



SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE MATERIALES LIGNOCELULOSICOS

## EFECTOS DE LA APLICACIÓN ENZIMÁTICA A LA FRACCIÓN FIBROSA DE UNA PULPA RECICLADA EN LABORATORIO

Ma. Claudia Taleb<sup>(1)</sup>, Ana M. Adell<sup>(1)</sup>, Mirtha G. Maximino<sup>(1,2)</sup>

<sup>(1)</sup>Instituto de Tecnología Celulósica. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Santiago del Estero 2654. 3000 Santa Fe. Argentina.

<sup>(2)</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET). Santiago del Estero 2654. 3000 Santa Fe. Argentina.

Correo Electrónico (autor de contacto): [turtaleb@iq.unl.edu.ar](mailto:turtaleb@iq.unl.edu.ar)

**Palabras claves:** Pulpa kraft eucalipto, Pulpa reciclada, Fracción Fibrosa, Empaste, Celulosa, Refino.

### RESUMEN

*En este trabajo se evaluó el fraccionamiento de una pulpa de eucalipto reciclada en laboratorio en combinación con un tratamiento enzimático para mejorar sus propiedades. La fracción fibrosa se trató con una endoglucanasa y luego se reconstituyó el empaste en las proporciones originales. Paralelamente se efectuó el mismo tratamiento a un empaste formado por la fracción fibrosa sin tratar y el resto. Se evaluaron las propiedades resultantes de las fracciones fibrosas y los empastes reconstituidos, con y sin tratamientos hidrolíticos y su respuesta al tratamiento mecánico de refino en PFI. El tratamiento enzimático selectivo aplicado a la fracción fibrosa produjo cambios en la estructura fibrosa, promoviendo la formación de fibrilas durante el refino y contribuyendo a la unión interfibras. El empaste con la fracción fibrosa tratada con 0,1% de enzima mejora un 18% el índice de tracción.*

**Keywords:** Eucalyptus kraft pulp, recycled pulp, Fibrous fraction, Furnish; Cellulase, Refining.

### ABSTRACT

*This study evaluated the fractionation of eucalyptus pulp recycled laboratory in combination with an enzymatic treatment to improve properties. The fibrous fraction was treated with an endoglucanase and then, the furnish of the fibrous fraction treated and the other fractions in their original proportions was reconstituted. In parallel the same enzymatic treatment was performed in a furnish formed by the fibrous fraction without enzymatic treatment and the remainder fractions. The resulting properties of the fibrous fractions and the reconstituted furnishes with and without hydrolytic treatments and their response to refining mechanical treatment in laboratory PFI mill were evaluated. Selective enzymatic treatment applied to the fibrous fraction produced changes in the fiber structure to promote the formation of fibrils during refining contributing to interfiber bonding. The furnish obtained with the fibrous fraction pretreated with enzyme doses of 0.1% reach gains of 18% in tensile index.*

### 1. INTRODUCCIÓN

El reciclado comercial de papeles modifica las propiedades originales de las pulpas en función del número de ciclos de utilización aplicados, afectando particularmente a las pulpas químicas. La drenabilidad y las propiedades de resistencia del papel disminuyen debido a la reiteración de las acciones mecánicas del refino, que inevitablemente aumentan los cortes y generan más finos en las pastas recicladas. Adicionalmente se producen otros cambios negativos irreversibles a nivel estructural y sobreestructural, que se suman a los efectos antes mencionados y que aumentan con cada ciclo de reuso. Al cabo de varios secados y sucesivas rehúmedecaciones, la fibra celulósica pierde capacidad de resorción de agua y se torna más rígida o córnea [1].

El proceso de cornificación reduce la conformabilidad de las fibras en forma sustancial, traduciéndose en menores propiedades de resistencia, ya que esta propiedad es reconocida como principal factor de unión entre fibras (*bonding*) a través del área unida relativa (*Relative Bonded Area: RBA*).

Algunos autores sugieren que el fenómeno de cornificación irreversible sería función de dos efectos: cambios de flexibilidad de la fibra (*swelling*) y cambios que ocurren en la superficie de la misma. Eastwood y Clarke [2] utilizan los términos “plasticidad en húmedo” y “condición superficial” para describir estos efectos.

Las aplicaciones enzimáticas en la industria de pulpa y papel han crecido sostenidamente en las últimas décadas. Algunas aplicaciones ya se utilizan rutinariamente a escala comercial: xilanasas como agente de preblanqueo, celulasas para mejorar el drenaje, como auxiliar de destintado de fibras secundarias y para la modificación de las características de las fibras, por citar algunas [3].

Aún no está perfectamente clarificada la extensión de las modificaciones producidas por las celulasas sobre las fibras. Mansfield *et al.* [4] propusieron que si estas enzimas pueden alterar selectivamente la superficie de las fibras, sería posible modificar propiedades tales como su rigidez o colapsabilidad y así mejorar su conformabilidad y el *bonding* interfibras. Otros trabajos mostraron que fue posible mejorar algunas propiedades de las hojas por tratamientos con celulasas, pero a expensas de la resistencia de la pulpa [5-7].

Mansfield *et al.* [8] consideraron que las reducciones observadas en las propiedades de resistencia por tratamientos con celulasas podrían deberse a la disminución de resistencia intrínseca de fibra, hidrólisis de finos y/o desfibrilación externa.

Gil *et al.* [9] mostraron que la aplicación de enzima antes del refino aumenta el drenaje de la pulpa y el grado de hidratación de las fibras. Concluyeron que la adición de celulasas degrada la superficie de la pared celular, lo cual expone una mayor superficie apta para mejorar la hidratación de las fibras. Esto es consistente con las observaciones de Pala, *et al* [10], quienes sugirieron que las enzimas modifican las propiedades superficiales de las fibras, incrementando la afinidad por el agua.

Lecourt *et al.* [11] aplicando una celulasa, antes del refino, a una pulpa kraft blanqueada, mejoraron su respuesta al tratamiento mecánico, mostrando las fibras elevada microfibrilación y longitud de rotura.

Znidarsic-Plazt *et al.* [12] estudiaron la influencia del tratamiento enzimático en pulpas de hardwood y de softwood comprobando que los efectos de las enzimas fueron más pronunciados en las pulpas de fibra corta debido al mayor contenido de celulosa y hemicelulosas. Esta diferencia de comportamiento fue observada en las mediciones del índice de tracción después de los tratamientos enzimáticos y de refino. Explicaron que el estado superficial de las fibras modificado por el tratamiento enzimático, facilita la formación de fibrillas durante el refino lo que mejora el índice de tracción.

Stork *et al.* [13] evaluaron sobre papel recuperado el efecto de los tratamientos con enzimas (celulasa y hemicelulasa) concluyendo que la presencia de actividad de endoglucanasa es un prerequisite para la mejora del drenaje de fibras recicladas. Atribuyeron dicha mejora a la hidrólisis de celulosa desordenada sobre la superficie de las fibras en vez de hidrólisis selectiva de los finos. Resultados similares fueron encontrados por Kamaya [14] tratando una pulpa kraft blanqueada.

Asimismo Mohlin *et al.* [15] hallaron que la aplicación de celulasa sobre fibras blanqueadas, produce mejoras en la formación del papel y el drenaje, y reduce el consumo de energía tanto en el refino como en el secado.

Kim, *et al.* [16] lograron mejorar la drenabilidad, los valores de retención de agua y la eficiencia del refino cuando trataron enzimáticamente una pulpa kraft antes del refino.

El fraccionamiento de fibras es uno de los medios propuestos para recuperar el potencial fibroso de las pastas recicladas [17]. En otras investigaciones se menciona una degradación preferencial de finos y fibras más corta de la pulpa causada por las enzimas, consecuencia de la mayor área superficial de estos elementos fibrosos [18,19].

Mansfield *et al.* [5] realizaron tratamientos enzimáticos selectivos con celulasas para modificar las propiedades del papel de pulpa mecánica y química de *Douglas-fir*, tales como *coarseness* y rigidez. Con una carga de 1 mg proteína/g de pulpa mejoraron densidad, drenabilidad y redujeron el *coarseness*. En general, las fracciones fibrosas de mayor longitud mostraron la misma respuesta a los tratamientos que la pulpa entera. Sin embargo, para las fracciones de la pulpa kraft la tracción aumentó con los tratamientos enzimáticos, mientras que para la pulpa total sufrió una ligera disminución.

Posteriormente Mansfield y Saddler [20] avanzando en esa línea lograron incrementar densidad y resistencia a la tracción tratando enzimáticamente las fracciones fibrosas de mayor longitud de una pasta kraft de *Douglas-fir*, aunque la pulpa sin fraccionar sufrió disminución de la propiedad de resistencia.

Estos autores atribuyeron tal comportamiento a los “finos” hidrolizados por las celulasas. Concluyeron que las propiedades de resistencia de las pulpas tanto sin refino como refinadas pueden ser mejoradas tratando selectivamente las fracciones fibrosas de mayor longitud. Las mejoras alcanzadas parecen tener su origen en una mayor consolidación y empaque de la hoja, por incremento de *RBA*. La aplicación de celulasas modificaría la morfología de las fibras de forma tal que serían más flexibles y conformables.

Abubakr *et al.* [21] investigaron el fraccionamiento de pulpas para mejorar propiedades de las fibras secundarias después de sucesivos reciclados. Separaron la pasta reciclada en dos fracciones de diferentes longitudes y comprobaron que el reciclado sucesivo afectó en mayor medida a la fracción más corta.

Pala, *et al.* [22], evaluaron el tratamiento con celulasa a diferentes fracciones de una pulpa y demostraron que la cantidad de azúcares liberados tiende a ser mayor para la fracción fibrosa más corta por la afinidad preferencial de las enzimas. Todas las fracciones de fibra mostraron incrementos en el drenaje y la resistencia a la tracción especialmente en la fracción de fibra más corta. Este resultado fue informado por [4,5,23] donde explican que el colapso de la fibra aumenta por la superficie disponible para la unión y por consiguiente aumenta el número de enlaces interfibrilares.

Sutjipto *et al.* [24] sugieren que las fibras de latifoliadas son rígidas, de considerable espesor de pared y con el reciclado, menos susceptibles a la pérdida de flexibilidad. Con lo cual puede suponerse que los cambios en las propiedades de la fibra se deberían más a la pérdida de resistencia de la unión específica (*SBS: Specific Bonding Strength*) que a la pérdida de flexibilidad.

El interés del presente estudio es evaluar la respuesta al tratamiento enzimático selectivo de la fracción fibrosa de una pulpa reciclada y comparar estos resultados con los que se obtienen de los empastes reconstituidos a fin de mejorar las propiedades de resistencia y drenabilidad tratando de restituir la flexibilidad de las fibras. Los empastes se obtienen recomblando las fracciones fibrosas, con y sin tratamiento enzimático, con el resto de las fracciones.

Los tratamientos enzimáticos se realizan con una endoglucanasa monocomponente sobre la fracción fibrosa de mayor longitud y en el empaste reconstituido de una pulpa kraft blanqueada de eucalipto reciclada en laboratorio. Además se evalúa el comportamiento, de las fracciones y los empastes de referencia, con y sin tratamiento hidrolítico durante el tratamiento mecánico de refino en PFI.

## 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### 2.1. Pulpa Reciclada

Se utilizaron planchas secas de pulpa comercial virgen kraft blanqueada de fibra corta (mezcla de *Eucalyptus grandis*, *E. dunnii* y *E. maidenii*), provista por la empresa UPM (Fray Bentos – República Oriental del Uruguay).

Para preparar el stock de pulpa reciclada, las planchas secas humectadas durante 24 horas se refinaron en un equipo de laboratorio tipo Valley (T 200 sp-01) durante 15 minutos, tiempo en que se alcanzó una drenabilidad (*CSF*) de 405 mL. Posteriormente, se formaron hojas de laboratorio (gramaje  $\cong$  230 g/m<sup>2</sup>), que se prensaron en condiciones estándar y se secaron sin restricción a aproximadamente 90°C.

La Tabla 1 muestra la variación porcentual de las propiedades de la pulpa reciclada respecto a la pulpa refinada en Valley.

**Tabla 1.** Variación de propiedades de la pulpa reciclada.

Muestra	Tiempo de batido (min)	CSF (mL)	WRV (g.g <sup>-1</sup> )	Densidad Aparente (g.cm <sup>-3</sup> )	Índice de Tracción (Nm.g <sup>-1</sup> )
<b>Pulpa inicial refinada</b>	15	405	1,45	0,605	50,4
<b>Pulpa reciclada</b>	0	460	1,30	0,539	31,1
<b>% Variación</b>		<b>14</b>	<b>-10</b>	<b>-11</b>	<b>-38</b>

### 2.2. Fraccionamiento de la pulpa reciclada

A fin de efectuar los tratamientos enzimáticos selectivos a la fracción fibrosa y poder reconstituir el empaste es necesario conocer exactamente el porcentaje de cada fracción de la pulpa reciclada.

Inicialmente, la clasificación se efectuó en *Bauer McNett* con la configuración de tamices propuesta en la norma SCAN - M6: 69 (mallas N° 30, 50, 100 y 200) obteniéndose un porcentaje muy bajo (0,6%) del material retenido en la malla N° 30. Por lo tanto, el fraccionamiento cuali y cuantitativo de la pulpa de trabajo, se realizó con el clasificador equipado con las mallas N° 50, 100, 200 y 270. Esta secuencia de tamices retiene, en la malla N° 270, los elementos estructurales de menor tamaño.

En la Tabla 2 se muestra el porcentaje en peso de las diferentes fracciones de la pulpa reciclada retenidas en las mallas. De los valores obtenidos se destaca que la Fracción Fibrosa (F0) retenida en malla N° 50 (F0 >50) está constituida por el 57,8% mientras que los “Finos” -material retenido en las restantes mallas- es un 34,3% del total. El porcentaje de los elementos estructurales que pasan la malla N° 270, que operativamente no pueden retenerse, es de 7,9%.

**Tabla 2.** Clasificación Bauer McNett de la pulpa reciclada.

Mallas	N° 50	N° 100	N° 200	N° 270	< 270
(%) Fracción retenida	57,8	28,2	4,7	1,4	7,9
Denominación	F0	Finos			-

### 2.3 Tratamientos enzimáticos y de refinado

Los tratamientos enzimáticos se efectuaron con la enzima comercial *Surenzima FCR (Endo-1,4-β-glucanasa)* producida por *Aspergillus sp.*, en un mezclador de acero inoxidable con paletas doble sigma y calefacción indirecta. Las condiciones de los tratamientos fueron las óptimas de la enzima pH 7 (*buffer* fosfato), 45°C de temperatura, 5% de consistencia y tiempo de tratamiento de 90 min.

La fracción fibrosa se trató con 0,1 y 0,3% de dosaje de enzima, denominándolas FS1 y FS3, respectivamente. Estas fracciones se mezclaron con las restantes fracciones (Finos) en las proporciones originales (Tabla 2) formando los respectivos empastes, ES1 y ES3. El empaste de referencia (E0), se constituyó de igual manera pero con la fracción fibrosa sin tratamiento enzimático (F0). El empaste reconstituido de referencia se trató enzimáticamente al menor dosaje, siendo su nomenclatura ERES1.

Finalizado cada tratamiento enzimático se recogió el licor residual determinándose pH final y contenido de azúcares reductores ( $\text{kg.t}^{-1}$  pulpa seca), por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS). La enzima se inactivó tratando la suspensión de pulpa con una solución de hidróxido de sodio (pH = 12) durante 15 min y posterior lavado con agua hasta neutralidad.

Los tratamientos de refinado se realizaron en molino de laboratorio PFI con una carga de  $18\text{N.cm}^{-1}$  sobre la barra del rotor del refinador, que corresponde al 50% de la carga estándar (Tappi 248 sp-00). Las fracciones fibrosas (F0, FS1 y FS3) y los empastes reconstituidos (E0, ES1, ES3 y ERES1) se refinaron a 2000 y 4000 revoluciones.

### 2.4 Evaluación de propiedades

En la fracción de polisacáridos se determinó la viscosidad intrínseca en cuprietilendiamina, según Marx-Figini [25]. Por microscopía óptica se midió la longitud de fibra ponderada por longitud y se observó el estado superficial de las mismas usando la metodología de la coloración diferencial de Simons la cual es sensible a las variaciones en la accesibilidad de la estructura fibrosa interna [26].

En cada tratamiento se midió la drenabilidad como mL de *Canadian Standard Freness (CSF)* según SCAN C 21:65 y el valor de retención de agua total (WRV) según SCAN C 62:00. Las hojas de ensayo formadas (SCAN C 26:76) y acondicionadas (SCAN-P2:75) se evalúan determinándose las siguientes propiedades: densidad aparente (Tappi T 220 sp-01); índice de tracción (Tappi T 494 om-01) e índice de rasgado (SCAN-P 11:73).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La acción hidrolítica selectiva sobre las fracciones fibrosas se verificó mediante la cuantificación de los azúcares reductores liberados, los cambios en la longitud y viscosidad intrínseca de las fibras. Los resultados para la fracción fibrosa de la pulpa de eucalipto estudiada, resumidos en la Tabla 3, confirman la acción hidrolítica de la enzima sobre las fibras.

Esta celulasa liberó poca cantidad de azúcares reductores, ocasionando ligeros cambios en la longitud promedio de las fibras. Además, se experimentó una progresiva disminución de la viscosidad intrínseca

de la fracción fibrosa con el aumento del dosaje aplicado. Este comportamiento estaría relacionado con el modo de acción de este tipo de enzima que actuaría sobre las regiones amorfas de la celulosa, produciendo finos que no son completamente degradados a azúcares simples, debido a la ausencia de otras hidrolasas [9,12]. La capacidad de hidrolizar enlaces glicosídicos internos de la celulosa en forma aleatoria [27] conduce a una disminución en la longitud de la cadena de los  $\beta$ -glucanos.

**Tabla 3.** Efectos de los tratamientos enzimáticos sobre la Fracción Fibrosa.

Muestra	Azúcares Reductores ( $\text{kg.t}^{-1}$ )	Longitud de fibra <sup>(a)</sup> (mm)	$[\eta]$ ( $\text{mL.g}^{-1}$ )
<b>F0</b>	0	$1,009 \pm 0,016$ <sup>(b)</sup> [400] <sup>(c)</sup>	761
<b>FS1</b>	0,60	$0,948 \pm 0,017$ <sup>(b)</sup> [470] <sup>(c)</sup>	715
<b>FS3</b>	0,61	$0,926 \pm 0,017$ <sup>(b)</sup> [400] <sup>(c)</sup>	693

(a) Longitud promedio ponderada por longitud =  $\Sigma L^2 / \Sigma L$ .

(b) Intervalo a nivel de confianza 95%.

(c) Número de mediciones.

$[\eta]$  Número de viscosidad límite (viscosidad intrínseca).

En las Figuras 1 a-d se muestran fibras de las fracciones fibrosas tratadas bajo diferentes condiciones y coloreadas con Simons. El colorante de Simons está compuesto de una mezcla de colorantes azul (de baja masa molar) y naranja (de alta masa molar). Cuando las fibras presentan microporos grandes (delaminación interna, fibrilación o daño) se tiñen de naranja; cuando las fibras presentan microporos pequeños se tiñen de azul (pastas no refinadas o secadas) y cuando las fibras aparecen teñidas de color verde es porque exhiben cantidades significativas de poros grandes y pequeños [26].



Figura 1a: Fracción fibrosa de referencia (F0)



Figura 1b: Tratamiento con 0,1% de enzima (FS1)



Figura 1c: Tratamiento enzimático (FS1) + refino en PFI (2000 rev)

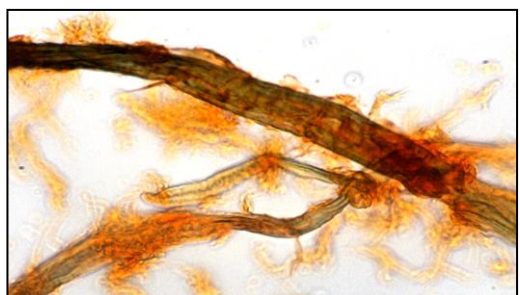


Figura 1b: Tratamiento enzimático (FS1) + refino en PFI (4000 rev)

La fracción fibrosa de referencia (Fig. 1a) se encuentra teñida de color azul intenso con pequeñas zonas de color naranja donde el colorante pudo acceder debido a pliegues de flexión. El predominio de la coloración azul, en la superficie de la fibra, confirmaría el tratamiento de reciclado.

En la Figura 1b se observa la fibra de pulpa de eucalipto con hidrólisis enzimática, coloreada de azul verdoso con zonas naranjas revelando algún cambio en la pared fibrosa por la acción de la enzima.

Las fracciones hidrolizadas con 0,1% de celulasa y luego refinada a 2000 y 4000 revoluciones de PFI, se muestran en las micrografías 1c y 1d, respectivamente. Comparando dichas micrografías se observa, a medida que aumenta el tratamiento de refino en PFI, una mayor proporción de coloración naranja intensa con muy pocas zonas de color verde en la pared fibrosa. Cuando se combina la acción enzimática con la mecánica aparecen a lo largo de las fibras una mayor cantidad de fibrillas. Estas observaciones muestran el carácter superficial de la acción enzimática facilitando la fibrilación externa durante el tratamiento de refino [8,28].

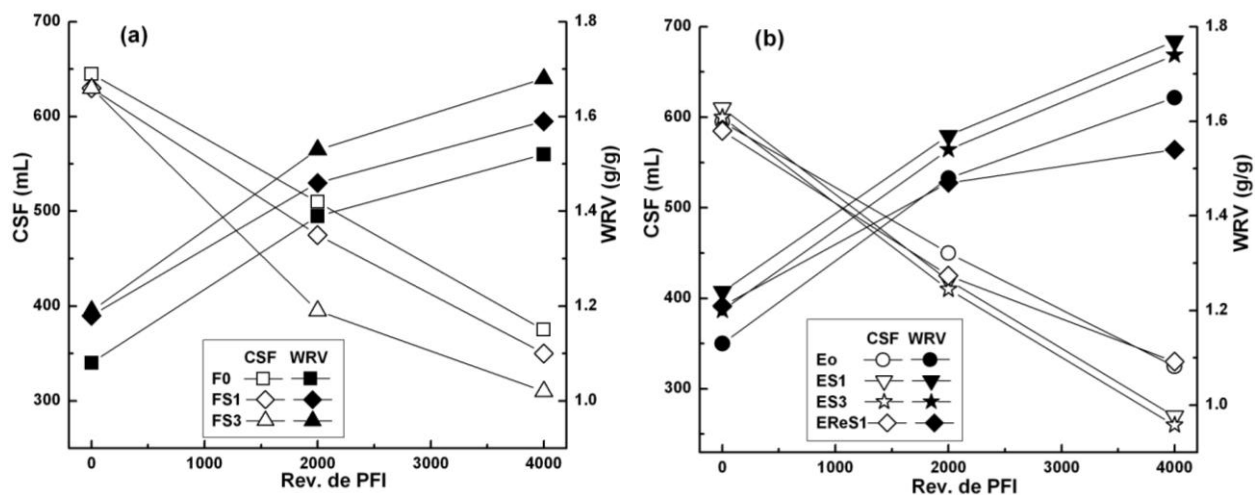
En la Figura 2a se grafican las variaciones de drenabilidad y valor de retención de agua en función del tratamiento mecánico aplicado a las fracciones fibrosas con y sin tratamiento enzimático. En el punto inicial sin tratamiento mecánico, no hubo diferencias en drenabilidad para las fracciones antes mencionadas. Con el avance del refino en molino PFI los valores de drenabilidad disminuyen mientras que el grado de hidratabilidad de las fibras aumenta. Los resultados de drenabilidad muestran que por debajo de la curva de referencia F0 se encuentran las evoluciones de las fracciones tratadas enzimáticamente para los dosajes empleados FS1 y FS3.

Los resultados del grado de hinchamiento e hidratabilidad de las fracciones fibrosas en el punto sin refino muestran que las hidrolizadas con celulasa alcanzan, para ambos dosajes, el mismo valor de WRV. El aumento del *swelling* alcanzado por la acción de la enzima con respecto a la referencia refleja como la enzima actúa sobre la pared superficial de las fibras, efecto mostrado en la microfotografía de la Figura 1b. El incremento en el WRV durante el refino fue más marcado para las muestras tratadas con enzimas que para la correspondiente referencia, quedando por arriba la de mayor dosaje enzimático [15].

Evidentemente, esta enzima hace que la fibra se encuentre más expuesta al refino produciendo cadenas más cortas y finos lo cual se traduce en descenso del CSF y ascensos del WRV.

Posterior al tratamiento enzimático selectivo de la fracción F>50, se reconstituyeron los empastes con las otras fracciones en sus proporciones originales (ES1 y ES3). El empaste de referencia (E0) se constituyó de igual manera pero con la fracción fibrosa de referencia. Por otra parte, se trató el empaste reconstituido de referencia con 0,1% de dosaje de enzima constituyendo la muestra EReS1.

En la Figura 2b se grafican los valores de drenabilidad e hidratabilidad de las muestras antes mencionadas en función de las revoluciones del refinador. En el estado inicial, sin tratamiento mecánico, prácticamente no se verificaron variaciones de drenabilidad para ninguno de los casos analizados, similar al comportamiento mostrado en la Figura 2a, por las fracciones fibrosas. Con el tratamiento mecánico, la drenabilidad de los empastes (ES1 y ES3) cae más rápidamente respecto a la referencia. A 4000 revoluciones se logran descensos de CSF del orden de 17 – 20%.



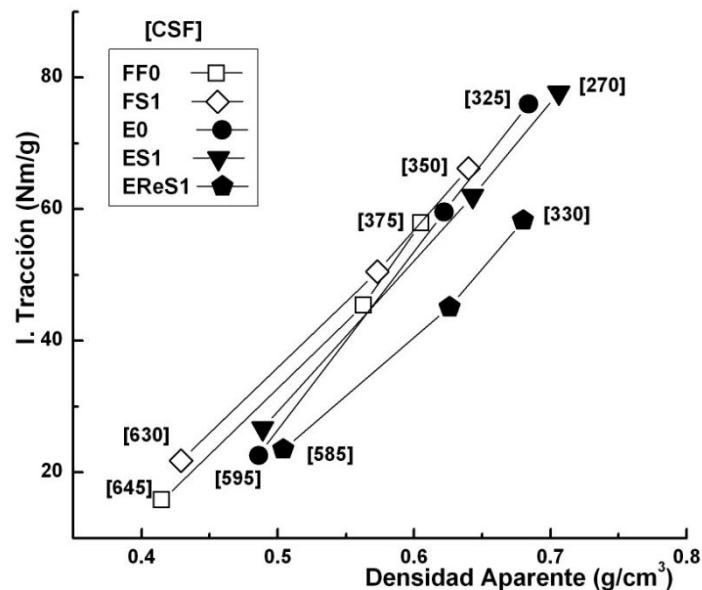
**Figura 2:** Evolución de CSF y WRV durante el refino en PFI. (a) Fracciones Fibrosas y (b) Empastes.

La evolución de la drenabilidad del empaste reconstituido tratado con *Surenzima* (EReS1) no muestra diferencias apreciables con el de referencia. En este tratamiento, los finos incorporados al empaste serían más susceptibles a la acción enzimática, fundamentalmente con la aplicación de la endoglucanasa [5,18,19]. Sin embargo, la cuantificación de azúcares reductores correspondientes al tratamiento del empaste no refleja este comportamiento ya que se obtuvo un valor de 0,58 k.t<sup>-1</sup> de azúcares cuantificados

por el método del DNS, similar a los mostrados en Tabla 3. Una característica que se detectó para la *Surenzima* fue una baja producción de azúcares aún en ensayos realizados a muy altas dosis de la misma. Para los empastes tratados con celulasa y sin refino mecánico, se alcanzaron mayores valores de WRV respecto a la referencia, verificándose el mayor aumento del valor de retención de agua (10%) con el dosaje de 0,1% (Fig. 2b). Al aplicar tratamiento mecánico se evidencian evoluciones similares salvo para el empaste reconstituido (EReS1) que pierde, con el refino, la mejora inicial de WRV presentando un valor 7% más bajo que el tratamiento de referencia a 4000 revoluciones.

La Figura 3 muestra el incremento de la resistencia a la tracción y la densidad aparente de la hoja con el avance del refino en las muestras de referencia (F0 y E0) y las hidrolizadas con enzima FS1, ES1 y EReS1. La fracción fibrosa tratada con 0,1% de celulasa (FS1) provocó aumento en el índice de tracción del 38% con respecto a su referencia. El cambio en las características de la superficie de las fibras con el tratamiento enzimático logra mejorar la conformabilidad de las mismas. Al avanzar en el refino de la fracción fibrosa, se observa en la Figura 3, que la evolución se mantiene por encima de la curva de referencia. En cuanto a la densidad aparente también se alcanzan incrementos a lo largo de la curva, siendo el mayor aumento a 4000 revoluciones.

El tratamiento enzimático previo de la fracción fibrosa hidrolizada con 0,1% de celulasa permitió en el empaste, sin tratamiento mecánico, aumentar los valores de IT con respecto a la referencia en aproximadamente un 18%. Al refinar con 2000 y 4000 revoluciones el empaste ES1, mantiene respecto al empaste de referencia (E0), prácticamente el mismo nivel de tracción con pequeñas mejoras en los valores de densidad. Los finos normalmente contribuyen a la unión interfibras, el debilitamiento de la fibra tratada con enzima contrarresta el efecto de los finos generados a 4000 revoluciones, no cuantificados, pero asumiendo su presencia por la disminución de la drenabilidad.



**Figura 3:** Evolución del índice de tracción en función de la densidad aparente durante el refino.

Para el caso del tratamiento con enzima al empaste reconstituido (EReS1) en la Figura 3 se puede apreciar que provoca inicialmente una moderada densificación, efecto mencionado por varios autores y corroborado en estudios propios [29], con prácticamente la misma resistencia a la tracción. Con la evolución del refino para iguales niveles de tratamiento mecánico aplicado a la referencia, presenta similares valores en la densidad aparente pero una caída en tracción de aproximadamente 24%. El tratamiento enzimático aplicado al empaste reconstituido afectaría a fibras y finos, siendo estos últimos más susceptibles a la acción enzimática, que debido a una cierta “inactivación superficial” no conducen a mejoras en *bonding*.

En cambio, al aplicar el tratamiento enzimático selectivo a la fracción fibrosa se produciría un cambio superficial de la fibra facilitando durante el refino la formación de fibrilas que contribuirán al *bonding*. Esto se verifica con el más rápido descenso de la drenabilidad, que está relacionado con la fibrilación externa. Lo antes dicho demuestra la ventaja de los tratamientos enzimáticos selectivos aplicados a la fracción fibrosa de una pasta.

La importante contribución de los finos en el empaste (ES1), en comparación con la fracción fibrosa sola (FS1), incrementa la unión entre fibras y la densidad de la hoja. Los finos tienen una gran incidencia en la disminución de la drenabilidad y su contribución ha sido de magnitud para el grado de unión entre las fibras.

Se deberá avanzar en los estudios con ensayos adicionales para caracterizar químicamente la superficie de las fibras y finos tratados enzimáticamente y la cuantificación más ajustada de estos últimos a fin de determinar su contribución a la unión interfibras.

#### 4. CONCLUSIONES

La utilización de *Surenzima* a fibras recicladas de eucalipto precondicionaría la pared celular conduciendo a mejorar la fibrilación de las fibras. El tratamiento enzimático en las condiciones aplicadas presenta, tanto para las fracciones como para el empaste reconstituido, poca acción hidrolítica verificada por el bajo nivel de azúcares reductores alcanzado.

Los tratamientos enzimáticos selectivos sobre la fracción fibrosa inicialmente provocaron aumentos en el grado de hidratación, sin cambios significativos en la drenabilidad de la pulpa. Cuando las fibras tratadas se refinan en PFI, se produce un rápido descenso en la drenabilidad. Esto permitiría inferir una acción de "biorefino" por parte de la enzima, provocando una significativa formación de fibrilas en las fibras.

El mecanismo de la endocelulasa involucra en las zonas amorfas de la celulosa la escisión aleatoria de los enlaces glicosídicos. Esto debilitaría la superficie de la fibra en estas regiones permitiendo un mayor grado de fibrilación durante el refinado de la pulpa.

El empaste correspondiente a la fracción fibrosa tratada con la endoglucanasa inicialmente alcanza, sin refinado mecánico, una ganancia del 18% en índice de tracción para 0,1% de dosaje enzimático. Con el tratamiento mecánico en PFI se logran pequeñas mejoras en resistencia a la tracción respecto al empaste de referencia pero con menor drenabilidad.

El tratamiento del empaste reconstituido con *Surenzima* logró inicialmente una leve mejora de densidad aparente, que con el refinado mecánico no se presentó, sin cambios de drenabilidad pero con pérdidas del índice de tracción del orden del 24%.

#### REFERENCIAS

1. A.D. Bawden and R.P. Kibblewhite, "Effects of multiple drying treatments on kraft fibre walls"; J.P.P.S Vol. 23 (7) (1997), p. 340-346.
2. F.G. Eastwood and B. Clarke, "Handsheet and pilot machine recycling degradation mechanisms"; Fibre-Water Interactions in Papermaking: Symposium Transactions; Oxford, (Sept. 1977), B.P.B.I.F., London: p. 835-855.
3. M. Siika-aho, J. Pere, A. Suurnäkki, M. Tenkanen, J. Buchert and L. Viikari, "Applications of enzymes in pulp and paper industry"; 7th Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and Other Wood Components; Belo Horizonte, Brasil, (Sept.2-5, 2001), p. 327-339.
4. S.D. Mansfield, A.R. Dickson and J.N. Saddler, "Improving paper properties by a selective enzymatic treatment of coarse pulp fibres"; Proc. 7<sup>th</sup>. International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry, Vancouver, Canadá, (1998), p. A189-A192.
5. S.D. Mansfield, K.K.Y Wong, E. De Jong and J.N. Saddler, "Modification of Douglas-fir mechanical and kraft pulps by enzyme treatment"; Tappi J. Vol. 79 (8) (1996), p 125-132.
6. R.P. Kibblewhite and T.A. Clark, "Enzymatic modification of radiata pine kraft fibre and handsheets properties"; Appita J. Vol. 49 (6) (1996), p 390-396.
7. T. Oksanen, J. Pere, L. Paavilainen, J. Buchert and L. Viikari; "Treatment of recycled kraft pulps with *Trichoderma reesei* hemicellulases and cellulases"; Journal of Biotechnology Vol. 78 (2000), p 39-48.
8. S.D Mansfield, E. De Jong, R.S. Stephens, and J.N. Saddler; "Physical characterization of enzymatically modified kraft pulp fiber". Journal of Biotechnology Vol. 57 (1997), p. 205-216.
9. N. Gil, C. Gil, M.E. Amaral, A.P. Costa and A.P. Duarte; "Use of enzymes to improve the refining of a bleached *eucalyptus globulus* kraft pulp"; Biochemical Engineering Journal 46 (2009), p. 89-95.
10. H. Pala, M. Mota and F.M. Gama; "Enzymatic modification of paper fibres"; Biocatalysis and Biotransformation Vol. 20 (5) (2002), p. 353-361.
11. M. Lecourt, J-C. Sigoillot and M. Petit-Conil; "Cellulase-assisted refining of chemical pulp: Impact of enzymatic charge and refining intensity on energy consumption and pulp quality"; Process Biochemistry Vol. 45 (2010), p. 1274-1278.



12. P. Znidarsic-Plazt, V. Rutar and D. Ravnjak; "The effect of Enzymatic treatment of pulps on fiber and paper properties" *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* Vol. 23 (4) (2009), p. 497-506.
13. G. Stork, H. Pereira, T. M. Wood, E.M Düsterhöft, A. Toft and J. Puls; "Upgrading recycled pulps using enzymatic treatment"; *Tappi J.* Vol. 78 (2) (1995), p. 79-88.
14. Y. Kamaya; "Role of endoglucanase in enzymatic modification of bleached kraft pulp"; *Journal of Fermentation and Bioengineering* Vol. 82 (6) (1996), p. 549-553.
15. U-B. Mohlin and B. Pettersson; "Improved papermaking by cellulose treatment before refining"; *Biotechnology in the Pulp and Paper Industry: Progress in Biotechnology*, Vol. 21. L. Viikari and R. Lantto, Elsevier, (2002), p. 291-299.
16. H-J. Kim, B-M. Jo and S-H. Lee; "Potential for energy saving in refining of cellulose-treated kraft pulp"; *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Vol. 12 (4) (2006), p. 578-583.
17. R.C. Howard; "The effects of recycling on paper quality"; *J.P.P.S.* Vol. 16 (5) (1990), p. J143-J149.
18. J.C. Pommier, J.L. Fuentes and G. Goma; "Using enzymes to improve the process and the product quality in the recycled paper industry -Part 1: The basic laboratory work"; *Tappi J.* Vol. 72 (6) (1989), p. 187-191.
19. L.S. Jackson, J.A. Heitmann and T.W. Joyce; "Enzymatic modifications of secondary fiber"; *Tappi J.* Vol. 76 (3) (1993), p. 147-154.
20. S.D. Mansfield and J. Saddler; "The use of enzyme to enhance Douglas fir pulp characteristics"; *Biological Sciences Symposium; Tappi Press* Vol. 1 (1997), p. 279-282.
21. S.M Abubakr, G.M. Scott and J.H. Klunness; "Fiber fractionation as a method of improving handsheet properties after repeated recycling"; *Tappi J.* Vol. 78 (5) (1995), p. 123-126.
22. H. Pala, M.A. Lemos, M. Mota and F.M. Gama; "Enzymatic upgrade of old paperboard containers"; *Enzyme and Microbial Technology* Vol. 29 (2001), p. 274-279.
23. S.D. Mansfield, D.J. Swanson, N. Roberts J.A. Olson and J.N. Saddler; "Enhancing Douglas-fir pulp properties with a combination of enzyme treatments, and fiber fractionation"; *Tappi J.* Vol. 82 (5) (1999), p. 152-158.
24. E.R. Sutjipto, K. Li, S. Pongpattanasuegsa and M.M. Nazhad; "Effect of recycling on paper properties". Technical articles. Johannesburg, Technical association of the pulp and paper industry of southern Africa, (2008).
25. M.J. Marx-Figini; "The acid-catalyzed degradation of cellulose linters in distinct ranges of degree of polymerization"; *Journal of Applied Polymer Science* Vol. 33 (6) (1987), p. 2097-2105.
26. X. Yu, J.L. Minor and R.H. Atalla; "Mechanism of action of Simon's stain"; *Tappi J.* Vol. 78 (6) (1995), p. 175-180.
27. R.A. Warren; "Microbial hydrolysis of polysaccharides"; *Annual Review of Microbiology* Vol. 50, (1996), p. 183-212.
28. D.L. Michalopoulos, D. Gosh and B. Murdoch; "Enhancement of Wood pulps by cellulase treatment"; *Tappi Engineering, Pulping and Conference Proceedings* Vol. 43 (2) (2005). Tappi Press, Atlanta, Georgia, USA.
29. M.G. Maximino, M.C. Taleb y A.M. Adell. "Alternativas de aplicación de enzimas sobre una pasta reciclada industrial". IV Congreso Iberoamericano de Investigación en Celulosa y Papel 2006. (23-27 de octubre de 2006). Santiago – Valdivia. Chile.