

**JOSÉ MARIA VIVANCO RODRÍGUEZ**

**UTILIZACIÓN DE ENZIMAS COMO AUXILIARES DE BLANQUEO EN  
LA PRODUCCIÓN DE PULPA DE CELULOSA DE *Pinus radiata***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Tecnologia de Celulose e Papel, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2011

**JOSÉ MARIA VIVANCO RODRÍGUEZ**

**UTILIZACIÓN DE ENZIMAS COMO AUXILIARES DE BLANQUEO EN  
LA PRODUCCIÓN DE PULPA DE CELULOSA DE *Pinus radiata***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Tecnologia de Celulose e Papel, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 18 de Julho de 2011

---

Prof. José Rafael Vicuña

---

Prof. Cláudio Mudado Silva

---

Prof. Jorge Luiz Colodette  
(Orientador)

*Dedico este trabajo a mi nieta Sofie que con solo dos años ha luchado denodadamente contra una enfermedad que la martiriza. Sin embargo siempre tiene para nosotros una hermosa sonrisa y nos regala amor con sus ojos.*

## AGRADECIMIENTOS

A Celulosa Arauco y Constitución S.A. y sus ejecutivos que con visión de futuro han definido que la capacitación de su personal en forma seria y enfocada a las orientaciones de la empresa, es uno de los caminos más importantes para transformarla en un Referente Mundial.

A la Universidad de Viçosa que nos ha acogido en la realización de este Programa de Post-Graduación de Ciencias Forestales para obtener el grado de Magister Scientiae

A todos los colegas de las Plantas Arauco y Valdivia que me apoyaron con la realización de los ensayos de Laboratorio y la prueba industrial.

A mi profesor Orientador Dr. Jorge Colodette por compartir con sabiduría y humildad su conocimiento, su calor humano, sus consejos oportunos y por permitirme trabajar libremente.

A mi profesor co-orientador Dr. José Rafael Vicuña por sus oportunas intervenciones, por ofrecerme un horizonte de conocimiento desconocido para mí en el mundo de la bioquímica y por su amistad.

A mi profesor co-orientador Dr. Claudio Mudado por haberse dado el tiempo de entender mis problemas y compartir conmigo su experiencia.

A Rudine Antes, estudiante de Doctorado, por sus conocimientos y haber sido un incansable apoyo y guía en mi trabajo.

A Hugo Bravo por haberme ayudado con su experiencia en el enfoque del análisis de los resultados.

A Silvia Fröhlich que supo ordenar mi trabajo y hacer de mi presentación un documento simple, ordenado y fácil de leer.

## CONTENIDO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABLAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
RESUMEN.....	xi
<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>2</b>
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	2
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	2
<b>3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
3.1 ¿POR QUÉ UTILIZAR ENZIMAS? .....	3
3.2 ¿QUÉ SON ENZIMAS?.....	4
3.3 TIPOS DE ENZIMA Y NOMENCLATURA.....	8
3.4 UTILIZACIÓN EN LA INDUSTRIA DE CELULOSA.....	8
<b>3.4.1 Puntos y condiciones de aplicación.....</b>	<b>12</b>
<b>3.4.2 Factores que afectan la acción de las enzimas .....</b>	<b>13</b>
3.5 MECANISMOS DE REACCIÓN .....	17
<b>4 MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>22</b>
4.1 PRIMER ENSAYO DE LABORATORIO.....	22
<b>4.1.1 Plano experimental.....</b>	<b>22</b>
<b>4.1.2 Pre tratamiento con enzima.....</b>	<b>25</b>
<b>4.1.3 Secuencia completa de blanqueo .....</b>	<b>25</b>
4.1.3.1 Etapa D <sub>0</sub> .....	27
4.1.3.2 Etapa Eop.....	27
4.1.3.3 Etapa D <sub>1</sub> .....	27
4.1.3.4 Etapa D <sub>2</sub> .....	28
4.2 SEGUNDO ENSAYO DE LABORATORIO.....	28
<b>4.2.1 Plano experimental.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2.2 Primera etapa pre tratamiento con enzima .....</b>	<b>29</b>

<b>4.2.3 Segunda etapa secuencia completa de blanqueo .....</b>	<b>31</b>
4.2.3.1 Etapa $D_0$ .....	32
4.2.3.2 Etapa $E_{op}$ .....	32
4.2.3.3 Etapa $D_1$ .....	33
4.2.3.4 Etapa $D_2$ .....	33
4.3 PRUEBA INDUSTRIAL .....	33
4.4 ANALISIS ESTADISTICO .....	38
<b>5 RESULTADOS Y DISCUSION .....</b>	<b>40</b>
5.1 PRIMER ENSAYO DE LABORATORIO.....	40
5.2 SEGUNDO ENSAYO DE LABORATORIO.....	42
5.3 PRUEBA INDUSTRIAL .....	45
<b>6 CONCLUSIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>7 SUGERENCIA PARA PRÓXIMOS ESTUDIOS.....</b>	<b>52</b>
<b>8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>61</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AOX - Compuestos orgánicos halogenados adsorbidos
- C/D - Etapa de blanqueo con cloro y dióxido de cloro
- D - Etapa de blanqueo con dióxido de cloro
- DBD - Dibenzodioxín
- DBF - Dibenzofurano
- DBO<sub>5</sub> - Demanda bioquímica de oxígeno
- DQO - Demanda química de oxígeno
- E - Enzima
- EDF - Environmental Defense Fund
- EOCl - Cloro orgánico extraíble
- EOP - Etapa de extracción alcalina con oxígeno y peróxido de hidrógeno
- EP - Etapa de extracción alcalina con peróxido de hidrógeno
- US EPA - Environmental Protection Agency
- ES - Complejo activado
- n/c - No controlado
- NCASI - National Council for Air and Stream Improvement (EUA)
- NWF - National Wildlife Federation
- °ISO - Grados Estandarizados de Blancura
- °SR - Grados Schopper Riegler
- PPI - Pulp and Paper Industry
- TCDD - Tetracloro dibenzo para dioxín
- TCDF - Tetracloro dibenzofurano
- TCF - Total Chlorine Free
- X - Etapa de pre blanqueo con participación de enzima

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula general de aminoácidos.....	5
Figura 2 - Esquema general de unión entre enzima y sustrato. ....	7
Figura 3 - Xilano .....	11
Figura 4 - Diferentes curvas de pH para diferentes enzimas.....	14
Figura 5 - Eficiencia de la enzima fungal respecto del pH.....	15
Figura 6 - Temperatura óptima para tres enzimas distintas. ....	16
Figura 7 - Eficiencia de la enzima PS4540 respecto de la temperatura .....	17
Figura 8 - Esquema acción de la enzima sobre las fibras .....	18
Figura 9 - Micrografía electrónica comparando las características de las fibras de eucalipto antes (a la derecha) y después (a la izquierda) del tratamiento con xilanasa (FALKOSKI, 2009). ....	19
Figura 10 - Flujograma de primer ensayo de laboratorio.....	23
Figura 11 - Flujograma de trabajo segundo ensayo de laboratorio .....	29
Figura 12 - Esquema de adición de enzima fungal en la Planta Valdivia .....	34
Figura 13 - Control de temperatura (1); control de pH (2); adición de enzima (3); tiempo de retención (4).....	35
Figura 14 - Control automático de temperatura.....	35
Figura 15 - Control automático de pH .....	36
Figura 16 - Esquema adición de enzima .....	37
Figura 17 - Consumo total de dióxido de cloro en prueba industrial.....	46
Figura 18 - Efecto de la dosificación de enzimas sobre la viscosidad intrínseca .....	47
Figura 19 - Efluente ácido .....	48
Figura 20 - Efluente alcalino.....	49
Figura 21 - Efluente cámara neutra .....	49



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1 - Propiedades de la pulpa de Pino radiata ensayada en laboratorio. ....	22
Tabla 2 - Normas utilizadas para evaluación de calidad de la pulpa. ....	24
Tabla 3 - Rendimiento en blanqueo pulpa pino y eucalipto según norma interna Arauco.....	25
Tabla 4 - Pre tratamiento enzimático.....	26
Tabla 5 - Condiciones secuencia completa de blanqueo. ....	26
Tabla 6 - Condiciones pre tratamiento con enzima. ....	30
Tabla 7 - Pre tratamiento enzimático con enzima fungal.....	31
Tabla 8 - Condiciones secuencia completa de blanqueo con diferentes kappas factor. ....	32
Tabla 9 - Condiciones operacionales para aplicación enzima fungal. ....	34
Tabla 10 - Períodos y dosificaciones de enzima en prueba industrial, año 2011. ....	38
Tabla 11 - Condiciones operativas para prueba industrial.....	38
Tabla 12 - Resultados comparativos de enzimas fungal y bacteriana.....	40
Tabla 13 - Comparación de resultados de blanqueo (DoEopD1D2) con enzimas. ...	41
Tabla 14 - Resultado pre tratamiento fungal.....	42
Tabla 15 - Consumo unitarios de químicos en blanqueo con diferentes kappa factor y condiciones .....	43
Tabla 16 - Consumo de químicos en blanqueo y blancura final con FK 0,16 .....	44
Tabla 17 - Impacto del tratamiento con enzimas en el filtrado del pre tratamiento ....	45
Tabla 18 - Consumo de productos químicos en blanqueo .....	46
Tabla 19 - Propiedades físico mecánicas.....	48

## RESUMO

VIVANCO RODRÍGUEZ, José Maria, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Utilização de enzimas como auxiliares de branqueamento na produção polpa de celulose de *Pinus radiata*** Orientador: Jorge Luiz Colodette. Coorientadores: Acelino Couto Alfenas e Adair José Regazzi.

A fim de reduzir o uso do dióxido de cloro no branqueamento de celulose kraft de *Pinus radiata*, com a seqüência OD(E+O+P)DD, exames laboratoriais foram realizados com enzimas (xilanase) de origem bacteriana e fúngica, que definiu que o trabalho em nível industrial deveria ser realizado com a enzima de origem fúngica. Do teste Industrial os seguintes resultados foram obtidos a partir da polpa tratada com 0,1 kg /ADt enzima xilanase fúngicas na seqüência de branqueamento OD(E+O+P)DD: i) redução do consumo de dióxido de cloro em 4,8% ii) redução no consumo de hidróxido de sódio em 7%, iii) o aumento no consumo de energia de 8,9% no refino da polpa a 25 ° SR, iv) aumento moderado da DQO, que não representam mudanças significativas no efluente da área; v) alterações não significativas nas propriedades físicas e mecânicas da celulose e vi), houve uma redução do custo do branqueamento de 0,65 US\$ /ADt.

## ABSTRACT

VIVANCO RODRÍGUEZ, José Maria, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011. **Utilization of enzymes as bleaching aids in the pinus radiate cellulose pulp production.** Adviser: Jorge Luiz Colodette. Co-advisers: Acelino Couto Alfenas and Adair José Regazzi.

Were performed laboratory test with enzymes (xylanase), both from fungal and bacterial origin on a laboratory scale to reduce the chlorine dioxide consumption on the *Radiata pine* Do Eop D1 D2 pulp bleaching sequence. The laboratory result point at fungal xylanase enzyme type as the recommended enzyme to run the industrial trial. The following results were obtained from the industrial trial, by using 0.1 Kg/ADT of fungal xylanase into the OD(E+O+P)DD bleaching sequence: i) 4.8% reduction in the chlorine dioxide consumption; ii) 7% reduction in the sodium hydroxide consumption; iii) 8.9% increase in the energy consumption to refining the pulp to 25°SR; iv) a moderate DQO increase which do not represent changes in the effluent area v) no significant changes in physical and mechanical properties of the bleached pulp and vi) there was a bleaching cost reduction of 0.65 U.S.\$/ADT.

## RESUMEN

VIVANCO RODRÍGUEZ, José Maria, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julio, 2011. **Utilización de enzimas como auxiliares de blanqueo en la producción de pulpa de celulosa de *Pinus radiata***. Orientador: Jorge Luiz Colodette. Consejeros: Acelino Couto Alfenas y Adair José Regazzi.

Con el objetivo de reducir el uso de dióxido de cloro en el blanqueo de pulpa kraft de *Pinus radiata*, con la secuencia OD(E+O+P)DD , se realizaron pruebas de laboratorio con enzimas (xilanasas) de origen fungal y bacteriano, lo cual definió que a nivel de prueba industrial se trabajara con la de origen fungal. De la prueba industrial se obtuvieron los siguientes resultados desde la pulpa tratada con 0,1 Kg/ADT de enzima xilanasas fungal en la secuencia de blanqueo OD(E+O+P)DD: i) reducción en el consumo de dióxido de cloro de un 4,8%; ii) reducción en el consumo de hidróxido de sodio de un 7%; iii) aumento en el consumo de energía de un 8,9%, en la refinación de la pulpa hasta 25°SR; iv) moderado aumento de DQO, que no representan cambios significativos en el efluente del área; v) no hubo cambios significativos en las propiedades físico mecánicas entre la pulpa y vi) hubo una reducción de costo de la operación de blanqueo de 0,65 US\$/ADT.

## 1 INTRODUCCIÓN

Celulosa Arauco y Constitución S.A., empresa chilena del grupo Angelini, cuenta con seis unidades productoras de celulosa Kraft, responsables anualmente de la elaboración de más de 3,2 millones de toneladas. De éstas, cinco plantas producen celulosa blanqueada de fibra larga y corta, (Arauco, Esperanza, Licancel, Nueva Aldea y Valdivia) con un total de 2,9 millones de toneladas.

En la búsqueda de la excelencia operacional, el cuidado del medioambiente, el control del uso de insumos y sus costos asociados han sido una preocupación constante. En este escenario se destaca el consumo de productos químicos para blanqueo de pulpa kraft de *Pinus radiata* que son responsables de un 20 a 25% del costo total del proceso de producción. De éste, un 60 a 70% se refiere al consumo de dióxido de cloro.

Para la empresa Arauco, lograr reducir el consumo de dióxido de cloro en el proceso de blanqueo puede representar importantes beneficios tanto ambientales como económicos. El ahorro de estos químicos, se refleja positivamente en el cuidado del medioambiente ya que, cada kilo de producto químico no utilizado, representa la eliminación de la necesidad de tratar sus compuestos derivados.

Una opción disponible para reducir el consumo de dióxido de cloro es la aplicación de enzimas en el pre-blanqueo por lo que decidimos probar dos tipos, una de origen fungal y otra de origen bacteriano.

Este trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto de un pre tratamiento enzimático en la reducción del consumo de dióxido de cloro en el blanqueo de una pulpa pino previamente deslignificada con oxígeno y se realizó en tres etapas: i) primer ensayo de laboratorio para definir cuál de los dos tipos de enzima, de origen fungal o de origen bacteriano, nos da el mejor resultado; ii) segundo ensayo de laboratorio para optimizar la secuencia de blanqueo con la enzima elegida; iii) ensayo industrial para verificar operacionalmente los beneficios.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el impacto del tratamiento enzimático de origen fungal y bacteriano en la reducción del uso de dióxido de cloro, en la producción de celulosa de pino radiata de planta Valdivia mediante la realización de ensayos de laboratorio y prueba industrial.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Determinar el efecto del uso de enzimas en:

- Las características de la pulpa (kappa, viscosidad) y rendimiento.
- Las propiedades físico mecánicas y ópticas de la pulpa en el ensayo industrial.
- Los parámetros ambientales DQO y color.

### 3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ¿POR QUÉ UTILIZAR ENZIMAS?

El aumento de la presión en la legislación ambiental ha llevado a la industria de celulosa a buscar métodos más limpios que conduzcan a la disminución del uso de productos químicos contaminantes en el blanqueo (ROCERO & VIDAL, 2007), reduciendo o aún eliminando la generación de contaminantes en los efluentes de las plantas de blanqueo. El uso de enzimas entonces ha surgido como una elección prometedora no solo por la implementación de un proceso de blanqueo limpio sino que también por incluir productos de alto valor de desarrollo. En trabajos realizados las xilanasas han demostrado su efectividad aumentando la blanqueabilidad, y ahorrando químicos de blanqueo a nivel de trabajo industrial (RONCERO, TORRES, COLOM & VIDAL, 2002; VIKARI, KANTELINEN, SUNDKIST&LINKO, 1994).

Una de las elecciones para este tratamiento biotecnológico basado en enzimas ha sido el uso de xilanasas y lacasas (RONCERO et al., 2003; ARACRI et al., 2009; FILLAT y RONCERO, 2009; VALLS et al., 2010; FILLAT et al., 2010). Las primeras son enzimas hidrolíticas que catalizan la degradación de los xilanos. Se ha descrito su efecto beneficioso como su selectividad al hidrolizar xilanos precipitados sobre la superficie de las fibras de celulosa contribuyendo con ello a liberar lignina y facilitando la penetración de los agentes blanqueantes en las etapas posteriores del blanqueo (RONCERO, TORRES, COLOM & VIDAL, 2003; TORRES et al, 2000).

Recientemente se ha identificado un aspecto innovativo de las xilanasas: su capacidad de reducir el contenido de ácidos hexenurónicos (HexA) en la pulpa (VALLS & ROCERO, 2010).

Las xilanasas al ser responsables de la formación de perforaciones y fisuras permiten un mejor acceso de los reactivos químicos a la fibra, haciendo posible la remoción de fragmentos de lignina de la pared celular (RONCERO et al., 2000). De esta forma se produce una disminución del número kappa y un aumento de blancura en la pulpa.

Las ventajas de usar enzimas en el proceso de blanqueo de la celulosa son: bajo costo de implementación; reducción del costo de producción al reducir el

consumo de dióxido de cloro; menor concentración de AOX en el efluente; aumento del techo de blancura; mejor deslignificación por peróxido al facilitar el acceso de este reactivo a la fibra como lo demuestran los resultados de Savitha et. al (2009), que indican que el pre blanqueamiento enzimático facilita la fibrilación de las fibras de celulosa y la retención de agua aumentando el freeness de la pulpa además de permitir el mejor acceso de los químicos en el blanqueo.

Las desventajas que se observan son: efecto limitado pues no sustituye más de un 20% de los reactivos químicos usados en blanqueo y se pierden algunos glucomanos (PAICE, 1995). Además muchas aplicaciones de xilanasas conducen a una disminución de rendimiento debido a la pérdida de hemicelulosas, aunque en algunos casos puede deberse a contaminación de xilanasas con celulasas (BEG et al. (2001); RUEGGER y TAU-K-TO, 2001), lo que conlleva a una pérdida de celulosa. También puede que ocurra una pérdida de rendimiento en caso de una excesiva dosificación de xilanasas o un tiempo de retención elevado (DENCE y REEVE, 1996).

Finalmente en muchas aplicaciones industriales, especialmente aquellas que presentan ciclos cerrados en el proceso de blanqueo con recirculación de los filtrados, se ha observado un importante incremento del DQO que en algunos casos afecta fuertemente el trabajo de la deslignificación con oxígeno.

### 3.2 ¿QUÉ SON ENZIMAS?

Las enzimas son proteínas catalizadoras que se encuentran en organismos vivos y tienden a ser altamente específicas en sus reacciones.

Las proteínas son moléculas compuestas por aminoácidos unidos por ligazones peptídicas (uniones entre el grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro). Como se puede ver en la figura 1, los aminoácidos presentan en su estructura un grupo carboxilo (-COOH), un grupo amino (-NH<sub>2</sub>) y un radical R donde R es un radical compuesto por diversas agrupaciones de átomos (BOBBIO y BOBBIO, 1995).

Catalizador, a su vez, es una sustancia que acelera una reacción química llegando incluso a tornarla instantánea o casi instantánea al disminuir la energía de



activación. Como catalizadores, las enzimas actúan en pequeñas cantidades que se recuperan indefinidamente, no llevan a cabo reacciones que sean energéticamente desfavorables, no modifican el sentido de los equilibrios químicos, pero aceleran su realización.

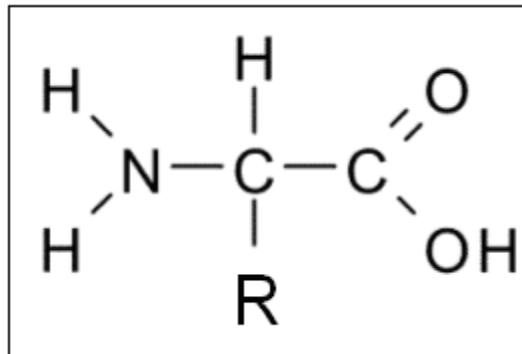


Figura 1 – Fórmula general de aminoácidos  
Fuente: Bobbio, F. O.; Bobbio, P. A.

En todas las células vivas ocurren ininterrumpidamente reacciones que, debido a su gran complejidad, deberían ser muy lentas a las temperaturas en que se procesan (alrededor de 37°C), sin embargo esas reacciones son muy rápidas, lo que lleva a la conclusión que existen en las células vivas sustancias catalizadoras diferentes de los catalizadores inorgánicos por el hecho de ser mucho más complejas.

Son sustancias complejas formadas en el interior de células vivas que pueden actuar tanto dentro como fuera de las células. Son sustancias sólidas difíciles de ser cristalizadas y generalmente son inactivadas por el calor.

El que sean inactivadas por el calor es probablemente la propiedad más importante de estos compuestos tanto en relación a la producción de alimentos (REGUL, 2000) como en su uso en pulpajes o bioblanqueamiento.

Funcionalmente son catalizadores biológicos que operan en condiciones de pH y temperatura específicos y químicamente, son proteínas con una estructura especial, conteniendo un centro activo denominado apoenzima y, en algunos casos, un grupo no proteico denominado coenzima.

La mayor parte de las proteínas sintetizadas en las células son enzimas, referidas como enzimas intracelulares citoplasmáticas, las que solamente pueden ser obtenidas y estudiadas por rompimiento de la célula. Sin embargo también tienen la capacidad de sintetizar enzimas que son excretadas de las células, pudiendo ser encontradas en un medio de cultivo o de propagación celular, siendo de esta forma más fáciles de ser aisladas y estudiadas. Estas corresponden al tipo de enzima extracelular.

Casi todas las enzimas preparadas a escala industrial, hasta hoy, son extracelulares debido a que su aislamiento a partir de caldos de cultivo es generalmente más fácil.

La determinación de la actividad enzimática envuelve la medida de la velocidad de la reacción. Según la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica, una unidad (U) de actividad es la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 mol de sustrato o la formación de 1 mol de producto por minuto, en las condiciones establecidas del ensayo (temperatura, pH, concentración del sustrato). La actividad específica es expresada en términos de actividad por miligramo de proteína (UI/mg).

La actividad enzimática puede ser medida con la enzima pura y en condiciones tales que permita la velocidad de reacción máxima, lo que significa que un sustrato (S) debe estar en concentración elevada de modo que permita que toda la enzima (E) sea transformada en un complejo activado (ES). En este caso la velocidad (V) de reacción, proporcional a la concentración enzimática (E), será también proporcional al complejo (ES).

$V = k(E) = k(ES)$  donde  $K =$  constante cinética

Existe una correlación entre la estructura de las enzimas y sus propiedades biológicas, lo cual lleva a una especificidad extraordinariamente elevada y reproducible. El responsable de esta especificidad es el sitio activo, lugar de unión del sustrato a la enzima.

La Figura 2 ilustra un esquema general de unión entre una enzima y un sustrato en una reacción enzimática, con la liberación de productos formados al final de la reacción (LEHNINGER, 2008).

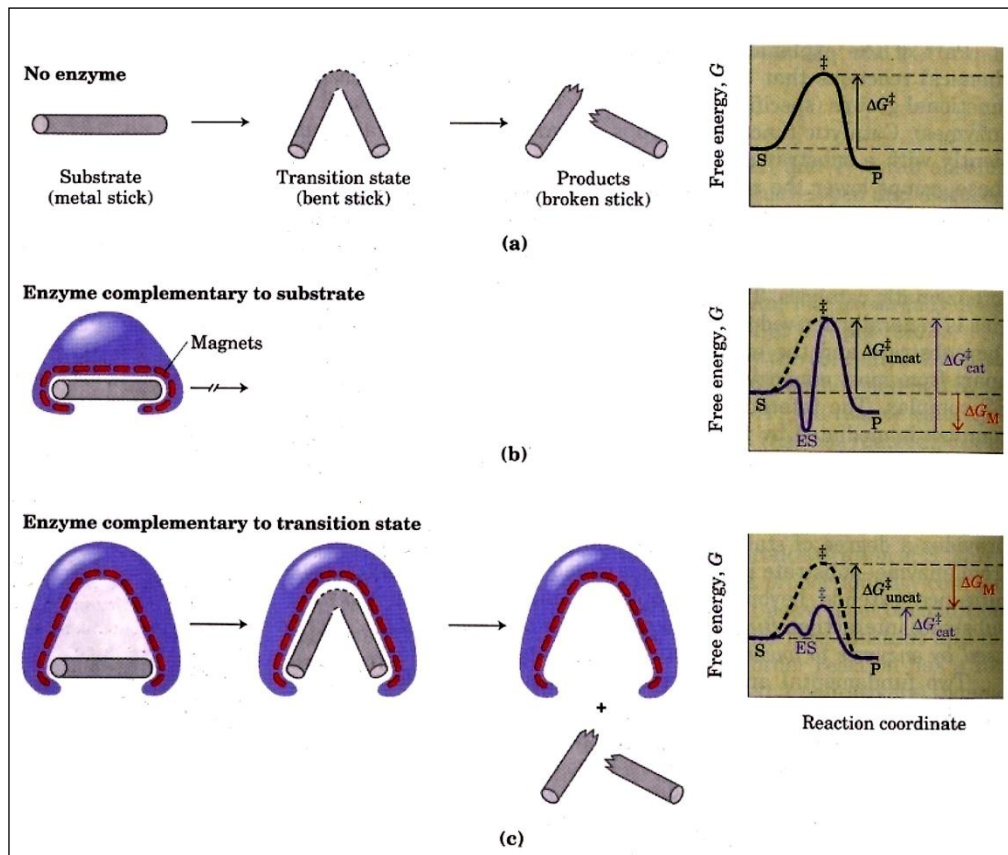


Figura 2 - Esquema general de unión entre enzima y sustrato.  
Fuente: LEHNINGER, 2008

El compuesto sobre el que actúa la enzima se llama sustrato, que se une a una región concreta de la enzima, llamada sitio activo. Una vez formados los productos de esta unión, la enzima puede iniciar un nuevo ciclo de reacciones (GRAMINHA, 2009).

### 3.3 TIPOS DE ENZIMA Y NOMENCLATURA.

Las enzimas están clasificadas por la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica que las dividió en 6 grandes grupos de acuerdo con el tipo de reacción en que actúan (GRAMINHA, 2009). En este trabajo usaremos xilanasas que pertenecen al grupo de las hidrolasas, llamadas así porque catalizan reacciones hidrolíticas.

El nombre de las enzimas deriva de su sustrato terminándolo en –asa. Ejemplos son lactasa, alcohol deshidrogenasa y polimerasa DNA. Ocurre ocasionalmente en la naturaleza que una misma reacción es catalizada por distintas enzimas, en cuyo caso se habla de isoenzimas.

En anexo 1 podemos encontrar un listado de las enzimas más frecuentemente usadas.

### 3.4 UTILIZACIÓN EN LA INDUSTRIA DE CELULOSA

En el proceso kraft de producción de pulpa de celulosa la mayor parte de la lignina y una pequeña fracción de hemicelulosas son removidas durante el proceso de cocción. Sin embargo queda aún algo de lignina no modificada, modificada y repolimerizada en la fibra, que causa ese color café en la pulpa y que tiene que ser removida durante las secuencias de blanqueo siguientes, con el objeto de lograr una calidad de pulpa estable para la producción de papel.

Las dos hemicelulosas más comunes son los xilanos y mananos, los primeros constituyen el 90% en las latifoliadas y 50% en las coníferas (DENCE y REEVE, 1996).

Los xilanos son polisacáridos típicamente unidos mediante B-1,4 xylopiranosa, se encuentran precipitados cubriendo fibras y lignina y son solubles solo en álcali. La importancia de ellos radica en que crean una cadena que une lignina a la celulosa haciendo la deslignificación durante el blanqueo difícil y costosa. Sin embargo mediante una hidrólisis enzimática estas moléculas de xilanos se hacen

solubles en agua y la lignina puede ser extraída, o más probablemente, la accesibilidad de los químicos de blanqueo a la lignina residual es mejorada (CALL, MUCKE, 1997; CHRISTOV y PRIOR, 1997; BAJAPAI, 1999). La solubilidad de los xilanos en agua y la capacidad de arrastrar parte de la lignina con ellos resultan en una pérdida de rendimiento en esta parte del proceso.

El efecto del uso de xilanasas como incrementadores de blanqueo depende del tipo de pulpa, la secuencia de blanqueo y también del tipo de enzima usada. De esta forma la eficiencia de las xilanasas en el blanqueo puede variar en forma amplia.

Se sabe que los ácidos hexenurónicos se forman durante la cocción alcalina de la madera por eliminación de metanol cuando una molécula de 4-O-metilglucorónico se une lateralmente a una cadena de xilanos (DANIEL, NETO, EVTUGUIN & SILVESTRE, 2003). El efecto de los HexA es resultado de su capacidad para afectar negativamente el blanqueo y las propiedades de la pulpa (JIANG et al., 2000). En efecto, en el blanqueo contribuyen negativamente al aumentar el número kappa, incrementan el consumo de agentes de blanqueo, retienen por quelación iones metálicos, causan reversión de blancura y facilitan la formación de ácido oxálico y posterior incrustación con oxalato de calcio en los circuitos del proceso (CADENA, VIDAL & TORRES, 2010; VALLS & ROCERO, 2009). La capacidad de los HexA para atrapar iones metálicos afecta indirectamente el consumo de otros químicos de blanqueo tales como peróxido de hidrógeno (DEVENYNS y CHAUVEHEID, 1997).

Dado que las xilanasas hidrolizan xilanos en la superficie de la fibra y estos contienen HexA, este compuesto puede ser removido por tratamiento de la pulpa con esas enzimas (VALLS & ROCERO, 2009; VALLS, VIDAL & RONCERO, 2010); (VUORINEN et al., 1999); (DEVENYNS y CHAUVEHEID, 1997); (ELSANDER et al, 2000).

El tratamiento enzimático abre los poros de la pared celular, originando alteraciones morfológicas como perforaciones, ralladuras, floculo, filamentos y delaminación. Estas alteraciones permiten la difusión de los químicos a la malla fibrosa y la migración de las macromoléculas de lignina (RONCERO et al, 2000). De

esta forma se produce una disminución del número kappa y una mejora de la blanqueabilidad de la pulpa.

El concepto de remoción indirecta se basa en la hipótesis siguiente: lignina, celulosa y hemicelulosas están covalentemente unidas, formando un rígido y muy estable heteropolímero, que es parcialmente destruido durante el proceso de cocción. Parte de la lignina residual es extensivamente modificada y se adhiere a las fibras (CALL, MUCKE, 1997)

Conocidos los efectos negativos de los HexA se hace interesante la posibilidad de reducir su contenido en las pulpas mediante un tratamiento enzimático con xilanasas, ya que por ser hidrolasas que cortan polímeros de xilanos en posiciones centrales de la cadena, rompen las uniones glicosídicas  $\beta$  1,4 entre dos residuos de xilosas y promueven la liberación de xilooligómeros, importantes para la remoción de uno de los materiales absorbentes de radiación UV, los ácidos hexenurónicos, que como se ha dicho, se forman durante el proceso de pulpaje kraft desde los residuales del ácido 4-metil-glucurónico presentes en los xilanos. El rompimiento de las cadenas de xilanos permite la remoción de tales grupos, permitiendo el ahorro de químicos que se requerirían para blanquear tales residuos. Un suave tratamiento ácido adicional también removerá selectivamente estos compuestos coloreados (cromóforos) (KENEALY; JEFFRIES, 2003).

Como el proceso Kraft entrega una pulpa alcalina a alta temperatura, solo las enzimas que son capaces de tolerar esas condiciones son apropiadas para este proceso. Es por ello que recientemente han sido exploradas fuentes termofílicas y alcalinas para lograr obtener este tipo de enzimas y se ha desarrollado gran cantidad de trabajos para aislar y clonar nuevas xilanasas (24 trabajos por año entre 1982 y 1990; y 188 trabajos por año entre 1991 y 2000) (KENEALY; JEFFRIES, 2003).

El uso de xilanasas puede derivar en varios beneficios para las empresas tales como reducción en el impacto ambiental de los procesos, alza en los límites de blancura de la pulpa, ahorros en consumo de dióxido de cloro lo que incluso podría permitir la expansión de la capacidad de producción. Sin embargo hay que considerar que es altamente probable que la efectividad del tratamiento de enzimas dependa de factores tales como las propiedades de la enzima a utilizar, el tipo de

madera, el proceso de cocción y la secuencia de blanqueo que sigue a la incubación con xilanasa.

Por esas razones es muy recomendable realizar ensayos preliminares, a escala de laboratorio, en cada caso, con el objeto de predecir la conveniencia de usar la enzima que se desea probar y diseñar las condiciones de trabajo.

La figura 3 ilustra la estructura de los xilanos con su unión glicosídicas  $\beta$  1,4

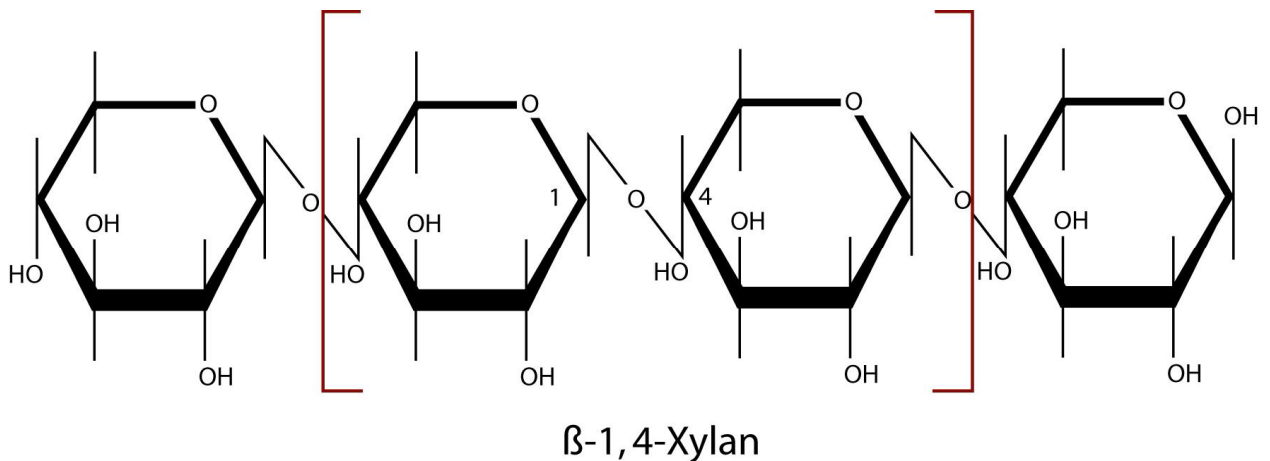


Figura 3 - Xilano

Algunos efectos desfavorables en la aplicación de enzimas en la fase de pre-blanqueamiento indican un incremento en la energía necesaria para realizar la refinación debido a la disminución del contenido de hemicelulosas. Por otra parte, efectos favorables de la acción enzimática se hacen más pronunciados después del refinado ya que se facilita la fibrilación externa (RONCERO et al., 2005). Otros estudios también demuestran que el pre blanqueamiento con enzimas facilita la fibrilación de la pulpa y la retención de agua, aumenta el frenees de la pulpa y permite un mejor acceso de los químicos de la etapa de blanqueamiento (SAVITHA et al, 2009).

En un ensayo industrial realizado el año 1994 en Línea 2 de Planta Arauco de Celulosa Arauco y Constitución S. A., posterior a pruebas de laboratorio en las que se definió la enzima y las cargas a utilizar como incubación, se logró reducir entre 3,5 a 3,9 kg de dióxido de cloro por ADt sin afectar la blancura final. Sin embargo, en la mayoría de los casos ensayados, el tratamiento con xilanasa afectó, con un

incremento parcial, el requerimiento de refinación de la pulpa para alcanzar el mismo índice de tensión, medido en revoluciones en el equipo PFI (VICUÑA; OYARZUN; OSSES, 1994).

El uso de enzimas en la industria de pulpa y papel ayuda a reducir la carga sobre el medioambiente, reduciendo el empleo de oxidantes derivados del cloro en el blanqueo de pulpa lo que genera menos compuestos organoclorados descargados en los efluentes y trae aparejado beneficios para los consumidores al poder usar papel blanco que se ha producido con menor impacto ambiental (Enzyme Technical Association, 2001).

Según un estudio de Suzano Papel S.A. (Brasil) las enzimas provocaron un detrimento en la calidad del efluente, aún en su mejor condición operacional, al registrar un incremento en la DBO de 12% y hasta 21%, detectando además que el tratamiento enzimático disminuyó la refinabilidad de la pulpa (EIRAS et al., 2009).

#### 3.4.1 Puntos y condiciones de aplicación

En el caso de aplicaciones industriales, en las condiciones que actualmente exigen los procesos de blanqueo, se recomienda dosificarlas en forma controlada, iniciando la aplicación con 0,1 kg/ADT y observando el control de los parámetros. En paralelo, antes de proceder a su aplicación en el proceso es recomendable una optimización previa de las dosificaciones para de esta forma hacer posible detectar su efecto (EIRAS et al., 2009).

El método más convencional es agregar xilanasas a la pulpa cruda antes de la torre de alta densidad de pulpa cruda. La reacción de la enzima tiene lugar en la torre y luego la pulpa tratada es bombeada a la planta de blanqueo.

La última generación de enzimas resistentes a álcali, requieren un mínimo, casi nada, de ácido para ajustar pH, en cambio la generación antigua de xilanasas requería adición de ácido a la pulpa café para lograr el pH óptimo entre 5 y 6,5 lo que derivó, en algunos casos, a problemas de corrosión debido a adiciones de ácido hechas incorrectamente. Las nuevas xilanasas tienen un pH óptimo de trabajo más alto y hasta funcionan bien sin ajuste de pH (BAJAPAI, 2004).



El blanqueo enzimático de la pulpa o, más bien, el pre tratamiento enzimático mejora los resultados del proceso incrementando la blanqueabilidad de las pulpas, ahorrando reactivos químicos, disminuyendo, o aún eliminando completamente la necesidad de compuestos de cloro.

Hay que considerar que el proceso de deslignificación con Oxígeno después del pulpage Kraft complica el uso de xilanasas debido a que los niveles de enzima deben ser empíricamente ajustados ya que la deslignificación con Oxígeno hace que las enzimas tengan mejor accesibilidad a los xilanos (KENEALY; JEFFRIES, 2003). Por otra parte el menor número kappa resultante de la deslignificación hace más difícil el trabajo de la enzima.

Las principales variables operacionales en un blanqueo enzimático son: concentración de la enzima, temperatura, pH y consistencia de la pulpa (JIMENEZ et al., 1999).

#### 3.4.2 Factores que afectan la acción de las enzimas

Hay dos factores que afectan principalmente la acción de las xilanasas: pH y temperatura.

Las xilanasas comerciales soportan un rango efectivo de pH de 1 a 2 unidades entre pH 5 y 8,5 y de 5 a 10°C entre 45 y 65°C. Condiciones que muchas veces no pueden ser alcanzadas en los procesos industriales y las xilanasas no pueden ser utilizadas efectivamente (HANCOCK, 2001).

Anteriormente se ha dicho que las preparaciones de xilanasas pueden ser obtenidas de diferentes microorganismos como hongos y bacterias (RUEGGER y TAU-K-TORNISIELO, 2002; MEDEIROS et al., 2008). Dentro de los tipos de bacterias más estudiadas se incluyen varios tipos de bacilos y actinomicetes como por ejemplo *Termonospora fusca*. De los hongos destacan el *Trichoderma* sp., *Aspergillus* ssp. y *Aureobasidium pullulans* (DENCE y REEVE., 1996).

El conocimiento de la estructura de la proteína y la secuencia de aminoácidos deben ser conocidos para saber por qué algunas xilanasas tienen actividad en ambiente alcalino en tanto que otras actúan solo en ambiente ácido. Este factor

depende del microorganismo desde el cual la enzima fue producida y de las condiciones ambientales en que microorganismos se encuentran en la naturaleza (KENEALY y JEFFRIES, 2003).

Las enzimas poseen grupos químicos ionizables (carboxilos -COOH; amino-NH<sub>2</sub>; tiol -SH; etc) en las cadenas laterales de sus aminoácidos. Según el pH del medio, estos grupos pueden tener carga eléctrica positiva, negativa o neutra.

El pH puede afectar de varias maneras:

- Sitio activo puede contener aminoácidos con grupos ionizados que pueden variar con el pH;
- La ionización de aminoácidos que no están en un sitio activo puede provocar modificaciones en la conformación de la enzima;
- Sustrato puede verse afectado por las variaciones de pH.

En la figura 4 está representada la situación en la cual dos diferentes enzimas tienen diferentes pH óptimos. Una de ellas, descrita por la curva a la izquierda, representa el pH óptimo para la enzima pepsina la cual degrada proteínas (proteasa) en el ambiente ácido del estómago.

La segunda curva, a la derecha, representa la enzima carbónica anhidrasa que trabaja en pH neutro del citosol de su célula (EISENMESSER, 2002).

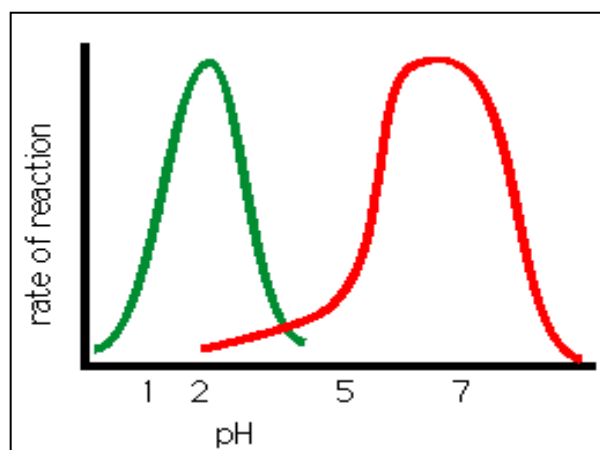


Figura 4 – Diferentes curvas de pH para diferentes enzimas  
Fuente: Eisenmesser E.Z. 2002

En el caso específico de la enzima de origen fungal, que usamos en planta Valdivia, la curva de pH indica que trabaja en condiciones óptimas a valores entre 7 y 7,5 como se puede ver a continuación en la figura 5.

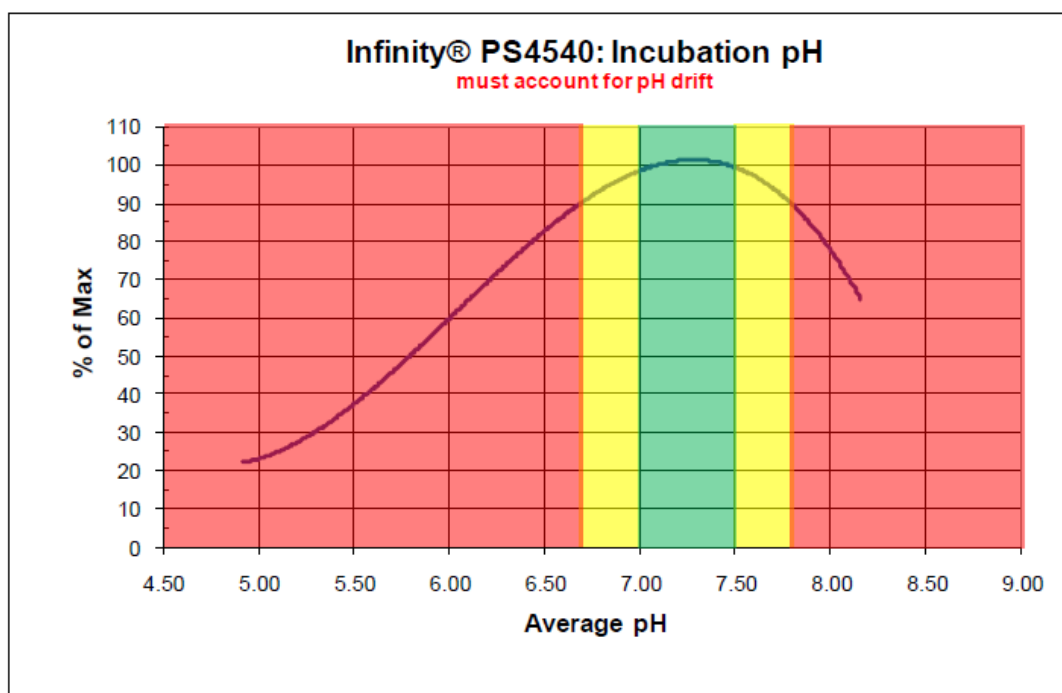


Figura 5 - Eficiencia de la enzima fungal respecto del pH  
Fuente: IOGEN

La temperatura juega un importante rol con las enzimas. Por ser estas proteínas, las enzimas están sujetas a la influencia de la temperatura. La sensibilidad a esta variable depende del organismo del cual proviene la enzima (CALL y MÛCKE, 1997).

Los incrementos de temperatura normalmente aceleran la velocidad de reacción. Así, un incremento de temperatura dentro del rango de trabajo de la enzima la ayuda en su función y desarrolla más rápido el producto. Sin embargo, si la temperatura es demasiado elevada, la enzima se denatura desactivándose.

La energía interna de las moléculas puede incluir energía traslacional, vibracional y rotacional de las moléculas, por su parte la energía relacionada con el

enlace químico de las moléculas puede ser incluida como energía contenida en interacciones de desenlace. El calor puede ser convertido en energía química potencial y esta energía química potencial aumenta cuando hay suficientes enlaces débiles que determinan la forma tridimensional de las proteínas activas que pueden ser quebradas (<http://www.galeon.com/scienceducation/bioquimica05.html>).

La condición descrita, puede llevar a la denaturalización térmica de la proteína e inactivarla. Así, mucho calor puede causar que la velocidad de la reacción de catalización de la enzima disminuya porque esta o el sustrato se denaturalizan o inactivan.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, cada enzima posee un rango de temperatura en el cual ocurre la máxima velocidad de reacción. Este máximo se conoce como temperatura óptima de la enzima, lo que está representado en la figura 6.

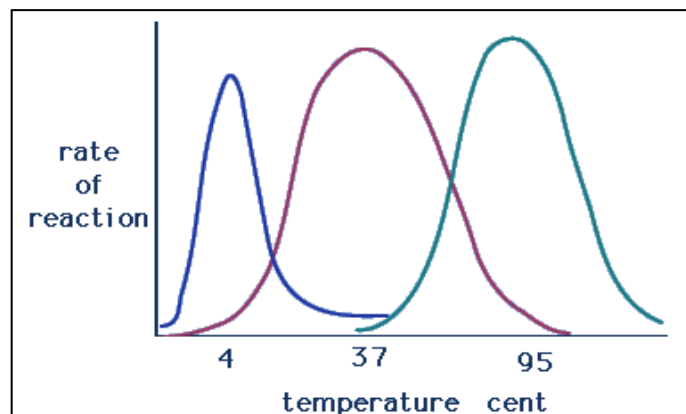


Figura 6 – Temperatura óptima para tres enzimas distintas.  
Fuente: Eisenmesser E.Z. 2002

Se debe notar que la temperatura óptima para cada enzima es diferente. La curva de la izquierda (4°C) representa una enzima aislada desde un camarón que normalmente vive en las frías aguas de Alaska (USA) y por esa razón, estas enzimas están desarrolladas para trabajar mejor a bajas temperaturas.

La curva central (37°C) representa a una enzima obtenida desde el hígado de vacunos llamada quimotripsina porcina y trabaja mejor a temperaturas moderadamente más altas.

Finalmente, la curva a la derecha (95°C) representa la temperatura óptima obtenida para la enzima aislada desde una bacteria que normalmente vive en las fuentes calientes de Parque Nacional de Yellowstone. Estas enzimas trabajan mejor a temperaturas a las cuales normalmente otras enzimas aisladas se denaturan.

Debe observarse además, que no solamente las temperaturas óptimas son diferentes, sino también las formas de las curvas son diferentes (OLSSON et al, 2004).

Para la enzima de origen fúngal usada en Planta Valdivia la curva óptima de temperatura se muestra a continuación en la figura 7.

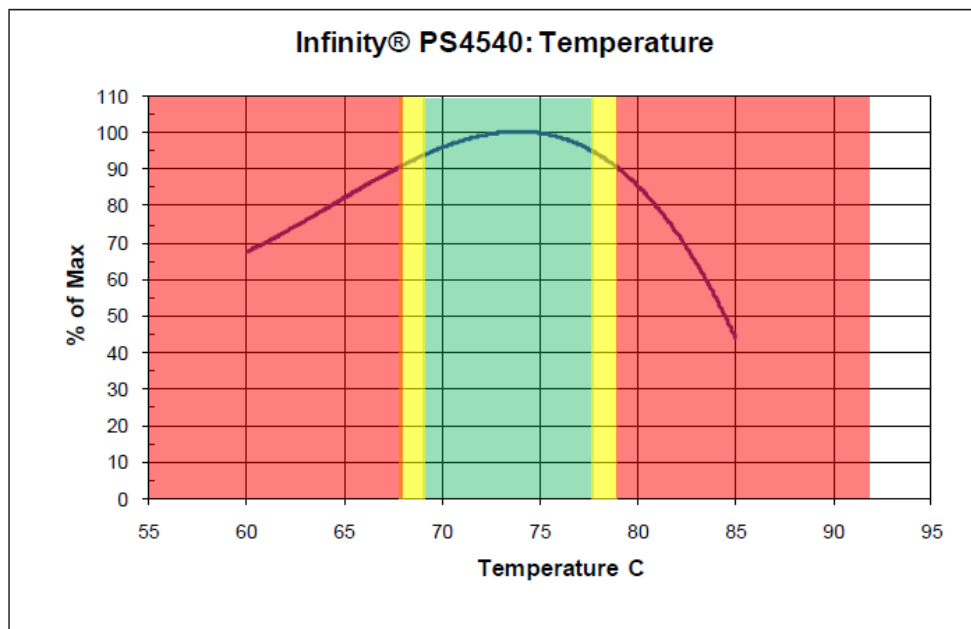


Figura 7 - Eficiencia de la enzima PS4540 respecto de la temperatura  
Fuente: IOGEN

### 3.5 MECANISMOS DE REACCIÓN

De la literatura especializada acerca de enzimas en el proceso de deslignificación resulta obvio que la degradación natural es función de la presencia de enzimas y mediadores. La naturaleza química de los componentes principales no es aún conocida exactamente. Una vez que se descubra, podemos asumir que será posible desarrollar un proceso, basado en los principios naturales, técnicamente

factible y con un muy bajo impacto en el medio ambiente. Está aún en duda si la deslignificación es realizada por una pareja enzima: mediador simple o si son reacciones muy complejas en las que entran en juego múltiples combinaciones de los compuestos descritos (CALL; MÛCKE, 1997).

La aplicación de enzimas tales como las xilanasas muy usualmente es referida como un tratamiento de pre-blanqueo o un incrementador de blanqueo, porque la naturaleza de su efecto es mejorar el efecto de blanqueo químico más que remover lignina directamente (VIAKARI et al, 1994; BAJAPAI y BAJAPAI, 1997).

La enzima no ataca los cromóforos base lignina sino, más bien, la malla de xilanos en la cual las partículas de lignina residual es envuelta y atrapada. Una pequeña hidrólisis de la malla de xilanos es, a menudo, suficiente para facilitar el ataque químico de la lignina por varios químicos sin sacrificar rendimiento (BAJAPAI, 2004). En la figura 8 se muestra un esquema que representa este fenómeno.

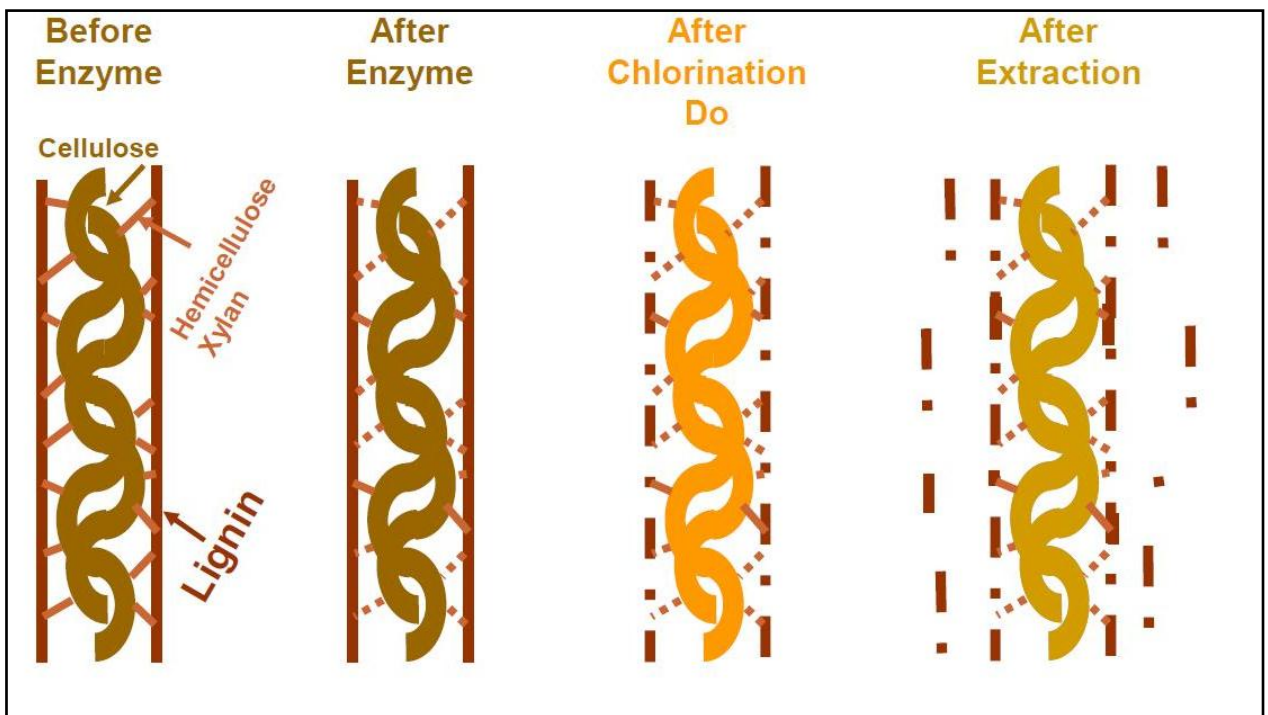


Figura 8 - Esquema acción de la enzima sobre las fibras  
Fuente: IOGEN

El efecto de las xilanasas en la morfología de la fibra ha sido estudiado por Viikari et al. (1996), y Ander y Nyholm (2001), en pulpas TCF y ECF de pulpas de

Eucalipto. Para ello, utilizaron un microscopio electrónico que permite examinar los cambios superficiales en la morfología de la fibra en pulpas que usaron y no usaron enzimas en las secuencias de blanqueo. En aquellas que sí usaron enzimas, se encontró grietas, hojuelas, filamentos y peeling en las paredes celulares, lo que a su vez permite un mayor contacto entre los agentes químicos y el sustrato (BAJAPAI, 2004). La figura 9 muestra una micrografía de una pulpa antes y después de la acción enzimática.

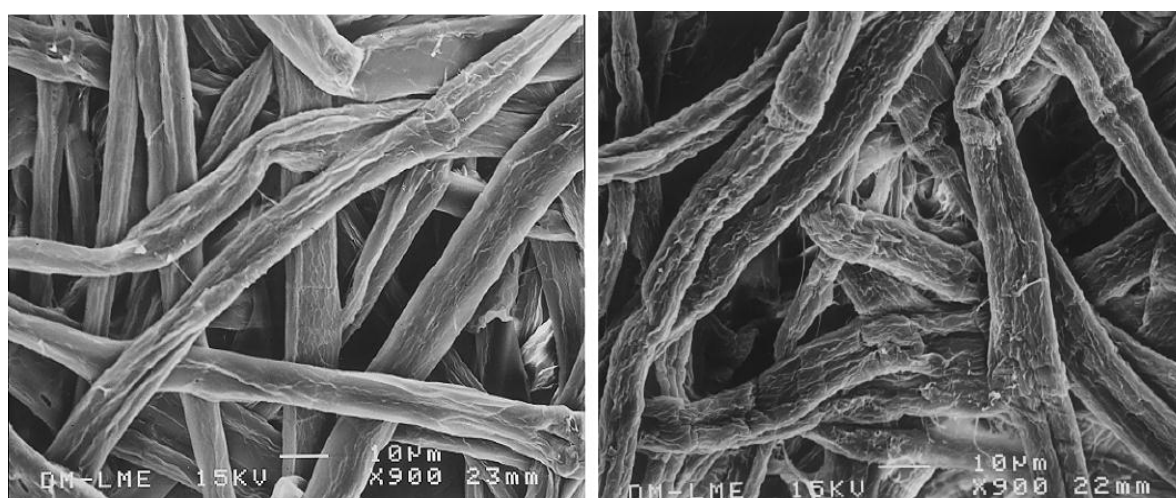


Figura 9 - Micrografía electrónica comparando las características de las fibras de eucalipto antes (a la izquierda) y después (a la derecha) del tratamiento con xilanasa (FALKOSKI, 2009).

Una hipótesis sugiere que los xilanos precipitados bloquean y obstruyen la extracción de la lignina y las enzimas (xilanasa) aumentan la accesividad de los agentes químicos (KANTELINENET al., 1993), y el mecanismo de acción de las xilanasas se basa en que ellas catalizan la hidrólisis de los xilanos depositados en la superficie de las fibras, haciendo más fácil la remoción de fragmentos de lignina dentro y sobre las fibras en las etapas de blanqueo y extracción alcalina subsecuente (PAICE, 1995; DENCE y REEVE, 1996; MANJI 1996; KHANDEPARKAR y BHOSLE, 2007).

Durante el proceso de pulpaje ocurren varias modificaciones a las hemicelulosas, como por ejemplo, con el calentamiento inicial y la alta alcalinidad, los xilanos son parcialmente depolimerizados, luego con la disminución de la

alcalinidad, las pequeñas cadenas de xilanos precipitan en la superficie microfibrilar de la celulosa en una forma más o menos cristalina (DENCE y REEVE, 1996). De esta manera y como se cita anteriormente, en el proceso de cocción los xilanos son solubilizados y parcialmente re-depositados sobre la pared de las fibras secundarias de tal forma que pueda ocurrir la unión entre xilanos y residuales de cadenas de lignina. Otro mecanismo posible indica que las xilanasas hidrolizan a los xilanos presentes en los complejos xilanos-lignina no solubilizados durante el proceso de pulpaje (BEG et al., 2001; SENTHIKUMAR et al., 2008; KO et al., 2010).

Las hemicelulosas son polisacáridos asociados a celulosa y lignina en madera y constituyen el 20 a 40% del peso de la biomasa (HIMMELET al., 2007, SENTHIKUMAR et al., 2008).

En la pared celular los xilanos están localizados entre la lignina y las cadenas de celulosa por lo que debido a su estructura química y a la sustitución de los grupos laterales, los xilanos parecen estar intercalados y ligados covalentemente a lignina. El hecho que las cadenas de xilanos estén ligadas covalentemente a la lignina y no presentan ligazones covalentes con la celulosa puede ser importante para mantener la integridad de la celulosa y ayudar a proteger las fibras contra la degradación (BEG et al., 2001).

Por último la acción de las xilanasas al facilitar la difusión de fragmentos de lignina hacia afuera de las fibras en las etapas de blanqueo posteriores promueve el hinchamiento de la pared celular y facilita el acceso de los oxidantes en las etapas posteriores de blanqueo (DENCE y REEVE, 1996).

En resumen la hidrólisis de los xilanos puede afectar a más de un parámetro físico de la pulpa, ya sea liberando a la lignina ligada covalentemente a los xilanos o solubilizando precipitados de xilanos, como también una combinación de esos efectos juntamente con otros (FARREL, 1992).

El mecanismo de acción de las xilanasas ha sido sometido a estudios logrando determinar que pueden mejorar la extracción de lignina, modificar las asociaciones carbohidrato-lignina o cortar los xilanos depositados.

Los mecanismos del blanqueo de pulpas kraft asistido por enzimas son complejos. Comprenden reacciones de hidrólisis de xilanos precipitados en la superficie de las fibras en condiciones alcalinas y de hidrólisis de xilanos y mananos



en las superficies internas de las fibras. Por ello que la capacidad individual de las enzimas de remover hemicelulosas depende no solo de la composición química del sustrato sino también de factores tales como las dimensiones de la enzima, el área específica, la carga de las fibras y la distribución del sustrato en la matriz (CLARKE et al., 1997).

## 4 MATERIALES Y METODOS

Para los ensayos de blanqueo en laboratorio, se utilizó una muestra industrial de pulpa kraft de *Pinus radiata* deslignificada con oxígeno y lavada de Planta Valdivia cuyas propiedades se presentan en la tabla 1 y se utilizó enzimas comerciales de origen fungal y bacteriano, cuyas hojas técnicas se muestran en los anexos 2 y 3.

Tabla 1 - Propiedades de la pulpa de Pino radiata ensayada en laboratorio.

<b>Pulpa deslignificada de la planta Valdivia</b>		
Item	Unidad	Valor
Kappa	-	10,8
Viscosidad	cm <sup>3</sup> /g	954
HexA	mmol/kg	28,9
Ca	mg/BDT	751
Mg	mg/BDT	280
Fe	mg/BDT	9,7
Mn	mg/BDT	18,6
Cu	mg/BDT	1,9

### 4.1 PRIMER ENSAYO DE LABORATORIO

#### 4.1.1 Plano experimental

El trabajo de evaluación del efecto de las enzimas en la reducción del consumo de químicos, principalmente dióxido de cloro, se realizó en los laboratorios que Bioforest Celulosa (Biocel) tiene en Planta Arauco, en el período Noviembre-Diciembre 2010.

Los ensayos se efectuaron en las áreas de blanqueo, formación de hoja, análisis fisicomecánicos y análisis químicos ambientales. Se estudió el efecto del pre blanqueamiento enzimático en pulpa de pino de Planta Valdivia previamente deslignificada y lavada en el proceso industrial y la experiencia se realizó en dos etapas. En la primera etapa se hizo un tratamiento enzimático, previo al blanqueo, a

70°C en baño-maría de temperatura controlada por 90 minutos a pH 7,0, presión atmosférica, consistencia 10%, dosificación de enzima 0,2 Kg/BDT siguiendo las recomendaciones de los fabricantes de las enzimas y teniendo como control una pulpa que no fue sometida a la acción de la enzima.

Los ensayos de incubación se realizaron en bolsas de polietileno con 300 g de pulpa absolutamente seca la que se llevó a la consistencia indicada agregando agua y calentándola hasta la temperatura deseada en baño-maría de temperatura controlada. Posterior al tratamiento enzimático de la pulpa se realizó una centrifugación de la pulpa con el objeto de caracterizar DQO y color. La pulpa se lavó con agua destilada para luego determinar N° kappa; viscosidad y rendimiento.

La segunda etapa consistió en una secuencia completa de blanqueo, D(E+P+O)DD, utilizando bolsas plásticas con la pulpa obtenida de la primera etapa y midiendo el consumo de químicos.

La pulpa resultante de la última etapa de la secuencia de blanqueo fue caracterizada por blancura y viscosidad intrínseca. La figura 10 representa el flujograma con que se realizó el primer ensayo de laboratorio.

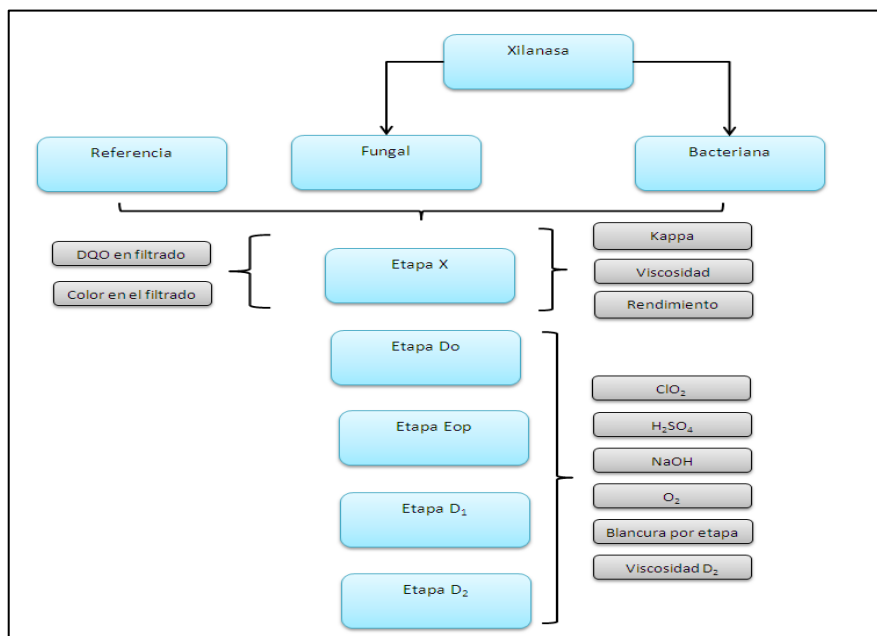


Figura 10 - Flujograma de primer ensayo de laboratorio

Todos los ensayos de laboratorio se hicieron respetando las normas internacionales que se presentan en la tabla 2, excepto el rendimiento ensayo para el cual se siguió el estándar interno de Arauco, mostrado en la tabla 3.

Tabla 2 - Normas utilizadas para evaluación de calidad de la pulpa.

<b>Parametro</b>	<b>Método</b>
Número Kappa	T236;ISO302
Na, Ca, Cu, Fe, Mn en pulpa y papel	T266; ISO777
pH extracto acuoso	T252; ISO6588
Solubilidad en soda al 1% en madera y pulpa	T212 ISO 5351
Viscosidad intrínseca de la pulpa	ISO5267/1
Drenabilidad (°SR)	T205; ISO5269-1
Formación de hoja (convencional)	T218; ISO3688
Formación hojas (ensayos ópticos)	T248; ISO5264-2
Refino PFI	ISO/FDIS 23714
WRV	T120; ISO 5270
Ensayos físicos de hojas de pulpa	ISI 5630
Envejecimiento calor húmedo, calor seco	T411/ISO534
Espesor	T412/ISO287
Humedad estufa	T494/ISO1924-2
Tracción, elongación, TEA	ISO3688
ISO brightness en pulpas	ISO5815, APHA5210
DBO	ISO6060; APHA5220C
DQO	

Tabla 3 - Rendimiento en blanqueo pulpa pino y eucalipto según norma interna Arauco

<b>Instructivo usado</b>	<b>01.134.047.IC (rev.1, 24.04.08)</b>
Cálculo del rendimiento por etapa (%)	PSOx100/PSI

Dónde:

PSO Pulpa seca obtenida, g

PSI Pulpa seca inicial, g

#### 4.1.2 Pre tratamiento con enzima

Esta etapa se realizó utilizando la pulpa previamente descrita y enzimas de origen fungal y bacteriano.

El ensayo de pre blanqueo con enzimas se efectuó de acuerdo a las recomendaciones del proveedor en las siguientes condiciones: dosificación 200 g/BDT; pH 7; temperatura 70°C; presión atmosférica; consistencia 10%; tiempo de reacción 90 min. Como referencia se trabajó pulpa en las mismas condiciones pero sin dosificación de enzimas. Para llevar el pH al valor indicado se adicionó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a la pulpa haciendo la mezcla manual en bolsas de polietileno a temperatura ambiente y posteriormente se controló la temperatura deseada en baño-maría de temperatura controlada manteniéndola por el tiempo establecido. Una vez terminada la reacción se extrajo muestras del filtrado para medir DQO y color verdadero.

La pulpa fue lavada con agua destilada en cantidad equivalente a 9 m<sup>3</sup> por tonelada de pulpa absolutamente seca y se analizó kappa y viscosidad.

Todas las etapas enzimáticas fueron hechas en duplicado.

#### 4.1.3 Secuencia completa de blanqueo

Con las pulpas obtenidas de la primera etapa se realizó la secuencia completa de blanqueo OD(E+P+O)DD y se estudió su efecto en cada una de ellas

(referencia; pre tratamiento con xilanasa fungal y pre tratamiento con xilanasa bacteriana). La carga de reactivos utilizada en cada etapa se basó en el consumo normal de Planta Valdivia, manteniendo la carga de peróxido de hidrógeno constante y finalmente se determinó el consumo total de la secuencia para cada uno de los químicos usados (dióxido de cloro; ácido sulfúrico; soda cáustica y peróxido de hidrógeno). Las condiciones de aplicación se pueden ver en las tablas 4 y 5 para el pre tratamiento enzimático y el blanqueo respectivamente.

Tabla 4 - Pre tratamiento enzimático.

<b>Pre tratamiento</b>	<b>Unidad</b>	<b>Referencia sin enzimas</b>	<b>Xilanasa Fungal</b>	<b>Xilanasa Bacteriana</b>
Kappa Deslignif.	-	10,8	10,8	10,8
Dosificación enzima	g/BDt	0	200	200
pH inicial	-	6,8	6,9	6,9
Temperatura	°C	70	70	70
Tiempo tratamiento	min	90	90	90

Tabla 5 - Condiciones secuencia completa de blanqueo.

<b>Parámetros</b>	<b>Unidad</b>	<b>Etapa D</b>	<b>Etapa (E+P+O)</b>	<b>Etapa D</b>	<b>Etapa D</b>
Temperatura	°C	70	85	72	72
Tiempo Retención	min	50	60	180	180
Consistencia	%	10	10	10	10
pH		5,0	11,1	3,9	3,9

Las cargas de productos químicos que se aplicaron en este ensayo y los posteriores no se incluyen en las tablas por ser muy variables pero se presentan en los anexos, en este caso en anexo 4.

#### 4.1.3.1 Primera Etapa D

En esta etapa de blanqueo se utilizó 300 g absolutamente secos los que en bolsa de polietileno fueron llevados a la consistencia de 10% adicionando agua y solución de  $\text{ClO}_2$  en la cantidad adecuada para lograr la adición requerida. La condición de pH se ajustó adicionando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  hasta lograr el valor indicado. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se llevó a la temperatura requerida mediante baño-maría de temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción la pulpa fue sometida a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a  $9 \text{ m}^3/\text{BDT}$ .

#### 4.1.3.2 Etapa (E+P+O)

La pulpa obtenida de la etapa anterior en bolsa de polietileno fue llevada a la consistencia de 10% adicionando agua,  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{NaOH}$  en las cantidades adecuada para lograr la adición requerida y pH indicados en la tabla. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se llevó a temperatura mediante baño-maría de temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción la pulpa fue sometida a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a  $9 \text{ m}^3/\text{BDT}$ .

#### 4.1.3.3 Segunda Etapa D

La pulpa obtenida de la etapa anterior en bolsa de polietileno fue llevada a la consistencia de 10% adicionando agua,  $\text{ClO}_2$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{NaOH}$  en cantidad adecuada para lograr la adición requerida y pH indicados en la tabla. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se llevó a temperatura mediante baño-maría de

temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción la pulpa fue sometida a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a 9 m<sup>3</sup>/BDT.

#### 4.1.3.4 Tercera Etapa D

La pulpa obtenida de la etapa anterior en bolsa de polietileno fue llevada a la consistencia de 10% adicionando agua, ClO<sub>2</sub> y NaOH en cantidad adecuada para lograr la adición requerida y pH indicado en la tabla. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se llevó a temperatura mediante baño-maría de temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción la pulpa fue sometida a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a 9 m<sup>3</sup>/BDt.

La pulpa así obtenida fue caracterizada por rendimiento químico, viscosidad y blancura.

## 4.2 SEGUNDO ENSAYO DE LABORATORIO

### 4.2.1 Plano experimental

En base a los resultados obtenidos en el primer ensayo de laboratorio, se decidió continuar la investigación solo con la enzima de origen fungal con el objeto de lograr encontrar las dosificaciones óptima en la carga de primera etapa D. El trabajo de evaluación del efecto de la enzima fungal se realizó en los mismos laboratorios y áreas del primer ensayo en el período Noviembre-Diciembre 2010. La experiencia se efectuó en dos etapas. En la primera etapa se hizo un tratamiento enzimático, previo al blanqueo, a 70°C en baño-maría por 90 minutos a pH 7,0, presión atmosférica, consistencia 10% y dosificación de enzima 0,2 kg/BDT siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se mantuvo como control una pulpa que no fue sometida a la acción de la enzima. Los ensayos de incubación se realizaron en bolsas de polietileno con 300 gr de pulpa absolutamente seca la que se llevó a la consistencia indicada agregando agua y calentándola hasta la temperatura deseada en baño-maría de temperatura controlada. Posterior al tratamiento enzimático de la pulpa se realizó una centrifugación de ella con el objeto



de caracterizar DQO y color en el filtrado. A la pulpa se le determinó N° kappa; viscosidad y rendimiento.

En la segunda etapa, con la pulpa obtenida de la primera etapa se realizó una secuencia completa de blanqueo buscando optimizar el consumo de dióxido de cloro haciendo tres secuencias paralelas una kappa factor 0,16; otra con kappa factor 0,14 y siguiendo con las etapas posteriores (E+P+O)DD, midiendo el consumo de químicos. Adicionalmente se corrió la tercera secuencia con kappa factor 0,16 pero manteniendo la misma adición de dióxido de cloro que la referencia en las segunda y tercera etapas de dióxido de cloro, dejando constante la adición de peróxido de hidrógeno en Eop. La pulpa resultante de la última etapa de la secuencia de blanqueo fue caracterizada por blancura. La figura 11 representa el flujograma con que se realizó el segundo ensayo de laboratorio.

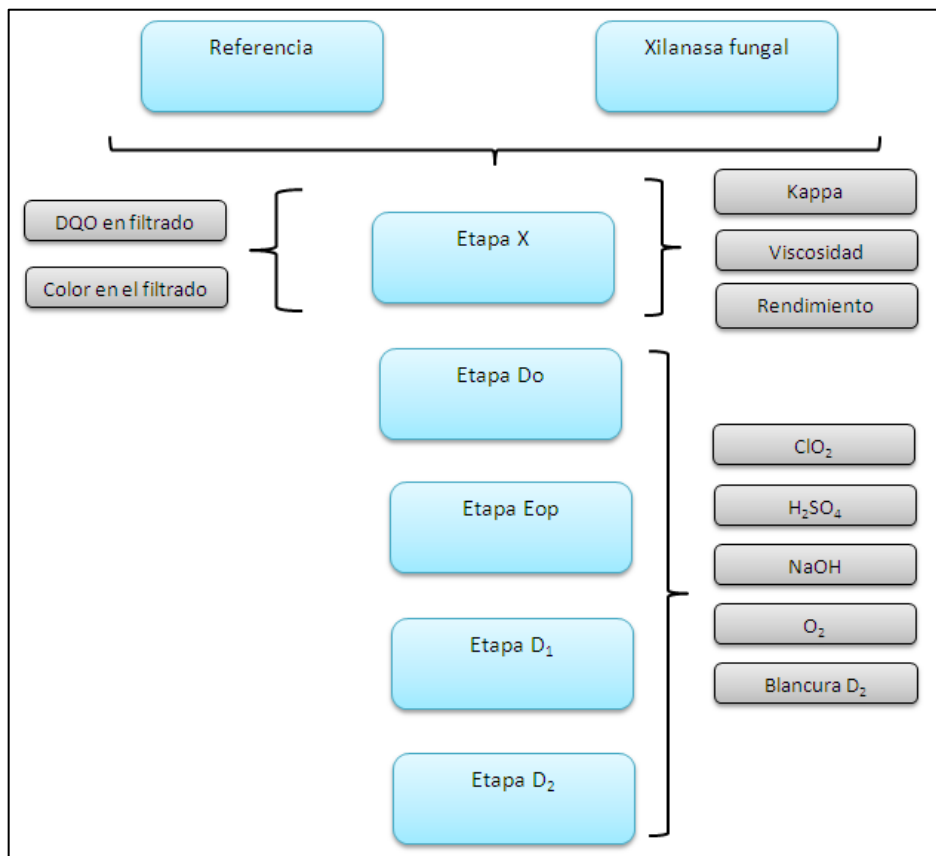


Figura 11 - Flujograma de trabajo segundo ensayo de laboratorio

#### 4.2.2 Primera etapa pre tratamiento con enzima

Esta etapa se realizó utilizando la pulpa de Planta Valdivia deslignificada con O<sub>2</sub> y lavada, previamente descrita en la tabla 1, y enzima de origen fungal.

El ensayo de pre tratamiento con enzima se efectuó de acuerdo a las recomendaciones del proveedor de enzimas en las siguientes condiciones: dosificación 200 g/BDT; pH 7; temperatura 75°C; presión atmosférica; consistencia 10%; tiempo de reacción 150 min. Como referencia se trabajó pulpa en las mismas condiciones sin dosificación de enzima. Para control de pH se adicionó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a la pulpa para llevarlo al valor indicado haciendo la mezcla manual en bolsas de polietileno a temperatura ambiente y posteriormente se controló la temperatura deseada en baño-maría de temperatura controlada manteniéndola por el tiempo establecido. Una vez terminada la reacción se extrajo muestras del filtrado para medir DQO y color verdadero.

La pulpa fue lavada con agua destilada en cantidad equivalente a 9 m<sup>3</sup>/BDT y se analizó N° Kappa, rendimiento y viscosidad. La pulpa con aplicación de enzima se separó en tres partes iguales para continuar con las secuencias indicadas. La tabla 6 muestra las condiciones y resultados del pre tratamiento con enzima fungal.

Todas las etapas enzimáticas fueron hechas en duplicado.

Tabla 6 - Condiciones pre tratamiento con enzima.

Ensayos en laboratorio con enzima fungal, etapa con enzima			
Item	Unidad	Referencia	Enzima
Kappa inicial		9,3	9,3
Temperatura	°C	75	75
Dosificación enzima,	Kg/BDT	0	0,20
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> para ajuste de pH	Kg/BDT	0,38	0,38
Tiempo reacción	min	150	150
pH Entrada		7,14	7,13

En la secuencia completa de blanqueo se dosificó los productos químicos de acuerdo a lo indicado en anexo 5.

#### 4.2.3 Segunda etapa secuencia completa de blanqueo

Con la pulpa obtenida de la primera etapa se realizó la secuencia completa de blanqueo de Arauco y Constitución S.A., Planta Valdivia, para pino OD(E+P+O)DD. Se estudió el efecto de la secuencia de blanqueo para cada una de las cuatro pulpas (referencia con kappa factor 0,16; pre tratamiento con xilanasa fungal kappa factor 0,16; pre tratamiento con xilanasa fungal kappa factor 0,14 y pre tratamiento con xilanasa fungal kappa factor 0,16 manteniendo la aplicación de ClO<sub>2</sub> en segunda y tercera etapa D idéntica a la de la pulpa de referencia). La carga de reactivos utilizada en cada etapa se basó en el consumo normal de Planta Valdivia, manteniendo la carga de peróxido de hidrógeno constante, aplicándolos de acuerdo a los parámetros de control y finalmente se determinó el consumo total de la secuencia para cada uno de ellos (dióxido de cloro; ácido sulfúrico; soda cáustica y peróxido de hidrógeno). A los filtrados de cada etapa se les midió DQO y color verdadero. Las condiciones de aplicación se pueden ver en las tablas 7 y 8 para el pre tratamiento enzimático y el blanqueo respectivamente.

Tabla 7 - Pre tratamiento enzimático con enzima fungal.

<b>Condiciones de trabajo</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor</b>
Temperatura	°C	75
pH		7,0
Presión	Bar	Atmosférica
Consistencia	%	9-10
Dosificación enzima fungal	g/BDT	200
Tiempo de reacción	min	150

Tabla 8 - Condiciones secuencia completa de blanqueo con diferentes kappas factor.

Item	Unidad	D	E <sub>op</sub>	D	D
Temperatura	°C	58	85	72	72
Tiempo Retención	min	50	60	180	180
Consistencia	%	10	10	10	10
pH		5,0	11,1	3,9	3,9

#### 4.2.3.1 Primera Etapa D

En esta etapa de blanqueo se utilizó 300 g absolutamente secos en cada una de las tres secuencias con diferentes condiciones o kappa factor los que en bolsa de polietileno fueron llevados a la consistencia de 10% adicionando agua y solución de ClO<sub>2</sub> en la cantidad indicada en anexo 5 para lograr la adición correspondiente. La condición de pH se ajustó adicionando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hasta lograr el valor requerido. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se llevó a la temperatura requerida mediante baño-maría de temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción se extrajo filtrado para análisis y la pulpa fue sometida a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a 9 m<sup>3</sup>/BDT.

#### 4.2.3.2 Etapa (E+P+O)

Las pulpas obtenidas de la etapa anterior en bolsa de polietileno fueron llevadas a la consistencia de 10% adicionando agua, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y NaOH en las cantidades indicada en anexo 5 y pH indicado en la tabla. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se las llevó a la temperatura requerida mediante baño-maría de temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción se extrajo filtrado para análisis y las pulpas fueron sometidas a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a 9 m<sup>3</sup>/BDT.

#### 4.2.3.3 Segunda Etapa D

Las pulpas obtenidas de la etapa anterior en bolsa de polietileno fueron llevadas a la consistencia de 10% adicionando agua,  $\text{ClO}_2$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{NaOH}$  en cantidad indicada en anexo 5 y pH indicado en la tabla. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se llevó a la temperatura requerida mediante baño-maría de temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción se extrajo filtrado para análisis y las pulpas fueron sometidas a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a  $9 \text{ m}^3/\text{BDT}$ .

#### 4.2.3.4 Tercera Etapa D

Las pulpas obtenidas de la etapa anterior en bolsa de polietileno fueron llevadas a la consistencia de 10% adicionando agua,  $\text{ClO}_2$  y  $\text{NaOH}$  en cantidad indicada en anexo 5 y pH indicado en la tabla. Después de la mezcla manual en bolsa de polietileno se llevó a la temperatura requerida mediante baño-maría de temperatura controlada y se mantuvo por el tiempo indicado. Terminada la reacción se extrajo filtrado para análisis y las pulpas fueron sometidas a lavado con agua destilada en cantidad equivalente a  $9 \text{ m}^3/\text{BDT}$ .

Las pulpas así obtenidas fueron caracterizadas por rendimiento químico y blancura.

### 4.3 PRUEBA INDUSTRIAL

La prueba industrial fue realizada en las instalaciones de Planta Valdivia que dispone de una secuencia de blanqueo OD(E+P+O)DD.

La figura 12 muestra el punto de adición de la enzima a la pulpa deslignificada que sale desde la prensa N° 4 de lavado post  $\text{O}_2$ ; la adición de ácido sulfúrico al filtrado de dilución al tornillo de la prensa #4 para el control de pH en la torre de alta densidad café y el ingreso de agua fría para bajar la temperatura de la pulpa hasta el nivel requerido reemplazando parte del filtrado ( $\sim 80^\circ\text{C}$ ) de dilución al tornillo de la prensa #4 por agua de planta ( $\sim 20^\circ\text{C}$ ). Durante el desarrollo de la prueba se

mantuvo el nivel de la torre de pulpa café entre 35 y 40%, para dar el tiempo de residencia requerido por la reacción de la enzima.

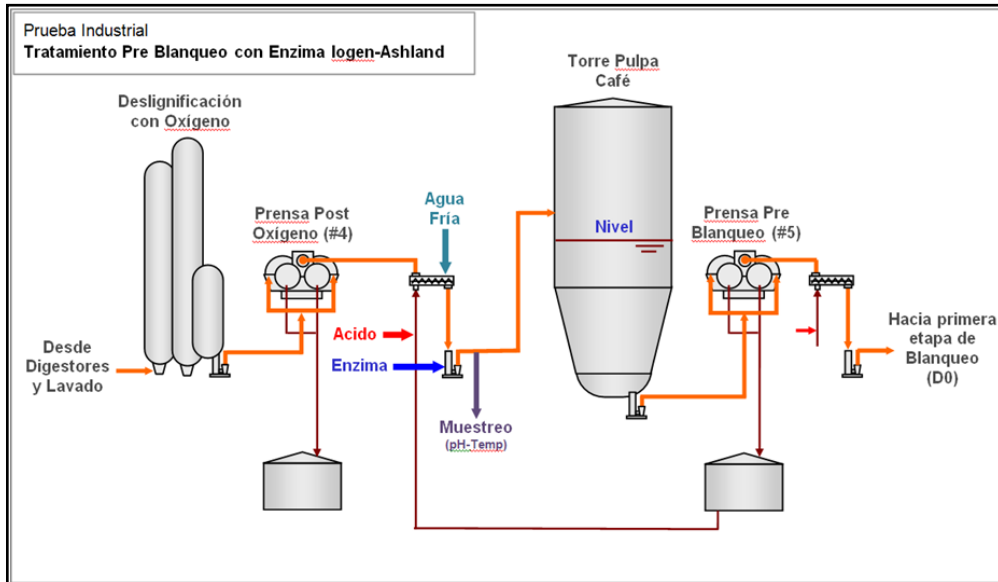


Figura 12 - Esquema de adición de enzima fungal en la Planta Valdivia

La prueba industrial con la enzima xilanasa de origen fungal se definió realizarla siguiendo las indicaciones del proveedor según se indica en la tabla 9.

Tabla 9 - Condiciones operacionales para aplicación enzima fungal.

Item	Unidad	Rango operacional
Temperatura	°C	70 – 72
pH		6,5 – 7,5
Tiempo residencia	hrs	>1,5

Para lograr estas condiciones se establecieron las modificaciones operacionales que permitirían alcanzar estos valores, como se describe a continuación en la figura 13.



Fue necesaria la instalación de una línea nueva de alimentación de agua planta, instalación de indicador de flujo y una válvula automática de control. Adicionalmente se modificó la lógica de flujo de dilución al tornillo desmenuzador para que incluyera el flujo de agua de enfriamiento al cálculo de la dilución.

Para controlar el pH se instaló un arranque desde línea de ácido sulfúrico existente en la prensa N°5 (Prensa Pre Blanqueo), adicionalmente se instaló una válvula de control y un sensor de pH a la salida de la bomba MC 501 y para poder ajustarlo de manera adecuada fue necesario además disminuir el rango de acción de la válvula de control desde 0-100 % de apertura a solo 25-37% con el fin de evitar grandes fluctuaciones en el control. Su implementación se muestra en la figura 15.

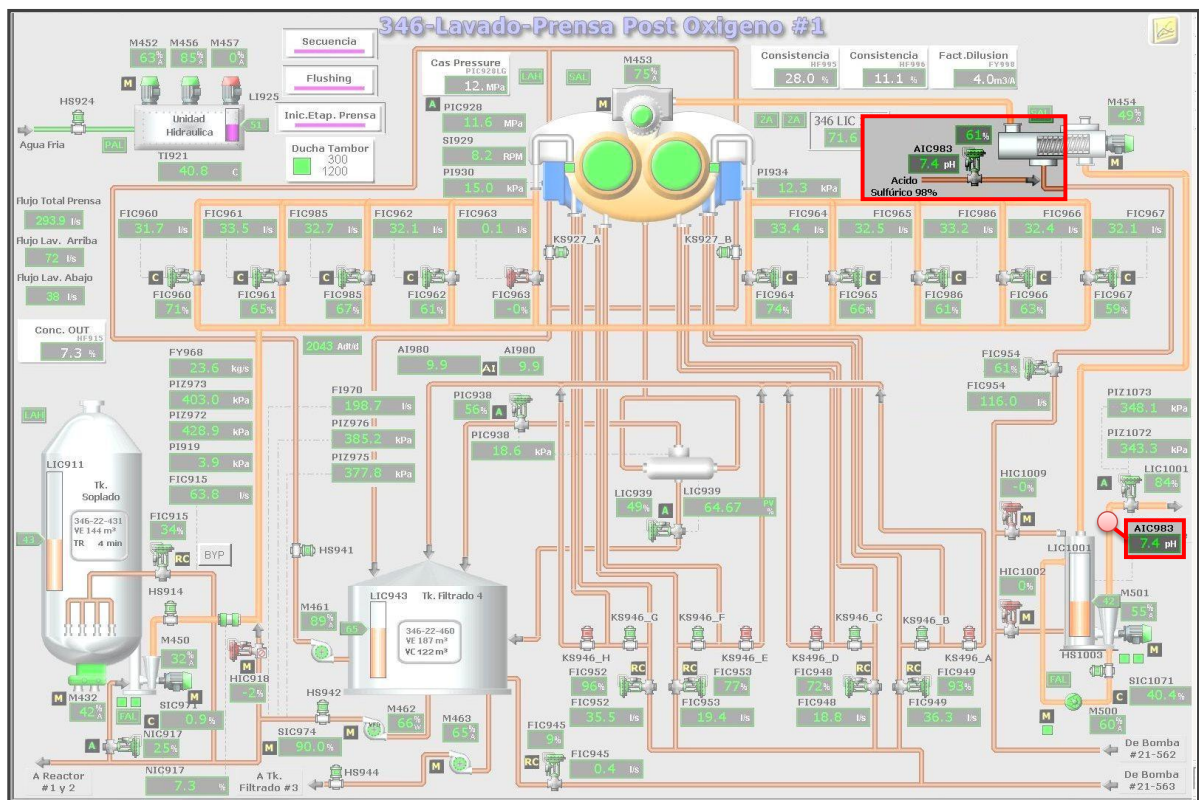


Figura 15 - Control automático de pH

La enzima se agregó instalando una línea de alimentación interna en el stand pipe, con una boquilla direccionada hacia los alabes de la bomba MC (como muestra la figura 16). Adicionalmente el sistema contaba con bombas eléctricas de



dosificación redundantes, con el fin de evitar detener la alimentación de enzima en caso de problemas con una de las bombas, como se muestra en la figura 16.

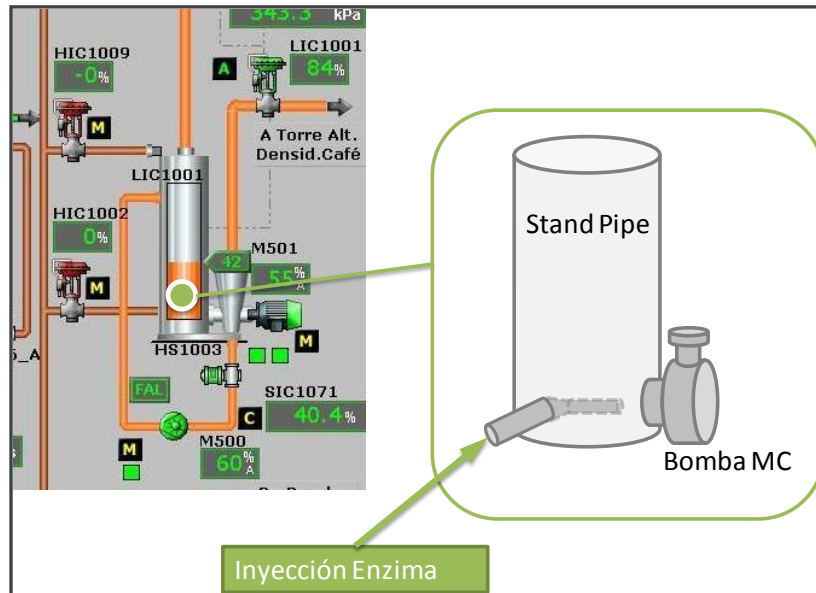


Figura 16 - Esquema adición de enzima

El tiempo de residencia se estableció en valores superiores a 1,5 h según lo determinado en la prueba de trazador.

Bajo este escenario, como se dijo anteriormente se mantuvo el nivel de la torre de alta densidad café en un valor cercano a 40%, lo que implica mantener las producciones equilibradas entre lavado & deslignificación y el área de blanqueo a fin de evitar fluctuaciones de nivel importantes controlando con la bomba de descarga de la torre de alta densidad. La configuración se puede ver en el punto (4) de la figura 13 anterior.

La prueba industrial se realizó durante 2011, corriendo un blanco entre el 15 al 23 de Enero; dosificando 0,1 Kg/ADT en los períodos 25 al 30 de Enero y 04 al 06 de Febrero y finalmente dosificando 0,15 Kg/ADT entre el 31 de Enero y el 03 de Febrero, según se indica en la tabla 10. Se desestimó de los resultados del último período indicado debido a la ocurrencia de una caída general de la Planta.

Tabla 10 - Períodos y dosificaciones de enzima en prueba industrial, año 2011.

<b>Referencia</b>	<b>Dosificación 0,1 Kg/ADT</b>	<b>Dosificación 0,15 Kg/ADT</b>
15 al 23 ene	25 al 29 enero 04 al 06 febrero	31 enero al 03 febrero

Las condiciones de temperatura y tiempos de residencia se mantuvieron de acuerdo a las instalaciones industriales; condiciones operativas del proceso y las dosificaciones se ajustaron para lograr la blancura deseada según lo indicado en anexo 9. La tabla 11 indica los parámetros controlados.

Tabla 11 - Condiciones operativas para prueba industrial

<b>Deslig./ Blanqueo</b>	<b>Tiempo de reacción (min)</b>	<b>Temperatura °C</b>	<b>pH</b>
Reactor (O2)1	27,6	94	11,3
Reactor (O2)2	60,0	102	No disponible
D0	40	58	3
EOP	100	71,5	10,6
D1	130	80	4,5
D2	130	81	4,2

#### 4.4 ANALISIS ESTADISTICO

Para el análisis de datos se usó el concepto de intervalo de confianza, en el que para la estimación de un parámetro poblacional se determina un rango de

valores, calculado en base la muestra poblacional, en que el valor verdadero se encuentra con una cierta probabilidad dada.

El intervalo a construir se denomina intervalo de confianza, el cual en nuestro caso es de un 95%, es decir sólo un 5% de las determinaciones se encuentran fuera de él. (<http://escuela.med.puc.cl/recursos/recepidem/EPIANAL9.HTM>)

## 5 RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 PRIMER ENSAYO DE LABORATORIO

En la tabla 12 podemos observar los resultados post tratamiento enzimático al utilizar enzimas fungal y bacteriana respecto de kappa y viscosidad intrínseca.

Tabla 12 - Resultados comparativos de enzimas fungal y bacteriana.

<b>Pre-tratamiento enzimático</b>	<b>Ud.</b>	<b>Referencia</b>	<b>Xilanasa</b>	<b>Xilanasa</b>
Tipo de enzima		Sin enzima	Fungal	Bacteriana
Kappa post deslignificación		10,8	10,8	10,8
Adición enzima	g/BDt	0	200	200
pH inicial		6,8	6,9	6,9
Temperatura	°C	70	70	70
Tiempo tratamiento	min	90	90	90
Kappa post enzima		10,5	10,4	10,3
Viscosidad intrínseca	cm <sup>3</sup> /g	954	962	950

Es sorprendente el poco efecto sobre el N<sup>o</sup> Kappa que se observa después de la aplicación con enzimas, observación compartida con el proveedor de la enzima fungal obteniendo como explicación que es una de las características específicas de la acción de esa enzima.

La tabla 13 muestra para las pulpas de referencia y las tratadas con enzimas fungal y bacteriana, el consumo de productos químicos total de la secuencia de blanqueo en la forma de dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) e hidróxido de sodio (NaOH) para

alcanzar una blancura 89% ISO manteniendo constante la adición de peróxido de hidrógeno.

Como vemos la enzima de origen bacteriano no produjo ahorro de dióxido de cloro razón por lo que fue descartada de la prueba industrial.

El aumento de viscosidad intrínseca observado en el tratamiento con enzima fungal es concordante con el efecto de eliminación de fracciones de bajo grado de polimerización que provoca la enzima.

Tabla 13 - Comparación de resultados de blanqueo D(E+P+O)DD con enzimas.

<b>Item</b>	<b>Unidad</b>	<b>Referencia</b>	<b>Xilanasa fungal</b>	<b>Xilanasa bacteriana</b>
Dióxido de cloro	Kg/ADT	13,3	12,2	13,2
Hidróxido de sodio	Kg/ADT	18,6	17,6	18,8
Peróxido	Kg/ADT	3,0	3,0	3,0
Ácido sulfúrico	Kg/ADT	0,5	0,5	0,5
Rendimiento químico	%	94,7	94,7	93,9
Blancura	% ISO	88,8	89,2	89,0
Viscosidad intrínseca	cm <sup>3</sup> /g	889	820	826

De la tabla anterior se destaca que para una blancura final en el rango de 89 ISO hay un ahorro de 1,1 kg/ADT en dióxido de cloro y 1,0 kg/ADT de soda cáustica respecto de la referencia cuando la pulpa fue tratada con enzima fungal y la nula efectividad de la enzima bacteriana, por lo que, como se dijo antes, se le descartó de la siguiente etapa de ensayos.

También se observa una pérdida de viscosidad intrínseca del orden de un 7,7% para la enzima fungal y 7,0 % para la enzima bacteriana, lo que indicaría que las enzimas trabajaron pero que para el caso de la enzima de origen bacteriano no significó reducción en el consumo de ClO<sub>2</sub>.

Con relación a las características de color y DQO, no fueron medidas debido a que los filtrados retornan al área de Lavado.

El detalle del pre tratamiento enzimático y los blanqueos de laboratorio para las enzimas fungal y bacteriana se encuentran en los anexos 4 y 6.

## 5.2 SEGUNDO ENSAYO DE LABORATORIO

La tabla 14 nos muestra el resultado del pre tratamiento enzimático fungal de la pulpa en términos de variación de N° Kappa, viscosidad intrínseca y rendimiento.

Tabla 14 - Resultado pre tratamiento fungal.

<b>Etapas de enzima</b>	<b>Unidad</b>	<b>Pulpa de Referencia</b>	<b>Pulpa c/Enzima fungal</b>
Kappa inicial		9,3	9,3
Dosificación Enzima	Kg/ADT	0	0,18
KAPPA término etapa		8,9	7,8
Viscosidad	cm <sup>3</sup> /g	918	934
Rendimiento	%	99,7	99,9

La ganancia de rendimiento al aplicar enzima puede estar asociada al error del método dado que la aplicación enzimática debiera remover grupos de xilanos, lignina y HexA con lo que debiéramos tener pérdida de materia orgánica y rendimiento. La ganancia de viscosidad encontrada es concordante con la remoción de grupos de bajo grado de polimerización que provoca la acción enzimática. Se observó la reducción de 1,1 unidades de kappa después de la aplicación enzimática. La tabla 15 nos muestra los consumos químicos en la secuencia completa de blanqueo para la pulpa de referencia y las pulpas con aplicación de enzima fungal con diferente kappa factor y condiciones especificadas anteriormente. En Anexo 7 se presentan los detalles del segundo ensayo de laboratorio sensibilizando el kappa

factor vs ahorro de dióxido de cloro y en Anexo 7 se puede encontrar detalles de la influencia del pre tratamiento enzimático respecto la variación de kappa.

Tabla 15 - Consumo unitarios de químicos en blanqueo con diferentes kappa factor y condiciones

	Unidad	Referencia FK 0,16	Enzima FK 0,16	Enzima FK 0,14	Enzima FK 0,16 (ClO <sub>2</sub> D <sub>1</sub> y D <sub>2</sub> igual a ref.)
Enzima fungal,	Kg/BDT	0	0, 18	0,18	0,18
Dióxido Cloro total	Kg ClO <sub>2</sub> /ADT	12,2	10,9	11,0	11,6
Reducción consumo ClO <sub>2</sub>	Kg ClO <sub>2</sub> /ADT	-	1,3	1,2	0,60
Reducción consumo ClO <sub>2</sub>	%	-	10,7	9,8	4,9

Al aplicar 0,18 Kg/ADt de enzima fungal se destaca que: a) el pre tratamiento con la enzima fungal de la pulpa cruda de pino deslignificada y lavada, de Planta Valdivia, reduce el consumo de dióxido de cloro; b) el factor kappa 0,16 es con el que se logra la mayor efectividad en la reducción de dióxido de cloro en la secuencia de blanqueo (1,3 kg/ADT); c) con factor kappa de 0,14 se genera un aumento de consumo de dióxido de cloro, en la segunda etapa D, necesario para compensar pérdida de blancura en comparación con factor Kappa 0,16 lo que perjudica el resultado y d) con factor kappa 0,16 y una adición de dióxido de cloro en segunda y tercera etapa D igual al de la referencia sólo de obtiene un incremento en la blancura final de 0,2 %ISO, lo que no justifica la operación. Datos detallados de la prueba se encuentran en Anexo 8.

La tabla 16 muestra los consumos de químicos en la secuencia total de blanqueo con y sin aplicación de enzima fungal y kappa factor de 0,16.

Tabla 16 - Consumo de químicos en blanqueo y blancura final con FK 0,16

		<b>Referencia FK 0,16</b>	<b>Enzima FK 0,16</b>
Enzima fungal	Kg/ADT	0	0,18
Dióxido Cloro total	Kg/ADT	12,2	10,9
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Ajuste pH)	Kg/ADT	0,34	0,34
NaOH	Kg/ADT	15,3	14,9
Peróxido	kg/ADT	2,7	2,7
Blancura	% ISO	89,4	89,9

Estos resultados muestran que con una aplicación de enzima fungal de 0,18 kg/ADT se puede lograr un ahorro de 1,3 kg/ADT de ClO<sub>2</sub>; 0,4 kg/ADT de NaOH obteniendo una ganancia de 0,5 puntos de blancura.

El resultado indica que en la condición óptima de blanqueo (kappa factor 0,16) el efecto de la enzima fungal en una dosificación de 0,180 kg/ADT prácticamente indiferente desde el punto de vista de costo (Se origina un aumento del costo de blanqueo en 0,09 US\$/ADT) cuando se la utiliza en el pre tratamiento enzimático en las condiciones indicadas.

Por otra parte la tabla 17 indica que el impacto de la aplicación de enzima fungal en el filtrado del pre tratamiento enzimático es muy importante pues genera un aumento de concentración en el filtrado de un 424% de DQO y de un 275% en color verdadero. Todo esto indica que la enzima ha trabajado eliminando xilanos, lignina y HexA.



Tabla 17 - Impacto del tratamiento con enzimas en el filtrado del pre tratamiento

		<b>Referencia FK 0,16</b>	<b>Enzima FK 0,16</b>
Enzima fungal	Kg/ADT	0	0,18
DQO	mg/l	291	1.234
Color Verdadero	mg/l	396	1.089

### 5.3 PRUEBA INDUSTRIAL

De los datos de la prueba industrial para la dosificación de 0,1 Kg de enzima fungal por ADT, recomendada por el proveedor, el consumo de productos químicos presentados en la tabla 18 y en las figura 17, se muestra la barra correspondiente a un 95% de intervalo de confianza para el consumo de dióxido de cloro, destaca la reducción de 0,8 Kg ClO<sub>2</sub>/ADt; un incremento de 0,4 Kg/ADT de ácido sulfúrico y disminución en el consumo de hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno de 1,2 y 0,4 Kg/ADT respectivamente, lo que en total significa un ahorro en la operación de blanqueo de 0,65 US\$/ADt.

La disminución de consumo de dióxido de cloro es coherente con el efecto de eliminación parcial de HexA y fracciones de lignina que provoca la el tratamiento con xilanasas. Los antecedentes de la prueba se encuentran en anexo 9.

Tabla 18 - Consumo de productos químicos en blanqueo

<b>Consumo de químicos en prueba industrial en planta Valdivia</b>			
	<b>Unidad</b>	<b>Referencia</b>	<b>Enzima fungal&lt;</b>
Enzima	Kg/ADt	0	0,10
Dióxido de cloro	Kg ClO <sub>2</sub> /ADt	16,8	16,0
Ácido sulfúrico	Kg/ADt	5,0	5,4
Soda	Kg/ADt	14,2	13,2
Peróxido Hidrógeno	Kg/ADt	3,8	3,4

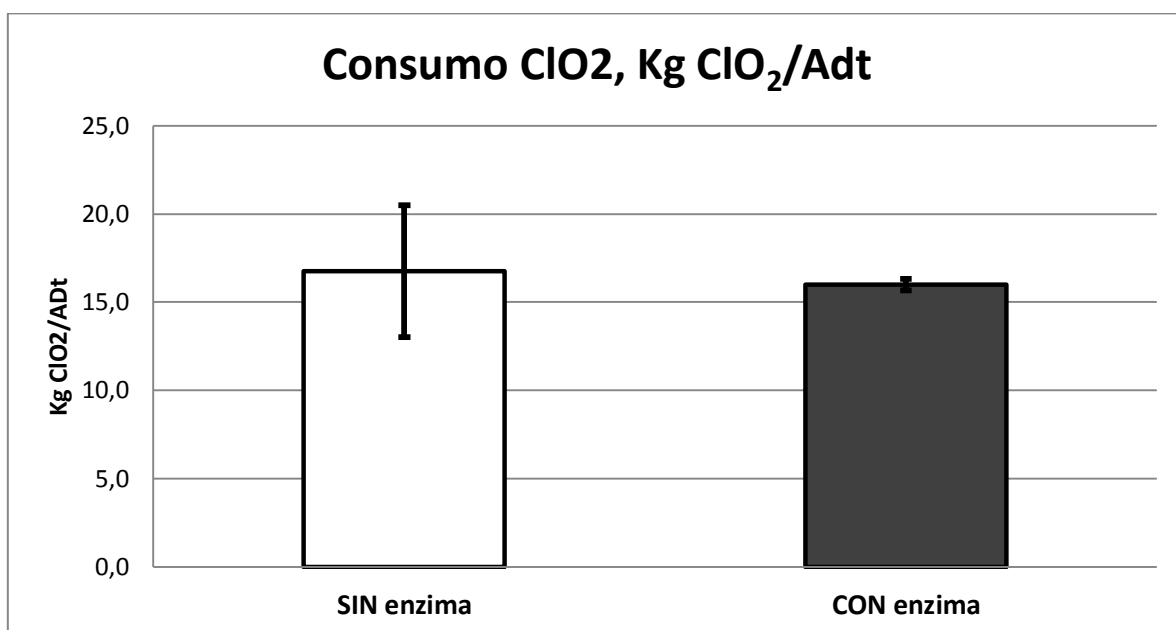


Figura 17 - Consumo total de dióxido de cloro en prueba industrial

La figura 18 muestra el efecto de la aplicación de un pre tratamiento con enzima fungal sobre la viscosidad de la pulpa e indica el efecto esperado de un aumento moderado de este parámetro como resultado de la eliminación de xilanos, fracciones de lignina unidas a los xilanos y fracciones de HexA todos ellos de bajo

grado de polimerización influenciando de esta manera en un aumento relativo de la viscosidad, los antecedentes se pueden revisar en anexo 10.

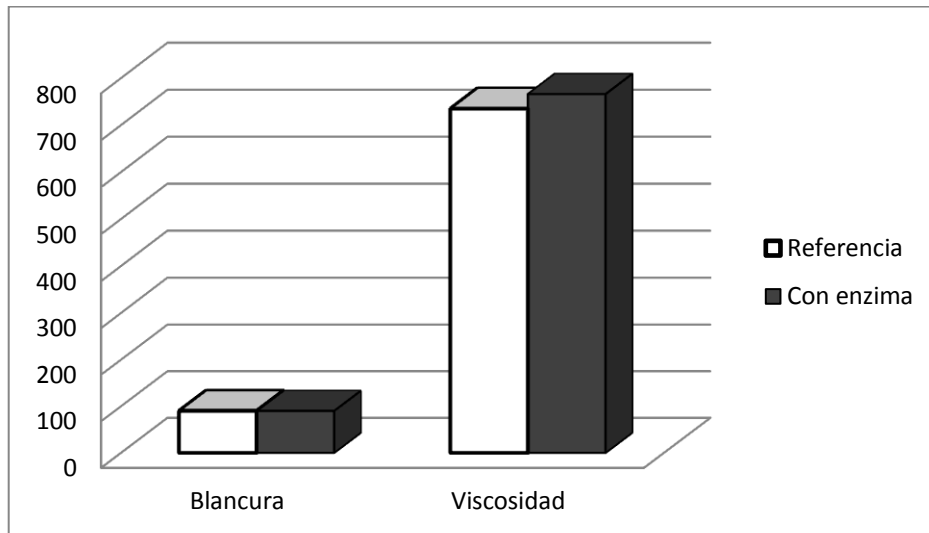


Figura 18 - Efecto de la dosificación de enzimas sobre la viscosidad intrínseca  
Fuente: Laboratorio Arauco

Las propiedades físico mecánicas de la pulpa, tanto de referencia como tratada con enzima, se muestran en la tabla 19 y sus antecedentes en el anexo 11.

Las características fisicomecánicas de la fibra no tuvieron cambios significativos al presentar variaciones del orden de 1 a 2%. En cambio las revoluciones necesarias para lograr 25°SR subieron significativamente concordante con la disminución de xilanos provocada por el pre tratamiento enzimático.

Tabla 19 - Propiedades físico mecánicas

Propiedades físico mecánicas a 25°SR		Referencia	Enzima fungal
Revoluciones PFI	Revoluciones	6450	7000
Índice de tensión	Nm/g	90,6	92,2
Índice de explosión	kPa m <sup>2</sup> /g	7,2	7,3
Índice de rasgado	mNm <sup>2</sup> /g	9,8	9,7
Volumen específico	cm <sup>3</sup> /g	1,4	1,3
Opacidad	%	57,4	57,0

Las figuras 19, 20 y 21 muestran el efecto del pre tratamiento enzimático fungal sobre los efluentes de la Planta cuyo detalle se puede observar en anexo 12.

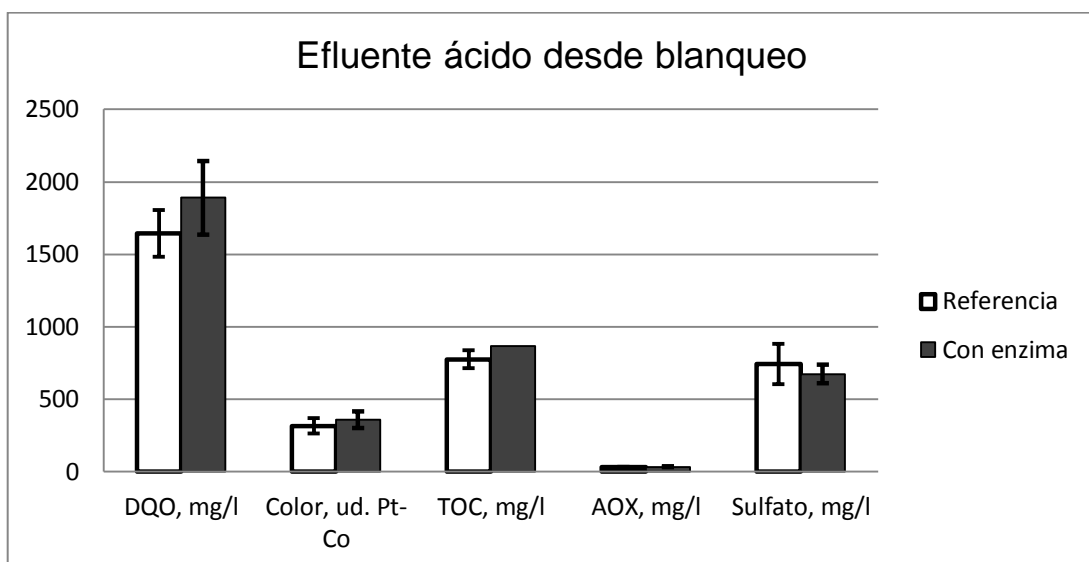


Figura 19 - Efluente ácido

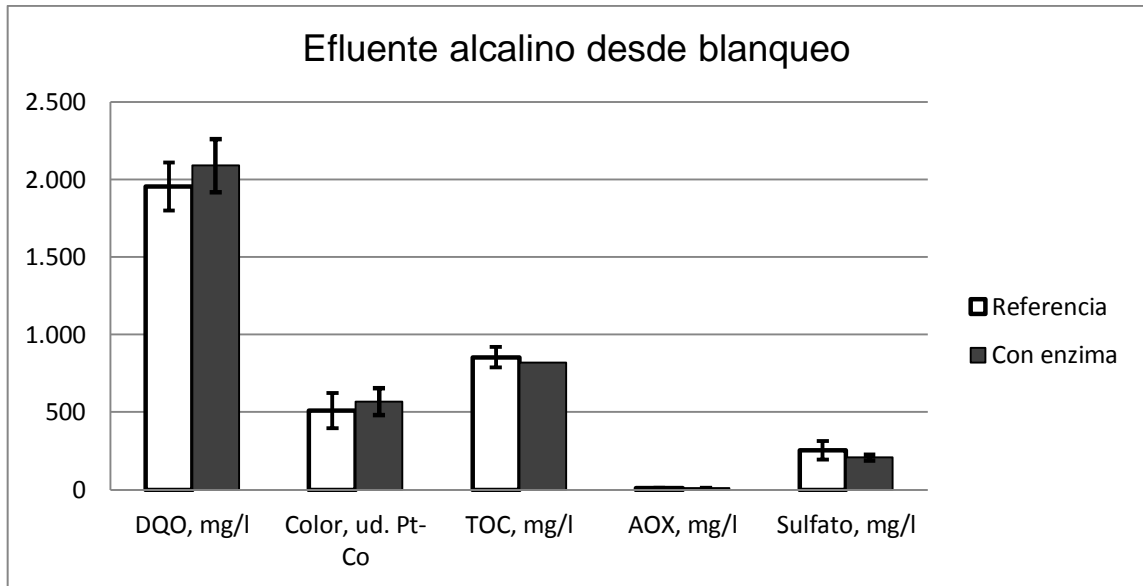


Figura 20 - Efluente alcalino

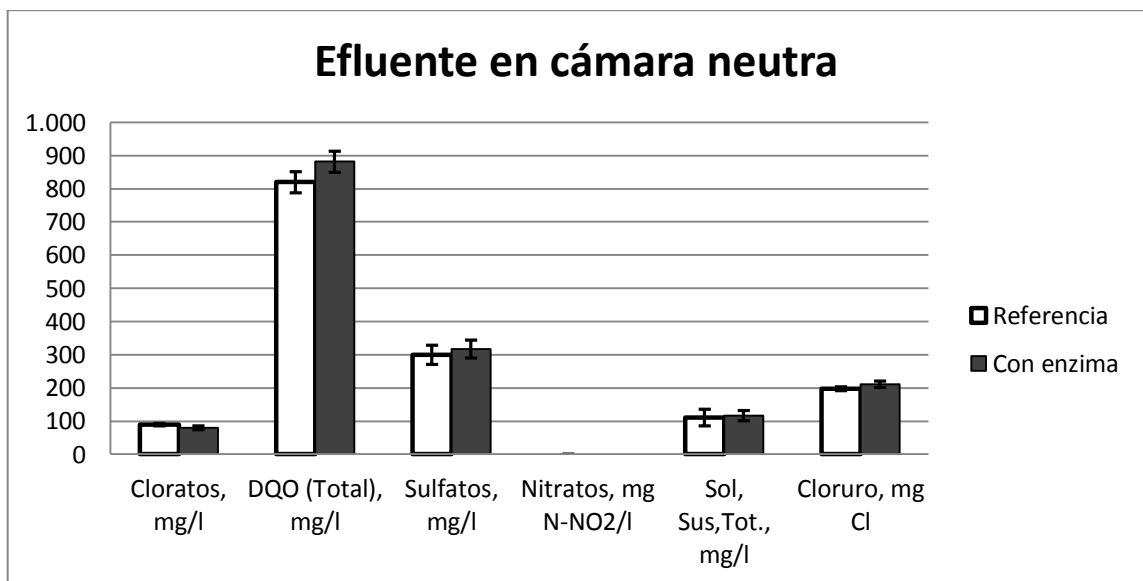


Figura 21 - Efluente cámara neutra

Obs: Los valores de nitrato para ambos los casos están muy bajos, cerca de 0,17 mg/l por esto no se destacan en esta escala de gráfico.

El impacto real del tratamiento enzimático en el efluente lo debemos analizar en la cámara neutra pues es el efluente combinado inmediatamente antes del tratamiento secundario. El efecto encontrado con esta enzima es concordante con los resultados de laboratorio y la literatura. Se observa un aumento moderado del

DQO y no hay variaciones de consideración en el resto de los parámetros. El efluente de esta prueba no provocó alteraciones en el tratamiento de efluentes.

## 6 CONCLUSIONES

En la prueba industrial que consideró la recomendación del proveedor de adicionar 0,1 Kg/ADt de enzima fungal en el pre tratamiento de la pulpa de pino de la planta Valdivia se obtuvo los siguientes resultados:

- ✓ Reducción en el consumo de dióxido de cloro de un 4,8%.
- ✓ Reducción en el consumo de hidróxido de sodio de un 7%.
- ✓ Aumento en el consumo de energía de un 8,9%, para la refinación de la pulpa hasta 25°SR, tratada con la enzima fungal.
- ✓ No hubo cambios significativos en las propiedades físico mecánicas entre la pulpa tratada y de referencia.
- ✓ Hubo una reducción de costo de operación de blanqueo de 0,65 US\$/ADt.
- ✓ Hubo un aumento de la DQO

Cabe hacer notar que en la prueba industrial, dada la dificultad de lograr exactitud no se determinó rendimiento químico comparativo entre la referencia y la pulpa con pre tratamiento con enzima.

## 7 SUGERENCIA PARA PRÓXIMOS ESTUDIOS

Los resultados que se muestran en la prueba industrial detectan una disminución del consumo de dióxido de cloro, de hidróxido de sodio, peróxido de hidrógeno y oxígeno para lograr la misma blancura sin embargo, por variaciones de proceso, el Kappa de entrada a Blanqueo fue menor a la referencia y el pH de D<sub>0</sub> fue superior, ambos factores que influyen positivamente en lograr un menor consumo de dióxido de cloro. Además, durante la prueba los operadores ajustaron la dosificación de oxígeno y de peróxido de hidrógeno lo que hace que se enmascare el resultado.

¿Podría haber sido menor el consumo de dióxido de cloro y de hidróxido de sodio si se hubiera mantenido constante las dosificaciones de oxígeno en la deslignificación, de peróxido de hidrógeno en el blanqueo y el pH en D<sub>0</sub>?

¿En una prueba de mayor duración el aumento de DQO que se generó en la experiencia podría afectar la deslignificación con O<sub>2</sub> y cambiar los resultados obtenidos en esta prueba?

Para responder estas incógnitas y evaluar adecuadamente el efecto de la enzima fungal el autor propone realizar una nueva experiencia de unos 30 días, cuidando las variables indicadas.



## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANDER, P.; NYHOLM, K. **The effect of cellulases, hemicellulases and laccase/HBT on spruce pulp fibre deformations.** In: 8th Int. Conf. Biotech. Pulp and Paper Industry. Helsinki, 4–8 June 2001, p. 71–73.

ARACRI, E; VIDAL, T. **Xylanase- and laccase-aided hexenuronic acids and lignin removal from specialty sisal fibres.** Textile and Paper Engineering Department, ETSEIAT, Universitat Politècnica de Catalunya, Colom 11, E-08222 Terrassa, Spain.

BAJPAI, Pratima. **Biological Bleaching of Chemical Pulps.** In: Critical Reviews in Biotechnology. Informa Healthcare, 2004. ISSN 1549-7801. Vol. 24 (1), p. 1 – 58.

BEG, Q.K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G.S. **Microbial xylanases and their industrial applications.** Applied Microbiology and Biotechnology, v.56, p.326-338, 2001.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos.** São Paulo: Varela, 1995.

BORGES, M. **Efeitos da aplicação de xilanase na polpa kraft-o de eucalipto.** Tese de mestrado de la Universidade Federal de Viçosa, Julho 2010.

CADENA, Edith M.; CHRIAC, A. Iulia; Javier Pastor, F. I.; VIDAL, Teresa; TORRES, Antonio L.. **Use of cellulases and recombinant cellulose binding domains for refining TCF kraft pulp.** Biotechnology Progress. Volume 26, Issue 4, pages 960–967, July/August, 2010.

CALL, P. H; MÛCKE, I. **History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozym-process).** Journal of Biotechnology. Amsterdam: Ed. Elsevier, 1997. Vol. 53 (2-3), p. 163-202.

CHRISTOV L. P.; PRIOR, B. A.. **Bleaching Response of Sulfite Pulps to Pretreatment with Xylanases.** Biotechnology Progress. Volume 13, Issue 5, pages 695–698, 1997.

CLARKE, H. J.; CIRUELA, A.; RIXON, E. J; GILBERT, H. J ; Hazlewood, P. G.,. **Family-10 and Family-11 xylanases differ in their capacity to enhance the bleachability of hardwood and softwood paper pulps.** In: Applied Microbiology and Biotechnology. Berlin: Ed. Springer, 1997. Vol. 48, p. 177-183.

Daniel, A.I.D., Neto, C.P., Evtuguin, D.V., Silvestre, A.J.D.. **Hexenuronic acid contents of eucalyptus globulus kraft pulps: variation with pulping conditions and effect on ecf bleachability, Solutions!** TAPPI JOURNAL, May 2003, Vol. 2(5) (188KB)

DENCE, C and REEVE, D. **Pulp Bleaching, Principles and Practice.** Ed. TAPPI, Atlanta, 1996.

DEVENYNS, J.; CHAUVEHEID, E.. **Uronic acids and metals control.** 9<sup>th</sup> International Symposium on wood and pulping chemistry (ISWPC), Montreal, Quebec, Canada, 9-12 June, 1997.

DICKSON, A.R; WONG, K.K.Y and MANSFIELD, S.D. **Response of xylanase-treated kraft pulp to Escher-Wyss.** Tappi Journal, 2000. Vol. 83 (7) 64.

EIRAS, K. M. M.; MILANEZ, A.; COLODETTE, J. **Biobranqueamento de Celulose de Eucalipto.** In: 42º Congresso e Exposição Internacional de Celulose e Papel, 26-29 de Outubro, 2009. São Paulo. Brasil. 8 pp. CD Rom.

EISENMESSER, Z. E; BOSCO, A. D; AKKE, M; KERN, D (February 2002). **Enzyme dynamics during catalysis.** Science Magazine, Vol. 295 (5559), p.1520-1523, 2002.

ELSANDER, A.; EK, M; GELLERSTEDT, G., **Oxalic acid formation during ECF and TCF bleaching of kraft pulp**. Tappi Journal 83(2):73-77, 2000.

ENZYME TECHNICAL ASSOCIATION. **Enzymes - A primer on use and benefits today and tomorrow**. Washington, 2001. Disponible en: <[http://www.enzymetechnicalassoc.org/benefits\\_paper.pdf](http://www.enzymetechnicalassoc.org/benefits_paper.pdf)>. Asesado en: Octubre 2009.

ESTEGHLALIAN, A.R.; BLUM, D.L.; KAZAOKA, M.; WU, D.; CRUZ, D.M.; VARVAK, A.; HEALEY, S.; JANSSEN, G.; WEINER, D.P; and HAZLEWOOD, G. **Discovery, development, and mill application of a thermostable xylanase for prebleaching of kraft pulp**. Abstracts of Papers, 229th ACS National Meeting, San Diego, CA, United States, BIOT-332, 13-17 March, 2005.

FALKOSKI, L. D. **Branqueamento enzimático de polpa celulósica**. Exame de Qualificação em Bioquímica Agrícola. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Viçosa, MG, 2009.

FARREL, R. L.; Hadar, Y.; Wendler, P.A.; Zimmerman, W.; European Patent. **An approach to industrial application: influence of black liquor and pH on xylanase efficiency in bleaching of eucalyptus kraft pulp**. "Industrial and engineering chemistry research". Vol. 49, núm. 22, p. 11200-11205, 17 Novembre 2010.

FILLAT, Ú.; RONCERO, M. B. **Biobleaching of high quality pulps with laccase mediator system: influence of treatment time and oxygen supply**. "Biochemical engineering journal", vol. 44, núm. 2-3, p. 193-198, 2009.

FISHER, Z; HERNANDEZ PRADA, A. J; TU, C.; DUDA, D.; YOSHIOKA, C.; AN, H.; GOVINDASAMY, L.; SILVERMAN, N. D; and MCKENNA, R. **Structural and kinetic characterization of active-site histidine as a proton shuttle in catalysis by human carbonic anhydrase II**. Biochemistry. Vol.44 (4), p. 1097-1105, 2005.

GIL, N.; GIL, C.; AMARAL, M. E.; COSTA, A. P.; DUARTE, A. P. **Use of enzymes to improve the refining of a bleached Eucalyptus globules kraft pulp.** *BiochemicalEngineeringJournal*. Vol. 46 (2), p. 89-95, 2009.

GRAMINHA, V. **Controle de *Stickies* em máquinas de papel reciclado através da utilização de enzimas.** UFV- Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil, 2009.

HANCOCK, B; **Discovery and Development of Advanced Enzyme Products to Meet the Needs of the Pulp and Paper Industry.** Material de marketing de Verenium, USA 2001.

HIMMELET, Michael E.. Biomass Recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production *Science* 315, 804-807, 2007.

JIANG, Z.-H and VAN LIEROP, B.. **Hexenuronic acids groups in pulping and bleaching chemistry.** *Tappi Journal* 83, 167-175, 2000.

JIEBING LI, GISRAN GELLERSTEDT. **Hexenuronic acid groups in pulp xylan, The contribution to kappa number.** Division of Wood Chemistry, Royal Institute of Technology, S-10044 Stockholm, Sweden Received, 31 January 1997.

JIMENEZ, L.; NAVARRO, E.; FERRER, J.L; Lopez F.; ARIZA, J. **Biobleaching of cellulose pulp from wheat straw with enzymes and hydrogen peroxide.** *Process Biochemistry*, Oxford: Ed. Elsevier, Vol. 35 (1), p. 149-157, 1999.

KANTILINEN, A., HORTLING, B., LINKO, M., VIIKARI, L. **Proposed Mechanism of the Enzymatic Bleaching of Kraft Pulp with Xylanases.** *Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*.Hamburg, Vol. 47 (4), p. 318–324, 1993.

KENEALY, William R.; JEFFRIES Thomas W. **Enzyme Processes for Pulp and Paper: A Review of Recent Developments.** Institute for Microbial and Biochemical

Technology, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory, Madison, 2003. Disponible en: <<http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf2003/kenea03a.pdf>>. Asesado en: Octubre 2009.

KHANDPARKAR, R.; BHOSLE, N.B.. **Application of thermoalkalophilic xylanase from arthrobacter sp. MTCC 5214 in biobleaching of kraft pulp.** Bioresource Technology 98. 897-903, 2007.

KO, Chun-Han; LIN, Zi-Ping; TU, Jenn; TSAI, Chung-Hung; LIU, Chia-Chen; CHEN, Hsin-Tai; WANG, Tzu-Pin. **Xylanase production by *Paenibacillus campinasensis* BL11 and its pretreatment of hardwood kraft pulp bleaching.** [International Biodeterioration & Biodegradation; Volume 64, Issue 1](#), Pages 13-19, January 2010.

LEHNINGER: **Principles of Biochemistry**, de los autores David Nelson y Michael Cox. 5ª edición. Freeman and Company, New York, 2008.

MANJI, H. A. **Extended usage of xylanase enzyme to enhance the bleaching of softwood kraft pulp.** Tappi Journal, January 2006, p. 23. Disponible en: [http://www.evco-research.com/press/06JAN\\_TAPPI.pdf](http://www.evco-research.com/press/06JAN_TAPPI.pdf)>. Asesado en: 02 Noviembre 2009.

MOSS, G.P. **Nomenclature and Classification of Enzymes by the Reactions they Catalyse.** School of Biological and Chemical Sciences. Disponible en: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme>>. Asesado en: 10 octubre 2009.

OLSSON, M. H.; SIEGBAHN, P. E.; WARSHEL, A. **Simulations of the large kinetic isotope effect and the temperature dependence of the hydrogen atom transfer in lipxygenase.** Journal of the American Chemical Society, Vol. 126(9), p. 2820–2828, 2004.

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

REGUL Y, J. C. **Biotecnologia dos Processos Fermentativos**. Pelotas: V.3. Editora e Gráfica Universitária UFPel, 2000.

RONCERO VIVERO, María Blanca; TORRES, A. L.; COLOM, José F. & VIDAL, T. . **Blanqueo TCF de pastas de Eucalyptus. Utilización de xilanasas**. *AFINIDAD* , 59 (500) : 371-385. ISSN: 0001-9704, 2002.

RUEGGER, Marcelo José Silveira; TAU-K-TO, Sâmia Maria. **Cultivation of the edible mushroom *oudemansiella canarii* (jungh.) Höhn**. In Lignocellulosic substrates. Microbiol. vol.32 no.3 São Paulo Aug./Oct. 2001

SAVITHA, S.; SADHASIVAM, S.; SWAMINATHAN, K.. **Modification of paper properties by the pretreatment of wastepaper pulp with *Graphiumputredinis*, *Trichodermaharzianum* and fusant xylanases**. Bioresource Technology. 100(2):883-9. Epub 2008 Aug 23, 2009.

SENTHIKUMAR, S.R.; DEMPSEY,M.; KRISHNAN, C.; GUNASEKARAN, P.. **Optimization of biobleaching of paper pulp in an expanded bed bioreactor with immobilized alkali stable xylanase by using response surface methodology**. Bioresource. Technol. 99: 7781-7787, 2008.

SHATALOV, A.; Pereira, H.. **Impact of hexenuronic acids on xylanase-aided biobleaching of chemical pulps**. Centro de Estudos Florestais, Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal. February, 2009.

TOLAN, J. S. and GUENETTE, M. **Using enzymes in pulp bleaching: Mill applications.** In: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Berlin: Ed. Springer-Verlag, Vol. 57, p. 289–310, 1997.

TORRES, A.L.; RONCERO, M.B.; COLOM, J.F.; PASTOR, F.I.J.; BLANCO, A.; VIDAL, T.. **Effect of a novel enzyme on fibre morphology during ECF bleaching of oxygen delignified Eucalyptus kraft pulps.** *BIORESOURSE TECHNOLOGY*, 74 (2): 135-140. ISSN: 0960-8524, 2000.

TURNER, J. C.; SKERKER, P. S.; BURNS, B. J.; HOWARD, J. C.; ALONSO, M. A., and Andres, J. L.. **Bleaching with enzymes instead of chlorine: Mill trials.** *Tappi Journal*, Vol. 75 (12), p. 83–89, 1992.

VALLS, C; et al. **New xylanases to obtain modified eucalypt fibres with high-cellulose content.** Mayo, 2010.

VICUÑA, R.; ESCOBAR, F.; OSSES, M.; JARA, A. **Bleaching of eucalyptus Kraft pulp with commercial xylanases**1997. *Biotechnology Letters*, Vol 19, No 6, June 1997, pp. 575–578.

VICUÑA, R.; OYARZUN, E.; OSSES, M. **Assessment of various commercial enzymes in the Bleaching of radiata pine kraft pulps with different enzymes.** 1994. *Journal of Biotechnology*, Amsterdam: Ed. Elsevier, 1995. Vol. 40 (3), p. 163-168.

VICUÑA, R.; YEBER, M.C.; OSSES, M. **Bleaching of radiata pine Kraft pulp with the EnZone process.** 1995. *Journal of Biotechnology* 42 (1995) 69-73.

VIIKARI, L.; SUURNÄKKI, A; BUCHERT, J. **Enzyme-aided bleaching of kraft pulps: fundamental mechanisms and practical applications.** In: JEFFRIES, T.W. y VIIKARI, L. *Enzymes for Pulp and Paper Processing*. Washington, DC, 1996: ACS Symposium Series 655, p. 15-24.

VIIKARI, Liisa; KANTELINEN, Anne; SUNDKIST, Jorma & LINKO, Matti. **Xylanases in bleaching: From an idea to the industry.** FEMS Microbiology Reviews, Volume 13, Issue 2-3, pages 335–350, March 1994. doi: 10.1111/j.1574-6976.1994.tb00053.x

Vuorinen, T.; Fagerström, P, Buchert, J., Tenkanen, M., Teleman, A.; **Selective hydrolysis of hexenuronic acid groups and its application in ECF and TCF bleaching of kraft pulps.** Journal of pulp and paper science, 25 (5):155-166, 1999.



## **ANEXOS**

## ANEXO 1: ENZIMAS PURIFICADAS Y SU USO

Xilanasas	Hidrolasa	Bioblanqueamiento
Lacasas	Oxireductasa	Bioblanqueamiento, modificación de las fibras, obtención de papeles funcionales, tratamiento de efluentes.
Manganeso peroxidasa	Oxireductasa	Bioblanqueamiento, tratamiento de efluentes
Lignina peroxidasa	Oxireductasa	Bioblanqueamiento, tratamiento de efluentes
Lipasas	Hidrolasa	Reducción de extractivos, control de <i>Pitch</i>
Celulasas	Hidrolasa	modificación de propiedades de las fibras
Pectinasas	Hidrolasa	Bioblanqueamiento
Mananasas	Hidrolasa	Bioblanqueamiento

## ANEXO 2: HOJA TÉCNICA DE LA ENZIMA INFINITY PS 4540(FUNGAL)

	<b>HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD DE PRODUCTOS QUIMICOS</b>
	<b>INFINITY PS4540</b>

Hoja de datos de seguridad según NCh 2245 of. 2003  
Fecha de edición: 08/11/2010      Fecha de vigencia: 08/11/2013

### Sección 1. Identificación de la sustancia química y del proveedor

Nombre de la sustancia química: INFINITY PS4540  
Código interno de la sustancia: PS4540/00  
Proveedor / Fabricante / Comercializador: **Ashland - Hércules Chile Ltda.**  
Dirección: Av. Nueva de Tajamar 481 Of. 1108  
**Fono de Emergencia: (56-2) 2469103 RHeMer Response**  
Fono: (56-2) 2301100  
Fax: (56-2) 2301117  
Correo electrónico: response@rhemer.cl  
jnsepulveda@ashland.com

### Sección 2. Información sobre la Sustancia o Mezcla (Composición / Ingredientes)

Nombre químico y aplicación:	PREPARADO - MEZCLA	
Nombre químico (IUPAC):	SACAROSA	28% - 32%
Formula química:	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	
Sinónimos:	AZUCAR BLANCA	
Nº CAS:	57-50-1	
Nº NU:	<b>NO APLICADO, NO ESTÁ PRESENTE EN NCh 382.</b>	
Nombre químico (IUPAC):	XILANASA	1% - 5%
Formula química:	NO ENCONTRADA	
Sinónimos:	ENDO 1,4	
Nº CAS:	9025-57-4	
Nº NU:	<b>NO APLICADO, NO ESTÁ PRESENTE EN NCh 382.</b>	
Nombre químico (IUPAC):	BENZOATO DE SODIO	0,4% - 0,6%
Formula química:	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NaO <sub>2</sub> / C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COONa	
Sinónimos:	BENZOIC ACID, SODIUM SALT	
Nº CAS:	532-32-1	
Nº NU:	<b>NO APLICADO, NO ESTÁ PRESENTE EN NCh 382.</b>	

---

### Sección 3. Identificación de los riesgos

---

Marca en etiqueta NCh 2190	NO APLICADO
Clasificación de riesgos de la sustancia química:	SALUD: 1 / INFLAMABILIDAD: 0 / REACTIVIDAD: 0 ESPECIAL: NO PRESENTA RIESGOS ESPECIALES
<b>a) Riesgos para la salud de las personas</b>	
Efectos de una sobre exposición aguda (por una vez):	EXPOSICION PRIMARIA, PUEDE CAUSAR LEVE IRRITACIÓN, ENROJECIMIENTO, QUEMAZÓN EN LA PIEL.
Inhalación:	NIEBLA Y AEROSOLES PUEDE CAUSAR IRRITACIÓN EN EL APARTATO RESPIRATORIO SUPERIOR.
Contacto con la piel:	PUEDE PROVOCAR ENROJECIMIENTO O PRURITO EN LA PIEL.
Contacto con los ojos:	PUEDE CAUSAR IRRITACIÓN DOLORES AGUDOS LAGRIMEO ENROJECIMIENTO E HINCHAZÓN.
Ingestión:	PUEDE CAUSAR IRRITACION GASTROINTESTINAL. LA INGESTIÓN EN GRANDES CANTIDADES PUEDE SER PERJUDICIAL.
Efectos de una sobre exposición crónica (largo plazo):	NO EXISTEN EVIDENCIAS DE EFECTOS CRÓNICOS EN EL ORGANISMO.
Condiciones médicas que se verán agravadas:	NO HAY INFORMACION DISPONIBLE
<b>b ) Riesgos para el medio ambiente</b>	NO HAY INFORMACION DISPONIBLE, VER SECCION 12
<b>c ) Riesgos especiales de la sustancia</b>	NO HAY INFORMACIÓN DISPONIBLE

---

### Sección 4. Medidas de primeros auxilios

---

En caso de contacto accidental con el producto, proceder de acuerdo con

Inhalación:	REMUEVA LA VICTIMA PARA EL AIRE FRESCO Y. LLAME ASISTENCIA MEDICA SI LA IRRITACIÓN PERSISTE. DIFICULTAD EN RESPIRAR APLICAR OXIGENO.
Contacto con la piel:	RETIRE LAS ROPAS CONTAMINADAS, LAVAR AREA AFECTADA CON ABUNDANTE AGUA Y JABON NEUTRO

	POR 15 MINUTOS. SI PERSISTE ALGUN SÍNTOMA DE IRRITACIÓN LLAME ASISTENCIA MÉDICA.
Contacto con los ojos:	RETIRAR LENTES DE CONTACTO, MANTENER LOS PÁRPADOS ABIERTOS, INMEDIATAMENTE LAVE CON AGUA CORRIENTE POR 15 MINUTOS A LO MENOS, SOLICITE ATENCIÓN MÉDICA PARA TRATAMIENTO ADICIONAL SI LA IRRITACIÓN PERSISTE.
Ingestión:	NO DE NADA A LA VÍCTIMA SI ESTA INCONSCIENTE O CON CONVULSIONES. NO INDUZCA VÓMITO, LLAME INMEDIATAMENTE ASISTENCIA MÉDICA.
Notas para el médico tratante:	NO HAY INSTRUCCIONES ESPECIALES

---

### Sección 5. Medidas para la lucha contra el fuego

---

Agentes de extinción:	USE POLVO QUÍMICO SECO, BÍOXIDO DE CARBONO, ESPUMA O AGUA.
Procedimientos especiales para combatir el fuego:	USE UNIFORMES BAJO NORMA CON EQUIPO DE RESPIRACIÓN AUTOCONTENIDO. ENVASES SOMETIDOS A FUEGO DIRECTO, ABANDONE ÁREA Y ENFRIE CON MONITORES PORTÁTILES SIN PERSONAL A SU MÁXIMO ALCANCE.
Equipos de protección personal para el combate del fuego:	USE EQUIPO ESTRUCTURAL CONTRA FUEGO COMPLETO BAJO NORMA CON EQUIPO DE RESPIRACIÓN AUTOCONTENIDO.
Riesgos específicos a tomar en cuenta:	ESTE MATERIAL NO HA ESPERADO LA AYUDA DE COMBUSTIÓN. SI HA SIDO CALENTADO EN LA DESCOMPOSICIÓN. NO APLIQUE AGUA EN CHORRO DIRECTO.

---

### Sección 6. Medidas para controlar derrames o fugas

---

Medidas de emergencia a tomar si hay derrame del material:	VENTILE EL ÁREA, USE EPP APROPIADO, CONTENGA Y ABSORBA CON MATERIAL ABSORBENTE DISPONIBLE, RECOGER EN ENVASES APROPIADOS. LAVE EL LOCAL CON AGUA. EL LOCAL PUEDE QUEDAR RESBALOSO EN CONTACTO CON EL AGUA. ESPARZA ARENA.
Equipo de protección personal para atacar la emergencia:	TRAJE CONTRA SALPICADURAS, EQUIPO DE RESPIRACIÓN AUTOCONTENIDO, GUANTES LARGOS DE NEOPRENO, BOTAS DE GOMA
Precauciones a tomar para evitar daños al ambiente:	EL AGUA USADA PARA LAVADO DEBE SER CONTENIDA Y DISPUESTA EN ENVASES PARA SU TRATAMIENTO.

Métodos de limpieza:	LIMPIE CON MATERIAL ABSORBENTE.
Métodos de eliminación de desechos (Envases):	ENVASES Y MATERIAL CONTAMINADO DEBE SER ENVIADO A PLANTA DE TRATAMIENTO DE RESIDUOS AUTORIZADA.

---

### **Sección 7. Manipulación y Almacenamiento**

---

Recomendaciones técnicas:	NO HAY.
Precauciones a tomar:	NO HAY.
Recomendaciones sobre manipulación segura, específicas:	EVITAR SALPICADURAS, USAR PROTECCION PERSONAL ADECUADA Y MANTENER LOS ENVASES CERRADOS HASTA SU UTILIZACION.
Condiciones de almacenamiento:	LOS ENVASES DEBEN SER GUARDADOS CERRADOS ESTANDO O NO EN USO.
Embalajes recomendados y adecuado por el Proveedor:	USAR ENVASES PROPORCIONADOS POR EL PROVEEDOR. NO USAR ENVASES RECICLADOS O QUE PUEDAN CONTENER OTRAS SUSTANCIAS.

---

### **Sección 8. Control de exposición / protección especial**

---

Medidas para reducir la posibilidad de exposición:	MANTENER VENTILACION ADECUADA Y MANTENER LOS LÍMITES DE EXPOSICION ABAJO DE LOS PERMITIDOS.
Parámetros para control:	NO HAY INFORMACION DISPONIBLE.
Límites permisibles ponderados (LPP), Absolutos (LPA) y temporal (LPT): Protección respiratoria:	NO HAY INFORMACIÓN DISPONIBLE. USE RESPIRADORES PURIFICADORES DE AIRE DENTRO DEL LOCAL DONDE SE USA EL PRODUCTO. SI ESTE NO ESTA DISPONIBLE, USE MASCARA DE ROSTRO COMPLETO CON FILTRO PARA POLVOS Y/O NIEBLAS QUÍMICAS.
Guantes de protección:	GUANTES LARGOS DE NEOPRENO.
Protección de la vista:	ANTIPARRAS DE VISION AMPLIA Y PROTECTOR FACIAL.
Otros equipos de protección:	TRAJE CONTRA SALPICADURAS, IMPERMEABLE O PECHERA Y BOTAS DE GOMA. NIVEL B
Ventilación:	DEBE MANTENERSE UNA VENTILACION MECANICA ADECUADA POR DEBAJO DE LOS LIMITES DE EXPOSICION.

General:

EVITAR CONTACTO CON OJOS, PIEL Y ROPA. EVITAR LA CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS, BEBIDAS, RETIRAR LA ROPA CONTAMINADA PUNTUALMENTE Y LIMPIAR ANTES DE REUTILIZACIÓN. LAVAR LAS MANOS DESPUÉS DE MANEJAR EL PRODUCTO, ANTES DE COMER, BEBER O FUMAR. AISLAR TOTALMENTE Y LIMPIAR A FONDO EL EQUIPO, TUBERÍA O RECIPIENTE ANTES DE REALIZAR MANTENCIONES O REPARACIONES. ESTE PRODUCTO PUEDE IRRITAR LA ZONA RESPIRATORIA SUPERIOR SI SE UTILIZA BAJO CONDICIONES QUE CREEN EL POLVO O PARTÍCULAS DE LA NIEBLA.

---

### Sección 9. Propiedades físicas y químicas

---

Estado físico:	LIQUIDO AMBAR
Apariencia y olor:	AMBAR CON OLOR CARACTERISTICO
Concentración:	MEZCLA ACTIVOS MENOR A 40%
PH concentración y temperatura :	4,4 - 4,6
T° específicas y/o intervalos de T°:	FUSIÓN -3°C EBULLICIÓN 101 °C
Punto de inflamación:	NO DISPONIBLE
Límites de inflamabilidad:	NO HAY INFORMACION DISPONIBLE
Temperatura de autoignición:	NO HAY INFORMACION DISPONIBLE
Peligros de Fuego o Explosión:	NO HAY INFORMACIÓN DISPONIBLE
Presión de vapor:	SIMILAR A AGUA
Densidad de vapor:	MENOR A 1,0
Densidad específica 21 °C:	1.15 - 1.25 g/cm3
Solubilidad en agua:	MISCIBLE EN AGUA
Viscosidad (21° C) (Mpa.s):	NO DISPONIBLE

---

### Sección 10. Estabilidad y reactividad

---

Estabilidad:	ESTABLE EN CONDICIONES NORMALES DE USO.
Condiciones que se deben evitar:	NO DISPONIBLE.
Incompatibilidad (materiales que se deben evitar):	NO DISPONIBLE.
Productos peligrosos de la descomposición:	NO DISPONIBLE.
Productos peligrosos de la combustión:	NO DISPONIBLE.
Polimerización peligrosa:	NO OCURRE.

---

## Sección 11. Información Toxicológica

---

Toxicidad a corto plazo:	: IRRITACIÓN
Toxicidad a largo plazo:	: ASMA OCUPACIONAL
Efectos Locales o sistémicos:	: IRRITACIÓN
Sensibilización Alérgica:	: NO HAY INFORMACION DISPONIBLE
Información adicional:	: NO HAY

---

## Sección 12. Información ecológica

---

Inestabilidad:	NO HAY INFORMACION DISPONIBLE
Persistencia / Degradabilidad:	NO PELIGROSO
Bio-Acumulación:	NO PELIGROSO
Efectos sobre el medio ambiente:	NO ESTÁ CLASIFICADO COMO PELIGROSO PARA EL MEDIO AMBIENTE.

BIODEGRADABILIDAD: DQO (mg/g): NO EVALUADO	DBO,5 (mg/g): NO EVALUADO
COT (mg/g): NO EVALUADO	DB 0,28 (mg/g): NO EVALUADO

---

## Sección 13. Consideraciones sobre disposición final

---

Métodos recomendados y aprobados por la normativa chilena para disponer de la sustancia, residuos, desechos: la DISPONER DE ACUERDO A PLAN DE MANEJO ACEPTADO POR AUTORIDAD SANITARIA (D.S. 148).

Métodos recomendados y aprobados por la normativa chilena para la eliminación de envases / embalajes contaminados: ENVIAR A PLANTA DE TRATAMIENTO Y LAVADO DE ENVASES INDICADOS EN PLAN DE MANEJO ACEPTADO POR AUTORIDAD SANITARIA (D.S. 148).

---

## Sección 14. Información sobre transporte

---

Terrestre por carretera o ferrocarril:	NO APLICADO
Vía marítima:	NO APLICADO
Vía aérea:	NO APLICADO
Vía fluvial / lacustre:	NO APLICADO
Distintivos aplicables NCh. 2190:	NO APLICADO
Número NU:	NO APLICADO

---

## Sección 15. Normas vigentes

---

Normas internacionales aplicables:	ACGIH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists; CAS: Chemical Abstracts Service - TSCA:
------------------------------------	---



Todos los componentes de este producto están listados en el Inventario TASCA.. CERCLA y/o SARA REPORTABLE QUANTITY (RQ): Los constituyentes presentes no están reglamentados en la lista OSHA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION: 21CFR176.170 (componentes de papel y embalajes de papel en contacto con alimentos acuosos y grasos). – SARA SECCIÓN 312, CLASE DE RIESGO: El producto no es peligroso conforme las secciones 311/312 - SARA SECCIÓN 302 QUÍMICOS Los constituyentes presentes no están reglamentados en la lista OSHA - SARA SECCIÓN 313 QUÍMICOS: Los constituyentes presentes no están reglamentados en la lista OSHA – MICHIGAN REGULATORY INFORMATION: Los constituyentes presentes no están reglamentados en la lista OSHA - CALIFORNIA REGULATORY INFORMATION: CALIFORNIA SAFE DRINKING WATER AND TOXIC; ACCIÓN LEGAL (PROPOSICIÓN 65) CONSTITUYENTES QUÍMICOS: Los constituyentes presentes no están reglamentados en la lista OSHA.

Normas nacionales aplicables: LAS NORMAS NACIONALES PARA TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE PRODUCTOS PELIGROSOS NO SON APLICABLES PARA ESTE PRODUCTO. NCh 2190.of2003 y NCh 382.

Marca en etiqueta: VER SECCION 3, NO APLICA

---

## Sección 16. Otras informaciones

---

NFPA/HMIS

SALUD: 1 / INFLAMABILIDAD: 0 / REACTIVIDAD: 0 / ESPECIAL: no presenta

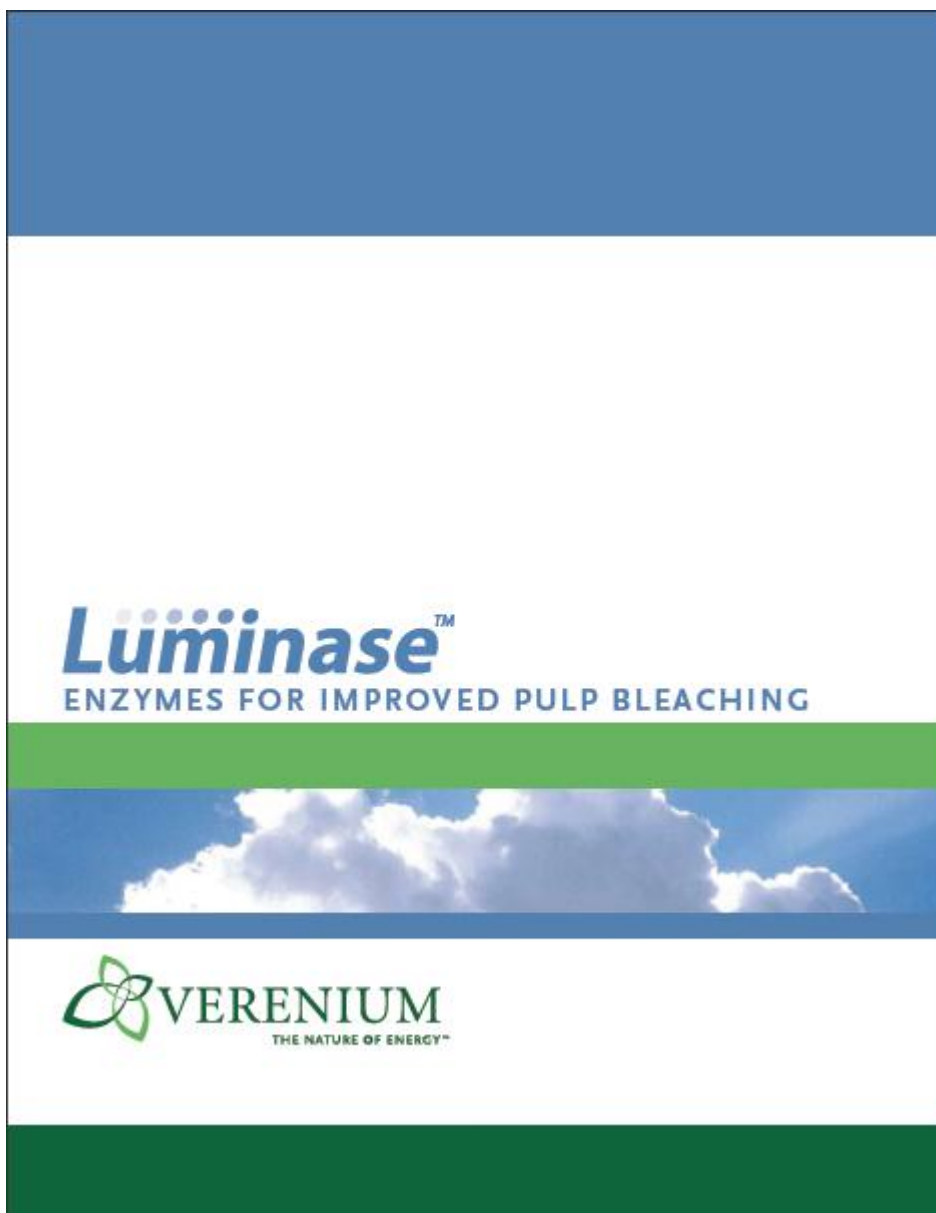
LOS COMPONENTES DEL PRODUCTO NO SON CONSIDERADOS CANCERIGENOS POR LA NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP) E INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC), O POR LA OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH ADMINISTRATION (OSHA)

- ES OBLIGATORIO QUE LAS PERSONAS QUE OPEREN ESTE PRODUCTO LEAN, ESTUDIEN, SE CAPACITEN Y ENTRENEN EN LAS RECOMENDACIONES Y ORIENTACIONES DE LA PRESENTE HOJA DE SEGURIDAD.
- LA INFORMACIÓN DE LA PRESENTE HOJA DE SEGURIDAD NO APLICA EN NINGÚN CASO CUANDO EL PRODUCTO SEA MEZCLADO, COMBINADO, EMULSIONADO U OTRO, CON OTRO PRODUCTOS O PROCESOS.
- ALGUNOS RESULTADOS DE LOS PUNTOS 9, 11 Y 12 FUERON OBTENIDOS EN ENSAYOS REALIZADOS EN LABORATORIOS DE ASHLAND – HERCULES

Los datos consignados en esta Hoja Informativa fueron obtenidos de fuentes confiables. Las opiniones expresadas en este formulario son las de profesionales capacitados. La información que se entrega en él es la conocida actualmente sobre la materia, quedando caduca cualquier versión anterior.

Considerando que el uso de esta información y de los productos está fuera del control del proveedor, la empresa no asume responsabilidad alguna por este concepto. Determinar las condiciones de uso

ANEXO 3: HOJA TÉCNICA DE LA ENZIMA LUMINASE PB 100 (BACTERIANA)



# Luminase™

## ENZYMES FOR IMPROVED PULP BLEACHING



Luminase™ PB-100 and PB-200 enzymes are next-generation, highly thermostable xylanases that enhance the reactivity of pulp fiber to bleaching chemicals, such as chlorine dioxide, ozone, and hydrogen peroxide. These products substantially reduce the required bleaching chemicals and remain active over a wider range of temperature and pH than previous enzymes, so they can be used by more mills. These fast-acting enzymes require less retention time, thus providing greater operational

flexibility for the mill. In addition, Luminase™ enzymes are effective for all types of pulp, expanding the utility and benefit to the pulp mill.

### THE LUMINASE™ ENZYME ADVANTAGE

#### IMPROVES THE COST AND QUALITY OF PULP PROCESSING

- |   |   |
|---|---|
| <b>REDUCE ClO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O USAGE</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Reduces bleaching costs over a wide variety of processes 12-20%</li><li>• Decreases AOX in waste water, reducing environmental burden</li></ul> |
| <b>MORE EFFECTIVE</b>                               | <ul style="list-style-type: none"><li>• Achieves greater ClO<sub>2</sub> reduction than other products</li><li>• Increases maximum brightness of many pulps</li></ul>                   |

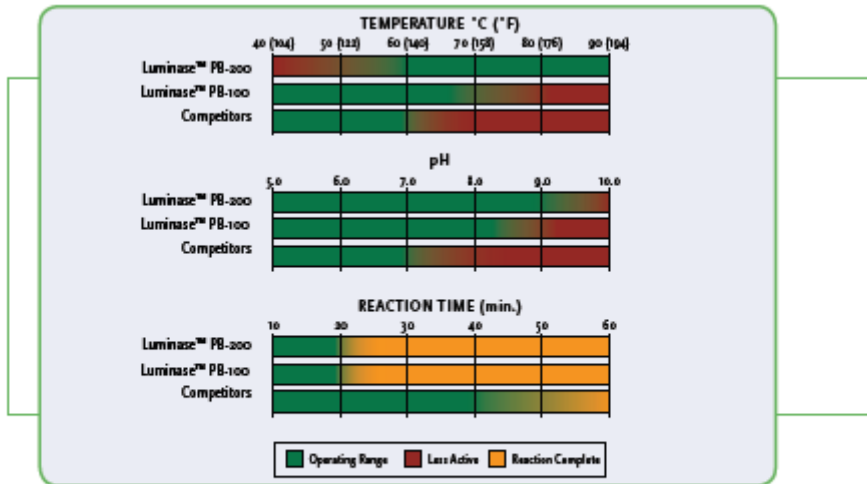
#### EASILY INTEGRATES INTO PULP MILL OPERATIONS

- |                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| <b>FAST ACTING</b>                    | <ul style="list-style-type: none"><li>• Achieves brightness in less time than other enzymes</li><li>• Shorter retention time</li><li>• Increases enzyme feed options</li></ul> |
| <b>BROAD TEMPERATURE AND PH RANGE</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Requires minimal process modification</li><li>• Withstands process variability</li></ul>   |
| <b>BROAD CONSISTENCY RANGE</b>        | <ul style="list-style-type: none"><li>• Performs at various pulp consistencies</li><li>• Increases feed options</li></ul>  |

## WIDE VARIETY OF APPLICATIONS

APPLICATION	LUMINASE™ PB-100	LUMINASE™ PB-200
SOFTWOOD (PINE, SPRUCE, FIR, BLENDS...)	✓	✓
HARDWOOD (EUCALYPTUS, OAK, MIXED, BEECH, ASPEN, MAPLE...)	✓	✓
PRINTING & WRITING	✓	✓
MARKET PULP	✓	✓
HYGIENE PULP	✓	✓
CONTAINER BOARD	✓	✓
PACKAGING	✓	✓

## BROAD OPERATING RANGE



# Luminase™

## ENZYMES FOR IMPROVED PULP BLEACHING

### SPECIFICATIONS

#### CHARACTERISTICS

- Endo-1,4-β glucanase (EC 3.2.1.4)
- Formulated liquid
- Active Temperature: Luminase™ PB-100 / 40° - 70 °C (104° - 158°C); Luminase™ PB-200 / 60° - 90 °C (140° - 194°C)
- Active pH: Luminase™ PB-100 / 5.0 - 8.0; Luminase™ PB-200 / 5.0 - 9.0
- Dilution: This product may be diluted with water for immediate use

#### PACKAGE SIZES

- Luminase™ enzymes are available in 1,000 kg recyclable polypropylene containers.

#### STORAGE AND STABILITY

- Recommended Storage Conditions: For best results store in tightly sealed containers at 39° - 46 °F (4° - 8 °C)
- Shelf Life: Minimum of 1 year if stored unopened at 39° - 46°F (4° - 8°C); 6 months if stored unopened at 71°F (22 °C)

#### SAFETY

- Please consult Material Safety Data Sheet before using

#### FOR INDUSTRIAL USE ONLY

### CONTACT INFORMATION

#### Verenium Customer Service

858.526.5000 or 800.523.3990 (8 a.m. - 5 p.m. P.S.T.)

4955 Directors Place

San Diego CA 92121

[www.verenium.com](http://www.verenium.com)

[enzymes@verenium.com](mailto:enzymes@verenium.com)

FOR INDUSTRIAL USE ONLY: The information contained herein is based on data considered accurate with representative samples. It does not constitute an offering, approval, or implied, regarding the accuracy of the advice or the results to be obtained from the use thereof. The advice does not constitute a guarantee for this product. Verenium assumes no responsibility for personal injury or property damage or liability, in any criminal proceeding, caused by the use of this product. Verenium and its agents are not liable for the use of the material. Consult the Materials and Safety Data Sheet before using the product. Working hazards shall be considered as a recommendation for use, which would infringe the intellectual property rights of third parties, nor as a warning or approval or implied. Verenium makes no warranty, VERENIUM, LUMINASE™, and the Verenium corporate logo and Luminase logo are registered trademarks or trademarks of Verenium Corporation in the U.S. and/or other countries. Copyright © 2010 Verenium Corporation.



Verenium Corporation 4955 Directors Place San Diego CA 92121  
phone: 858.526.5000 fax: 858.526.5551 [enzymes@verenium.com](mailto:enzymes@verenium.com) [www.verenium.com](http://www.verenium.com)

V-2010.1

## ANEXO 4: COMPARACIÓN DE RESULTADOS PRIMER ENSAYO DE LABORATORIO ENTRE EFECTO DE LAS ENZIMAS FUNGAL Y BACTERIANA.

### DETALLE DELBLANQUEO CON ENZIMAS FUNGAL Y BACTERIANA

<b>ETAPA ENZIMATICA</b>		<b>Pulpa de Referencia</b>	<b>Pulpa c/Enzima Infinity PS4540</b>	<b>Pulpa c/Enzima Luminase PB100</b>
Fecha : 20/10/2010				
Kappa inicial	Nº	10,8	10,8	10,8
Temperatura	ºC	70	70	70
Enzima		Referencia	Infinity PS4546	Luminase PB100
Dosificación enzima	g/ton	0	200	200
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Ajuste pH)	kg/BDt	0,53	0,51	0,51
Tiempo tratamiento enzima	min	90	90	90
Agitación		cada 10 min	cada 10 min	cada 10 min
Pulpa Húmeda	g	1114	1114	1114
Pulpa Seca	g	250	250	250
Consistencia	%	22,4	22,4	22,4
Concentración H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	g/l	10,2	10,2	10,2
Adición de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ajuste pH	ml	13,0	12,5	12,5
Concentración enzima	% P/V	1,0	1,0	1,0
Adición Solución de enzima	ml	0	5,0	5,0
Agua Total	ml	2500	2500	2500
Agua Real	ml	1373	1368	1368
pH Entrada		6,8	6,9	6,9
pH Salida		7,0	7,1	7,0
DQO	ppm	552	556	612
Color Verdadero	mg/l Pt-Co	491	522	477
Kappa Final	Nº	10,5	10,4	10,3
Viscosidad intrínseca	cm <sup>3</sup> /g	954	962	950
Rendimiento etapa	%	98,5	98,3	98,4
<b>ETAPA DO</b>		<b>Pulpa de Referencia</b>	<b>Pulpa c/Enzima Infinity PS4540</b>	<b>Pulpa c/Enzima Luminase PB100</b>
Kappa inicial	Nº	10,5	10,4	10,3
Factor Kappa		0,18	0,18	0,18

Dióxido cloro	kg/BDt	7,9	7,7	7,7
Carga de NaOH	kg/BDt	4,0	4,0	4,0
Temperatura	°C	70	70	70
Tiempo reacción	min	50	50	50
Consistencia	%	10	10	10
Pulpa Húmeda	g	1195	1191	1117
Pulpa seca	g	234	233	226
Consistencia	%	19,6	19,5	20,3
Concentración NaOH	g/l	43,9	43,9	43,9
Adición de NaOH	ml	21,3	21,2	20,6
Concentración ClO <sub>2</sub>	g/l	10,3	10,3	10,3
Adición de ClO <sub>2</sub>	ml	179,2	174,0	169,2
Agua total	ml	2337	2328	2263
Agua real	ml	942,0	941,3	955,8
pH entrada		5,2	5,0	4,8
pH salida		4,1	4,1	4,3
Residual de ClO <sub>2</sub>	kg/BDt	0,3	0,3	0,4
DQO	ppm	1031	1038	1025
Color verdadero	mg/l Pt-Co	358	300	390
Rendimiento	%	98,7	98,5	98,9
<b>ETAPA EOP</b>		<b>Pulpa de Referencia</b>	<b>Pulpa c/Enzima Infinity PS4540</b>	<b>Pulpa c/Enzima Luminase PB100</b>
Carga de NaOH	kg/BDt	13,3	13,3	13,3
Peróxido de hidrógeno	kg/BDt	3,3	3,3	3,3
Temperatura	°C	85	85	85
Oxígeno	Bar	3	3	3
Tiempo Oxígeno	min	10	10	10
Tiempo baño	min	60	60	60
Consistencia	%	10	10	10
Pulpa húmeda	g	1005,0	1101,4	1009,5
Pulpa seca	g	228,6	227,9	221,9
Consistencia	%	22,75	20,69	21,98
Concentración peróxido	g/l	23,3	23,3	23,3

Adición de peróxido	ml	32,3	32,3	31,4
Concentración NaOH	g/l	43,9	43,9	43,9
Adición de NaOH	ml	69,3	69,1	67,3
Agua total	ml	2286,0	2279,0	2219,0
Agua real	ml	1179,4	1076,3	1110,8
pH salida		11,4	11,2	11,2
Microkappa	Nº	2,3	2,0	2,1
Blancura ISO	%	75,0	76,4	72,3
DQO	ppm	1014	998	1019
Color verdadero	mg/l Pt-Co	345	298	389
Rendimiento	%	98,7	98,9	98,5
<b>ETAPA D1</b>		<b>Pulpa de Referencia</b>	<b>Pulpa c/Enzima Infinity PS4540</b>	<b>Pulpa c/Enzima Luminase PB100</b>
Dióxido Cloro	kg/BDt	4,3	3,7	3,9
Carga de NaOH	kg/BDt	1,9	1,5	1,7
Temperatura	°C	72	72	72
Tiempo	min	180	180	180
Consistencia	%	10	10	10
Pulpa húmeda (g)	g	826,4	838,3	940,6
Pulpa seca (g)	g	209,1	209,4	202,8
Consistencia	%	25,3	24,98	21,56
Concentración ClO <sub>2</sub>	%	10,3	10,3	10,3
Adición de ClO <sub>2</sub>	ml	87,3	75,2	76,8
Concentración NaOH	g/l	43,88	43,88	43,88
Adición de NaOH	ml	9,1	7,2	7,9
Agua total	ml	2091	2094	2028
Agua real	ml	1168,2	1173,3	1002,7
pH salida		4,1	4,3	4,3
Residual de ClO <sub>2</sub> (Kg/BDT)		T	0	0
DQO (ppm)		488	437	487
Blancura ISO		83,7	84,2	82,9
Color verdadero mg/l Pt/Co		71	58	84



Rendimiento (%)		99,0	99,5	98,4
<b>ETAPA D2</b>		<b>Pulpa de Referencia</b>	<b>Pulpa c/Enzima Infinity PS4540</b>	<b>Pulpa c/Enzima Luminase PB100</b>
Dióxido cloro	kg/BDt	2,6	2,1	3,1
Carga de NaOH	kg/BDt	1,5	0,7	1,9
Temperatura	°C	72	72	72
Tiempo	min	180	180	180
Consistencia	%	10,0	10,0	10,0
Pulpa húmeda	g	470,4	476,0	427,2
Pulpa seca	g	97,1	100,0	89,8
Consistencia	%	20,6	21,0	21,0
Concentración ClO <sub>2</sub>	%	10,0	10,1	10,0
Adición de ClO <sub>2</sub>	ml	25,3	20,8	27,8
Concentración NaOH	g/l	43,88	43,88	43,88
Adición de NaOH	ml	3,3	1,6	3,9
Agua total	ml	971	1000	898
Agua real	ml	472,0	502,0	439,1
pH Salida		4,3	4,0	4,3
Residual de ClO <sub>2</sub>	kg/BDt	0,3	0,2	0,3
DQO	ppm	191	203	218
Blancura ISO	%	88,8	89,2	89,0
Color verdadero	mg/l Pt-Co	23	30	43
Viscosidad intrínseca	cm <sup>3</sup> /g	889	820	826
Rendimiento	%	99,7	99,4	99,6

## AMBIENTAL

Etapa Enzimática		Referencia	Infinity PS4540	Luminase PB100
DQO	ppm	552	556	612
Color Verdadero	mg/l Pt-Co	491	522	477
Etapa Do				
DQO	ppm	1031	1038	1025
Color Verdadero	mg/l Pt-Co	358	300	390
Etapa Eop				
DQO	ppm	1014	998	1019
Color Verdadero	mg/l Pt-Co	345	298	389
Etapa D1				
DQO	ppm	488	437	487
Color Verdadero	mg/l Pt-Co	71	58	84
Etapa D2				
DQO	ppm	191	203	218
Color Verdadero	mg/l Pt-Co	23	30	43

## REFINACIÓN PFI

Evaluación a 25°SR	revs PFI	Referencia	Infinity PS4540	Luminase PB100
Drenabilidad ° SR	0	13	12	12
	500	14	13	13,5
	5000	20	19	19,5
	8000	32	29,5	28
	I. Tensión Nm/g	0	14,4	13,7
	500	35,1	32,49	35,9
	5000	90,9	86,97	86,8
	8000	94,3	94,84	91,5
	I. Explosión kPam2/g	0	0,9	0,9
	500	2,6	2,4	2,8
	5000	7,9	7,3	7,3
	8000	8,3	8,0	7,7
	I. Rasgado mNm2/g	0	11,2	11,2
	500	20,8	22,2	21,3
	5000	10,6	10,4	10,0
	8000	9,1	9,2	9,1
	Por. Gurley seg/100 ml	0	0,3	0,4
	500	0,8	0,6	0,8
	5000	10,1	6,3	9,5
	8000	54,8	32,9	45,6
	Vol. Especif. cm3/g	0	2,3	2,2
	500	1,8	1,9	1,7
	5000	1,4	1,4	1,3
	8000	1,3	1,3	1,3
	Opacidad %	0	75,5	75,6
	500	71,8	73,3	72,4
	5000	60,9	62,2	61
	8000	58,4	59,8	59
	TEA J/g	0	10,92	10,8
	500	47,05	42,6	52,1
	5000	153,6	140,1	143,2
	8000	153,2	157,6	155,5

**ANEXO 5: RESULTADOS SEGUNDO ENSAYO DE LABORATORIO CON ENZIMA FUNGAL**

ETAPA DE ENZIMA			
Fecha : 03 /12/2010	Unidad	Referencia	c/Enzima PS4540
Numeral	-	-	-
Kappa inicial	-	9,3	9,3
T	°C	75	75
Dosificación Enzima	Kg/BDt	0	0,2
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ajuste pH	Kg/BDT	0,38	0,38
Tiempo reacción	min	150	150
pH Entrada	-	7,14	7,13
pH Salida	-	7,2	7,1
DQO	ppm mg	291	1234
Color Verdadero	Pt/Co/l	396	1089
Kappa término etapa	-	8,9	7,8
Viscosidad	cm <sup>3</sup> /g	918	934
Rendimiento	%	99,7	99,9

ETAPA DE Do				
-------------	--	--	--	--

Fecha : 03 /12/2010	Unidad	Referencia	c/ Infinity PS4540	c/EnzimaP S4540
Kappa	-	8,9	7,8	7,8
Numeral	-	0,16	0,16	0,14
Dioxido Cloro	Kg/BDT	5,4	4,7	4,2
Carga de NaOH	Kg/BDT	1,6	1,6	1
pH Entrada	-	5	5	4,9
pH Salida	-	3,9	4	3,8
Residual de ClO <sub>2</sub>	Kg/BDT	0,01	0,08	0,05
DQO	ppm mg	796	776	694
Color Verdadero	Pt/Co/l	467	382	387
Rendimiento	%	99,2	99	99

ETAPA Eop				
Fecha : 03 /12/2010	Unidad	Referencia	c/Enzima PS4540	c/Enzima PS4540
Numeral	-	0,16	0,16	0,14
Carga de NaOH	Kg/BDT	12	12	12
Peroxido	Kg/BDT	3	3	3
Temperatura	°C	85	85	85
Oxigeno	Bar	3	3	3
Tiempo Oxigeno	min	10	10	10
Tiempo Baño	min	60	60	60
Consistencia	%	10	10	10
pH Salida	-	11,1	11,2	11,1
Microkappa		2,7	2,4	2,7
Blancura	% ISO	76,5	77,5	76,5
DQO	ppm	562	695	672
Color Verdadero	mg Pt/Co/l	303	339	346
Rendimiento	%	98,2	98,8	98,4

ETAPA D<sub>1</sub>

Fecha : 03/12/2010	Unidad	Referencia FK 0,16	c/Enzima PS 4540 FK 0,16	c/Enzima PS 4540 FK 0,16 (Adic. ClO <sub>2</sub> igual a ref.)	c/enzima PS 4540 FK 0,16	c/enzima PS 4540 FK 0,14
		A	B	C	D	E
MicroKappa de EOP	-	2,7	2,4	2,4	2,4	2,7
Dioxido Cloro	Kg/BDT	5,3	4,7	5,3	4,7	5,3
Carga de NaOH	Kg/BDT	2	1,6	2	1,6	2
Temperatura	°C	72	72	72	72	72
Tiempo	min	180	180	180	180	180
Consistencia	%	10	10	10	10	10
pH Salida	-	4	3,9	3,8	3,9	3,8
Residual de ClO <sub>2</sub>	Kg/BDT	0,1	0,07	0,07	0,07	0,07
Blancura	% ISO	85,8	86,6	87,4	86,8	86,6
DQO	ppm mg	297	261	269	257	276
Color Verdadero	Pt/Co/l	73,4	68,4	55	57,1	63,7
Rendimiento	%	99,2	98,9	98,9	98,7	99,2

ETAPA D<sub>2</sub>

Fecha : 03 /12/2010	Unidad	Referencia	c/Enzima PS 4540	c/Enzima PS 4540 (Adic. ClO <sub>2</sub> igual a ref.)	c/enzima PS 4540	c/enzima PS 4540
		A	B	C	D	E
Factor Kappa		0,16	0,16	0,16	0,16	0,14
Dioxido Cloro	Kg/BDT	3,1	2,8	3,1	2,9	2,9
Carga de NaOH	Kg/BDT	1,6	1,5	1,6	1,5	1,3
pH Salida		4,1	4	4,1	4	4
Residual de ClO <sub>2</sub>	Kg/BDT	0,33	0,33	0,6	0,3	0,35
DQO	ppm	147	137	136	136	135
Blancura	% ISO mg	90	90,4	90,2	90	89,9
Color Verdadero	Pt/Co/l	15,8	13,2	15,2	19,4	27,2
Viscosidad	cm <sup>3</sup> /g	841	842	852	858	853
Rendimiento	%	99,5	99,8	99,4	99,8	99,8

RESUMEN CONSUMOS ETAPA EZIMATICA Y BLANQUEO
---

Fecha : 03 /12/2010	Unidad	Referencia	c/Enzima PS4540	c/Enzima PS4540	c/enzima PS 4540	c/Enzima PS4540
		A	B	C	D	E
Factor Kappa	-	0,16	0,16	0,16	0,16	0,14
Enzima	Kg/BDT	0	0,2	0,2	0,2	0,2
Dioxido Cloro	Kg/BDT	13,8	12,2	13,1	12,3	12,4
Soda	Kg/BDT	17,2	16,7	17,2	16,7	16,3
Peroxido	kg/BDT	3	3	3	3	3
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Ajuste pH)	Kg/BDT	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Rendimiento total	%	95,8	96,4	96	96,2	96,3

REDUCCION CONSUMO ClO <sub>2</sub>	Kg/BDT	0	1,6	0,7	1,5	1,4
	Kg/ADT	0	1,44	0,63	1,35	1,26



## **ANEXO 6: PRESENTACIÓN DE RESULTADOS DEL SEGUNDO ENSAYO DE LABORATORIO.**

USO DE ENZIMAS EN PULPA PINO EN LABORATORIO

**IMPACTO DEL USO DE ENZIMAS EN EL CONSUMO DE QUIMICOS EN EL BLANQUEO  
DE PULPA DE PINO EN LA PLANTA VALDIVIA**

USO DE ENZIMAS EN PULPA PINO EN LABORATORIO

**El estudio del efecto de la enzima se abordará en dos etapas :**

**ETAPA 1 : ESTUDIO EN LABORATORIO**

**ETAPA 2: PRUEBA INDUSTRIAL EN PLANTA VALDIVIA**

**ETAPA 1:**  
**ESTUDIO DE LABORATORIO**

**Objetivo:**

**Determinar la efectividad, a nivel de laboratorio, del uso de enzimas como tratamiento de la pulpa de pino de la planta de Valdivia en la reducción del consumo de químicos de blanqueo.**

**Introducción:**

La motivación por determinar el impacto del uso de enzimas en el blanqueo de pulpa de pino se centra en la expectativa de reducción de consumo de dióxido de cloro en la secuencia de blanqueo de la planta Valdivia:

Do – Eop – D1 – D2

debido a que un pretratamiento con xilanasa puede aumentar la deslignificación de la pulpa en etapas posteriores de blanqueo<sup>(1)</sup>.

**Resultados a considerar:**

Los resultados que se obtengan desde el laboratorio de Bioforest serán evaluados bajo los siguientes criterios, referidos a la pulpa de pino blanqueada como referencia:

- 1.- Consumo unitarios de químicos en blanqueo.
- 2.- Balance costo beneficio del proceso.
- 3.- Del impacto en los efluentes del área.
- 4.- De las características físicas de la pulpa
- 5.- De las propiedades físicas y fisicomecánicas de la pulpa blanqueada.
- 6.- De las opciones técnico económicas

**Metodología:**

Blanquear pulpa de pino e el laboratorio, tomada desde la salida de la prensa post oxígeno de la planta Valdivia, preparar una referencia con la secuencia: Do – Eop - E1 – D2, y compararla con:

- 1.- Dos secuencias con la participación de la enzima fungal, una con Factor Kappa de 0,16 y la otra con 0,14.
- 2.- Una secuencia con F. Kappa 0,16 manteniendo las adiciones de ClO<sub>2</sub> en D1 y D2 iguales a la pulpa de referencia.

**Metodología (cont.):**

**Bajo las condiciones de trabajo mostradas en la tabla 1, propuestas por el proveedor.**

Tabla 1: condiciones generales de operación con enzima

Condiciones de trabajo	Unidad	Valor
Temperatura	°C	75
pH		7,0
Presión	Bar	Atmosférica
Consistencia	%	9-10
Dosificación	g/BDt	200
Tiempo de reacción	min	150

**Resultados:**

**1- Consumo unitarios de químicos en blanqueo.**

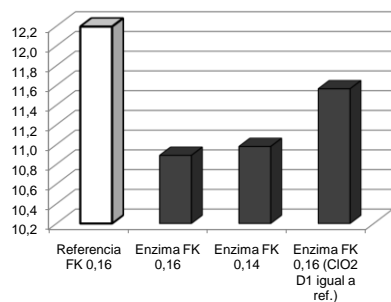
Tabla 2.- Consumo de dióxido de cloro total

		Referencia FK 0,16	Enzima FK 0,16	Enzima FK 0,14	Enzima FK 0,16 (ClO2 D1 igual a ref.)
Enzima fungal	Kg/ADt	0	0,18	0,18	0,18
Dioxido Cloro total	Kg ClO2/ADt	12,2	10,9	11,0	11,6
Reducción consumo ClO2	Kg ClO2/ADt		1,3	1,20	0,60
Reducción consumo ClO2	%		10,7	9,8	4,9

**Resultados:**

**1- Consumo unitarios de químicos en blanqueo.**

Fig. 1.- Dioxido Cloro total, (Kg/ADt)

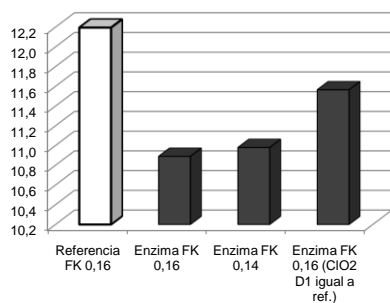


1.- Con el pre tratamiento de la pulpa cruda de pino, de la planta Valdivia, ve reducido el consumo de dióxido de cloro al incorporar al proceso una etapa, post oxígeno, con la enzima fungal.

## Resultados:

## 1- Consumo unitarios de químicos en blanqueo (cont.).

Fig. 1.- Dioxido Cloro total, (Kg/ADt)

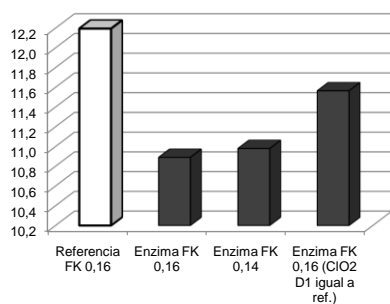


2.- Para la adición de 0,18 Kg enzima/ADt, y un factor kappa de 0,14 se genera un aumento de consumo de dióxido de cloro, en la etapa D1, necesario para compensar pérdida de blancura en comparación con factor Kappa 0,16

## Resultados:

## 1- Consumo unitarios de químicos en blanqueo (cont.).

Fig. 1.- Dioxido Cloro total, (Kg/ADt)

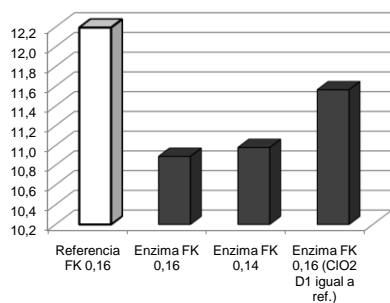


3.- Para la adición de 0,18 Kg enzima/ADt, con factor kappa 0,16 y una adición de dióxido de cloro en D1 y D2 igual al de la referencia sólo se obtiene un incremento en la blancura final de 0,2 %ISO, lo que no justifica la operación.

**Resultados:**

**1- Consumo unitarios de químicos en blanqueo (cont.).**

Fig. 1.- Dioxido Cloro total, (Kg/ADt)



4.- Para la pulpa de referencia, pino de planta Valdivia, el consumo de dióxido de cloro alcanzó a 12,2 Kg ClO<sub>2</sub>/ADT para obtener una blancura final de 89,9 %ISO.

**\*Resultados:**

**1- Consumo unitarios de químicos en blanqueo (cont.).**

Tabla 3.- Consumo de químicos en blanqueo

	Referencia FK 0,16	Enzima FK 0,16
Enzima fungal, Kg/ADt	0	0,18
Dioxido Cloro total, (Kg/Adt)	12,2	10,9
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Ajuste pH),Kg/ADT)	0,34	0,34
NaOH (Kg/ADT)	15,3	14,9
Peroxido (kg/ADT)	2,7	2,7
Blancura, % ISO	89,4	89,9

El pretratamiento de la pulpa de pino con enzimas, permite un ahorro de:

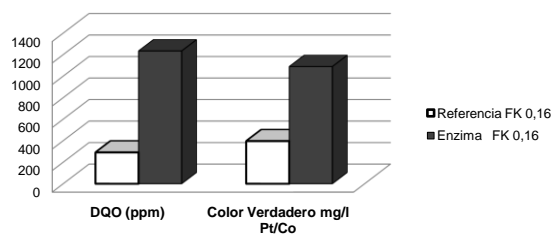
Dióxido de cloro, Kg/ADt : 1,3 KgClO<sub>2</sub>/Adt  
 Soda, Kg /ADt : 0,4 KgNaOH/Adt

Para un aumento de blancura de 0,5 %ISO, que genera un aumento de costo de blanqueo de 0,09 US\$/ADt

**Resultados:****3.- Del impacto en los efluentes del área.****Tabla 8.- Impacto del tratamiento con enzimas en el efluente**

	Referencia FK 0,16	Enzima FK 0,16
Enzima fungal, Kg/ADt	0	0,18
DQO (ppm)	291	1.234
Color Verdadero mg/l Pt/Co	396	1.089

La acción de la enzima (xilanasas) generó un alto valor de DQO y de Color, lo cual es consistente con la literatura, al asociar la acción de la enzima a la eliminación de hemicelulosas con grupos cromóforos. Es decir, la xilanasas actuando sobre los xilanos<sup>(2)</sup>.

**Resultados:****3.- Del impacto en los efluentes del área (cont.).****Fig.3.- Aumento en la DQO y color en el efluente**

Situación que debe evaluarse desde el punto de vista de capacidad del sistema de tratamiento de efluentes.



**Resultados:**

**4.- De las características físicas de la pulpa**

Tabla 9.- Características de la pulpa tratada.

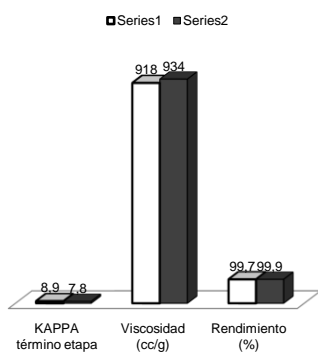
ETAPA DE ENZIMA		
	Pulpa de Referencia	Pulpa c/Enzima fungal
Kappa inicial	9,3	9,3
Dosificación Enzima (Kg/BDt)	0,00	0,20
KAPPA término etapa	8,9	7,8
Viscosidad (cc/g)	918	934
Rendimiento (%)	99,7	99,9

La pulpa tratada no sufre deterioro, lo que se muestra en que no hubo ni pérdida de viscosidad ni deterioro en el rendimiento del proceso.

**Resultados:**

**4.- De las características físicas de la pulpa**

Fig. 4.- Características de la pulpa



La diferencia entre la pulpa de referencia y la tratada se encuentra en el valor de Kappa.

El Kappa post enzima es menor debido a la hidrólisis de los xilanos depositados en la superficie de la fibra, promovida por la xilanasa (3).

## ANEXO 7: BLANQUEO DE LABORATORIO CON Y SIN ENZIMA FUNGAL

<b>ETAPA DE ENZIMA</b>			
<b>Fecha 03.12.2010</b>	<b>Unidad</b>	<b>Referencia</b>	<b>c/Enzima PS4540</b>
Kappa inicial		9,3	9,3
Temperatura	°C	75	75
Adición enzima	Kg/BDt	0	0,2
Tiempo de reacción	min	150	150
pH entrada		7,1	7,1
pH salida		7,2	7,1
DQO	ppm	291	1.234
Color verdadero	mg Pt/Co/l	396	1.089
Kappa término etapa		8,9	7,8
Viscosidad intrínseca	cm <sup>3</sup> /g	918	934
Rendimiento	%	99,7	99,9

<b>ETAPA D1</b>			
<b>Fecha 03.12.2010</b>	<b>Unidad</b>	<b>Referencia</b>	<b>c/Enzima PS4540</b>
Kappa	-	8,9	7,8
Factor Kappa	-	0,16	0,16
Dióxido de cloro	Kg/BDt	5,4	4,7
Soda,	Kg/BDt	1,6	1,6
pH entrada	-	5	5
pH salida	-	3,9	4
Residual dióxido de cloro	Kg/BDt	0,01	0,08
DQO	ppm	796	776
Color verdadero	mg Pt/Co/l	46,7	382
Rendimiento	%	99,2	99

<b>ETAPA Eop</b>			
<b>Fecha 03.12.2010</b>	<b>Unidad</b>	<b>Referencia</b>	<b>c/Enzima PS4540</b>
Soda	Kg/BDT	12	12
Peróxido de hidrógeno	Kg/BDT	3	3
Temperatura	°C	85	85
Oxígeno	Kg/BDt	3	3
Tiempo oxígeno	min	10	10
Tiempo baño	min	60	60
Consistencia	%	10	10
pH salida	-	11,1	11,2
Microkappa	-	2,7	2,4
Blancura	%ISO	76,5	77,5
DQO	ppm	562	695
Color verdadero	mg	303	339
Rendimiento	Pt/Co/l %	98,2	98,8

<b>ETAPA D<sub>1</sub></b>			
<b>Fecha 03.12.2010</b>	<b>Unidad</b>	<b>Referencia</b>	<b>c/Enzima PS4540</b>
Microkappa		2,7	2,4
Dióxido de cloro	Kg/BDT	5,3	4,7
Soda	Kg/BDT	2	1,6
Temperatura	°C	72	72
Tiempo	min	180	180
Consistencia	%	10	10
pH salida		4	3,9
Residual dióxido de cloro	Kg/BDT	0,1	0,07
Blancura	% ISO	85,8	86,6
DQO	ppm	297	261
Color verdadero	mg Pt/Co/l	73,4	68,4

<b>Etapa D<sub>2</sub></b>			
<b>Fecha 03.12.2010</b>	<b>Unidad</b>	<b>Referencia</b>	<b>c/Enzima PS4540</b>
Dióxido de cloro	Kg/BDt	3,1	2,8
Soda	Kg/BDt	1,6	1,5
pH salida		4,1	4
Residual dióxido de cloro	Kg/BDt	0,33	1,33
DQO	ppm	147	137
Blancura	%ISO	90	90,4
Color verdadero	mg Pt/Co/l	15,8	13,2
Viscosidad intrínseca	cm <sup>3</sup> /g	841	842
Rendimiento	%	99,5	99,8

**PROPIEDADES FÍSICO MECÁNICAS (PULPA DE LABORATORIO)**

**REFERENCIA**

<b>Revoluciones</b>	<b>rev.</b>	<b>0</b>	<b>500</b>	<b>5.000</b>	<b>6.700</b>	<b>8.000</b>
Drenabilidad	°SR	11	12	19,5	25	30
Índice de tensión	Nm/g		36	87,8	93	92,5
Índice de explosión	KPa	0,9	2,8	7,3	7,9	8
Índice de rasgado	mN m <sup>2</sup> /g	13,5	21,6	10,2	9	9,1
Porosidad gurley	s/100 ml	0,3	1	10,7	12,5	41,4
Volumen específico	cm <sup>3</sup> /g	2,2	1,64	1,34	1,3	1,29
Opacidad	%	73	68,3	56,5	54,5	53,7
Coef. De dispersión		32,8	25,9	15,7	14,5	14
Coef. De absorción		0,09	0,1	0,11	0,11	0,11
Elongación	%		3,9	3,9	4	3,9
Absorción de agua		107	70	26	19,5	18
TEA	J/g		0,79	2,33	2,45	2,4
Energía efec.refinac.	Wh	0	0	56	78	93

**TRATADA CON 0,20 Kg/BDT DE ENZIMA FUNGAL PS 4540**

<b>Revoluciones</b>	<b>Revoluc.</b>	<b>0</b>	<b>500</b>	<b>5.000</b>	<b>7.650</b>	<b>8.000</b>
Drenabilidad	°SR	11	12	18	25	26
Índice de tensión	Nm/g	13,6	34,7	84,3	90,5	90,8
Índice de explosión	KPa	0,8	2,5	6,8	7,4	7,4
Índice de rasgado	mN m <sup>2</sup> /g	11	21,9	10,8	9,8	9,9
Porosidad gurley	s/100 ml	0,3	0,8	10,8	16,5	36,2
Volumen específico	cm <sup>3</sup> /g	2,19	1,65	1,34	1,3	1,3
Opacidad	%	73,0	68,4	57,1	54,5	54,5
Coef. De dispersión		32,9	26,2	16	14,5	14,5
Coef. De absorción		0,09	0,1	0,11	0,11	0,11
Elongación	%	1,6	2,9	3,6	3,8	3,8
Absorción de agua		115	76	34	23	22
TEA,	J/g	0,17	0,78	2,08	2,35	2,39
Energía efec.refinación	Wh	0	6	60	93	98

**ANEXO 8: INFLUENCIA DE LA ENZIMA FUNGAL EN EL KAPPA PRE BLANQUEO**

Kappa pre tratamiento		9,8		11,2		12,7		14,0	
	unidad	Ref.	Enz.	Ref.	Enz.	Ref.	Enz.	Ref.	Enz.
Enzima	Kg/BD	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,1
Tiempo	T	240	240	240	240	240	240	240	240
Temperatura	min.	70	70	70	70	70	70	70	70
Á. sulfúrico	°C	0,55	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Consistencia	Kg/BD	10	10	10	10	10	10	10	10
pH entrada	T	6,6	6,9	7,0	7,0	7,0	7,0	6,9	7,0
	%								
pH salida		6,7	7,0	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3
Viscos.int.	g/cm <sup>3</sup>	886	883	907	894	907	899	957	957
Blancura	%ISO	43,5	42,7	40,7	40,5	39,4	39,2	36,6	36,6
Lignina insol	%	0,15	0,11	1,3	1,5	1,6	1,7	6,45	6,35
Kappa salida		9,7	9,6	11,1	11,1	12,1	12,1	13,3	13,3

**ANEXO 9: BLANQUEO INDUSTRIAL DE LA PULPA DE REFERENCIA Y CON ENZIMA FUNGAL**

Datos operacionales desde prueba industrial con 0,1 Kg enz./ADt					
		Referencia		Con enzima fungal	
Item	ud.	Prom.	Desvest	Prom.	Desvest
Producción blanqueo	ADT/d	1.810	45,1	1.810	36
Nivel torre AD café	%	39,6	12,7	42,9	2,9
Temperatura torre AD café	°C	-	-	71,7	0
pH torre AD café	-	-	-	7,3	0,2
Kappa pre etapa O <sub>2</sub>	-	26,3	8,9	26,2	0,7
DQO,	Kg/ADT	7,6	1,9	12,0	0,9
Kappa hacia blanqueo	-	10,6	3,7	9,9	0,2
Grado de deslignificación	%	59,5	2,7	62,3	0,5
Etapa D <sub>0</sub>					
Dióxido de cloro	Kg/ADT	7,8	2,5	7,0	0,3
pH D <sub>0</sub>	-	3,0	0,9	3,0	0,1
Temperatura	°C	58,0	0,1	58,0	0,1
Ácido sulfúrico	Kg/ADT	4,6	1,5	5,4	0,5
Etapa E <sub>op</sub>					
Microkappa	-	1,9	0,8	2,1	0,1

Blancura	% ISO	71,6	0,9	71,5	0,4
Oxígeno	Kg/ADT	5,0	1,4	4,3	0,2
Peróxido de hidrógeno	Kg/ADT	4,1	1,1	3,4	0,1
Soda	Kg/ADT	10,6	3,5	10,0	0,5
Etapa D <sub>1</sub>					
Soda	Kg/ADT	1,9	0,2	1,7	0,1
pH	-	4,5	0,1	4,1	0,2
Dióxido de cloro	Kg/ADT	6,7	0,3	6,8	0,1
Residual	ppm	56,1	13,8	43,3	10,1
Blancura	%ISO	86,7	1,2	86,7	0,3
Etapa D <sub>2</sub>					
Soda	Kg/ADT	1,5	0,5	1,4	0
pH	-	4,2	1,3	4,1	0,2
Dióxido de cloro	Kg/ADT	2,2	0,6	2,1	0
Residual	ppm	19,3	7,7	51,7	5,6
Blancura	%ISO	89,0	0,5	88,9	0,2



## ANEXO 10: IMPACTO DE LAS ENZIMAS EN LA VISCOSIDAD DE LA PULPA INDUSTRIAL

REFERENCIA														
		15/01	16/01	17/01	18/01	19/01	20/01	21/01	22/01	23/01	prom	desv	n	Int. Conf.
Viscosidad	cm <sup>3</sup> /g	727	720	708	751	743	751	737	740	738	735	14,3	9	9
CON ENZIMA														
		25/01	27/01	28/01	29/01					prom	desv	n	Int. Conf.	
Viscosidad	cm <sup>3</sup> /g	769	773	785	764					773	9,0	4	9	

## ANEXO 11: PROPIEDADES FÍSICO MECÁNICAS DE PULPA INDUSTRIAL CON Y SIN ENZIMAS

DATOS OPERACIONALES PARA REFERENCIA														
Propiedades Fisicomecánicas y biométricas de la pulpa secada.														
		15/01	16/01	17/01	18/01	19/01	20/01	21/01	22/01	23/01	prom	desv	n	Int conf.
<b>Revoluciones PFI a 25°Sf</b>		6.460	6.500	6.500	6.500	6.500	6.175	6.300	6.489	6.400	6.450	115	9	75
I. de Tensión	Nm/g	91,1	90,5	90,2	89,1	89,8	90,1	91,4	92,3	90,5	90,6	0,9	9,0	0,6
I. de Explosión	kPam2/g	7,3	7	7	7,1	7,2	7,2	7,4	7,4	7,5	7,2	0,2	9,0	0,1
I. de Rasgado	mNm2/g	10	10	9,9	10,2	10	9,7	9,4	9,2	9,6	9,8	0,3	9,0	0,2
Vol. Específico	cm3/g	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37	1,4	0,0	9,0	0,0
Opacidad	%	57,3	57,1	57,7	57,9	57,1	57,6	57,4	57,4	57,1	57,4	0,3	9,0	0,2

DATOS OPERACIONALES EN OPERACIÓN CON ENZIMA - 100 g/Adt														
Propiedades Fisicomecánicas y biométricas de la pulpa secada.														
		25/01	26/01	27/01	28/01	29/01	30/01				prom	desv	n	Int conf.
<b>Revoluciones PFI a 25°Sf</b>		6.890	6.700	6.901	7.100	7.100	7.100				7.000	164	6	131
I. de Tensión	Nm/g	92,1	92,7	91,2	93,6	91,7	91,6				92,2	0,9	6,0	0,7
I. de Explosión	kPam2/g	7,4	7,2	7,3	7,2	7,3	7,3				7,3	0,1	6,0	0,1
I. de Rasgado	mNm2/g	9,5	9,8	9,7	9,7	9,7	9,9				9,7	0,1	6,0	0,1
Vol. Específico	cm3/g	1,32	1,34	1,33	1,33	1,33	1,34				1,3	0,0	6,0	0,0
Opacidad	%	56,7	57,4	57	56,8	57,6	57,8				57,0	0,4	6,0	0,4

## ANEXO 12: PROPIEDADES DEL EFLUENTE DE LA FÁBRICA CON Y SIN ENZIMA

REFERENCIA:

Fecha y Hora	Cloratos	DQO mg/l	Sulfatos (mg/L)	Nitratos (mg/l N-NO <sub>2</sub> )	Sol. Sus.Tot (mg/L)	Cloruro (mg CL)
15-01-2011 0:00	80,5	768				201
15-01-2011 4:00	97,1	817	500	<0,17	82	205
15-01-2011 8:00	78	840				179
15-01-2011 12:00	80	862	280	<0,17	112	176
15-01-2011 16:00	95,3	816				208
15-01-2011 20:00	94,2	860	337	<0,17	68	190
16-01-2011 0:00	108,8	862				208
16-01-2011 4:00	96,9	856	324	<0,17	73	200
16-01-2011 8:00	80,5	842				181
16-01-2011 12:00	66,8	777	307	<0,17	123	177
16-01-2011 16:00	92,3	715				192
16-01-2011 20:00	97	750	343	<0,17	80	192
17-01-2011 0:00	76,2	789				170
17-01-2011 4:00	77,9	481	298	<0,17	89	161
17-01-2011 8:00	72,2	699				199
17-01-2011 12:00	87,4	831	296	<0,17	80	230
17-01-2011 16:00	82,3	846				188
17-01-2011 20:00	80,9	701	240	<0,17	42	184
18-01-2011 0:00	85,4	753				208
18-01-2011 4:00	83,3	884	323	<0,17	81	199
18-01-2011 8:00	71,4	795				174
18-01-2011 12:00	57,4	968	267	<0,17	165	188
18-01-2011 16:00	97,3	729				213
18-01-2011 20:00	82,5	761	277	<0,17	97	198
19-01-2011 0:00	90	716				198
19-01-2011 4:00	100,8	843	313	<0,17	88	214
19-01-2011 8:00	108,1	879				220
19-01-2011 12:00	57,9	798	275	<0,17	79	202
19-01-2011 16:00	97,8	819				204
19-01-2011 20:00	93	877	273	<0,17	168	197
20-01-2011 0:00	108,9	837				199
20-01-2011 4:00	90,1	726	366	<0,17	80	178
20-01-2011 8:00	82,2	717				170
20-01-2011 12:00	84,9	835	347	<0,17	78	188
20-01-2011 16:00	98,9	765				199
20-01-2011 20:00	108,3	858	351	<0,17	104	211

21-01-2011 0:00	122	972				223
21-01-2011 4:00	75,2	781	289	<0,17	76	197
21-01-2011 8:00	80,9	757				219
21-01-2011 12:00	91,3	880	234	<0,17	92	214
21-01-2011 16:00	86,3	864				206
21-01-2011 20:00	85,9	862	237	<0,17	413	203
22-01-2011 0:00	75,8	865				174
22-01-2011 4:00	71	806	242	<0,17	69	172
22-01-2011 8:00	106,9	812				211
22-01-2011 12:00	79,8	862	314	<0,17	91	190
22-01-2011 16:00	92,1	851				197
22-01-2011 20:00	94,1	879	297	<0,17	140	205
promedio	87,6	810	305	<0,17	107	196
desdest	13,3	80	56	-	72	16
n	48	48	24	-	24	48
intconf	3,8	23	22	-	29	4

#### CON ENZIMA:

Fecha y Hora	Cloratos	DQO mg/l	Sulfatos (mg/L)	Nitratos (mg/l N-NO2)	Sol. Sus.Tot (mg/L)	Cloruro (mg CL)
23-01-2011 0:00	101,6	854				210
23-01-2011 4:00	85,5	823	288	<0,17	85	198
23-01-2011 8:00	93,9	900				220
23-01-2011 12:00	91,9	877	258	<0,17	141	207
23-01-2011 16:00	101,8	935				218
23-01-2011 20:00	93,3	880	290	<0,17	75	211
24-01-2011 0:00	102,7	794				217
24-01-2011 4:00	96,9	857	271	<0,17	189	206
24-01-2011 8:00	83	764				184
24-01-2011 12:00	96	823	381	<0,17	78	222
24-01-2011 16:00	94,8	869				194
24-01-2011 20:00	89,6	850	315	<0,17	98	194
25-01-2011 0:00	72,9	813				185
25-01-2011 4:00	74,1	833	287	<0,17	81	186
25-01-2011 8:00	85,6	851				210
25-01-2011 12:00	88,5	880	314	<0,17	64	207
25-01-2011 16:00	89,5	942				201
25-01-2011 20:00	84,9	913	419	<0,17	128	213
26-01-2011 0:00	81,3	905				186
26-01-2011 4:00	79,2	896	286	<0,17	79	212
26-01-2011 8:00	96,1	953				213
26-01-2011 12:00	56,8	856	273	<0,17	115	202

26-01-2011 16:00	83,4	852				195
26-01-2011 20:00	67,5	992	277	<0,17	112	218
27-01-2011 0:00	111,6	1023				223
27-01-2011 4:00	78,8	976	277	<0,17	145	214
27-01-2011 8:00	83,4	921				199
27-01-2011 12:00	67,9	907	320	<0,17	94	206
27-01-2011 16:00	67,8	845				202
27-01-2011 20:00	63,7	897	344	<0,17	110	222
28-01-2011 0:00	96,6	851				233
28-01-2011 4:00	88,6	853	389	<0,17	93	220
28-01-2011 8:00	82,3	913				227
28-01-2011 12:00	95,1	843	293	<0,17	88	209
28-01-2011 16:00	85,6	921				211
28-01-2011 20:00	61,7	863	323	<0,17	99	196
29-01-2011 0:00	90,8	858				204
29-01-2011 4:00	86,1	871	312	<0,17	106	199
29-01-2011 8:00	74,7	975				194
29-01-2011 12:00	67,9	809	308	<0,17	80	194
29-01-2011 16:00	75,2	825				230
29-01-2011 20:00	40,6	775	220	<0,17	192	220
30-01-2011 3:08	63,1	810				185
30-01-2011 4:00	96,2	873	460	<0,17	185	205
30-01-2011 8:00	98,4	807				221
30-01-2011 12:00	84,8	761	277	<0,17	104	201
30-01-2011 16:00	92,4	748				213
30-01-2011 20:00	98,6	780	280	<0,17	161	218
promedio	84,2	867	311	<0,17	113	207
desdest	13,9	61	54	-	38	13
n	48	48	24	-	24	48
intconf	3,9	17	22	-	15	4