$) y la dosis de HBT es alta ($X_2=1$), la blancura aumenta durante la primera media hora hasta 48,8 %ISO. Al aumentar el tiempo de nivel bajo a alto, o sea de 0,5 a 6,5 h, aumenta hasta 55,6 %ISO, un aumento de 7 % ISO (Fig. 6-10 a). En la Fig. 6-9 (a) se observa como las rectas para cada una de las dosis de lacasa son paralelas respecto al tiempo, el aumento de blancura de 0,5 a 6,5 h, es el mismo si se usa una dosis de $1 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ o de $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$. Por lo que el aumento en la dosis de lacasa

afecta principalmente al aumento de blancura que se produce durante los primeros 30 min de tratamiento.



Estudio de la dosis límite de HBT

La ecuación Ec. 6-16 se ha obtenido al derivar la ecuación del modelo respecto al factor X_2 e igualar a cero. Esta ecuación permite calcular la dosis de mediador límite ($X_{2\text{-lim}}$) a partir de la cual un aumento en la dosis no supone un aumento de blancura. Esta dosis depende del valor de las demás variables del modelo. De manera que la

dosis límite de HBT aumenta al aumentar la dosis de lacasa y el tiempo de tratamiento (Fig. 6-11).

$$X_{2\text{-lim}} = \frac{-(b_2 + b_{12}X_1 + b_{23}X_3)}{2 \cdot b_{22}} \quad \text{Ec. 6-16}$$

Si en la ecuación se substituye los factores X_1 y X_3 por el nivel bajo (-1,-1) y por el nivel alto (1, 1) de las variables en el plan se obtienen los valores de $X_{2\text{-lim}}$ y blancura que aparecen en la Tabla 6-27.

Tabla 6-27. Dosis límites de HBT ($X_{2\text{-lim}}$) según dosis de lacasa (X_1) y tiempo (X_3) (Ec. 6-16).

X_1	X_3	$X_{2\text{-lim}}$	Blancura (%ISO)
-1	-1	-0,11	45,9
-1	1	0,46	50,5
1	-1	0,46	49,5
1	1	1,04	55,6

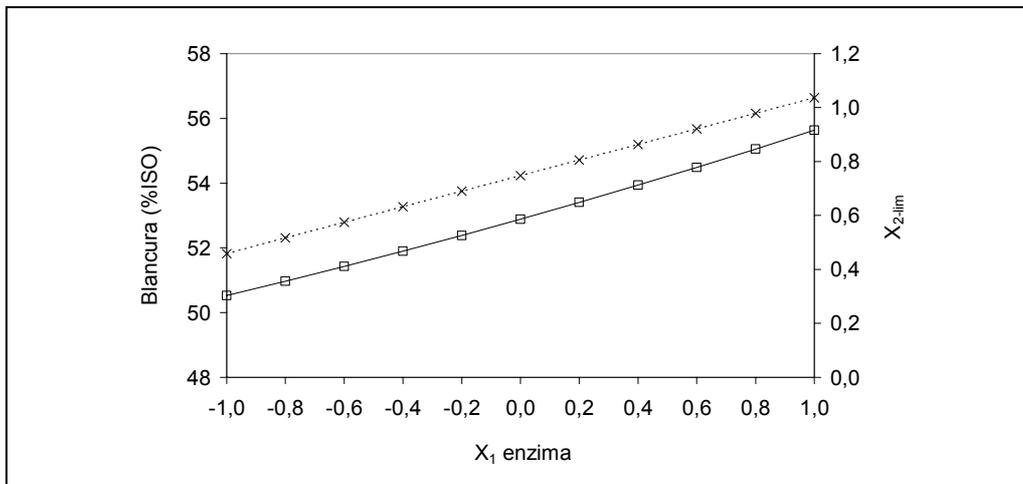


Fig. 6-11. Blancura prevista por el modelo (línea continua) a un tiempo $X_3=1$ (6,5 h) en la secuencia LE a partir de una determinada dosis de lacasa y la dosis límite de HBT (línea discontinua).

Cuando la dosis de HBT (X_2) es baja, un aumento en la dosis produce aumentos importantes de blancura (Fig. 6-9 c). A medida que la dosis es más elevada y la blancura se acerca a la blancura límite, para conseguir el mismo aumento de blancura se debe aumentar la dosis de HBT considerablemente. Según la ecuación Ec. 6-16, la dosis límite de HBT cuando $X_1=1$ y $X_3=1$ corresponde a $X_{2\text{-lim}}=1$, a partir de la cual se

obtiene una blancura límite de 55,6 %ISO; no obstante, a una dosis inferior a la dosis límite ya se obtienen valores de blancura de ese mismo orden.

Estudio de las dosis óptima de HBT

En la Fig. 6-10 se puede observar a partir de qué combinaciones de dosis de reactivos y tiempo es posible alcanzar un determinado valor de blancura. Para obtener una blancura superior a 55, la variable tiempo debe ser $X_3=1$ (Fig. 6-10 a y b), preferiblemente. Siendo $X_3=1$ y teniendo en cuenta que interesa la menor dosis de HBT, si la dosis de lacasa (X_1) es 1, el HBT (X_2) como mínimo deberá ser superior a 0,5 (Fig. 6-10 c). En la Tabla 6-28 se muestran las dosis de reactivos óptimas para obtener valores de blancura de 55, 54 y 53 %ISO. Como se puede observar, aceptar sólo un punto menos de blancura (54 en lugar de 55), supone un ahorro de HBT del 15 %; aceptar dos puntos menos de blancura (53 en lugar de 55), supone un ahorro del 25 % de HBT.

Tabla 6-28. Dosis de reactivos óptimas para blancura en la secuencia LE.

X_1	X_2	X_3	Dosis lacasa ($U \cdot g^{-1}$)	Dosis HBT (%odp)	Tiempo (h)	Blancura (%ISO)
1	0,5	1	20	1,5	6,5	55
1	0,2	1	20	1,2	6,5	54
1	0,0	1	20	1,0	6,5	53

6.3.3.3 Relación entre los modelos de índice kappa y blancura

A las condiciones en las que se obtiene el valor máximo de blancura y según el modelo de índice kappa obtenido en el apartado anterior, se consigue un índice kappa aproximadamente de 3,0. Según las dosis de reactivos óptimas para el modelo de índice kappa (Tabla 6-26), para una dosis de lacasa de $14 U \cdot g^{-1}$, dosis de HBT de 1,1 %odp y un tiempo de 6,5 h se obtiene un índice kappa de 3,5, en estas condiciones la blancura obtenida es de aproximadamente 53 %ISO.

A partir de una determinada dosis de lacasa ($17 U \cdot g^{-1}$ a 2 %odp de HBT y 6,5 h) un aumento en la dosis de lacasa no disminuye el índice kappa pero sí aumenta la blancura de la pasta. Por lo que un aumento en esa dosis de lacasa no incrementa la deslignificación, pero sí produciría una modificación de la lignina presente en la pasta. Aunque la dosis límite de HBT es la misma (2 %odp a $20 U \cdot g^{-1}$ y 6,5 h) en ambos modelos cuando las demás variables están en su nivel alto, a dosis de lacasa y tiempo menores, la dosis límite de HBT es menor en el modelo de blancura. Por tanto, un aumento en esas dosis límites de HBT produce un aumento de deslignificación pero no aumenta la blancura.

El hecho de que se llegue a un índice kappa y una blancura límites, a partir de los cuales un aumento en la dosis de mediador por encima de 2 %odp, empeora las propiedades de la pasta, puede ser debido a una pérdida de actividad de la enzima al final del tratamiento (García 2003;Ibarra et al. 2006), a la oxidación del HBT a su forma no activa (Li et al. 1998;Potthast et al. 2001), a la acumulación de fragmentos oxidados de la lignina de alta reactividad y a problemas de difusión de los reactivos químicos en las fibras. En la bibliografía se ha descrito que los radicales de HBT formados durante el sistema lacasa mediador inactivan la enzima lacasa (Amann 1997;Fillat et al. 2007;Ibarra et al. 2006;Li et al. 1999;Rocheffort et al. 2004). En este estudio, se podría relacionar con la pérdida de actividad enzimática observada a dosis altas de mediador (capítulo 9).

6.4 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos presentan valores entre 7,0 y 3,0 unidades de índice kappa y 43,8 y 56,5 %ISO de blancura. Se han obtenido modelos matemáticos que predicen las propiedades de índice kappa y blancura en función de los factores del proceso. Según los modelos obtenidos en los márgenes estudiados, las variables más influyentes en las propiedades de la pasta son la dosis de lacasa, la dosis de HBT y el tiempo. La variación de la presión de oxígeno en el reactor entre 0,2 MPa y 0,6 MPa no influye en las propiedades de índice kappa y blancura.

Cuando ambas dosis de reactivos, lacasa y HBT se encuentran en el nivel más bajo estudiado, 1 U·g⁻¹ y 0,1 %odp, no se produce deslignificación aunque se aumente el tiempo de tratamiento. La deslignificación aumenta ligeramente cuando se aumenta una de las dosis de reactivo aunque la otra se mantenga en el nivel más bajo. La dosis de HBT baja limita más la deslignificación que la dosis baja de lacasa. Cuando la dosis de HBT se encuentra en el nivel más bajo no se produce aumento de blancura, aunque se aumente la dosis de lacasa y/o el tiempo de tratamiento. Por lo que el factor limitante, tanto en el proceso de deslignificación como en el aumento de blancura de la pasta, es la dosis mínima de HBT utilizada en el estudio.

El índice kappa disminuye al aumentar los factores hasta un valor de índice kappa mínimo de 2,9 que se obtiene a una dosis de lacasa de 17 U·g⁻¹, dosis de HBT de 2 %odp y un tiempo de 6,5 h. Este valor de índice kappa mínimo se obtiene a la dosis de HBT y al tiempo máximos estudiados en el plan. El modelo predice unas dosis límite de reactivos a partir de las cuales un aumento de éstas no supone una disminución adicional de índice kappa y estas dosis corresponden a 17 U·g⁻¹ de lacasa y 2 %odp de HBT.

La blancura aumenta al aumentar los factores hasta un valor de blancura máximo de 55,6 %ISO que se obtiene a una dosis de lacasa de $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, dosis de HBT de 2 %odp y un tiempo de 6,5 h, o sea a la dosis de lacasa, la dosis de HBT y al tiempo máximos estudiados en el plan. El modelo de blancura predice una dosis límite de HBT a 2 %odp, a partir de la cual un aumento de esta dosis no supone un aumento de blancura.

En la secuencia LE, la dosis límite de HBT a partir de la cual no mejoran las propiedades coincide tanto para el índice kappa como para la blancura alrededor de 2 %. Aunque, a dosis inferiores, próximas a 1 %odp ya se obtienen buenas propiedades de las pastas. La mejora de las propiedades de las pastas debida al aumento en la dosis de lacasa y de HBT afecta principalmente en los primeros 30 min de tratamiento. El aumento en la dosis de lacasa influye en mayor medida en el aumento de blancura de la pasta, en cambio la dosis de HBT tiene una mayor influencia en la deslignificación.

6.5 BIBLIOGRAFÍA

Amann,M. (1997) The Lignozym(R) process coming closer to the mill. *I SWPC - 9Th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry - Oral Presentations* F41-F45.

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. *Holzsforschung* 54, 390-396.

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. (2000) The kismet of residual lignins during LMS delignification of high-kappa kraft pulps. *Holzforschung* 54, 647-653.

Dence,C. and Reeve,D. (1996) *Pulp bleaching. Principles and practice*. Atlanta: Tappi Press.

Fillat,A., Colom,J. and Vidal,T. (2007) Exploring enzyme stability during delignification of flax pulp by laccase and natural mediators. *10th International Congress on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. Integrating biology with processes*. pp. 86.

Freudenreich,J., Amann,M., Fritz-Langhals,E. and Stohrer,J. (1998) Understanding the lignozym-process. pp. 71-76.

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.

Ibarra,D., Romero,J., Martínez,M.J., Martínez,J. and Camarero,S. (2006) Exploring the enzymatic parameters for optimal delignification of eucalypt pulp by laccase-mediator. *Enzyme Microbial Technology* 39, 1319-1327.

Li,K., Helm,R.F. and Eriksson,K.-E. (1998) Mechanistic studies of the oxidation of a non-phenolic lignin model compound by the laccase/1-hydroxybenzotriazole redox system. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 27, 239-243.

Li,K., Xu,F. and Eriksson,K.-E. (1999) Comparison of fungal laccases and redox mediators in oxidation of a nonphenolic lignin model compound. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 2654-2660.

Oudia,A., Simoes,R., Queiroz,J. and Ragauskas,A. (2004) Studies on the effect of laccase mediator biodelignification of Eucalyptus globulus kraft pulp. *Congreso Iberoamericano de Investigación en Celulosa y Papel*.

Poppius-Levlin,K., Wang,W., Tamminen,T., Hortling,B., Viikari,L. and Niku-Paavola,M.L. (1999) Effects of laccase/HBT treatment on pulp and lignin structures. *Journal of Pulp and Paper Science* 25, 90-94.

Potthast,A., Rosenau,T. and Fischer,K. (2001) Oxidation of benzyl alcohols by the laccase-mediator system (LMS) - A comprehensive kinetic description. *Holzforschung* 55, 47-56.

Rocheft,D., Leech,D. and Bourbonnais,R. (2004) Electron transfer mediator systems for bleaching of paper pulp. *Green Chemistry* 6, 14-24.

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.