

MARIA TEREZA BORGES

EFEITOS DA APLICAÇÃO DE XILANASE NA POLPA KRAFT-O DE
EUCALIPTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2010

MARIA TEREZA BORGES

EFEITOS DA APLICAÇÃO DE XILANASE NA POLPA KRAFT-O DE
EUCALIPTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de julho de 2010.

Prof.^a. Ana Augusta Passos Rezende

Prof. Rubens Chaves de Oliveira
(Coorientador)

Prof.^a. Ann Honor Munteer

Dr. Marcelo Moreira da Costa

Prof. Claudio Mudado Silva
(Orientador)

À minha mãe,
Ana Lúcia,
Aos meus avós,
Vera e Antonio

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), e ao departamento de Engenharia Florestal (DEF) pela oportunidade de realizar o mestrado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento desta pesquisa e pela concessão de bolsa de mestrado e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela bolsa de iniciação científica.

Ao professor Claudio Mudado pela orientação, ensinamentos e principalmente pela confiança na condução do projeto.

Aos professores Jorge Colodette e Rubens Chaves pelo apoio durante a realização deste trabalho, contribuições e sugestões oportunas.

Aos meus estagiários Lúvia, Leandro e Gustavo pela competência na realização das análises laboratoriais, apoio nas decisões e pela amizade.

Ao engenheiro Flávio Tesser e à International Paper do Brasil Ltda pelo apoio, financiamento e fornecimento da matéria-prima para o trabalho.

À minha mãe, Ana Lúcia por todo o apoio, paciência e incentivo. Ao meu avô Antonio e à minha avó Vera. Aos tios e tias e a todos meus primos, especialmente ao Neto que foi um verdadeiro irmão pra mim.

À Thalita, pela amizade e várias conversas dentro e fora do Laboratório de Celulose e Papel (LCP); ao Mauro pelo apoio e ajuda sempre que necessário; à Juliana e Flaviana pela amizade e incentivo; ao Luiz, Jesus e toda equipe do papel pelo auxílio nas análises de refino e propriedades do papel; à Valéria e aos amigos do laboratório de Meio Ambiente, pelas risadas e colaboração; ao Oldair, Maurício e aos demais do laboratório de Branqueamento e Química da Madeira pelo aprendizado; aos funcionários do Laboratório de Celulose e Papel pelo bom humor, paciência e colaboração sempre que necessário.

À todos do LCP!!!

Enfim, todos que participaram dessa conquista !!!!!

BIOGRAFIA

Maria Tereza Borges nasceu em 26 de Fevereiro de 1984, em Brasília, Distrito Federal.

Em Dezembro de 2001, concluiu o 2º grau no Colégio Acadêmico, em Cruz das Almas, Bahia.

Em Maio de 2002, iniciou o curso de Engenharia Ambiental, na Universidade Federal de Viçosa, sendo o mesmo concluído em agosto de 2007.

Em Agosto de 2006 fez uma extensão universitária de cinco meses pelo convênio CAPES/FIPSE na Universidade de Kentucky (EUA) onde fez disciplinas e iniciou o projeto final de curso.

Em Agosto de 2008, iniciou o mestrado em Ciência Florestal, na Universidade Federal de Viçosa, sendo o mesmo concluído em Julho de 2010.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURA	vi
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Enzimas	4
2.1.1. Estrutura química das enzimas	5
2.1.2. Produção comercial	6
2.2. Enzimas no branqueamento da polpa Kraft	7
2.2.1. Xilanases	9
2.2.2. Pré-branqueamento enzimático	13
2.3. Conseqüências do branqueamento com enzimas no efluente	14
2.4. Conseqüências do branqueamento enzimático na qualidade do papel	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Plano experimental	18
3.2. Etapa 1 – pré-branqueamento enzimático	20
3.3. Etapa 2 – biotratabilidade dos filtrados do branqueamento enzimático	22
3.4. Etapa 3 – Sequência completa de branqueamento	24
3.5. Etapa 4 – Refino e análises físico-mecânicas do papel	27
3.6. Análise estatística	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1. Etapa 1 – pré-branqueamento enzimático	30
4.2. Etapa 2 – biotratabilidade dos filtrados do pré-branqueamento enzimático	38
4.3. Etapa 3 – sequência completa de branqueamento	41
4.4. Etapa 4 – refino e análises físico-mecânicas do papel	47
4.5. Considerações finais	61
5. CONCLUSÕES	63
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

LISTA DE FIGURA

Figura 1 – Esquema do mecanismo de ação da xilanase	13
Figura 2 – Esquema das etapas do trabalho	19
Figura 3 – Curva de decréscimo do número kappa obtida em laboratório.	21
Figura 4 – Representação esquemática do sistema laboratorial para o tratamento do filtrado	24
Figura 5 – DQO (mg L^{-1}) versus perda de rendimento (%) e versus remoção de xilanas (%) para as referências e os tratamentos com diferentes dosagens enzimáticas	34
Figura 6 – Variação da DQO final na biotrababilidade dos filtrados dos tratamentos em pH 7 ao longo do ciclo de 12 horas	40
Figura 7 – Variação da DQO final na biotrababilidade dos filtrados dos tratamentos em pH 9 ao longo do ciclo de 12 horas	41
Figura 8 – Grau Schopper Riegler ($^{\circ}\text{SR}$). em função da Energia (Wh) Curvas obtidas por teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.	48
Figura 9 – (a) Volume específico em função da Energia (Wh); (b) Volume específico em função do Grau Schopper Riegler ($^{\circ}\text{SR}$). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade	51
Figura 10 – (a) Índice de Arrebetamento em função da Energia (Wh); (b) Índice de Arrebetamento em função do Grau Schopper Riegler ($^{\circ}\text{SR}$). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade	52
Figura 11 – (a) Índice de Rasgo em função da Energia (Wh); (b) Índice de Rasgo em função do Grau Schopper Riegler ($^{\circ}\text{SR}$). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.....	54
Figura 12 – (a) Resistência a passagem de ar em função da Energia (Wh); (b) Resistência a passagem de ar em função do Grau Schopper Riegler ($^{\circ}\text{SR}$). Representação por uma	

mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade	56
Figura 13 – (a) Índice de Tração em função da Energia (Wh); (b) Índice de Tração em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade	58
Figura 14 – (a) Opacidade em função da Energia (Wh); (b) Opacidade em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade	59
Figura 15 – (a) Dispersão de luz em função da Energia (Wh); (b) Dispersão de luz em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Algumas condições ótimas para atividade das xilanases	10
Tabela 2 – Características da enzima endo-1,4- β -D-xilanase utilizada no trabalho	20
Tabela 3. Características da polpa utilizada no trabalho	20
Tabela 4 – Condições operacionais do branqueamento enzimático	22
Tabela 5 – Referência dos procedimentos analíticos da caracterização geral da polpa	22
Tabela 6. Condições da sequência completa de branqueamento	25
Tabela 7. Quantidade (kg) de dióxido de cloro (ClO_2) por tonelada de polpa seca para o estágio D_{hot}	25
Tabela 8 – Procedimentos analíticos da caracterização geral da polpa ao final da sequência completa de branqueamento	27
Tabela 9 – Procedimentos analíticos para determinação das propriedades físico-mecânicas do papel	29
Tabela 10 – Atributos das amostras das polpas após o pré-branqueamento enzimático	31
Tabela 11 – Caracterização dos filtrados após o pré-branqueamento enzimático	33
Tabela 12 – Atributos das amostras das polpas após o pré-branqueamento enzimático a 60° e a 85°C	36
Tabela 13 – Valores de DQO das amostras dos filtrados após o pré-branqueamento enzimático a 60°C e a 85°C	37
Tabela 14 – Atributos das amostras dos filtrados após o pré-branqueamento enzimático a 60° e a 85°	37
Tabela 15 – Valores de remoção de DQO solúvel, concentração de DQO final e DBO_5 final dos filtrados da biotratabilidade em reatores biológicos (filtrado da etapa 1)	39
Tabela 16 – Atributos na polpa ao longo da sequência completa de branqueamento (média de três repetições)	42
Tabela 17 – Dosagem total de reagentes (Kg t^{-1} polpa seca) utilizados na sequência completa de branqueamento para os diferentes tratamentos	44
Tabela 18 – Valores de viscosidade e reversão de alvura medidos no último estágio da sequência de branqueamento	44
Tabela 19 – Valores de viscosidade intrínseca laboratorial e calculada	45

Tabela 20 – Valores de DQO ao longo dos estágios de branqueamento	46
Tabela 21 – Concentração de finos na polpa ao longo do refino	49
Tabela 22 – Índice de retenção de água (WRV) das polpas branqueadas	61

RESUMO

BORGES, Maria Tereza. M. Se., Universidade Federal de Viçosa, julho, 2010. **Efeitos da aplicação de xilanase na polpa kraft-O de eucalipto.** Orientador: Claudio Mudado Silva. Co-orientadores: Jorge Luis Colodette e Rubens Chaves de Oliveira.

A etapa de branqueamento é responsável pelo elevado volume de efluentes de fábricas de polpa kraft branqueada. Atualmente, o uso de enzimas tem sido um atrativo econômico por reduzir o consumo de reagentes químicos, embora tenha levado ao incremento na carga orgânica dos efluentes. Esse trabalho objetivou caracterizar os filtrados e sua biotratabilidade, e avaliar características físico-químicas da polpa gerada no pré-branqueamento enzimático utilizando-se uma enzima xilanase comercial. Estudou-se o efeito do pré-branqueamento enzimático em quatro condições operacionais: dosagens de 25 e 200 g t⁻¹ em pH 7 e 9, e a referência sem enzima. As propriedades das polpas (número kappa, alvura, ácidos hexenurônicos, teor de xilanas e perda de rendimento) e dos efluentes (DQO, DBO, cor e condutividade elétrica) foram determinadas. Realizou-se a sequência completa de branqueamento avaliando-se algumas propriedades das polpas e dos filtrados. Por fim, refinaram-se as polpas branqueadas, analisando-se as propriedades físico-mecânicas das folhas. Menor número kappa, maior alvura e menor quantidade de ácidos hexenurônicos foram obtidos para a dosagem enzimática de 200 g t⁻¹ em pH 7, embora a perda de rendimento tenha sido maior nessa condição. Constatou-se aumento significativo da carga orgânica do filtrado com a adoção do pré-branqueamento enzimático. A biotratabilidade foi elevada para todos efluentes, apresentando remoção de DQO superior a 85%. Entretanto, tanto a DQO inicial quanto a final dos tratamentos enzimáticos foram superiores às das referências. Ao final da sequência completa de branqueamento obteve-se maior alvura e menor número kappa para as amostras submetidas ao pré-branqueamento enzimático. A dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 7 apresentou maior aumento na viscosidade. As polpas submetidas ao pré-branqueamento enzimático apresentaram alterações pouco pronunciadas nas propriedades físico-mecânicas do papel.

ABSTRACT

BORGES, Maria Tereza, M. Se., Universidade Federal de Viçosa, July, 2010. **Effects of xylanase application on Eucalyptus Kraft-O Pulp.** Advisor: Claudio Mudado Silva. Co-advisors: Jorge Luis Colodette and Rubens Chaves de Oliveira.

The bleaching sector is responsible for the high effluent volume generated in kraft pulp bleach plants. The use of enzymes is a promising approach for clean bleaching processes. Currently, enzymatic pre-bleaching stages are used mainly for economical reasons, since they reduce the bleaching chemicals consumption, particularly chlorine dioxide. However, an increase in the organic matter content of effluents has been observed when enzyme stages are used. The purpose of this work was to characterize the enzymes pre-bleaching filtrates and their bio-treatability, as well as the pulp after the enzymatic pre-bleaching stage. Enzymatic pre-bleaching of eucalyptus pulp was carried out in four different conditions using xylanase: enzyme dosage of 25 and 200 g adt⁻¹ and pH 7 and 9 for each dosage. It was also carried out a reference test, without enzyme. Following each pre-bleaching stage, the properties of the pulp (kappa number, brightness, hexenuronic acid, xilan removal and pulp yield lost) and of the resulting effluents (COD, BOD, color and conductivity) were determined. A complete bleaching sequence was conducted and some filtrate and pulp properties were evaluated. Finally, the pulp was refined in a PFI mill and the mechanical and physical properties of the resulting paper were determined. The best pulp quality was achieved at pH 7, when smaller kappa number, higher pulp brightness and smaller amounts of hexenuronic acid were observed. However, at this condition a bigger yield loss and a higher effluent COD load were detected. The bio-treatment of all effluents presented high COD removal (> 85%), although the initial and final COD concentrations were always higher for the enzymatic bleaching sequences. After the complete bleaching sequence the pulps treated with enzymes presented higher brightness and lower kappa number; these changes were modest, though. The enzymatic dosage of 200 g adt⁻¹ at pH 7 presented the highest viscosity increase. The enzymatic treatments presented small changes in the mechanical and physical properties of the produced paper handsheets.

1. INTRODUÇÃO

A produção de polpa celulósica está em crescimento no Brasil e no mundo. Atualmente, o Brasil ocupa a quarta posição dentre os países produtores de polpa (12,7 milhões de toneladas por ano) e a 11ª posição em relação à produção de papel (9,4 milhões de toneladas por ano (Bracelpa, 2010)). Em fábricas de polpa celulósica Kraft branqueada, o setor de branqueamento é o maior gerador de efluentes, sendo que em fábricas modernas pode oscilar entre 15 m³ e 50 m³ de efluentes líquidos por tonelada de polpa e representar até 80% do efluente total da fábrica (Souza e Dalvi, 2007).

Assim, a indústria tem procurado, ao longo dos anos, processos mais baratos e menos poluentes para a realização do branqueamento da polpa. Visando a minimização da toxicidade dos efluentes e melhoria da sua tratabilidade, surgiram as sequências isentas de cloro molecular ECF (Elemental Chlorine Free) e TCF (Totally Chlorine Free) para o branqueamento da polpa.

Na década de 1980, surgiu o pré-branqueamento com enzimas, que são macromoléculas responsáveis por catalisar reações químicas complexas. Essa nova etapa tinha como objetivo melhorar a qualidade da polpa, especialmente sua alvura, e a qualidade dos efluentes gerados, além de reduzir os custos do branqueamento. No entanto, com a utilização das enzimas, percebeu-se que apesar da diminuição dos compostos organoclorados (AOX) nos efluentes, a carga orgânica (DQO) nos filtrados aumentava significativamente. Atualmente, o uso de enzimas tem-se tornado atraente por motivos econômicos, uma vez que seu uso possibilita reduzir a quantidade de dióxido de cloro utilizada nas seqüências ECF.

Os tipos de enzimas empregadas na etapa de branqueamento são as hemicelulolíticas (xilanases e manases) e as lignolíticas (peroxidases e lacases). Comercialmente, a enzima mais utilizada tem sido a xilanase, proteína catalítica bastante específica, responsável pela hidrólise das xilanas sem que a celulose seja hidrolisada. As xilanases podem ser obtidas por diferentes microrganismos, sendo mais comum a produção por fungos e bactérias. Para otimizar o processo de branqueamento, é interessante que a enzima seja adaptada à temperatura e ao pH do processo industrial.

As xilanases permitem um aumento da deslignificação e, conseqüentemente, permitem um menor uso dos reagentes de branqueamento tradicionais. As vantagens na utilização de xilanases concentram-se no baixo investimento de capital para a sua aplicação, nas reduções do consumo de reagentes (15% a 20%) e da concentração de AOX nos efluentes, e no aumento do teto de alvura da polpa (Call & Mücke, 1997; Atik et al., 2006; Hart e Harry, 2006). Como desvantagens citam-se: seu efeito limitado, pois não substitui mais de 20% dos reagentes químicos utilizados no branqueamento, o alto custo (Bae, et al., 2008), a possibilidade de causar perda de rendimento (Beg, et al., 2001) e de resistência à tração da polpa (Oksanen et al., 1997), e o aumento da carga orgânica nos efluentes. No entanto, estudos sobre os efeitos do pré-branqueamento enzimático na qualidade da polpa e do papel têm sido contraditórios (Madlala et al., 2001; Manji et al., 2006; Khandeparkar e Bhosle, 2007; Savitha et al., 2007).

O uso de enzimas, portanto, pode trazer problemas ambientais, devido ao aumento na carga orgânica dos filtrados do branqueamento. Pouca informação científica existe sobre esse assunto. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência do pré-branqueamento enzimático com xilanase na qualidade e biotratabilidade dos efluentes gerados, assim como na qualidade da polpa kraft branqueada produzida.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em fábricas de polpa celulósica branqueada, o setor de branqueamento é o maior gerador de efluentes. Em fábricas modernas, a vazão específica pode oscilar entre 15 m³ e 50 m³ de efluentes líquidos por tonelada de polpa (Souza e Dalvi, 2007), podendo consistir em até 85% do efluente total da fábrica. O processo de branqueamento consiste em uma sequência de estágios, nos quais diferentes produtos químicos (dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, hidróxido de sódio entre outros) são adicionados à polpa celulósica, visando o ganho de alvura e a redução dos compostos cromóforos, especialmente lignina, e compostos leucocromóforos, como os ácidos hexenurônicos, ambos quantificados pelo número kappa. Os ácidos hexenurônicos (AHex) formam-se durante o cozimento alcalino, no qual as cadeias laterais de ácido 4-O-metilglicourônico presentes nas xilanas perdem um metanol (CH₃OH) sendo, então, convertidas em AHex (Danielsson et al., 2006). Os AHex são importantes, uma vez que podem agravar o problema da reversão de alvura caso permaneçam na polpa branqueada (Forsström et al., 2007). A alvura é precisamente definida como a medida da luz azul refletida de um conjunto opaco do papel (Dence e Reeve, 1996). Assim, esse parâmetro indica o sucesso do branqueamento, pois ao se diminuir a concentração de substâncias cromóforas, o papel reflete mais luz no referido comprimento de onda.

Até o início dos anos 90 utilizava-se o cloro elementar na sequência de branqueamento, porém seu uso foi reduzido ao se observar a formação de compostos organoclorados prejudiciais à biota aquática e à saúde humana. Ao se utilizar o cloro como agente alvejante notou-se a presença de compostos organoclorados no efluente, assim como resposta mutagênica para testes em animais e baixa biodegradabilidade (Vidal et al., 1997). Nesse contexto, associado à crescente preocupação com o meio ambiente, surgiram novas sequências de branqueamento denominadas ECF (Elemental Chlorine Free), sem a presença de cloro elementar, e TCF (Total Chlorine Free), sem a presença de quaisquer compostos de cloro (Faleiros, 2008). Assim, o cloro elementar foi substituído por outras substâncias menos agressivas, destacando-se o dióxido de cloro. Entretanto, estudos mostraram que apesar das vantagens da utilização do dióxido de

cloro, a formação de cloratos é proporcional à quantidade utilizada deste composto. Como o clorato é um forte herbicida e algicida, principalmente para alguns tipos de algas, buscaram-se meios alternativos que minimizassem a toxicidade dos efluentes (Durán et al., 1995). Iniciou-se, assim, a utilização de enzimas no branqueamento da polpa objetivando a melhora da qualidade dos efluentes e a menor agressão ao meio ambiente (Faleiros, 2008).

Dentre as justificativas para a utilização de enzimas no branqueamento destacaram-se: obtenção de maior alvura final da folha, vantagens no marketing, melhora na qualidade da polpa e dos efluentes e menores custos (Farrell, 1992; Paice, 1995; Beg et al., 2001). Ao longo dos anos percebeu-se que, ao contrário do esperado, o filtrado advindo do branqueamento enzimático apresentava maior carga orgânica que aquele do branqueamento ECF (Roncero et al., 2005), ou seja, possuía uma maior DQO (Demanda Química de Oxigênio) e DBO₅ (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Entretanto, o interesse por enzimas tem crescido novamente devido a aspectos econômicos, buscando-se reduzir a quantidade necessária de dióxido de cloro (Call e Mücke, 1997; Beg et al., 2001).

2.1. Enzimas

Enzimas são substâncias complexas formadas no interior de células vivas que podem agir tanto dentro quanto fora das células. São substâncias sólidas, difíceis de serem cristalizadas e geralmente são inativadas pelo calor (Smith et al., 1985, Gomes et al., 2007). Funcionalmente, são catalisadores biológicos, que operam em pH e temperatura específicos (Faleiros, 2008). As enzimas podem catalisar uma grande variedade de reações químicas que ocorrem na célula, as quais, em geral, atuam sob condições brandas tais como temperaturas menores que 100°C, pressão atmosférica, pH de 4 a 8 e ausência de agentes químicos agressivos. Várias condições podem afetar a atividade enzimática, destacando-se o pH, a temperatura e o tempo de reação. O pH tem importância fundamental, sendo esse efeito constatado em trabalhos anteriores (Beg et al., 2001; Shah e Madamwar, 2005).

As enzimas servem para diminuir a energia de ativação, de modo a aumentar a taxa de reação, sem afetar sua energia ou equilíbrio. A velocidade de reação é chamada atividade enzimática (Wong e Whitesides, 1994; Call e Mücke, 1997). As enzimas são bastante específicas nas reações que catalisam (Ko et al., 2010); isso ocorre devido à estrutura tridimensional da molécula, que permite uma combinação temporária com o

substrato formando o complexo enzima-substrato e levando à formação do produto (Madigan et al., 2000).

As enzimas podem ser intracelulares ou extracelulares (Kieling, 2002; Himmel et al., 2007). As primeiras são as mais comuns, sendo sintetizadas no citoplasma celular e em baixas quantidades, e são utilizadas nos processos celulares. Já as enzimas extracelulares são excretadas para fora da célula e, são sintetizadas no ribossomo celular aderido à membrana citoplasmática (Kieling, 2002). Nesse caso, as enzimas são produzidas em maior quantidade e, geralmente, são capazes de hidrolisar substâncias insolúveis como celulose e proteína e, posteriormente, transportá-las para o interior da célula onde são usadas como nutrientes para crescimento (Madigan et al., 2000).

2.1.1. Estrutura química das enzimas

Quimicamente as enzimas são proteínas de sequências definidas de aminoácidos ligados covalentemente por ligação peptídica. Cada enzima tem uma forma tridimensional específica, de modo que o arranjo linear dos aminoácidos, estrutura primária, se dobra em configurações específicas formando estruturas secundárias e terciárias (Wong e Whitesides, 1994; Madigan et al., 2000). Por serem proteínas, essas substâncias estão sujeitas a variáveis químicas e físicas como pH e temperatura. A sensibilidade a essas variáveis depende do organismo no qual a enzima é proveniente (Call e Mücke, 1997; Hart e Harry, 2006).

As enzimas contêm um grupo ativo o qual é denominado apoenzima, sendo possível encontrar tanto enzimas simples como conjugadas. No primeiro caso, há a presença apenas de radicais de aminoácidos; já as enzimas conjugadas ou complexas, apresentam também uma parte não protéica, que pode ser uma coenzima ou um grupo prostético (Smith et al., 1985). As coenzimas, muitas derivadas de vitaminas, são ligadas fracamente às enzimas e uma simples molécula de coenzima pode se associar a diferentes enzimas várias vezes. Já os grupos prostéticos são ligados fortemente às suas enzimas, geralmente de modo permanente; o grupo heme presente em citocromos é um exemplo de grupo prostético (Madigan et al., 2000). A toda molécula é dado o nome de haloenzima, sendo que, dependendo do tipo de ligação, a parte protéica pode ser separada da não protéica por métodos brandos como a diálise (Wong e Whitesides, 1994).

No centro ativo ocorre a ligação do substrato com a enzima, através do mecanismo “chave-fechadura” (Smith et al., 1985; Wong e Whitesides, 1994). As enzimas são geralmente muito maiores que os substratos e a combinação de ambos depende, em

geral, de ligações fracas como ligações de hidrogênio, força de van der Waals, e interações hidrofóbicas (Madigan et al., 2000). É possível ocorrer inibição enzimática, a qual pode ser reversível, quando não ocorre modificação covalente, ou irreversível, no qual o inibidor forma um complexo estável com a enzima. Dentre as inibições é possível que seja competitiva, não competitiva ou incompetitiva. Na inibição competitiva, o inibidor e o substrato podem se ligar simultaneamente ao centro ativo da enzima, não alterando a velocidade máxima da reação. Já na inibição não competitiva o inibidor pode se ligar à enzima livre ou ao complexo enzima-substrato. Por fim, na incompetitiva o inibidor pode apenas se ligar ao complexo enzima-substrato (Smith et al., 1985; Wong e Whitesides, 1994).

2.1.2. Produção comercial

Industrialmente, o tipo de enzima mais utilizada são as extracelulares, devido à maior facilidade de isolamento e obtenção (Kieling, 2002). Algumas dessas enzimas celulares são usadas nas indústrias alimentícia, leiteira, farmacêutica, têxtil e celulose, e são produzidas em grande quantidade por síntese microbiana. Essas substâncias são especialmente úteis, pois podem agir em grupos químicos ou moléculas específicas (Beg et al., 2001; Gomes et al., 2007). Várias são as fontes de obtenção de enzimas: tecido animal, vegetais ou culturas microbianas. As enzimas advindas de microrganismos não sofrem grandes limitações, pois a produção pode ser ilimitada, em caso de disponibilidade de substrato, do agente microbiano adequado, do método e da condução do cultivo (Kieling, 2002).

Em geral as enzimas são produzidas comercialmente por fungos e bactérias (Gomes et al., 2007; Khandeparkar e Bhosle, 2007; Senthilkumar et al., 2008). O processo de produção é, na maioria das vezes, aeróbio, e o meio de cultura é similar àquele usado em fermentações antibióticas. A enzima é geralmente formada em pequenas quantidades durante a fase de crescimento exponencial, mas acumula em grande quantidade durante a fase de crescimento estacionária (Call e Mücke, 1997). Para a produção de enzimas em maior quantidade é necessária a utilização de um indutor, o qual favorece a produção da substância em grande quantidade. Atualmente, com a manipulação genética, o potencial de produção de enzimas úteis no branqueamento tem aumentado significativamente (Gomes et al., 2007; Faleiros, 2008). Assim, as enzimas podem ser obtidas por reações especiais por uma combinação de métodos de engenharia genética sofisticada e design computacional de enzimas (Wong e Whitesides, 1994; Call e Mücke, 1997).

Para o uso industrial, é frequentemente necessário converter a enzima solúvel em algum tipo de enzima imobilizada. Desde modo, economiza-se nos custos, por facilitar a reciclagem da enzima em múltiplos ciclos, pois com a imobilização torna mais fácil conduzir uma reação em larga escala e estabilizar a enzima contra a desnaturação (Hudson et al., 2005). Existem três maneiras básicas para se fazer essa imobilização: ligação da enzima a um carreador (Senthilkumar et al., 2008), polimerização das moléculas de enzimas (as enzimas ligam-se entre si), e inclusão enzimática, a qual envolve a incorporação da enzima a uma membrana super-permeável. Os três métodos apresentam vantagens e desvantagens e são escolhidos de acordo com a enzima utilizada e aplicação industrial desejada (Madigan et al., 2000). Na indústria de celulose e papel, as enzimas podem ser utilizadas para diferentes finalidades tais como: descascamento das madeiras, remoção de resinas, deslignificação biológica de cavacos, processo de branqueamento, melhoramento da qualidade das fibras secundárias, além do aprimoramento das técnicas de tratamento dos efluentes (Durán et al. 1995; Beg et al., 2001).

2.2. Enzimas no branqueamento da polpa Kraft

Industrialmente as enzimas são fornecidas na forma de líquidos concentrados e são aplicadas à polpa em pequenas dosagens. Essas enzimas são obtidas por vários fornecedores os quais aprimoram seu funcionamento de modo a obter resultados mais satisfatórios para a indústria. Os tipos de enzimas encontradas para a etapa de branqueamento são: hemicelulolíticas (xilanasas e manases) e lignolíticas (peroxidases e lacases) (Durán et al. 1995; Bajpai, 2004; Himmel et al., 2007; Fillat e Roncero, 2009; Valls e Roncero, 2009).

As primeiras enzimas utilizadas foram aquelas responsáveis pela degradação da lignina (Durán et al. 1995; Bajpai, 2004) sendo as mais importantes: lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase, cujos principais produtores são fungos como *Phanerochaete chrysosporium* e *Trametes (Coriolous) versicolor*. A lignina peroxidase e o manganês peroxidase foram descobertos na década de 80 e, segundo as pesquisas, eram grandes para passar pela parede celular (Call e Mücke, 1997; Bajpai, 2004). Estudos mostraram que as enzimas isoladas não apresentavam o mesmo efeito na degradação da lignina, percebendo-se a existência de algum “ingrediente ativo”. Nesse contexto, descobriram que o fungo não secretava apenas a enzima, mas sim uma mistura de componentes contendo um mediador (moléculas de baixo peso molecular). Call e Mücke (1997), usando o sistema piloto Lignozym, obtiveram uma remoção de 50% a

70% de lignina em 1 a 4 horas de aplicação, dependendo das dosagens da enzima e do mediador e do tipo de polpa utilizada.

Das enzimas lignolíticas, enzimas oxidativas que degradam um grande número de componentes fenólicos, alguns hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) e alguns íons, (Saparrat et al. 2008) a mais estudada é a lacase. Assim como a lacase, outra enzima oxidativa que se destaca é a manganês peroxidase (Bajpai, 2004). Essa enzima catalisa a oxidação do Mn^{2+} para Mn^{3+} pelo peróxido de hidrogênio (H_2O_2), levando à oxidação da lignina pelo íon de Mn^{3+} . Ambas as enzimas agem mais rapidamente na presença de um mediador. No caso da lacase, destaca-se o mediador ABTS (Ácido 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)), o qual expande o substrato de ação da lacase para subunidades de lignina não fenólicas. O ABTS se liga covalentemente aos fenóis tornando-os hidrofílicos e, por serem menores que a lacase, podem difundir para dentro da parede da fibra (Paice, 1995). O sistema lacase-mediador (LMS) oxida os compostos por meio dos radicais livres gerados pela lacase (Saparrat et al., 2008). Apesar das vantagens das enzimas oxidativas, elas ainda não estão disponíveis em larga escala, devido, principalmente, ao custo do mediador e as condições de incubação dos fungos para a obtenção da enzima (Call e Mücke, 1997).

As xilanases (degradadoras das xilanas das hemiceluloses) são as mais utilizadas atualmente, pois o pré-branqueamento com essas enzimas permitiu um aumento da deslignificação com um menor uso de reagentes no branqueamento (Durán et al., 1995; Beg et al., 2001; Khandeparkar e Bhosle, 2007). As xilanas correspondem de 15% a 30% da composição de folhosas (Osterberg et al., 2001) e estão localizadas entre a lignina e a cadeias de celulose, sendo que sua retirada facilita o acesso aos compostos cromóforos. Em alguns casos, as xilanases não têm consequências imediatas sobre o número kappa ou remoção da lignina da polpa tratada, mas diminuem o consumo de reagentes químicos do branqueamento, principalmente o cloro elementar e dióxido de cloro em 25%, diminuindo o AOX (compostos organohalogenados adsorvíveis) do efluente (Call e Mücke, 1997; Atik et al., 2006; Khandeparkar e Bhosle, 2007). Estudos utilizando-se lacases (enzimas lignolíticas) estão sendo feitos de modo que, quando aplicada anteriormente ou posteriormente ao tratamento com xilanases, a branqueabilidade é melhorada significativamente em polpas Kraft de pinho (Durán et al., 1995; Valls et al., 2010).

Assim como as xilanases, as mananases também são enzimas passíveis de serem utilizadas na hidrólise das hemiceluloses. Estas são responsáveis por hidrolisar as glicomananas e são produzidas por várias espécies de bactérias e fungos. As mananases

são encontradas comercialmente (Dence e Reeve, 1996) e também apresentam enzimas xilanases em sua composição. Algumas vantagens desse complexo enzimático são: baixo investimento para implantação dessa etapa enzimática, diminuição do custo de produção por reduzir o consumo de dióxido de cloro, menor concentração de AOX no efluente, aumento do teto de alvura da polpa e melhor deslignificação por peróxido por facilitar o acesso desse reagente na fibra. As desvantagens correspondem ao seu efeito limitado, pois não substitui mais de 20% dos reagentes químicos utilizados no branqueamento, somando-se à perda de algumas glicomananas (Paice, 1995).

2.2.1. Xilanases

2.2.1.1. Características das xilanases

As xilanases, enzimas mais utilizadas atualmente, são proteínas catalíticas bastante específicas, responsáveis pela hidrólise das xilanas sem que a celulose seja hidrolisada (Paice, 1995). São substâncias não-tóxicas, bio degradáveis de fácil uso (Farrell, 1992). Devido a natureza específica da enzima, muitos parâmetros podem afetar a sua eficiência, sendo os mais importantes a dosagem, a temperatura de reação, o pH, o tempo de tratamento e a dispersão adequada da enzima (Manji, 2006). O pH é um dos parâmetros de maior importância (Shah e Madamwar, 2005), pois exerce influência sobre a distribuição de cargas dos substratos e das moléculas de enzima. O pH ótimo para o tratamento com xilanase varia dentre as enzimas, sendo que geralmente enzimas de origem bacteriana são mais efetivas entre pH 6 e 9 e aquelas derivadas de fungos devem ser usadas em uma faixa de pH variando de 4 a 6 (Deneault et al., 1994; Mohana et al., 2008).

Na Tabela 1 encontram-se algumas condições ótimas para a maioria das xilanases. Entretanto, devido ao processo kraft resultar em polpas alcalinas e em altas temperaturas, fontes termofílicas e alcalofílicas têm sido pesquisadas para se encontrar microrganismos produtores dessas enzimas sob essas condições (Kenealy e Jeffries 2003; Gomes et al., 2007).

Tabela 1. Algumas condições ótimas para atividade das xilanases

Descrição	Condição ótima	Variação
pH	6,2	5,5 –7,0
Menor tempo de reação (horas)	≥ 2	-
Temperatura (°C)	50	45 - 55

Fonte: Manji 2006

As xilanases são responsáveis pela formação de buracos e fissuras que permitem melhor acesso dos reagentes à fibra, além da possibilidade de remoção de fragmentos de lignina menos degradados da parede celular (Roncero et al., 2000). Assim, ocorre a diminuição do número kappa e o aumento da alvura na polpa.

Muitas aplicações de xilanase levam a um decréscimo de rendimento devido à perda de hemiceluloses, embora em alguns casos possa haver contaminação das xilanases com celulasas (Beg et al., 2001; Ruegger e Tauk-Tornisielo, 2002), o que levaria à perda de celulose. Adicionalmente, é possível que ocorra a perda de rendimentos caso a dosagem de xilanases, assim como o tempo de aplicação, sejam elevados (Dence e Reeve, 1996).

As preparações de xilanases podem ser obtidas de diferentes microrganismos, como fungos e bactérias (Ruegger e Tauk-Tornisielo, 2002; Gomes et al., 2007; Medeiros et al, 2008). Dentre os tipos de bactérias as mais estudadas incluem as várias espécies de bacilos e actinomicetos como *Thermonospora fusca*. Dos fungos, destacam-se *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. e *Aureobasidium pullulans* (Dence e Reeve, 1996; Gomes et al., 2007). O conhecimento da estrutura da proteína e sua sequência de aminoácidos devem ser usados para explicar porque algumas xilanases têm atividade em condições alcalinas enquanto outras têm atividade somente em condições ácidas. Esse fator depende do microrganismo no qual a enzima foi produzida, assim como as condições ambientais em que este microrganismo é encontrado (Kenealy e Jeffries, 2003; Gomes et al., 2007).

As xilanases são usadas na polpação kraft de eucalipto anteriormente às sequências de branqueamento com dióxido de cloro e as alcalinas. O pré-tratamento enzimático aumenta a alvura e a deslignificação de amostras branqueadas com oxigênio de polpas de eucalipto e reduz o número kappa. A alteração na viscosidade da polpa celulósica depende do tipo e da quantidade de enzima aplicada. Em alguns casos pode ocorrer degradação de cadeias longas de carboidratos e conseqüente decréscimo na viscosidade (Medeiros et al, 2008). Por outro lado, alguns estudos obtiveram aumento da viscosidade final (Manji, 2006; Ko et al., 2010) o qual pode ser explicado pela

remoção de xilanas de baixo peso molecular. Por outro lado, Roncero et al. (2000) e Khandeparkar e Bhosle (2007) obtiveram viscosidade semelhante para polpas com e sem tratamento enzimático.

Preparações comerciais constituem principalmente de endo-1,4- β -D-xilanase (Dence e Reeve, 1996; Gomes et al., 2007). É importante ressaltar que as xilanases são úteis somente se a fibra celulósica não foi afetada pela presença de atividade da enzima celulase. Uma preparação de xilanases livre de celulases pode ser obtida por meio de métodos efetivos como a remoção por purificação, inativação enzimática das celulases ou por microrganismos que produzem enzimas com baixa atividade da celulase (Khandeparkar e Bhosle, 2007).

Para otimizar o processo de branqueamento, é interessante que as xilanases sejam ativadas na temperatura e no pH do processo, os quais são geralmente elevados (Khandeparkar e Bhosle, 2007; Savitha et al., 2009). Em trabalho realizado por Khandeparkar e Bhosle (2007), os autores buscaram encontrar o potencial de xilanases termoalcalofílicas isoladas da bactéria *Arthrobacter* sp. Por meio dessa bactéria, obtiveram uma xilanase que apresentava temperatura e pH ótimos altos. No processo de branqueamento com essa enzima, obteve-se uma redução do número kappa em 20%, sem grande alteração na viscosidade. Isso foi equivalente a 29% na redução de cloro no processo. Além disso, o tratamento enzimático aumentou a alvura da polpa em 9,6% comparado com a polpa não tratada (Khandeparkar e Bhosle, 2007). Os resultados mostraram que essa preparação de xilanases pode ser útil nas indústrias de celulose e papel.

Com relação ao custo de produção das xilanases, alguns estudos foram feitos visando a redução deste por meio da tecnologia de fusão do protoplasma de linhagens parentais. De maneira complementar, foi realizado um estudo de caracterização bioquímica dessas enzimas. Concluiu-se que a manipulação genética é viável para uma produção mais eficaz da xilanase, sendo possível desenvolver uma enzima com alta estabilidade, atividade desejável e elevada eficiência no processo de branqueamento (Savitha et al., 2009).

2.2.1.2. Reação das xilanases

Uma das hipóteses sobre o mecanismo da atividade das xilanases é que elas catalisam a hidrólise das xilanas re-depositadas na superfície das fibras da polpa (Figura 1), tornando mais fácil a remoção dos fragmentos de lignina dentro e sobre as fibras nos estágios de branqueamento e extração alcalina subsequentes (Paice, 1995; Dence e

Reeve, 1996; Manji, 1996; Khandeparkar e Bhosle, 2007). Durante o processo de polpação várias modificações ocorrem com as hemiceluloses: com o aquecimento inicial e a alta alcalinidade, as xilanas são parcialmente despolimerizadas; com a diminuição da alcalinidade, as pequenas cadeias de xilanas precipitam na superfície microfibrilar da celulose em uma forma mais ou menos cristalina (Dence e Reeve, 1996). Assim, normalmente no cozimento Kraft as xilanas são solubilizadas e parcialmente re-depositadas sobre a parede de fibras secundárias, sendo que a ligação entre xilanas e o residual de ligninas pode ocorrer. Essa hipótese não é aceita por resultados de experimentos no qual a polpa foi deslignificada sob condições de elevada alcalinidade havendo deposição de xilanas. Nessa situação o tratamento com xilanases leva a uma redução na quantidade de reagentes químicos requerida para alcançar a alvura final desejada (Dence e Reeve, 1996).

Outro mecanismo aceito é o que afirma que as xilanases hidrolisam as xilanas presentes nos complexos xilana-lignina não solubilizados durante a polpação (Beg et al., 2001; Gomes, et al, 2007; Senthilkumar et al., 2008; Ko et al., 2010). As hemiceluloses são polissacarídeos associados à celulose e à lignina nas plantas e constituem de 20% a 40% do peso da biomassa (Himmel et al., 2007; Senthilkumar et al., 2008). As duas hemiceluloses mais comuns são as xilanas e as mananas, sendo que as xilanas constituem 90% em folhosas e 50% em coníferas (Dence e Reeve, 1996). Em plantas, as xilanas estão localizadas entre a lignina e as cadeias de celulose. Devido à sua estrutura química e a substituição dos grupos laterais, as xilanas parecem estar intercaladas e ligadas covalentemente à lignina. O fato das cadeias de xilanas serem ligadas covalentemente à lignina e não apresentarem ligações covalentes com a celulose pode ser importante para manter a integridade da celulose e ajudar a proteger as fibras contra a degradação (Beg et al., 2001).

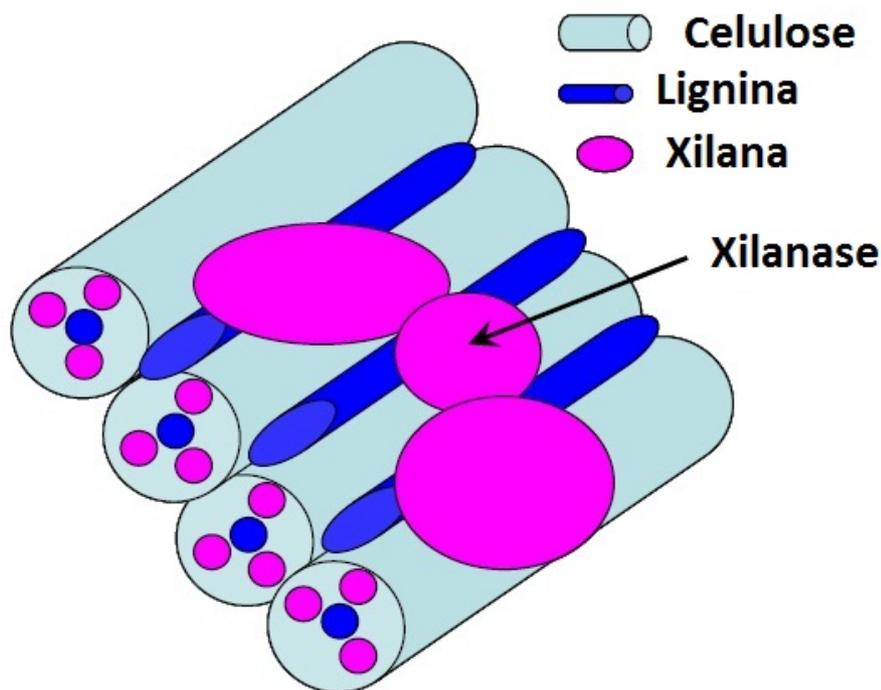


Figura 1. Esquema do mecanismo de ação da xilanase.

(modificado de Almeida, 2008)

Por fim, a terceira hipótese é a de que as xilanases facilitam a difusão dos fragmentos de lignina para fora das fibras nos estágios de branqueamento subsequentes. Nesse último caso, o inchamento da parede celular facilita o acesso dos oxidantes das próximas etapas do branqueamento (Dence e Reeve, 1996). Em resumo, a hidrólise das xilanas pode afetar mais de um parâmetro físico da polpa, igualmente liberando a lignina ligada covalentemente às xilanas ou solubilizando o precipitado de xilana, assim como a combinação desses efeitos juntamente com outros (Farrell, 1992).

2.2.2. Pré-branqueamento enzimático

Em 1987, pesquisadores propuseram a idéia inovadora de usar enzimas do grupo endo-beta-xilanase para o tratamento de polpas Kraft não branqueadas (Akhtar et al., 1995; Viikari et al., 2002). Várias patentes na área de branqueamento com enzimas surgiram em 1988 e a primeira aplicação industrial foi conduzida nesse mesmo ano (Dence e Reeve, 1996). Inicialmente, o uso de enzimas no branqueamento visava a minimização dos impactos ambientais (Durán et al., 1995; Khandeparkar e Bhosle, 2007). Dentre as possíveis enzimas utilizadas no branqueamento, a xilanase merece destaque. No início na década de 90, o tratamento típico com xilanase era feito em temperaturas variando de 40°C a 55°C, pH entre 4 e 6, consistência da polpa entre 2,5 %

e 12% e tempo de tratamento de 0,5 a 3 horas. Observações iniciais mostraram que os efeitos do tratamento enzimático variavam de acordo com o tipo de madeira, a sequência de branqueamento e o tipo de xilanase utilizada no branqueamento (Farrell, 1992).

As xilanases devem ser aplicadas antes da sequência de branqueamento, como um pré-branqueamento, pois nesse caso observa-se redução no número kappa devido à grande quantidade de lignina ainda presente na polpa. Em alguns casos ao final do branqueamento o efeito da enzima torna-se menos pronunciado, pois os demais reagentes do branqueamento mascaram a ação da xilanase (Ko et al., 2010). Bernier et al. (1994) detectaram que após o último estágio de dióxido, a atividade enzimática desaparece completamente.

O uso de lacase como um sistema de lacase-mediador fornece uma alternativa para a xilanase agir diretamente sobre a lignina. Esse mediador é de baixo peso molecular, possibilitando a sua difusão pelas fibras de celulose. Esse sistema reage tanto com frações de lignina fenólicas, quando não fenólicas. Entretanto, até hoje o uso da lacase não foi possível industrialmente devido à sua difícil obtenção, alto custo, longo tempo de reação e potencial tóxico do mediador (Fillat e Roncero, 2009; Valls e Roncero, 2009). O grande desafio atual é diminuir a quantidade necessária de lacase e do mediador para obter um bom branqueamento.

No estágio de branqueamento, as enzimas comerciais são adicionadas à polpa de acordo com a sua atividade catalítica. A atividade catalítica de cada xilanase é expressa em unidades de atividade e determinada pelos fornecedores por meio da calibração com padrões de xilose (Dence e Reeve, 1996). A unidade de atividade corresponde ao tanto de micromoles de xilose produzidos por minuto ou segundo sob condições padrões pré-definidas (Ruegger e Tauk-Tornisielo, 2002). A quantidade de enzimas aplicada depende da concentração do produto particular. É importante ressaltar que à temperatura ambiente o tempo máximo para a preservação das enzimas corresponde a seis meses, entretanto elas podem ser preservadas por muito mais tempo se refrigeradas.

2.3. Consequências do branqueamento com enzimas no efluente

O branqueamento enzimático surgiu visando melhorar a qualidade do efluente industrial, assim como reduzir o consumo de reagentes químicos usados no branqueamento (Beg et al., 2001). Em estudo realizado por Senior e Hamilton (1992) em madeiras de coníferas, os valores de DBO encontrados no efluente final da polpa tratada com xilanases foram essencialmente o dobro daquele encontrado para o controle.

A DQO e o COT (Carbono Orgânico Total) do efluente foram 1,6 vezes superiores ao controle. A relação DBO/DQO foi 40% maior para polpas tratadas com xilanases, o que indicou que os efluentes dessas polpas poderiam ser mais biodegradáveis. A quantidade de AOX na polpa tratada com ou sem enzimas xilanases foi proporcional à concentração de cloro utilizada (Senior e Hamilton, 1992). Por outro lado, em folhosas, a DQO, a DBO e o COT reduziram em 1,15, 1,23 e 1,11 vezes, respectivamente, após o tratamento com xilanases. De maneira semelhante às coníferas, ocorreu redução no AOX do efluente. Observou-se aumento da relação DBO/DQO de 10%, mostrando a obtenção de efluente de melhor tratabilidade (Senior e Hamilton, 1992). Manji (2006) detectou em coníferas, detectou-se uma diminuição de 8,3% da descarga de AOX no efluente final (Manji, 2006).

O menor valor de DQO e COT obtido para o filtrado do branqueamento enzimático de folhosas pode ser explicado pelo fato das enzimas, utilizadas inicialmente no processo, exercerem pouco ou nenhum efeito sobre o número kappa, de modo que o efluente não apresentava grandes alterações em sua qualidade. Atualmente, o aumento da DQO ocorre principalmente por causa da hidrólise das hemiceluloses no pré-tratamento enzimático levando a uma perda significativa de xilanas (Roncero et al., 2005). Com a quebra das cadeias de xilanas, há a remoção de compostos cromóforos ligados a essas cadeias, como a lignina, e ao mesmo tempo dos ácidos hexenurônicos (Roncero et al., 2005). A remoção de lignina e dos ácidos hexenurônicos levam à redução no número kappa e ao aumento da DQO do efluente. Em alguns casos há contaminação das xilanases por celulasas, o que leva à perda de celulose, degradação da fibra e consequente aumento da matéria orgânica no efluente (Beg et al., 2001). Devido à diferença na qualidade do filtrado gerado, têm se levantado questionamentos a respeito do benefício ambiental do pré-branqueamento enzimático. Na realidade, pouco se conhece do efeito do uso de enzimas no filtrado do branqueamento.

2.4. Consequências do branqueamento enzimático na qualidade do papel

A aplicação de xilanase na etapa de pré-branqueamento leva à diminuição da concentração de hemiceluloses na polpa, no caso xilanas, assim como alterações morfológicas nas fibras (Roncero et al. 2005). Deste modo, é possível que ocorram algumas alterações na qualidade do papel que são refletidas nas propriedades físico-mecânicas da polpa, assim como índice de estouro, índice de rasgo e índice de tração. A qualidade do papel é influenciada preponderantemente por três fatores: número de ligações interfibras, força dessas ligações e resistência individual das fibras. A ausência

de xilanas pode diminuir a força do papel, pois pode comprometer as ligações interfibras (Osterberg et al., 2001).

Antes da formação da folha de papel, a polpa é refinada, de modo a modificar as características das fibras levando a melhoria nas propriedades e na formação da folha (Dienes et al., 2005). Com a modificação das estruturas das fibras há a incorporação de um considerável volume de água ao material celulósico, ocorrendo o inchamento. O refino e o inchamento levam à exposição de superfícies que estavam dentro da celulose. Com o aumento dessa superfície externa, aumenta-se o número de contatos e conseqüentemente de ligações, o que resulta em um papel mais resistente. A aplicação de enzimas na fase de pré-branqueamento aumenta a dificuldade para a realização do refino, devido ao decréscimo de hemiceluloses na polpa, acarretando maior gasto energético. Por outro lado, os efeitos favoráveis desta ação enzimática são mais pronunciados após o refino, pois nesse caso a fibrilação externa é facilitada (Roncero et al., 2005).

O tratamento enzimático exerce efeito sobre o refino, o qual é afetado pelo índice de retenção de água (WRV), a interação entre as fibras, o tamanho das fibras e as mudanças em sua configuração (Mohlin e Pettersson, 2002). O WRV é um bom indicador para as ligações existentes na folha de papel. Em alguns casos a aplicação de enzimas torna o refino mais fácil, economizando-se energia (Faleiros, 2008), principalmente quando a enzima é aplicada imediatamente antes da polpa ser refinada. Resultados de Savitha et. al. (2009) indicaram que o pré-branqueamento enzimático facilita a fibrilação da polpa e a retenção de água, e aumenta o *freeness* da massa, além de levar ao maior acesso dos químicos no estágio de branqueamento. O *freeness* da polpa oferece uma idéia da taxa na qual uma suspensão diluída da polpa pode ser drenada. Essa medida também pode ser feita pelo grau Schopper Riegler que indica a resistência à drenagem. O tratamento enzimático tem por objetivo abrir os poros da parede celular, levando a alterações morfológicas como buracos, rachaduras, flocos, filamentos e descascamento. Essas rachaduras e buracos permitem a difusão dos químicos para o interior da malha fibrosa e das macromoléculas de lignina para o exterior (Roncero et al., 2000).

Trabalhos anteriores (Atik, et al., 2006; Manji et al. 2006; Ninawe e Kuhad, 2006) revelam que a aplicação de enzima no branqueamento da polpa não provoca diferenças significativas nas propriedades físicas do papel como estouro, rasgo e tração. Por outro lado, Roncero et al. (2005) obtiveram aumento nos valores de resistência ao rasgo, devido à maior fibrilação externa. Savitha et al. (2007) mostraram aumento no

índice de estouro e decréscimo do *bulk* e da espessura. Outros trabalhos (Taleb, et al., 2008; Sanghi et al., 2009) obtiveram maior *bulk* para polpas tratadas com xilanase. O *bulk* do papel corresponde ao seu volume específico aparente, de modo que um menor colapso das fibras leva a um maior *bulk*. Oksanen et al. (1997) obtiveram menor grau Schopper Riegler, menor resistência a passagem de ar e menor índice de tração para polpas cuja ação enzimática foi mais pronunciada.

Por meio de microscopia eletrônica é possível analisar a superfície da fibra após o estágio enzimático. Algumas pesquisas (Roncero et al., 2000; Roncero et al., 2005) observaram alterações morfológicas como rachadura e descascamento, sendo os efeitos mais pronunciados no primeiro estágio do branqueamento. Enquanto polpas não submetidas ao tratamento enzimático apresentaram superfícies homogêneas, as que passaram pelo pré-branqueamento apresentaram flocos e filamentos na sua superfície. Após a ação enzimática, a fibra apresentou regiões de degradação, que podem ser maiores ou menores dependendo da dosagem aplicada.

Roncero et al. (2005) apontam o pré-branqueamento enzimático como o responsável por provocar aumento da cristalinidade das fibras celulósicas. Uma explicação para o aumento obtido no estudo (Roncero et al., 2005) pode ser a eliminação dos grupos amorfos de celulose durante o estágio de pré-branqueamento. Outra explicação é a interferência das hemiceluloses e da lignina nas medições, devido ao elevado conteúdo desses componentes nos estágios iniciais. Em caso de queda discreta do número kappa, não alteração da viscosidade e redução substancial do conteúdo de xilanas, pode-se inferir que o aumento da cristalinidade é ocasionado, principalmente, pela eliminação das xilanas do material amorfo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Plano experimental

Esse trabalho foi desenvolvido no laboratório de Celulose e Papel do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, no período de 1º de agosto de 2008 a 16 de julho de 2010. Os experimentos laboratoriais foram realizados nos setores de análises ambientais, branqueamento da polpa, química da madeira, formação de folha, testes físicos do papel e testes de imagem. Estudou-se o efeito do pré-branqueamento enzimático em polpa kraft de eucalipto lavada e anteriormente submetida ao pré-branqueamento com oxigênio. O trabalho foi realizado em quatro etapas visando o estudo da qualidade dos filtrados e das polpas. Na etapa 1, realizou-se o pré-branqueamento enzimático, a 85°C por 2 horas em banho-maria, com uma xilanase em duas dosagens diferentes. Para cada dosagem o branqueamento foi realizado em dois pHs diferentes, além de serem feitas duas referências, em que a polpa do pré-branqueamento com oxigênio foi submetida às mesmas condições do branqueamento enzimático (85°C por 2 horas em pH 7 e pH 9). Após o branqueamento enzimático extraiu-se por centrifugação o licor da polpa, chamado neste trabalho de filtrado. Os filtrados e as polpas provenientes do pré-branqueamento enzimático foram caracterizados. Ainda na etapa 1, realizou-se o pré-branqueamento enzimático nas mesmas condições e dosagens em uma temperatura mais baixa, 60°C, com o objetivo de confrontar a ação enzimática nas duas temperaturas, comparando o número kappa e a alvura das polpas, assim como a DQO, a cor e a condutividade dos filtrados. Na etapa 2, realizaram-se estudos de biotratabilidade com os filtrados gerados na etapa 1. Na etapa 3 realizou-se uma sequência completa de branqueamento com as polpas geradas na etapa 1. Os filtrados de cada estágio foram caracterizados quanto a DQO (Demanda Química de Oxigênio) e as polpas quanto aos parâmetros: número kappa, alvura, viscosidade e reversão de alvura. Na etapa 4, foram utilizadas, na realização de testes físico-mecânicos com papel, as polpas obtidas no último estágio da sequência completa de branqueamento. Realizou-se o refino em quatro níveis e posteriormente análises físico-mecânicas do papel. A Figura 2 apresenta um fluxograma com o esquema de realização das etapas do trabalho.

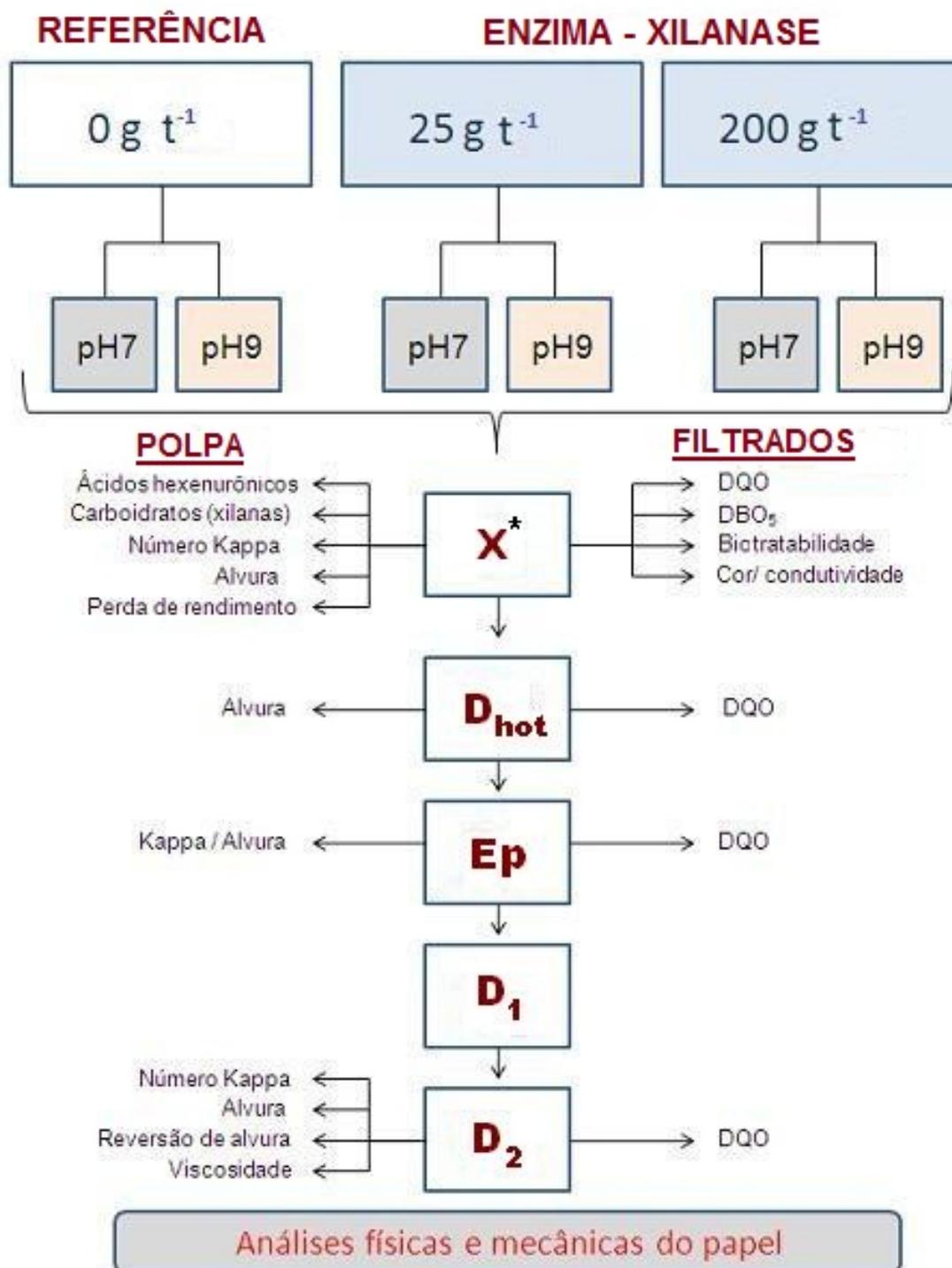


Figura 2. Esquema das etapas do trabalho.

* O pré-branqueamento enzimático (X) foi realizado a 85°C por 2 horas, representando o que ocorre industrialmente na torre de estocagem. A polpa foi utilizada na sequência completa de branqueamento e, posteriormente, nas análises físicas e mecânicas do papel. O pré-branqueamento enzimático também foi realizado a 60°C para comparar, nessa etapa, algumas características dos filtrados e das polpas com o pré-branqueamento a 85°C.

3.2. Etapa 1 – pré-branqueamento enzimático

Foi realizado o pré-branqueamento enzimático com uma endo-1,4-β-D-xilanase, cujas características estão descritas na Tabela 2. A caracterização da polpa utilizada encontra-se Tabela 3.

Estudou-se o efeito do pré-branqueamento enzimático em quatro condições operacionais: dosagens de 25 e 200 g t⁻¹ de enzima por tonelada de polpa e pH de 7 e 9 para cada dosagem. A dosagem de 25 g t⁻¹ foi baseada no uso comercial da enzima, enquanto que a dosagem de 200 g t⁻¹ foi obtida por meio da elaboração em laboratório de uma curva de decréscimo do número kappa (Figura 3). O pH 7 foi adotado por ser ideal para a ação enzimática, e o pH 9 por ser conveniente ao uso industrial, não requerendo alta dosagem de ácido para a neutralização da polpa. Como referência, foi também realizado o branqueamento nas mesmas condições de pH e temperatura sem a dosagem da enzima. Nas duas dosagens enzimáticas utilizadas no trabalho não há contribuição da enzima nos valores de DQO, cor e condutividade, sendo que a medida desses parâmetros no filtrado corresponde unicamente ao efeito da ação enzimática sobre a polpa e não da enzima em si.

Tabela 2. Características da enzima endo-1,4-β-D-xilanase utilizada no trabalho

Parâmetro	Descrição
Aparência	Líquido marrom amarelado
Densidade (g mL ⁻¹)	1,05 – 1,15
pH	3,25 – 3,65
Atividade (unidade mL ⁻¹)	7.000
Validade (T ambiente)	3 meses

Fonte: Luminase (2004)

Tabela 3. Características da polpa utilizada no trabalho

Parâmetro	Valor
DQO (kg t ⁻¹)	7,4
Número kappa	10,93
Alvura (% ISO)	51,02
Ácidos hexenurônicos (mmol kg ⁻¹)	52,0
Xilanas (%)	16,0
Viscosidade (cP)	25,80

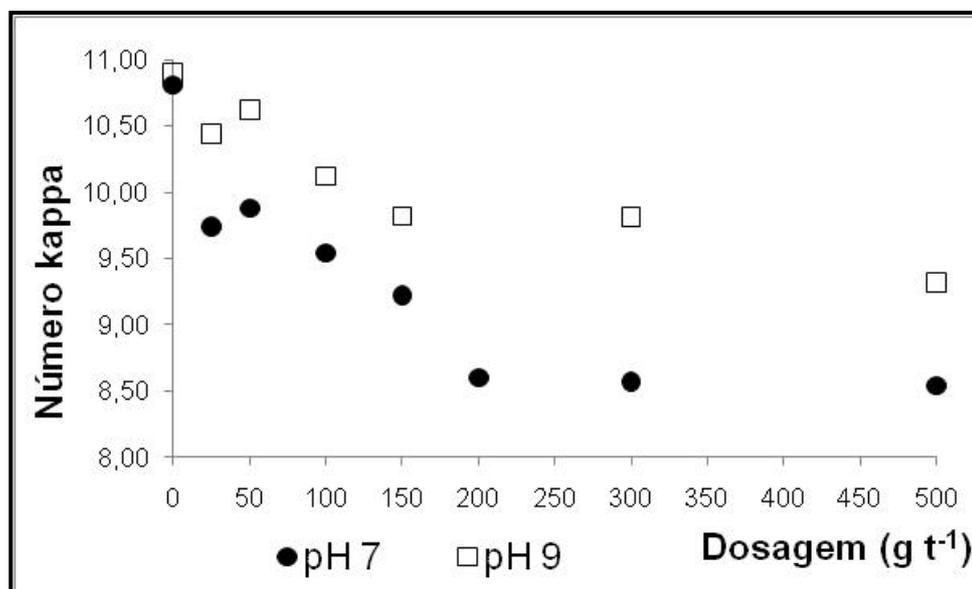


Figura 3. Curva de decréscimo do número kappa obtida em laboratório.

A dosagem da enzima também pode ser descrita por atividade enzimática. A atividade da xilanase utilizada é de 6.364 U g^{-1} de enzima. Isso significa que foram aplicadas as dosagens de 159.100 U t^{-1} e $1.272.800 \text{ U t}^{-1}$ de polpa ou $0,16 \text{ U g}^{-1}$ e $1,3 \text{ U g}^{-1}$ de polpa. A unidade enzimática representa a quantidade de enzima que catalisa a formação de $1 \mu\text{mol min}^{-1}$ de xilose a partir de uma solução de xilanas (Ruegger e Tauk-Tornisielo, 2002). Essa atividade é obtida para a enzima sob condições ideais de pH e temperatura. Para a enzima utilizada essas condições são: pH 7 e temperatura de 50°C .

Os tratamentos enzimáticos foram efetuados em sacos de polietileno, com 250 g de polpa absolutamente secas (a.s), nas condições operacionais apresentadas na Tabela 4. Foram adicionados à polpa em temperatura ambiente: H_2O , H_2SO_4 ou NaOH , de acordo com o pH desejado. O requerimento de ácido sulfúrico ou hidróxido de sódio para controle do pH foi determinado em estudo prévio, com mini amostras de polpa. Após mistura manual, em sacos de polietileno, o material foi aquecido em forno de microondas até a temperatura desejada e transferido para um banho de vapor com controle de temperatura, onde foi mantido pelo tempo pré-estabelecido. Terminada a reação, foram extraídas amostras de licor residual para análises de DQO, DBO_5 , condutividade elétrica e cor real, de acordo com as metodologias estabelecidas pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998).

A polpa foi lavada com o equivalente a 9 m^3 de água destilada por tonelada de polpa e foram analisados o número kappa, a alvura, os ácidos hexenurônicos e a

concentração de xilanas, de acordo com as metodologias especificadas na Tabela 5. Todas as etapas enzimáticas e suas referências foram efetuadas em duplicata.

Para verificar a ação enzimática em uma temperatura mais baixa, realizou-se o pré-branqueamento enzimático, nas mesmas condições e dosagens, à temperatura de 60°C. Os parâmetros analisados foram: DQO, cor, condutividade elétrica, número kappa e alvura.

Tabela 4. Condições operacionais do branqueamento enzimático

Parâmetro	Quantidades
Temperatura	85°C
Consistência	10%
Tempo de reação	2 horas
pH 1 (ótimo)	7
pH 2 (processo)	9
Dosagem 1	25 g t ⁻¹
Dosagem 2	200 g t ⁻¹

Tabela 5. Referências dos procedimentos analíticos da caracterização geral da polpa

Parâmetros	Procedimentos / Referências
Número kappa	Tappi T236 om-06
Alvura	Tappi T452 om-08
Ácidos hexenurônicos (AHex)	Vuorinen et al. (1996)
Xilanas (análise de carboidratos)	Wallis (1996)

*TAPPI: *Technical Association of Pulp and Paper Industry*

3.3. Etapa 2 – biotratabilidade dos filtrados do branqueamento enzimático

Com os filtrados gerados na etapa 1, realizou-se os ensaios de biotratabilidade em reatores biológicos em batelada simulando o processo de lodos ativados, analisando-se a capacidade desses filtrados serem tratados por meio desse processo. O tratamento biológico laboratorial foi realizado por um processo de tratamento com alimentação intermitente, ou seja, em batelada. O princípio do processo de tratamento biológico com operação intermitente consiste na incorporação de todas as unidades de processo e operações normalmente associadas ao processo convencional de alimentação contínua de lodos ativados em um único reator. Estabeleceram-se 14 ciclos de operações de 12 horas, cujas etapas consistem em:

- i) Enchimento (entrada do filtrado no reator)
- ii) Reação (aeração / e mistura da massa líquida do reator)

- iii) Sedimentação (separação das fases sólida e líquida)
- iv) Repouso (remoção do lodo excedente)

O enchimento e a reação tiveram duração de 10 horas, e a sedimentação e o repouso duração de 2 horas.

O biorreator foi constituído por um recipiente plástico de 2.000 mL e um volume útil de 1.000 mL, equipado com placas porosas para a aeração e mistura do filtrado. O recipiente foi provido de um aquecedor ligado a um termostato, mantendo-se uma temperatura constante de 35°C.

O inóculo utilizado na fase de adaptação foi o lodo aeróbio da estação de tratamento de efluentes de uma empresa de celulose e papel. Como critérios de controle e eficiência do sistema de tratamento foram utilizadas as análises de DQO do filtrado antes e após o tratamento.

Aclimação (adaptação) do lodo

Antes de começar o tratamento com o filtrado em questão, foi necessário aclimatar o lodo com o objetivo de garantir a adaptação dos microrganismos ao filtrado. Inicialmente, foi adicionado ao reator aproximadamente 500 mL de filtrado e 500 mL de biomassa, esperando se atingir uma carga de sólidos (SST) de 3.000 mg L⁻¹.

Como acompanhamento do processo de adaptação, foi analisada a DQO de entrada e saída durante cada ciclo de 12 horas, até o momento em que a eficiência de remoção permaneceu constante indicando com isso a aclimação do lodo ao filtrado tratado.

Teste de eficiência do sistema

Após a aclimação do inóculo, deu-se início ao tratamento do filtrado. No recipiente, foram adicionados 500 mL do filtrado a ser tratado naquele ciclo. A mistura foi mantida sob aeração por um período de 10 horas. O sistema foi deixado parado por 2 horas para decantar, fazendo-se posteriormente a coleta do sobrenadante, para serem feitas as análises de pH, DQO e sólidos suspensos totais (SST).

Os tratamentos foram realizados a uma temperatura constante de 35° C. Controlou-se o pH, mantendo-o numa faixa de neutralidade (6,8 a 7,2) utilizando-se soluções de H₂SO₄ ou NaOH na concentração 1 mol L⁻¹. O oxigênio dissolvido foi controlado, para garantir uma concentração de pelo menos 2 mg L⁻¹ no sistema, bem como o controle da biomassa existente no sistema por meio da análise de sólidos suspensos totais (SST), a fim de garantir uma quantidade de biomassa de 3.000 mg L⁻¹

no sistema. Como fonte de nutrientes, foram adicionados nitrogênio (uréia) e fósforo (fosfato), obedecendo a uma proporção de DBO:N:P igual a 100:5:1. O esquema laboratorial é mostrado na Figura 4.

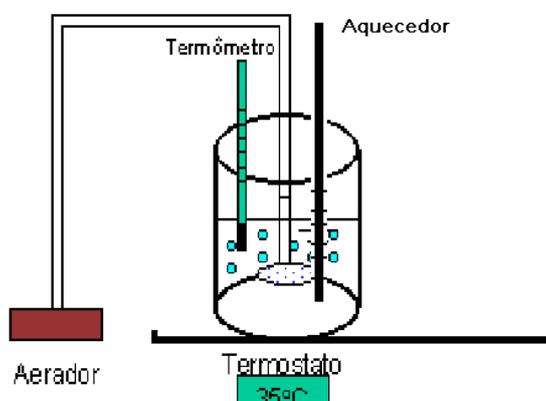


Figura 4. Representação esquemática do sistema laboratorial para tratamento do filtrado.

3.4. Etapa 3 – Sequência completa de branqueamento

Com as polpas geradas na etapa 1 foi realizada a sequência completa do branqueamento da International Paper do Brasil Ltda (IP): O X D_{hot} (Ep) D_1/D_2 . Na etapa D_{hot} mediu-se a DQO do filtrado dessa etapa e a alvura da polpa. Na etapa Ep, obteve-se a DQO do filtrado, e o número kappa e a alvura da polpa. Por fim, após o estágio D_1/D_2 , mediu-se para o filtrado a DQO, e para a polpa o número kappa, a alvura, a reversão de alvura e a viscosidade.

O volume de reagentes utilizado em cada estágio do branqueamento foi baseado no consumo de uma fábrica de polpa celulósica (Tabela 6), exceto no estágio D_{hot} das sequências em que a enzima foi aplicada na etapa de pré-branqueamento (Tabela 7). Nesses casos dosagem de dióxido foi recalculada de acordo com o número kappa obtido após o pré-branqueamento enzimático. Nesse cálculo, o número kappa da referência foi igual à dosagem aplicada na International paper, e a dosagem de dióxido de cloro de um determinado tratamento foi calculado a partir do seu respectivo número kappa por regra de três simples. As dosagens de dióxido de cloro para cada tratamento no estágio D_{hot} estão apresentadas na Tabela 7. As demais condições dos estágios da sequência completa de branqueamento estão especificadas na Tabela 6.

Tabela 6. Condições da sequência completa de branqueamento

Parâmetros	D _{hot}	Ep	D ₁	D ₂
Temperatura (°C)	85	80	80	80
TDH (min)	120	100	80	150
Consistência (%)	9	11	10	9
pH	2,5	10,0	5,0	5,0
ClO ₂ *	Tabela 7	-	4,5	3,5
H ₂ SO ₄	-	-	-	-
NaOH	-	12,0	-	1,75
MgSO ₄	-	1,5	-	-
H ₂ O ₂	-	3,5	-	-

*ClO₂ como dióxido; D_{hot}: primeiro estágio do branqueamento com dióxido; Ep: estágio de extração do branqueamento; D₁ e D₂: últimos estágios do branqueamento, sem lavagem entre eles, utilizando-se dióxido.

Tabela 7. Quantidade (kg) de dióxido de cloro (ClO₂) por tonelada de polpa seca para o estágio D_{hot}

Tratamento	Dosagem de ClO ₂ * no estágio D _{hot}
Ref. pH 7	13,5
Ref. pH 9	13,5
25 g t ⁻¹ pH 7	8,73
25 g t ⁻¹ pH 9	9,34
200 g t ⁻¹ pH 7	7,74
200 g t ⁻¹ pH 9	8,95

*ClO₂ como dióxido; D_{hot}: primeiro estágio do branqueamento com dióxido.

Deslignificação com dióxido de cloro a quente – Dhot

Nesta etapa os branqueamentos foram realizados em sacos de polietileno, com 250 g de polpa absolutamente secas (a.s), e colocados em banho-maria. Em temperatura ambiente, adicionaram-se à polpa: água, até a polpa atingir consistência de 9%, e ClO₂ de acordo com a quantidade estabelecida na Tabela 7. O requerimento de ácido sulfúrico ou hidróxido de sódio para controle do pH foi determinado em estudo prévio, com mini-amostras de polpa. Após mistura manual, em sacos de polietileno, o material foi aquecido em forno de microondas até a temperatura de 85°C e transferido para um banho de vapor com controle de temperatura, onde foi mantido por 120 minutos. Terminada a reação, foram extraídas amostras de licor residual para análises. A polpa foi então lavada com o equivalente a 9 m³ de água destilada por tonelada de polpa seca. Esta etapa foi efetuada em duplicata.

Extração com peróxido - (Ep)

Nesta etapa, os branqueamentos foram realizados em sacos de polietileno, com a polpa advinda do estágio D_{hot}, e colocados em banho-maria. Todos os cálculos foram baseados na quantidade de polpa absolutamente seca (a.s.). À polpa adicionaram-se, em

temperatura ambiente, água até atingir consistência de 11%, NaOH, H₂O₂ e MgSO₄ de acordo com as quantidades estabelecidas na Tabela 6. Após mistura manual, em sacos de polietileno, o material foi aquecido em forno de microondas até a temperatura de 80°C e transferido para um banho de vapor com controle de temperatura, onde foi mantido por 100 minutos. Terminada a reação, foram extraídas amostras dos filtrados para análises. A polpa foi então lavada com o equivalente a 9 m³ de água destilada por tonelada de polpa seca. Esta etapa foi efetuada em duplicata.

Branqueamento com dióxido de cloro – D₁/D₂

Na etapa D₁ os branqueamentos foram realizados em sacos de polietileno, com a polpa advinda do estágio Ep, e colocados em banho-maria. Todos os cálculos foram baseados na quantidade de polpa absolutamente seca (a.s.). À polpa adicionaram-se, em temperatura ambiente, água até atingir consistência de 10%, e ClO₂ de acordo com a quantidade estabelecida na Tabela 6. Após mistura manual, em sacos de polietileno, o material foi aquecido em forno de microondas até a temperatura de 80°C e transferido para um banho de vapor com controle de temperatura, onde foi mantido por 80 minutos. Os sacos de polietileno com as polpas foram retiradas do banho-maria e a etapa D₂ foi realizada sem a lavagem da polpa. Nessa etapa, à polpa ainda quente foram adicionados os reagentes ClO₂ e NaOH de acordo com a quantidade estabelecida na Tabela 6. Os sacos foram novamente misturados e transferidos para um banho de vapor à 80°C com controle de temperatura, onde foram mantidos por 150 minutos. Terminada a reação, foram extraídas amostras de licor residual para análises. A polpa foi então lavada com o equivalente a 9 m³ de água destilada por tonelada de polpa seca. Estas etapas foram efetuadas em duplicata.

As polpas do final do processo foram caracterizadas quanto ao número kappa, de acordo com o método do número permanganato, à alvura, à reversão de alvura e à viscosidade, de acordo com as metodologias especificadas nas tabelas 5 e 8.

Tabela 8. Procedimentos analíticos da caracterização geral da polpa ao final da sequência completa do branqueamento

Parâmetros	Procedimentos / Referências
Número Permanganato	CPPA G-17H
Reversão de alvura	TAPPI UM200 (4h, 105 °C, 0% UR, após acondicionamento das folhas por 4 h em sala climatizada)
Viscosidade	Tappi T230 om-08

3.5. Etapa 4 – Refino e análises físico-mecânicas do papel

Com a polpa obtida ao fim da sequência de branqueamento O X D_{hot} (Ep) D₁/D₂, foi realizado o refino em quatro níveis de revoluções do moinho PFI laboratorial e as posteriores análises físico-mecânicas do papel. Obtiveram-se os valores da energia de refino, índice de tração, índice de arrebentamento, índice de rasgo, resistência a passagem de ar, volume específico, opacidade e dispersão de luz. Visando a quantificação da absorção de água pela polpa para os diferentes tratamentos, realizou-se a análise de WRV (Water Retention Value), ou seja, índice de retenção de água.

Refino da polpa e análise das propriedades físico-mecânicas do papel

Para estudar a influência nas propriedades da polpa kraft de eucalipto causada pelas diferentes dosagens enzimáticas, as misturas foram refinadas. O refino foi realizado em refinador laboratorial tipo PFI, seguindo norma TAPPI 248 cm-85. Amostras equivalentes a 30 gramas absolutamente secas foram desagregadas com 30.000 revoluções no desagregador laboratorial, a uma consistência de 0,8%. A massa foi então drenada até consistência de 10% e submetida ao refino mecânico. Os níveis de intensidade de refino foram determinados afim de que o grau Schopper Riegler variasse de 15 a 60. Após o refino, a massa foi desagregada com 10.000 revoluções em desagregador laboratorial. A consistência foi corrigida para determinação de grau Schopper Riegler e formação das folhas.

Para realização dos testes físico-mecânicos das polpas com e sem refino foram formadas folhas laboratoriais, em formador do tipo TAPPI, obedecendo à metodologia estabelecida pela TAPPI. Para cada nível de moagem foram formadas 12 folhas, utilizadas para cada determinação conforme número de corpos de prova prescritos pela metodologia específica, conforme a Tabela 9. As folhas foram acondicionadas em ambiente com umidade relativa do ar de $50 \pm 2\%$ e temperatura de $23 \pm 1^\circ \text{C}$. Os testes

foram realizados utilizando os seguintes equipamentos: rasgo: Elmendorf; arrebatamento: Mullen; resistência à passagem de ar: Porosímetro de Gurley; espessura de folhas: micrômetro. As determinações relativas ao índice de tração foram realizadas em aparelho de testes do tipo Instron-modelo 4204, conforme norma TAPPI T494 om-96, com as seguintes condições de teste: velocidade de teste de 25 mm min⁻¹; capacidade da célula de carga de 1.000 N; dimensões do corpo de prova de 160 x 15 mm e distância entre garras de 100 mm. A leitura dos valores das forças aplicadas foi feita pelo uso de célula de carga e, a determinação das deformações pelo deslocamento da barra de tracionamento do equipamento. Ambos os equipamentos foram conectados por meio de um sistema de aquisição de dados controlado por computador, o qual permite o controle automatizado da coleta de dados e derivação das propriedades.

As análises experimentais foram realizadas conforme procedimentos e metodologias padronizadas de acordo com normas técnicas da TAPPI, conforme mostra a Tabela 9.

Análise do Índice de Retenção de Água (WRV)

Pesou-se uma amostra equivalente a 5 gramas a.s. de cada tratamento e hidratou-se por 24 horas. Posteriormente, a cada polpa adicionaram-se 2 litros de água (Cs% aproximadamente 0,25%), desintegrando a 40.000 revoluções. Foram feitas “panquecas” e a elas adicionou-se água até se atingir o peso de 50 gramas. Após homogeneização, amostras de 8,62 gramas foram pesadas em recipientes de polietileno. Com o auxílio de um bastão de vidro, uniformizou-se a superfície das amostras dentro dos recipientes, tomando cuidado para não permitir a passagem de água através das telas. Os recipientes foram colocados nos copos da centrífuga por 30 minutos. Depois de centrifugado, o material foi retirado e colocado em pesa-filtros previamente secos por 1 hora, registrando-se, assim, o peso seco. Esse valor foi registrado como peso úmido da amostra (PU). Em seguida, secou-se o material em estufa a 105 ± 3°C por 12 horas. Após esfriar em dessecador à temperatura ambiente, o material foi pesado e o valor registrado como peso seco (PS). Calculou-se pela fórmula:

$$\text{WRV} = [(\text{PU} - \text{PS}) / \text{PS}] \times 100$$

Para cada amostra, foram feitas quatro repetições.

Tabela 9. Procedimentos analíticos para determinação das propriedades físico-mecânicas do papel

Parâmetros	Procedimentos
Refino em moinho tipo PFI	T248 sp-08
Grau de refinabilidade, Schopper Riegler (°SR)	Adaptação de T227 om-09
Formação de folhas laboratoriais de papéis	T205 sp-06
Gramatura de papéis	T410 om-08
Testes físicos de papéis	T 220 sp-96
Resistência ao arrebatamento	T403 om-02
Espessura de folhas de papéis	T551 om-06
Resistência ao rasgo (Elmendorf)	T414 om-04
Resistência a tração	T494 om-06
Resistência à passagem de ar	T536 om-07
Peso específico aparente	T220 sp-96
Volume específico aparente	T220 sp-06
Opacidade	519 om-96
Coeficiente de dispersão de luz	519 om-96

3.6. Análise estatística

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com no mínimo três repetições, variando de acordo com o parâmetro analisado. Os valores obtidos para os parâmetros referentes à análise dos filtrados e das polpas foram comparados dentre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Nas comparações das curvas referentes aos testes físico-mecânicos das folhas de papel, foi utilizado o teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade (Regazzi e Silva, 2004).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Etapa 1– pré-branqueamento enzimático

Após o pré-branqueamento enzimático com a xilanase para as quatro condições operacionais: dosagens de 25 e 200 g t⁻¹ e pH de 7 e 9 para cada dosagem, e para as referências em pH 7 e pH 9, as polpas e os filtrados foram caracterizados.

Efeitos na polpa

O menor valor do número kappa (8,6) e a maior alvura (54,8% ISO) foram obtidos para a dosagem enzimática de 200 g t⁻¹ em pH 7 (Tabela 10). Observou-se menor quantidade de ácidos hexenurônicos (AHex) nesse tratamento (42,6 mmol kg⁻¹). Os AHex são formados durante o cozimento alcalino onde as cadeias laterais de ácido 4-O-metil-glicourônico presentes nas xilanas são convertidas a AHex devido à perda do metanol (Danielsson et al., 2006). A remoção dos AHex é importante, pois estes podem atuar de modo a facilitar a reversão de alvura, caso permaneçam na polpa branqueada, além de contribuir para o aumento do número kappa e para o maior consumo de reagentes nos estágios seguintes do branqueamento (Forsström et al., 2007). Assim, a remoção de AHex para essa dosagem (correspondente a 1,3 U g⁻¹ de polpa) foi de 16% em relação à referência. Tal remoção foi superior à encontrada por Valls et al. (2010), que obtiveram redução de 14% de AHex para uma dosagem de 3 U g⁻¹ de polpa. A porcentagem de xilanas foi também a menor para o tratamento de maior dosagem em pH 7, devido à melhor atuação da xilanase.

Tabela 10. Atributos das amostras das polpas após o pré-branqueamento enzimático

Tratamento	Número Kappa	Alvura (% ISO)	Ácido Hexenurônico (mmol kg ⁻¹)	Xilanas (%)	Perda de rendimento (%)
Ref. pH 7	10,8 ab	52,0 d	51,0 b	16,3 a	0,7 d
Ref. pH 9	10,9 a	51,9 d	52,2 a	16,0 a	0,8 d
25 g t ⁻¹ pH 7	9,8 c	53,1 b	45,8 d	15,1 b	2,7 b
25 g t ⁻¹ pH 9	10,4 b	52,0 d	51,1 b	15,7 ab	1,7 c
200 g t ⁻¹ pH 7	8,6 d	54,8 a	42,6 e	14,2 c	3,2 a
200 g t ⁻¹ pH 9	9,9 c	52,5 c	48,5 c	15,2 b	2,2 bc

Branqueamento enzimático realizado a 85°C por 2 horas em banho-maria;

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Por outro lado, as amostras correspondentes a 25 g t⁻¹ em pH 7, 200 g t⁻¹ em pH 9 e 25 g t⁻¹ em pH 9 apresentaram, nessa ordem, valores decrescentes de alvura e valores crescentes de número kappa, ácidos hexenurônicos e xilanas. Khandeparkar e Bhosle (2007) acompanharam a queda no número kappa e da alvura em dosagens variando de 0 a 40 U g⁻¹ de polpa. Nas dosagens de 0,16 e 1,3 U g⁻¹ de polpa (referente às dosagens de 25 g t⁻¹ e 200 g t⁻¹) não foi observada grande variação no número kappa, na alvura e na viscosidade (Khandeparkar e Bhosle, 2007). Isso pode ter sido ocasionada pela enzima utilizada, pois algumas xilanases não apresentam efeitos visíveis sobre o número kappa quando aplicadas em baixa dosagem.

Em madeiras de fibra curta, a lignina residual e os ácidos hexenurônicos são responsáveis pela maior porção dos materiais oxidáveis, quantificados pelo número kappa, de modo que 11,9 mmol de AHex kg⁻¹ equivale a uma unidade de kappa (Li e Gellerstedt, 1997). Na Tabela 10 nota-se que para a maior dosagem enzimática em pH 7, a queda da concentração de AHex foi de 8,37 mmol kg⁻¹ em relação a referência. Considerando uma unidade de kappa equivalente a 11,9 mmol de AHex kg⁻¹ (Li e Gellerstedt, 1997), obtém-se uma contribuição de apenas 0,7 unidades de kappa devido a redução dos AHex. Assim, é possível inferir que grande parte da redução do número kappa é resultado da remoção de lignina da polpa.

Percebe-se que a redução da concentração de xilanas na polpa acompanha o decréscimo do número kappa assim como o aumento da alvura nos diferentes tratamentos. Isso se deve ao fato das xilanases atuarem nas xilanas dos complexos lignina-carboidrato, clivando tais ligações, permitindo a difusão da lignina e de outros compostos cromóforos (Ko et al., 2010). No processo, algumas cadeias de xilanas são degradadas, somando-se àquelas precipitadas durante a polpação Kraft e às pertencentes ao material amorfo da fibra celulósica (Roncero et al., 2005). A perda de xilanas foi

relativamente alta para a maior dosagem enzimática em pH 7, correspondendo a aproximadamente 13% em relação à referência no mesmo pH. Essa redução na concentração de xilanas acarreta perda de rendimento, pois as xilanases quebram as xilanas em cadeias pequenas de oligômeros e no correspondente monômero que são mais facilmente dissolvidos (Hart e Harry, 2006).

As perdas de rendimento encontradas para os tratamentos foram elevadas (Tabela 10). Teoricamente, não deveria haver perdas para a referência, uma vez que em condições industriais é comum a estocagem de polpa em temperaturas elevadas. Desde modo, para calcular a real perda de rendimento, é necessário subtrair o valor encontrado pela referência. Assim, a perda de rendimento foi de 2% para a dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 7, 0,9% para 25 g t⁻¹ em pH 9, 2,5% para 200 g t⁻¹ em pH 7 e 1,4% para a dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 9. Sabendo-se que a perda de rendimento está diretamente relacionada à perda de xilanas (Hart e Harry, 2006), nota-se a redução na porcentagem desse carboidrato foi inferior à queda no rendimento (Tabela 10). Como exemplo, para a menor dosagem em pH 7, a perda de xilanas foi de 1,2%, em contraste com os 2% encontrados para a perda de rendimento. Sendo a perda de rendimento um teste laboratorial pouco preciso, é possível que a análise tenha sido superestimada.

Vale salientar ainda o importante efeito do pH na reação enzimática. Todos os tratamentos em pH 7 foram mais favoráveis à ação das enzimas. Por exemplo, comparando-se a dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 7 com a alta dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 9, observou-se que os melhores resultados devido a ação da enzima foram para a menor dosagem em pH 7. Shah e Madamwar (2005) explicaram que a reação enzimática é influenciada pelo pH, pois as ligações e catálises dos substratos são frequentemente dependentes da distribuição de cargas dos substratos e particularmente das moléculas de enzima.

Efeitos nos filtrados

Houve aumento expressivo na concentração da matéria orgânica nas sequências com o uso de enzimas (Tabela 11). Pode-se observar uma concentração de DQO (5.051 mg L⁻¹) cinco vezes superior à referência, (933 mg L⁻¹). Em pH 7, a ação enzimática foi favorecida e conseqüentemente os valores de DQO e DBO₅ dos filtrados foram maiores nesta condição. Por exemplo, as amostras correspondentes a 25 g t⁻¹ em pH 7, 200 g t⁻¹ em pH 9 e 25 g t⁻¹ em pH 9 apresentaram, nessa ordem, valores decrescentes de DQO

dos filtrados (3.368, 2.431 e 1.833 mg L⁻¹). As concentrações de DBO₅, cor e condutividade elétrica obedeceram à mesma ordem que a DQO dentre as amostras.

Tabela 11. Caracterização dos filtrados após o pré-branqueamento enzimático

Tratamento	DQO (mg L ⁻¹)	DBO ₅ (mg L ⁻¹)	Cor real (mg L ⁻¹)	Condutividade Elétrica (μS cm ⁻¹)	Relação DBO ₅ /DQO
Ref. pH 7	933 ± 25 f	381 ± 21 e	331 ± 28 e	235 ± 29 c	0,41 ± 0,03 a
Ref. pH 9	1169 ± 30 e	421 ± 16 e	345 ± 15 e	238 ± 25 c	0,37 ± 0,02 b
25 g t ⁻¹ pH 7	3368 ± 78 b	1378 ± 60 b	761 ± 13 b	386 ± 18 b	0,41 ± 0,01 ab
25 g t ⁻¹ pH 9	1833 ± 58 d	717 ± 11 d	487 ± 36 d	199 ± 11 c	0,39 ± 0,01 ab
200 g t ⁻¹ pH 7	5051 ± 133 a	2180 ± 42 a	1012 ± 21 a	450 ± 14 a	0,43 ± 0,01 ab
200 g t ⁻¹ pH 9	2431 ± 140 c	943 ± 40 c	656 ± 25 c	246 ± 5 c	0,40 ± 0,03 ab

Médias ± desvio padrão;

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O aumento da DQO do filtrado ocorre, principalmente, devido a remoção dos AHex, da lignina e das xilanas da polpa. Segundo Roncero et al. (2005), o estudo com HPLC (High performance liquid chromatography) de conteúdo dos monossacarídeos mostra que o aumento da DQO ocorre principalmente por causa da hidrólise das hemiceluloses no pré-tratamento enzimático levando a uma perda significativa de xilanas. Analisando-se a condição de melhor reação enzimática (200 g t⁻¹ em pH 7), tomando por base a Tabela 10, nota-se que aproximadamente 8,4 mmol de AHex kg⁻¹ de polpa e 2,2% das xilanas foram para o filtrado. Com relação à lignina, considerando-se que 8,4 μmol de lignina corresponde a uma unidade de kappa (Vuorinen et al., 1996) e que aproximadamente 1,5 unidades de kappa correspondem à remoção da lignina, pode-se deduzir que cerca de 12,6 μmol de lignina kg⁻¹ de polpa encontram-se no filtrado, contribuindo para o aumento da DQO. Esta lignina, juntamente com outros materiais cromóforos retirados da polpa, contribui para o aumento da cor observado na Tabela 11.

Segundo Hart e Harry (2006), a queda no rendimento leva ao aumento da DBO e conseqüentemente da DQO, devido à perda de xilanas, material biodegradável, da polpa para o filtrado. Resultados semelhantes podem ser observados nas Tabelas 10 e 11, nas quais tratamentos com maior DQO apresentaram maior remoção de xilanas e, conseqüentemente, maior perda de rendimento. Com esses dados, obteve-se uma

correlação linear positiva entre DQO e perda de rendimento, assim como entre DQO e remoção de xilanas (Figura 5). Nota-se que a perda de rendimento foi superior à remoção de xilanas, porém ambos apresentaram elevada correlação com a DQO do filtrado.

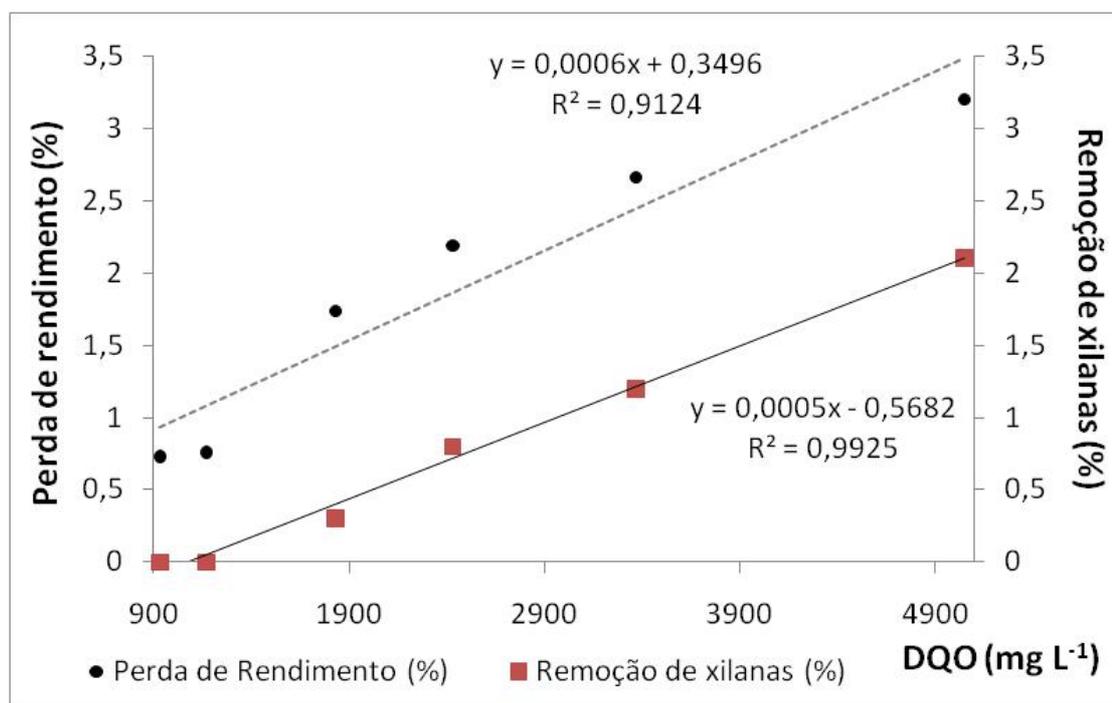


Figura 5. DQO (mg L⁻¹) versus perda de rendimento (%) e versus remoção de xilanas (%) para as referências e os tratamentos com diferentes dosagens enzimáticas.

O aumento da condutividade elétrica após a aplicação de enzimas pode ter sido ocasionado pela clivagem dos grupos laterais das cadeias de xilanas e pelo grupo carboxílico presente na lignina. Os grupos laterais podem ser formados por xiloses, glicoses, arabinoses e ácidos glicourônicos, variando-se com a madeira utilizada no processo. Em madeira de eucalipto, os grupos laterais são preponderantemente formados por grupos acetil e ácido 4-O-metilglicourônico. A quantidade de ácido urônico determina a densidade de carga das xilanas. Deste modo, sendo esses grupos clivados e liberados, o filtrado apresentará maior carga elétrica, e conseqüentemente maior condutividade elétrica (Osterberg et al., 2001). Um dos principais grupos funcionais da lignina é o grupo carboxílico (Mansouri e Salvadó, 2007). Quando a lignina ligada às xilanas é removida, os grupos carboxílicos ficam expostos, podendo contribuir para o aumento da condutividade.

Uma das maneiras de diminuir a quantidade de efluente a ser tratado, seria por meio da recirculação do filtrado para os estágios anteriores. Assim, o filtrado do pré-

branqueamento enzimático poderia ser utilizado na lavagem da polpa marrom ou da polpa do pré-branqueamento com oxigênio. Entretanto, estima-se que esse filtrado está repleto de ligninas de baixa reatividade, liberadas dos complexos lignina-hemicelulose após a hidrólise das xilanas pela xilanase. Deste modo, a eficiência do pré-branqueamento com oxigênio iria diminuir, pois essa lignina tenderia a se agregar à polpa, consumindo álcali da reação e elevando o número kappa. Assim, pode-se deduzir que a utilização do filtrado do pré-branqueamento enzimático nos estágios anteriores não é recomendável, pois diminuiria a eficiência do pré-branqueamento com oxigênio.

Como o destino do filtrado do pré-branqueamento enzimático é a estação de tratamento de efluentes, o aumento da DQO torna-se relevante para as fábricas que vêm adotar o uso de enzimas. Considerando que os efluentes do setor de branqueamento são os mais significativos de todo o processo, esses devem, portanto, afetar a estação de tratamento dos efluentes com um incremento significativo de matéria orgânica, e, conseqüentemente, elevar os gastos de tratamento.

A relação DBO_5/DQO representa o grau de biodegradabilidade da matéria orgânica presente nos filtrados. Valores DBO_5/DQO mais próximos de 1 indicam um filtrado mais biodegradável, contrastando com valores mais próximos de zero, que mostram a presença de matéria orgânica recalcitrante ao tratamento biológico. Em fábricas de celulose kraft branqueada, esta relação se encontra na faixa de 40% a 50%. Neste trabalho a relação foi bastante semelhante para todas as amostras ficando em torno de 40%. Desse modo, pode-se considerar que o pré-branqueamento enzimático não alterou a capacidade do filtrado de ser tratado biologicamente. Obviamente, como foi exposto anteriormente, poderá haver um incremento na carga orgânica o que poderá afetar o dimensionamento da estação de tratamento de efluentes da fábrica.

Pré-branqueamento realizado na temperatura de 60°C

Observa-se que o número kappa dos tratamentos a 60°C e a 85°C seguiram a mesma ordem de decréscimo (Tabela 12). No pré-branqueamento a 60°C houve diferença significativa para todas as amostras em que a enzima xilanase foi utilizada, enquanto para a temperatura de 85°C, os tratamentos de 25 g t⁻¹ em pH 7 e 200 g t⁻¹ em pH 9 apresentaram números kappa estatisticamente iguais. Comparando-se cada tratamento nas duas temperaturas, percebe-se que para o número kappa não há diferença significativa dentre as referências. No entanto, para cada tratamento enzimático houve diferença significativa entre as duas temperaturas estudadas. A diminuição do número

kappa nos tratamentos enzimáticos em menor temperatura demonstra que a xilanase utilizada apresenta melhor ação enzimática em menores temperaturas.

Tabela 12. Atributos das amostras das polpas após o pré-branqueamento enzimático a 60°C e a 85°C

Tratamento	Número Kappa		Alvura (% ISO)	
	60°C	85°C	60°C	85°C
Ref. pH 7	10,7 a A	10,8 ab A	52, 1 d A	52,0 d A
Ref. pH 9	10,7 a A	10,9 a A	52,1 d A	52,9 d A
25 g t⁻¹ pH 7	9,2 d A	9,8 c B	53,8 b A	53,1 b B
25 g t⁻¹ pH 9	9,9 b A	10,4 b B	53,0 c A	52,0 d B
200 g t⁻¹ pH 7	8,2 e A	8,6 d B	55,2 a A	54,8 a B
200 g t⁻¹ pH 9	9,5 c A	9,9 c B	53,1 c A	52,6 c B

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As alvuras obtidas para os tratamentos a 60°C apresentaram mesma ordem de crescimento quando comparadas àquelas obtidas à temperatura de 85°C (Tabela 12). No entanto, para as amostras de dosagem 25 g t⁻¹ em pH 7 e 200 g t⁻¹ em pH 9 não houve diferença significativa entre as médias. Comparando-se cada tratamento nas temperaturas de 60°C e 85°C, percebe-se que do mesmo modo que o número kappa não houve diferença significativa entre as referências e para os tratamentos enzimáticos, a alvura foi maior para aqueles cujo pré-branqueamento foi realizado a 60°C.

Apesar da diferença encontrada entre cada tratamento para as temperaturas de 60°C e 85°C serem estatisticamente diferentes, a melhora na qualidade da polpa branqueada a 60°C foi relativamente pequena. O decréscimo no número kappa variou de 0,4 a 0,6 unidades kappa, o que representa apenas 4% a 6% do número kappa a 85°C. O ganho de alvura também foi baixo, variando de 0,4% a 0,95% ISO, o que equivale um aumento de 0,7% a 1,8% da alvura obtida na maior temperatura. Deste modo, em algumas indústrias pode ser vantajoso realizar o pré-branqueamento enzimático sob maior temperatura, devido aos menores gastos para o resfriamento da polpa.

A concentração de DQO a 60°C seguiu a mesma ordem da encontrada anteriormente a 85°C, sendo que, comparando-se as DQOs encontradas nas duas temperaturas, não foi observado diferença significativa para a referência em pH 9 e para as dosagens de 25 g t⁻¹ em pH 7 e 200 g t⁻¹ em pH 9 (Tabela 13). Para as dosagens de 25 g t⁻¹ em pH 9 e 200 g t⁻¹ em pH 7 observou-se aumento de aproximadamente 400 mg L⁻¹ na DQO dos filtrados o que equivale a um acréscimo de 18% e 6,5% respectivamente, da DQO a 85°C. No caso da referência o aumento da concentração de DQO foi de 10%,

no entanto, como esse acréscimo corresponde a apenas 100 mg L⁻¹, a diferença pode ser devido a variações inerentes à análise laboratorial.

Tabela 13. Valores de DQO das amostras dos filtrados após o pré-branqueamento enzimático a 60°C e a 85°C

Tratamentos	DQO (mg L ⁻¹)	
	60°C	85°C
Ref. pH 7	1042 ± 41 e A	933 ± 25 f B
Ref. pH 9	1064 ± 41 e A	1169 ± 30 e A
25 g t ⁻¹ pH 7	3252 ± 41 b A	3368 ± 78 b A
25 g t ⁻¹ pH 9	2258 ± 115 d A	1833 ± 58 d B
200 g t ⁻¹ pH 7	5401 ± 124 a A	5051 ± 133 a B
200 g t ⁻¹ pH 9	2817 ± 214 c A	2431 ± 140 c A

Médias ± desvio padrão;

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Semelhante à DQO, a cor dos filtrados a 60°C também seguiu a ordem encontrada para o pré-branqueamento enzimático a 85°C (Tabela 14). No entanto, para as dosagens de 25 g t⁻¹ em pH 7 e 200 g t⁻¹ em pH 9 não houve diferença significativa entre a cor dos filtrados gerados a 60°C. Comparando-se cada tratamento nas duas temperaturas, nota-se que apenas a dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 9 não apresentou diferença significativa entre a média nas duas temperaturas o que era esperado, uma vez que a concentração de DQO não foi diferente nessa mesma dosagem. Para a dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 7 houve pequeno decréscimo na cor, o qual foi considerado estatisticamente menor que o pré-branqueamento a 85°C. Entretanto, a DQO para essa mesma dosagem não apresentou diminuição significativa em relação ao branqueamento a 85°C.

Tabela 14. Atributos das amostras dos filtrados após o pré-branqueamento enzimático a 60°C e a 85°C

Tratamento	Cor real (mg L ⁻¹)		Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹)	
	60°C	85°C	60°C	85°C
Ref. pH 7	306 ± 18 d A	331 ± 28 e A	267 ± 16 cd A	235 ± 29 c A
Ref. pH 9	317 ± 3 d A	345 ± 15 e A	247 ± 33 d A	238 ± 25 c A
25 g t ⁻¹ pH 7	679 ± 28 b A	761 ± 13 b B	381 ± 7 b A	386 ± 18 b A
25 g t ⁻¹ pH 9	572 ± 16 c A	487 ± 36 d B	228 ± 14 d A	199 ± 11 c A
200 g t ⁻¹ pH 7	1081 ± 19 a A	1012 ± 21 a B	485 ± 7 a A	450 ± 14 a B
200 g t ⁻¹ pH 9	700 ± 18 b A	656 ± 25 c A	297 ± 12 c A	246 ± 5 c B

Médias ± desvio padrão;

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A condutividade elétrica a 60°C seguiu o mesmo padrão encontrado para os tratamentos a 85°C (Tabela 14). Entretanto, para a menor temperatura, a dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 9 foi estatisticamente diferente da dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 9, diferentemente do observado para essas mesmas dosagens no branqueamento a 85°C. Comparando-se cada tratamento nas duas temperaturas, nota-se que apenas as dosagens de 200 g t⁻¹ em pH 7 e 200 g t⁻¹ em pH 9 apresentaram condutividade significativamente maior na temperatura de 60°C.

Como industrialmente é mais vantajoso aplicar o pré-branqueamento enzimático em alta temperatura, algumas pesquisas têm procurado aprimorar as enzimas de modo que sejam eficientes quando utilizadas em temperatura elevada (Gomes et al., 2007; Khandeparkar e Bhosle, 2007). Entretanto, muitas enzimas ainda apresentam melhor ação em temperatura por volta de 50°C (Mohana, et al., 2008). Embora tenha sido uma melhora discreta, a enzima utilizada nesse trabalho apresentou melhor branqueamento em temperatura mais baixa. A utilização da xilanase estudada a 60°C ou a 85°C depende das necessidades da indústria em que será aplicada. Para uma determinada empresa é possível que seja mais vantajoso haver um estágio enzimático em alta temperatura, já que o estágio anterior, pré-O₂, é conduzido em temperatura elevada, diminuindo, assim, os gastos com resfriamento da polpa. Entretanto, se a queda no número kappa for mais relevante que se manter a temperatura elevada, pode ser vantajoso realizar o pré-branqueamento enzimático a 60°C.

4.2. Etapa 2 – biotratabilidade dos filtrados do pré-branqueamento enzimático

A remoção de DQO não variou entre os tratamentos dos efluentes, apresentando valor médio de 86,0%, considerada uma alta porcentagem de remoção de DQO (Tabela 15). Entretanto, os valores de DQO final dos filtrados foram diferentes nas condições analisadas, isto é, variaram de acordo com a concentração da DQO inicial do filtrado (Tabela 11). Como exemplo, para condição de 200 g t⁻¹ em pH 7 obteve-se maior valor de DQO final, igual a 639 mg L⁻¹, ou seja, 5,3 vezes maior do que a referência (121 mg L⁻¹), enquanto que a condição de 25 g t⁻¹ em pH 9 apresentou uma DQO final de 233 mg L⁻¹, apenas 1,7 vezes maior que a referência (137 mg L⁻¹) nas mesmas condições. Os valores de DBO₅ (tabelas 11 e 15) demonstram que a remoção da matéria orgânica biodegradável é semelhante para todos os tratamentos, variando de 97% a 98,8 %. A

menor dosagem em pH 9 apresentou uma DBO_5 de 19 mg L^{-1} ao final da biotratabilidade, enquanto para a maior dosagem em pH 7, a DBO_5 final foi de 48 mg L^{-1} , valores 1,8 e 9,6 vezes, respectivamente, superiores aos tratamentos em que a enzima não foi aplicada (Tabela 15).

Tabela 15. Valores de remoção de DQO solúvel, concentração de DQO final e DBO_5 final dos filtrados da biotratabilidade em reatores biológicos (filtrado da etapa 1)

Tratamento	Remoção de DQO (%)	DQO final (mg L^{-1})	DBO_5 final (mg L^{-1})
Ref. pH 7	$85,3 \pm 3,4$ ns	121 ± 5 e	5 ± 1 d
Ref. pH 9	$85,3 \pm 8,0$ ns	137 ± 11 e	5 ± 3 d
25 g t^{-1} pH 7	$87,3 \pm 1,0$ ns	419 ± 14 b	31 ± 1 b
25 g t^{-1} pH 9	$87,3 \pm 0,7$ ns	233 ± 10 d	19 ± 2 c
200 g t^{-1} pH 7	$85,5 \pm 2,9$ ns	639 ± 20 a	48 ± 6 a
200 g t^{-1} pH 9	$85,7 \pm 1,8$ ns	321 ± 21 c	28 ± 3 b

Médias \pm desvio padrão;

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade;

ns: não significativo.

Nas figuras 6 e 7 é possível observar os 14 ciclos da biotratabilidade e as diferenças entre a DQO inicial e final para cada ciclo das amostras em pH 7 e pH 9. Nessas figuras percebe-se que a partir do quarto ciclo a biomassa está completamente adaptada ao filtrado de modo que a remoção da DQO é praticamente a mesma. Além disso, nota-se que a eficiência de remoção foi alta para todos os tratamentos, independente da dosagem enzimática ou do pH. Entretanto, quando a DQO inicial foi alta para um determinado tratamento, a DQO final permaneceu proporcionalmente elevada.

A porcentagem de filtrado tratado no biorreator corresponde à biodegradabilidade deste, atributo medido pela relação DBO_5/DQO . Entretanto, nota-se que, enquanto a relação DBO_5/DQO foi de 40% para todos os filtrados, a biotratabilidade chegou a uma porcentagem bastante superior, correspondente a 80%. Isso ocorre, pois a biotratabilidade relaciona-se à DBO última, que é aproximadamente 1,43 vezes maior que a DBO_5 . A DBO última aproxima-se da quantidade real de material biodegradável presente no filtrado, o que possibilita a obtenção de uma relação ($DBO_{\text{última}}/DQO$) que ofereça um valor de biodegradabilidade do filtrado mais coerente, porém ainda diferente, com a realidade. Como exemplo, pode-se calcular a relação $DBO_{\text{última}}/DQO$ para o tratamento de 25 g t^{-1} em pH 7. Como a DBO_5 é 1.378 mg L^{-1} (Tabela 11) a $DBO_{\text{última}}$ será 1.970 mg L^{-1} . Como a DQO foi de 3.368 mg L^{-1} (Tabela 11) a relação $DBO_{\text{última}}/DQO$ será de 60%. Pode-se notar que apesar de mais alto, esse

valor ainda é inferior àquele obtido pelo sistema de lodos ativados, medido pela biotratabilidade em reatores biológicos (Tabela 15). A maior biodegradação no protótipo do tratamento aeróbio foi devido à melhor aeração, à temperatura favorável e à utilização de microrganismos mais adaptados ao filtrado.

Trabalhos anteriores (Senior e Hamilton, 1992) mostram que em alguns casos a biotratabilidade do efluente aumenta com o acréscimo do pré-branqueamento enzimático. Esse resultado foi obtido, pois o material retirado pela xilanase foi preponderantemente carboidrato, substância facilmente biodegradada. Atualmente as xilanases possibilitam também a retirada de lignina, observando-se queda no número kappa, substância de mais difícil biodegradação. Nesse trabalho, o balanço entre os carboidratos, as ligninas e as outras substâncias retiradas da polpa foi neutro, de modo que a biodegradabilidade do filtrado não foi alterada (Tabela 15).

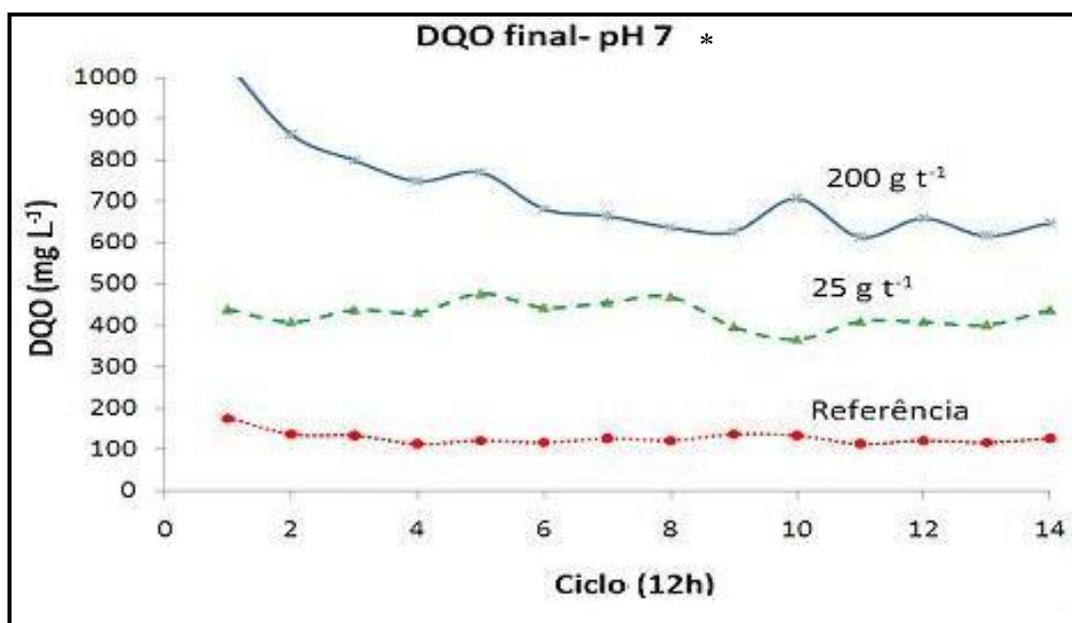


Figura 6. Variação da DQO final na biotratabilidade dos filtrados dos tratamentos em pH 7 ao longo do ciclo de 12 horas.

*A DQO inicial para cada tratamento foi: referência = 933 mg L⁻¹; 25 g t⁻¹ = 3.368 g t⁻¹; 200 g t⁻¹ = 5.051 mg L⁻¹.

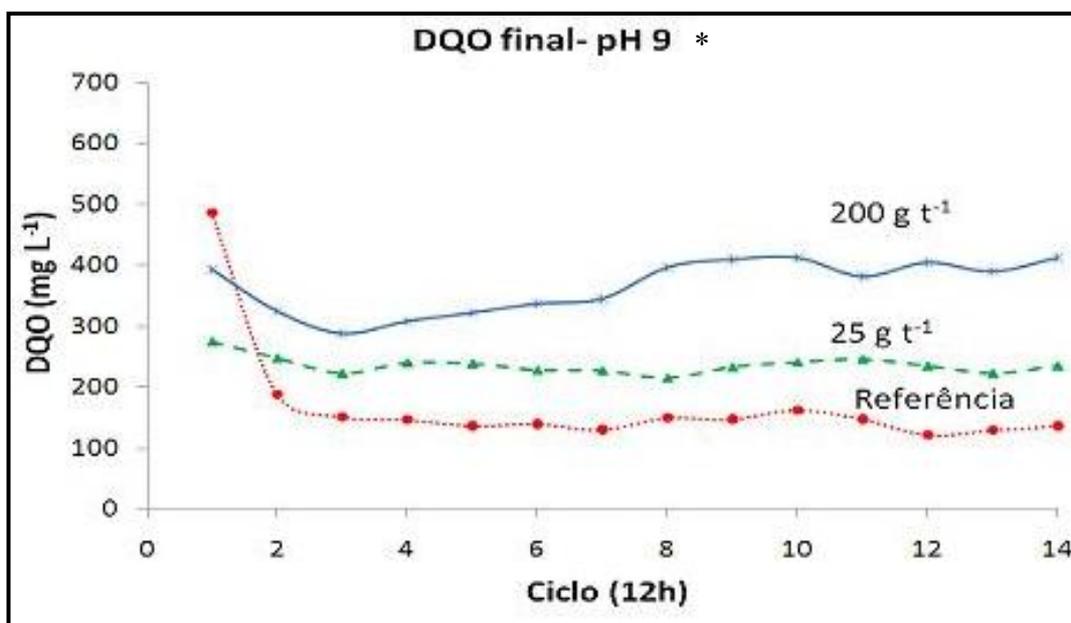


Figura 7. Variação da DQO final na biotrababilidade dos filtrados dos tratamentos em pH 9 ao longo do ciclo de 12 horas.

*A DQO inicial para cada tratamento foi: referência = 1.169 mg L⁻¹; 25 g t⁻¹ = 1.833 g t⁻¹; 200 g t⁻¹ = 2.431 mg L⁻¹.

4.3. Etapa 3 – sequência completa de branqueamento

Pode-se observar que para o primeiro estágio do branqueamento (D_{hot}) houve uma diferença significativa entre as alvuras médias dos tratamentos quando comparadas com aquelas das referências, sem a presença da xilanases (Tabela 16). A dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 7 apresentou a maior alvura dentre os tratamentos, enquanto as dosagens de 25 g t⁻¹ em pH 7 e 25 g t⁻¹ em pH 9 foram estatisticamente iguais, apresentando a segunda maior alvura, porém essa última não diferiu do tratamento 200 g t⁻¹ em pH 9. Dentre os tratamentos enzimáticos, aqueles efetuados em pH 9 apresentaram as menores alvuras, indicando mais uma vez que há maior atividade enzimática em pH 7. Não obstante, obteve-se em pH 9 valores de alvura superiores às referências sem o estágio enzimático (Tabela 16).

Esses resultados demonstram que o efeito da ação enzimática observada no pré-branqueamento perdura no estágio seguinte. É interessante notar que no estágio D_{hot} , a diferença entre as referências e os tratamentos torna-se mais pronunciada que no estágio enzimático. No estágio enzimático (Tabela 10), a polpa tratada com 25 g t⁻¹ em pH 9 apresentou alvura estatisticamente igual às referências, enquanto no primeiro estágio do

branqueamento, esta propriedade foi maior do que das referências, sem enzimas (Tabela 16).

Tabela 16. Atributos na polpa ao longo da sequência completa de branqueamento (média de três repetições)

Tratamento	Estágios do branqueamento				
	D_{hot}^*	Ep^{**}		D_1/D_2^{***}	
	Alvura (% ISO)	Alvura (% ISO)	Número Kappa	Alvura (% ISO)	Número Permanganato
Ref. pH 7	71,1 d	81,9 d	2,4 a	91,4 b	0,9 a
Ref. pH 9	71,0 d	82,1 d	2,4 a	91,4 b	0,9 a
25 g t ⁻¹ pH 7	74,8 b	83,4 b	2,4 a	92,2 a	0,5 c
25 g t ⁻¹ pH 9	74,4 bc	82,4 c	2,4 a	92,1 a	0,7 b
200 g t ⁻¹ pH 7	76,4 a	84,1 a	1,5 c	92,3 a	0,5 c
200 g t ⁻¹ pH 9	74,4 c	83,5 b	2,0 b	92,2 a	0,6 bc

* D_{hot} : primeiro estágio do branqueamento com dióxido; ** Ep : estágio de extração do branqueamento;

*** D_1 e D_2 : últimos estágios do branqueamento, sem lavagem entre eles, utilizando-se dióxido;

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se observar que o tratamento com xilanases melhora o acesso às fibras pelos reagentes do branqueamento. Trabalhos anteriores (Roncero et al., 2000) demonstram por microscopia eletrônica de varredura que o efeito do pré-branqueamento enzimático foi mais evidente no primeiro estágio do branqueamento. Nesse estágio pôde-se observar o efeito peeling das fibras, apresentando discretas regiões de degradação. Os buracos e fissuras formados pelo tratamento enzimático permitem: o melhor acesso dos reagentes à fibra, diminuição da difusão dos fragmentos de lignina degradados e possibilidade de remoção de fragmentos de lignina menos degradados da parede celular (Roncero et al., 2000). Deste modo, ocorre um aumento da alvura nas amostras anteriormente submetidas ao tratamento enzimático.

Após o estágio Ep (Tabela 16) foi ainda possível notar diferenças estatisticamente significativas, embora pequena, para a alvura dos tratamentos enzimáticos em comparação com as referências. No entanto, para o número kappa apenas as dosagens de 200 g t⁻¹ em pH 7 e 200 g t⁻¹ em pH 9 se mostraram menores e estatisticamente diferentes das demais (Tabela 16). A molécula de dióxido de cloro no primeiro estágio (D_{hot}) atua simultaneamente nas xilanases, substâncias cromóforas e fibra celulósica (Ko et al., 2010). Assim, no estágio subsequente (Ep) um menor benefício das xilanases é observado ao se medir o número kappa. Entretanto, assim como em

trabalhos anteriores (Ko et al., 2010), aumento na alvura ainda é observado, atributo considerado favorável para a qualidade da polpa.

As alvuras encontradas após o último estágio do branqueamento foram próximas, de modo que todos os tratamentos apresentaram valores estatisticamente iguais entre si (média de 92,2), embora diferentes das referências (média de 91,4) (Tabela 16). No entanto, para o número kappa foi possível notar, dentre os tratamentos, diferença significativa apenas para a dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 9, o qual foi ligeiramente superior aos demais tratamentos. Em trabalho realizado por Madlala et al. (2001), polpa Kraft tratada com dosagem de 1 U g⁻¹ de xilanase e submetida a uma sequência completa de branqueamento proporcionou decréscimo de 0,3 pontos para o número kappa. Esse resultado foi semelhante ao apresentado na Tabela 16 em que a dosagem de 200 g t⁻¹, correspondente a 1,3 U g⁻¹, apresentou redução de 0,37 pontos em relação à referência.

Comparando-se as tabelas 10 e 16, percebe-se que as diferenças obtidas para as amostras submetidas ao tratamento enzimático, em relação às referências, imediatamente após o pré-branqueamento enzimático são maiores que àquelas ao fim da sequência completa de branqueamento. Isso se deve à elevada quantidade de dióxido aplicada na sequência geral do branqueamento, o qual mascara a ação da xilanase (Ko et al., 2010). No estudo realizado por Bernier et al. (1994), detectou-se que após o último estágio de dióxido, a atividade enzimática desaparece completamente, diferentemente observado na Tabela 16. Embora o efeito das xilanases seja menor ao final do último estágio, ainda é possível ser notado, uma vez que um ponto de alvura ao final da sequência de branqueamento é mais visível a olho nu que no início da mesma.

A dosagem de dióxido de cloro (ClO₂) foi reduzida apenas no estágio D_{hot} da sequência de branqueamento, não se reduzindo peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e dióxido de cloro nos demais estágios. Assim, o objetivo desse estudo foi observar qual seria o ganho de alvura e redução no número kappa proporcionados pela ação das enzimas. Apesar da redução de dióxido de cloro ter sido em apenas um estágio, percebe-se que a diminuição da dosagem total de dióxido foi relevante nas sequências de branqueamento em que se realizou o pré-branqueamento enzimático (Tabela 17).

Para a maior dosagem enzimática em pH 7 houve redução na dosagem de dióxido de cloro de 5,8 kg t⁻¹ de polpa em relação à referência, o que equivale uma redução de 27% de dióxido. Li et al. (2005) obtiveram redução de 28,3% no consumo de dióxido de cloro após a realização do estágio enzimático e Madlala et al. (2001) economizaram cerca de 30% do reagente. Como o teto de alvura foi maior para os

tratamentos enzimáticos (Tabela 10), nota-se que ainda seria possível reduzir a quantidade de dióxido do processo, economizando-se reagente.

Observa-se que houve aumento significativo da viscosidade das polpas em que o tratamento enzimático foi mais pronunciado (Tabela 18), sendo que a dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 7 apresentou a maior viscosidade (18,9 cP). A maior viscosidade das polpas submetidas ao tratamento enzimático pode ser explicada pela remoção de xilanas (Tabela 10) de baixo peso molecular da polpa. De maneira semelhante, Manji et al. (2006) e Ko et al. (2010) obtiveram aumento da viscosidade final em amostras submetidas ao tratamento enzimático. Por outro lado, Roncero et al. (2000) e Khandeparkar e Bhosle (2007) obtiveram viscosidade semelhante para polpas com e sem tratamento enzimático. Percebe-se que a viscosidade final da polpa depende da ação da enzima utilizada.

Tabela 17. Dosagem total de reagentes (kg t⁻¹ polpa seca) utilizados na sequência completa de branqueamento para os diferentes tratamentos

Tratamento	ClO ₂ *	NaOH	H ₂ O ₂	MgSO ₄
Ref. pH 7	21,5	13,8	3,5	1,5
Ref. pH 9	21,5	13,8	3,5	1,5
25 g t ⁻¹ pH 7	16,7	13,8	3,5	1,5
25 g t ⁻¹ pH 9	17,3	13,8	3,5	1,5
200 g t ⁻¹ pH 7	15,7	13,8	3,5	1,5
200 g t ⁻¹ pH 9	17,0	13,8	3,5	1,5

*ClO₂ como dióxido.

Tabela 18. Valores de viscosidade e reversão de alvura medidos no último estágio da sequência de branqueamento

Tratamento	Estágio D ₂ *	
	Viscosidade (cP)	Reversão de alvura (% ISO)
Ref. pH 7	17,9 d	2,4 a
Ref. pH 9	17,9 d	2,4 ab
25 g t ⁻¹ pH 7	18,6 ab	2,2 b
25 g t ⁻¹ pH 9	18,2 cd	2,2 ab
200 g t ⁻¹ pH 7	18,9 a	1,8 c
200 g t ⁻¹ pH 9	18,3 bc	2,3 ab

*D₂: último estágio do branqueamento, utilizando-se dióxido;
Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para melhor análise das viscosidades obtidas é possível calcular o grau de polimerização dos carboidratos presentes na polpa e compará-lo com a viscosidade obtida em laboratório. O grau de polimerização (DP) pode ser calculado pelas porcentagens de xilanas e celulose presentes na polpa. Sendo a viscosidade representada

pelo tamanho das cadeias de carboidratos, celulose e xilanas principalmente, é possível obter as porcentagens desses carboidratos pelo teor de xilanas encontrado em laboratório (Tabela 10). Assim, para a referência em pH 7, por exemplo, 16,3% corresponde às xilanas e, conseqüentemente, 83,7% à celulose. Considerando o DP da celulose aproximadamente 4.300 (Evans et al., 2000; Pedrazzi et al., 2010) e das xilanas 140 (Van Heiningen et al., 2003), obtém-se o DP da polpa, multiplicando o DP dos carboidratos pelas respectivas porcentagens. Para a referência em pH 7 o grau de polimerização será 3.622. Para poder comparar a viscosidade em cP e o DP da polpa, é necessário fazer a conversão destas para a mesma unidade. Por meio das equações 1 e 2 é possível converter a viscosidade em cP e o DP da polpa, respectivamente, para viscosidade intrínseca (η). No caso da referência em pH 7, a viscosidade intrínseca laboratorial foi de 870, enquanto a calculada foi de 967. Na Tabela 19 encontram-se os cálculos das viscosidades intrínsecas para cada tratamento.

$$\text{Equação 1: } [\eta] = 954 * \log \text{ cP} - 325 \text{ (Shitola et al. 1963)}$$

$$\text{Equação 2: } [\eta] = \text{DP}_v^{0,9}/1,65 \text{ (Evans e Wallis, 1989)}$$

Tabela 19. Valores de viscosidade intrínseca laboratorial e calculada

Tratamento	Viscosidade intrínseca (η) laboratorial *	Viscosidade intrínseca (η) calculada **
Ref. pH 7	870	967
Ref. pH 9	869	970
25 g t ⁻¹ pH 7	885	979
25 g t ⁻¹ pH 9	876	973
200 g t ⁻¹ pH 7	892	988
200 g t ⁻¹ pH 9	880	978

*Obtida pelo conversão da viscosidade em cP pela equação: $[\eta] = 954 * \log \text{ cP} - 325$ (Shitola et al. 1963);

**Obtida pela conversão do grau de polimerização da polpa pela equação: $[\eta] = \text{DP}_v^{0,9}/1,65$ (Evans e Wallis, 1989).

Nota-se que as viscosidades intrínsecas obtidas pelo DP da polpa (Tabela 19) foram superiores aos valores de η da análise laboratorial realizada. Isso ocorreu porque a viscosidade intrínseca calculada foi a viscosidade das polpas imediatamente após o pré-branqueamento enzimático, enquanto a viscosidade laboratorial foi obtida das polpas provenientes da sequência completa de branqueamento. Ao longo do branqueamento com dióxido de cloro, álcali e peróxido ocorre queda na viscosidade (Tran, 2006; Roncero et al., 2003).

A reversão de alvura (Tabela 18) foi inferior para as dosagens cuja ação enzimática foi mais pronunciada, correspondente às dosagens de 200 g t⁻¹ e 25 g t⁻¹ em pH 7. A ligeira redução da reversão de alvura para as amostras cuja ação enzimática foi mais pronunciada pode ser explicada pela menor concentração de ácidos hexenurônicos nesses tratamentos. Percebe-se que imediatamente após o pré-branqueamento enzimático foi notável a redução desses ácidos. Entretanto, ao final da sequência de branqueamento, a concentração dos AHex das amostras tende a se igualar, o que explicaria a pequena diferença dentre os tratamentos para a reversão de alvura.

As maiores concentrações de DQO para os dois estágios iniciais de branqueamento, D_{hot} e Ep, foram obtidas no tratamento de 200 g t⁻¹ em pH 7 (Tabela 20). No último estágio do branqueamento D₂ não foi observada diferença significativa da concentração de DQO entre os tratamentos. No estágio D_{hot}, as referências apresentaram a menor concentração de DQO, enquanto no estágio Ep as menores concentrações de DQO foram obtidas para a referência em pH 9 e para a dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 9. O oposto ocorreu no último estágio, no qual as referências apresentaram as maiores concentrações de DQO. Pode-se notar que ao longo das sequencias do branqueamento a ação enzimática perde o efeito sobre os tratamentos, já que grande quantidade de outros reagentes foi aplicada.

Tabela 20. Valores de DQO ao longo dos estágios de branqueamento

Tratamento	DQO (mg L ⁻¹)		
	D _{hot} [*]	Ep ^{**}	D ₁ /D ₂ ^{***}
Ref. pH 7	957 ± 11 c	1028 ± 11 c	255 ± 10 ab
Ref. pH 9	944 ± 21 c	896 ± 8 d	280 ± 10 a
25 g t ⁻¹ pH 7	1089 ± 7 b	1102 ± 10 b	205 ± 8 c
25 g t ⁻¹ pH 9	967 ± 24 c	836 ± 13 d	221 ± 10 bc
200 g t ⁻¹ pH 7	1232 ± 54 a	1352 ± 25 a	200 ± 13 c
200 g t ⁻¹ pH 9	1019 ± 7 bc	1129 ± 13 b	231 ± 25 bc

^{*}D_{hot}: primeiro estágio do branqueamento com dióxido; ^{**}Ep: estágio de extração do branqueamento; ^{***}D₁ e D₂: últimos estágios do branqueamento, sem lavagem entre eles, utilizando-se dióxido - a DQO é referente ao último estágio D₂;

Médias ± desvio padrão; médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Percebe-se a ação enzimática ainda nos dois primeiros estágios do branqueamento (D_{hot} e Ep), sendo mais pronunciada para a maior dosagem em pH 7, e nos estágios seguintes essa ação é encoberta. Bernier *et al.* (1994) constataram que a maioria das atividades enzimáticas não são detectadas depois da primeira extração, desaparecendo completamente após o último estágio de dióxido. Na Tabela 20 percebe-se que a ação enzimática diminui, mas não chega a desaparecer. A preponderância da

ação enzimática até o final da sequência de branqueamento depende da enzima utilizada. No estágio de extração e ao final do D₂ o aumento na DQO deixa de seguir a ordem inicial correspondente à ação enzimática. Isso pode ser explicado pela elevada dosagem de dióxido que mascara a ação das enzimas (Ko et al., 2010).

4.4. Etapa 4 – refino e análises físico-mecânicas do papel

O consumo de energia em uma indústria de celulose e papel é elevado, correspondendo a aproximadamente 18% a 25% do custo de produção. Visando a melhora da qualidade do papel, a polpa é submetida ao processo de refino. Esse processo representa de 15% a 18% da energia elétrica total requerida no processo de fabricação do papel (Bajpai, et al., 2006; Gil et al., 2009). Deste modo, as fábricas buscam métodos e substâncias que reduzam o gasto energético. Além da energia de refino, outro parâmetro de grande importância é o grau Schopper Riegler que dá idéia da dificuldade de drenar a massa, sendo que um menor grau Schopper beneficia a drenagem. A drenabilidade é de grande importância na secagem do papel, etapa de maior gasto energético na indústria papeleira.

Considerando o gasto energético para o refino, os tratamentos enzimáticos cuja ação enzimática foi mais pronunciada foram desvantajosos (Figura 8), pois estes ocasionaram maior gasto energético. Isso ocorre, pois a xilanase atua sobre as cadeias de xilanas diminuindo a porcentagem destas na polpa (Roncero et al., 2005). Essa redução dificulta o refino, necessitando mais energia para refinar a polpa. Dentre os tratamentos enzimáticos, apenas para dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 9, cuja porcentagem de xilanas presente na polpa foi estatisticamente igual às referências (Tabela 10), o gasto energético não diferiu significativamente da referência (Figura 8). Os demais tratamentos enzimáticos apresentaram gastos energéticos estatisticamente iguais entre si (Figura 8). Possivelmente, as diferenças nas porcentagens de xilanas das polpas (Tabela 10) não foram suficientes para dificultar o refino. Roncero et al. (2005) também obtiveram maior dificuldade para o refino após o branqueamento enzimático.

Sabendo-se que quanto maior o grau Schopper Riegler, maior a resistência à drenagem, nota-se que o tratamento enzimático foi benéfico para esse parâmetro (Figura 8). Pelo grau Schopper, percebe-se que as polpas submetidas ao pré-branqueamento enzimático em pH 7 e à maior dosagem em pH 9 apresentaram maior facilidade de drenagem da massa, o que beneficiaria os processos de drenagem e secagem do papel.

Outros trabalhos também obtiveram diminuição no grau Schopper Riegler para amostras submetidas à alta dosagem enzimática (Oksanen et al.,1997; Savitha et al., 2009)

A drenabilidade da massa é influenciada primeiramente pela fração de finos (Dienes et al., 2005; Karlsson, 2006; Hubbe e Heitmann, 2007). Outro fator que influencia o grau Schopper Riegler é o colapso das fibras, ou seja, fibras mais flexíveis ficarão mais unidas, dificultando a passagem de água (Karlsson, 2006; Hubbe e Heitmann, 2007). Para avaliar o teor de finos nos tratamentos com e sem enzimas, realizou-se a análise de ocorrência percentual de finos na referência e no tratamento com dosagem de 25 g t^{-1} em pH 7, correspondente a uma elevada ação enzimática. Observou-se que não houve alteração no teor de finos com a aplicação da etapa enzimática (Tabela 21), o que possibilita inferir que nos tratamentos em que a ação enzimática foi menos pronunciada (25 g t^{-1} em pH 7, 200 g t^{-1} em pH 9 e 200 g t^{-1} em pH 7) houve na realidade maior compactação das fibras, acarretando um maior grau Schopper para o mesmo gasto energético de refino (Figura 8).

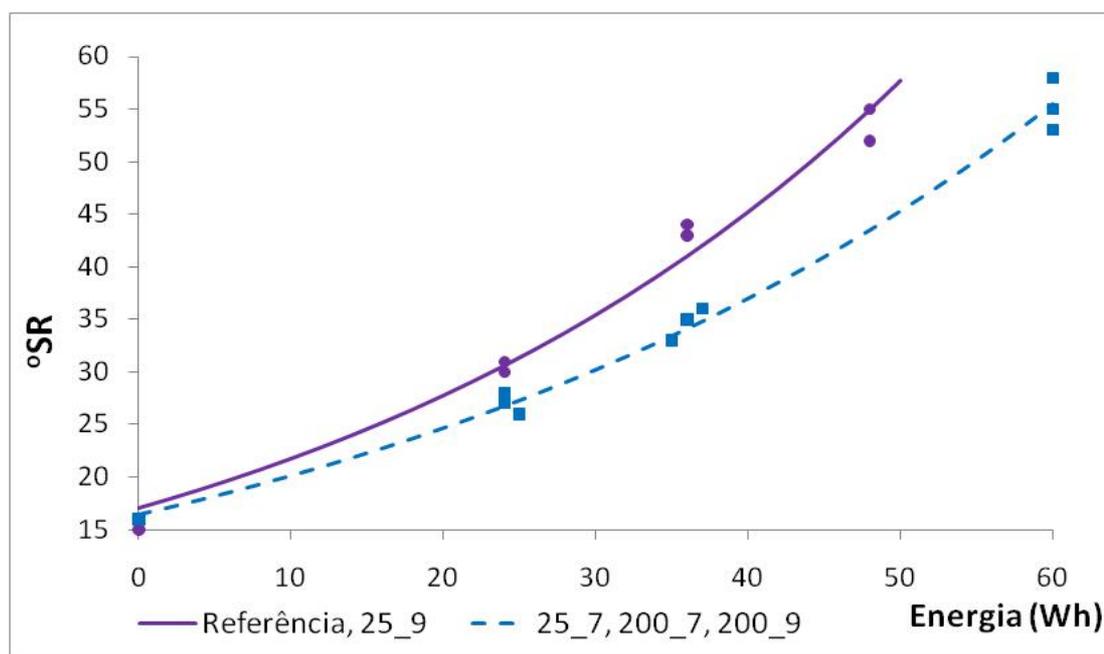


Figura 8. Grau Schopper Riegler ($^{\circ}\text{SR}$) em função da Energia (Wh). Curvas obtidas por teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.

Tabela 21. Concentração de finos na polpa ao longo do refino

Referência		Tratamento 25 g t ⁻¹ pH 7	
Energia (Wh)	Finos (%)	Energia (Wh)	Finos (%)
0	11,3 ± 0,1 A	0	11,7 ± 0,1 A
24	12,6 ± 0,2 A	24	12,2 ± 0,2 A
36	12,7 ± 0,1 A	37	12,8 ± 0,2 A
48	13,2 ± 0,6 A	60	13,3 ± 0,4 A

Médias ± desvio padrão;

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O volume específico é uma propriedade importante, pois influencia as propriedades físicas e ópticas do papel. Essa propriedade é afetada por vários fatores como colapsamento das fibras, teor de hemicelulose (Rost, 2004) e conteúdo e tipo de finos. O volume específico aparente do papel é também conhecido por *bulk* e da uma idéia do grau de compactação das fibras. A preferência por um maior ou menor *bulk* depende do tipo de papel desejado ao final do processo. Após a realização do tratamento Savitha et al. (2007) obtiveram redução do bulk, enquanto Sanghi et al. (2009) observaram discreto aumento do mesmo.

Para o mesmo consumo de energia de refino o volume específico foi maior para os tratamentos com melhor ação enzimática (Figura 9a). Essa diferença pode ter sido ocasionada pelo menor grau de colapsamento dessas polpas sob refino, devido ao menor teor de hemicelulose. Com o tratamento enzimático, a concentração de hemicelulose na polpa reduziu (Tabela 10). As hemiceluloses estão localizadas no material amorfo da fibra; assim, com a redução destas ocorre eliminação de grupos amorfos o que ocasiona menor hidratação da fibra (Roncero et al., 2005; Karlsson, 2006). Essa menor hidratação pode acarretar menor colapsamento devido à perda de flexibilidade das fibras, reduzindo a área de contato entre as fibras.

Entretanto, para um mesmo grau Schopper, apesar da diferença estatística obtida, não é possível observar claramente grande distinção entre os volumes específicos dentre os tratamentos (Figura 9b). Uma possível explicação é que para um mesmo grau Schopper as polpas que apresentaram maior ação enzimática necessitaram de maior quantidade de refino para se obter o mesmo grau de colapsamento aumentando, portanto, sua flexibilidade ao colapso (figuras 8 e 9b).

A vantagem ou não do aumento dessa propriedade depende do papel desejado. Um maior volume específico é vantajoso quando se almeja maior opacidade do papel, maior absorção de água, maior maciez entre outros. Nesse caso, fixando-se o consumo

energético (Figura 9a) os tratamentos cuja ação enzimática foi mais pronunciada seriam mais vantajosos, pois apresentaram maiores volumes específicos.

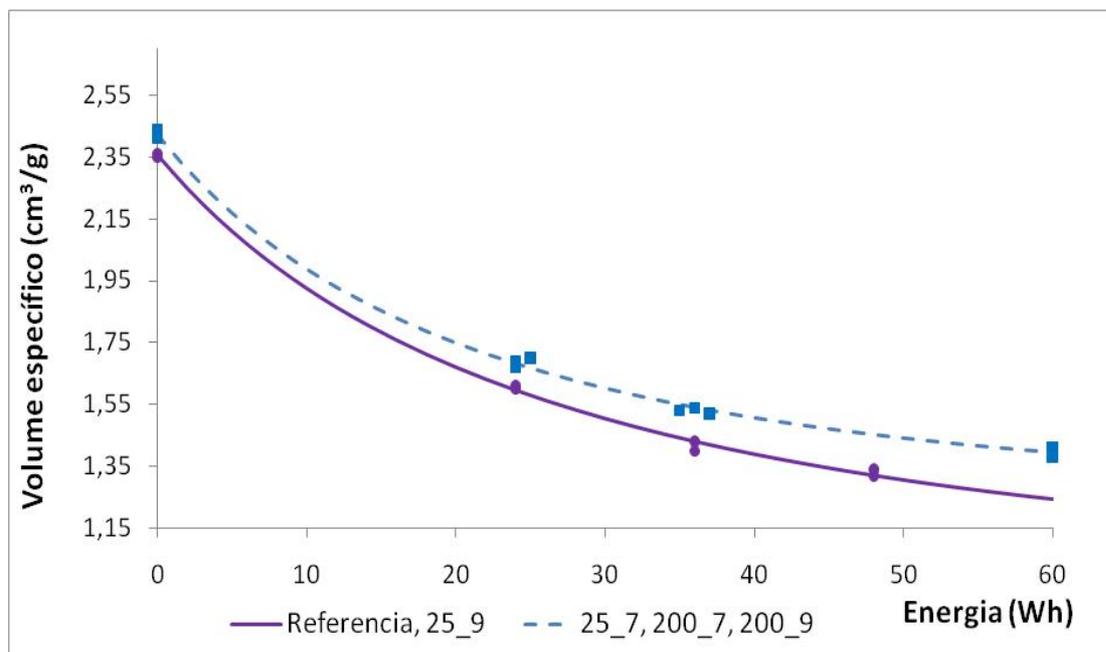
O índice de arrebentamento é o resultado da combinação de diversos fatores, dependendo do tipo, preparação e quantidade de fibras presentes. Essa propriedade é influenciada principalmente pelo número de ligações interfibras e pela resistência intrínseca da fibra, mas não depende da orientação das mesmas no papel (Mark, 1983). Assim, maior número de ligações interfibras e maior resistência intrínseca das fibras diminuirão a chance do papel arrebentar. Além disso, a formação, distribuição das falhas, tamanho da fibra e distribuição dos finos também exercem influência sobre o índice de arrebentamento (Mark, 1983).

Como dito anteriormente, o tratamento enzimático reduziu a concentração de hemicelulose na polpa (Tabela 10). O menor teor de hemicelulose acarreta menor colapsamento, reduzindo a área de contato entre as fibras. Uma menor área de contato resulta em menor número de ligações interfibras, o que diminui a força do papel (Osterberg et al., 2001).

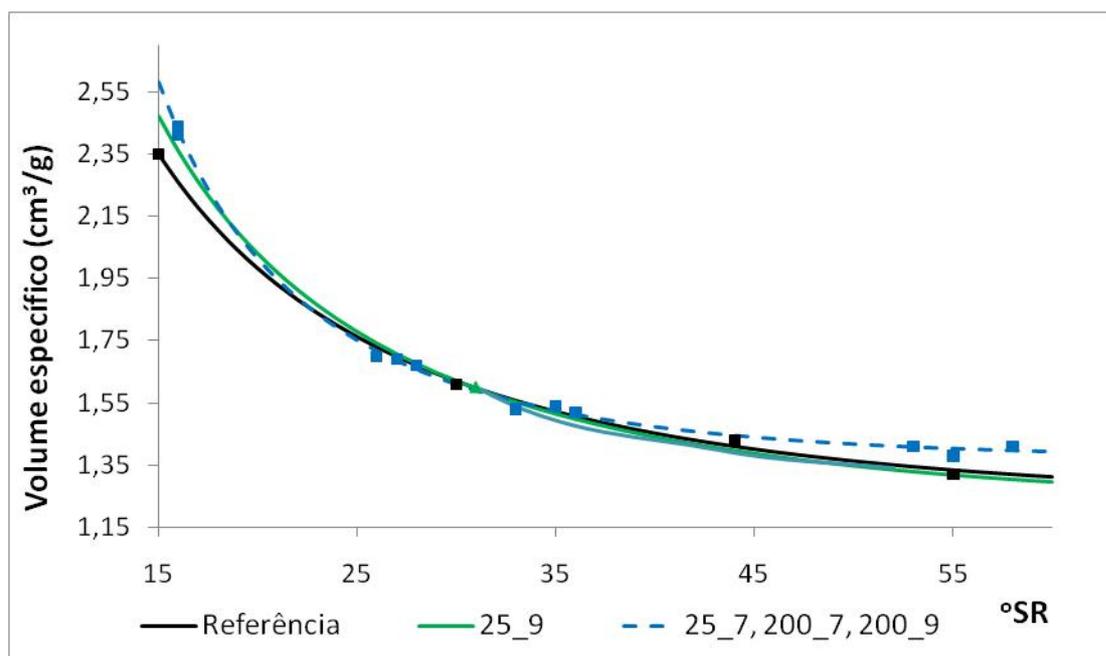
Para o mesmo consumo de energia de refino o índice de arrebentamento foi menor para os tratamentos cuja ação enzimática foi mais pronunciada (Figura 10a), ou seja, para o mesmo grau de refino esses papéis foram menos resistentes ao arrebentamento. Isso pode ser explicado pelo menor número de ligações interfibras, devido à menor concentração de xilanas na polpa.

Entretanto, em relação ao grau Schopper (Figura 10b) o tratamento enzimático na dosagem de 200 g t^{-1} em pH 7 apresentou o maior índice de arrebentamento nas menores revoluções para o refino. Em trabalho realizado por Savitha et al. (2007), obtiveram maior índice de arrebentamento para os tratamentos enzimáticos, enquanto outros trabalhos não apresentaram alteração nessa propriedade (Atik, et al., 2006; Manji et al., 2006; Ninawe e Kuhad, 2006). Esses resultados dependem das modificações nas fibras após a aplicação das enzimas.

Percebe-se que para se obter um determinado índice de arrebentamento, os tratamentos enzimáticos necessitam de um maior número de revoluções de refino, resultando em um maior consumo de energia (Figura 10a). Por outro lado, para o mesmo índice de arrebentamento a drenabilidade é beneficiada apenas para a maior dosagem enzimática em pH 7, sendo que para os demais tratamentos não houve alteração dessa propriedade (Figura 10b).

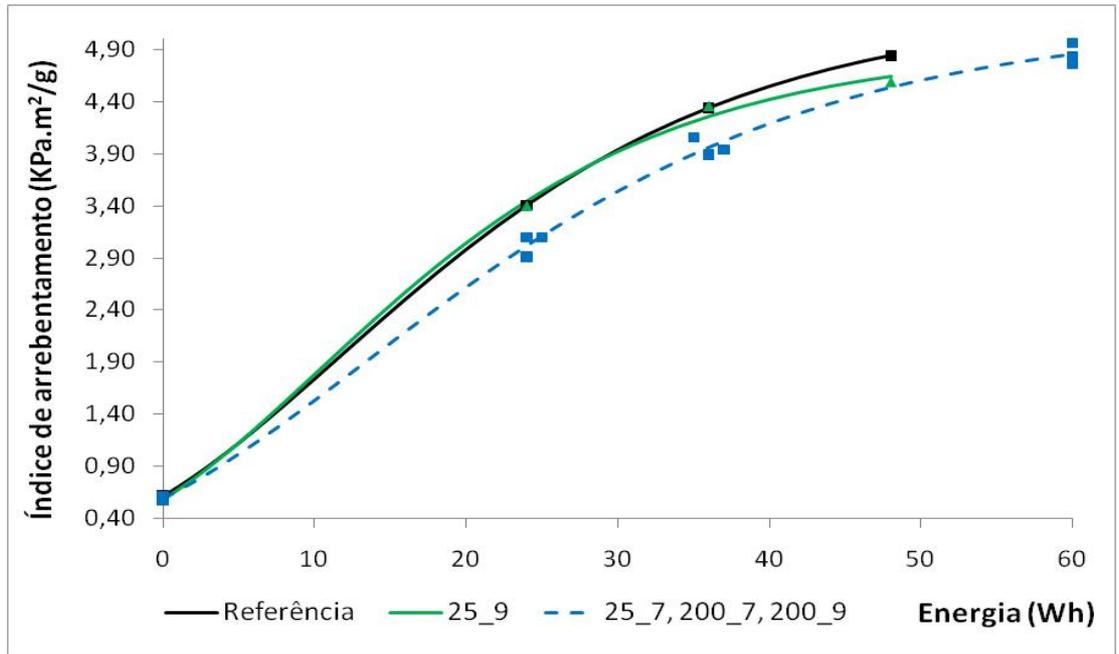


(a)

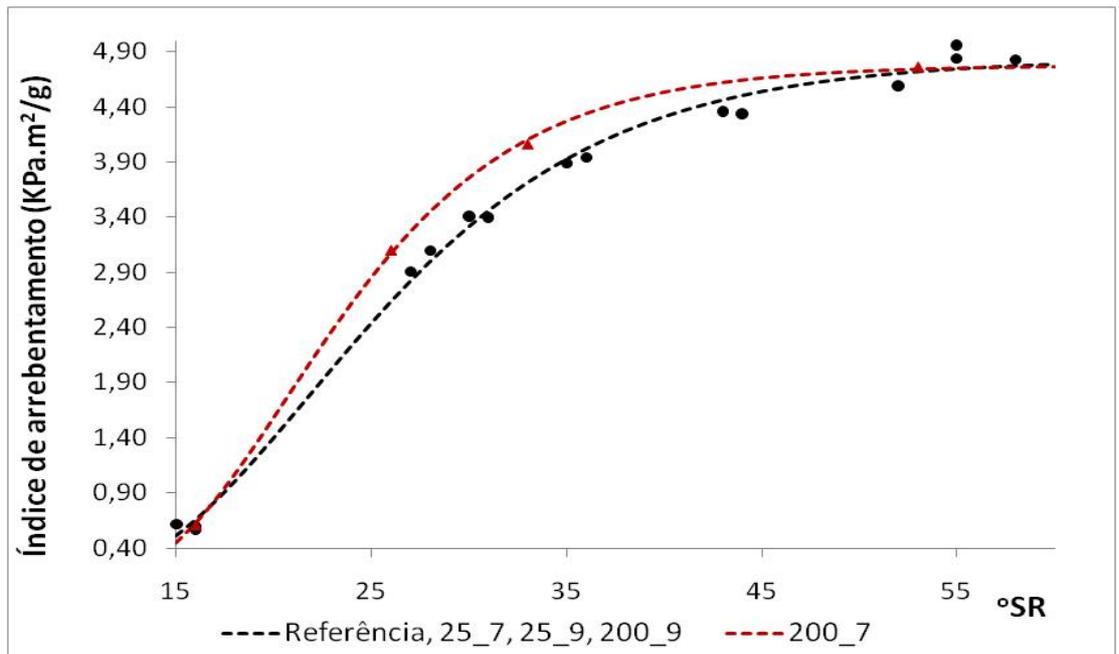


(b)

Figura 9. a) Volume específico em função da Energia (Wh); (b) Volume específico em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.



(a)



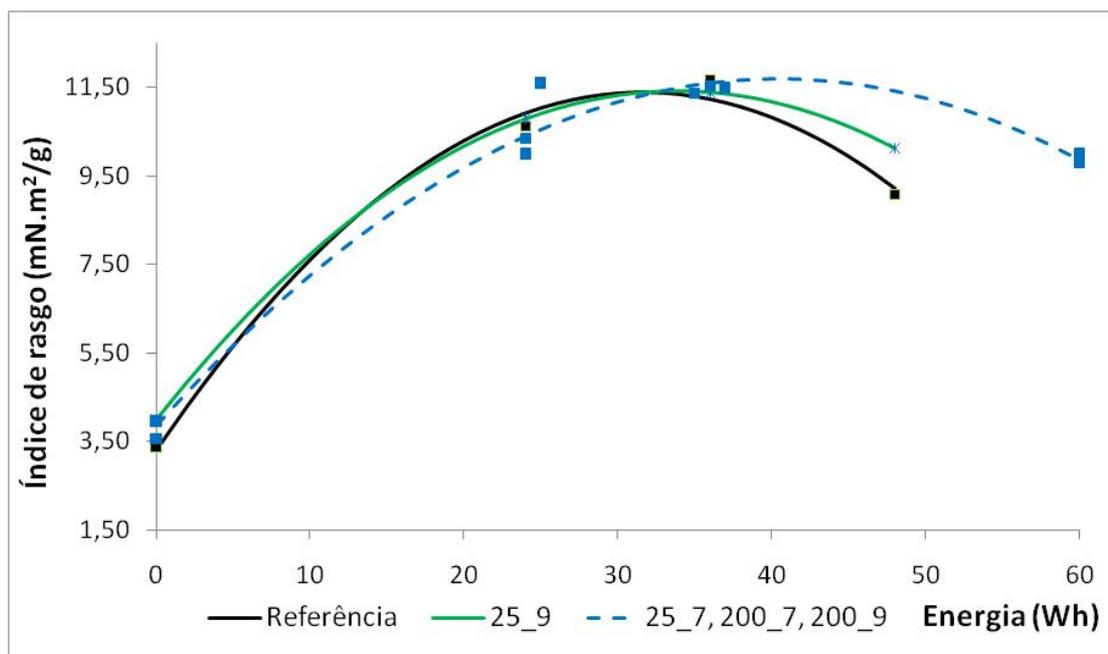
(b)

Figura 10. (a) Índice de arrebentamento em função da Energia (Wh). (b) Índice de arrebentamento em função Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.

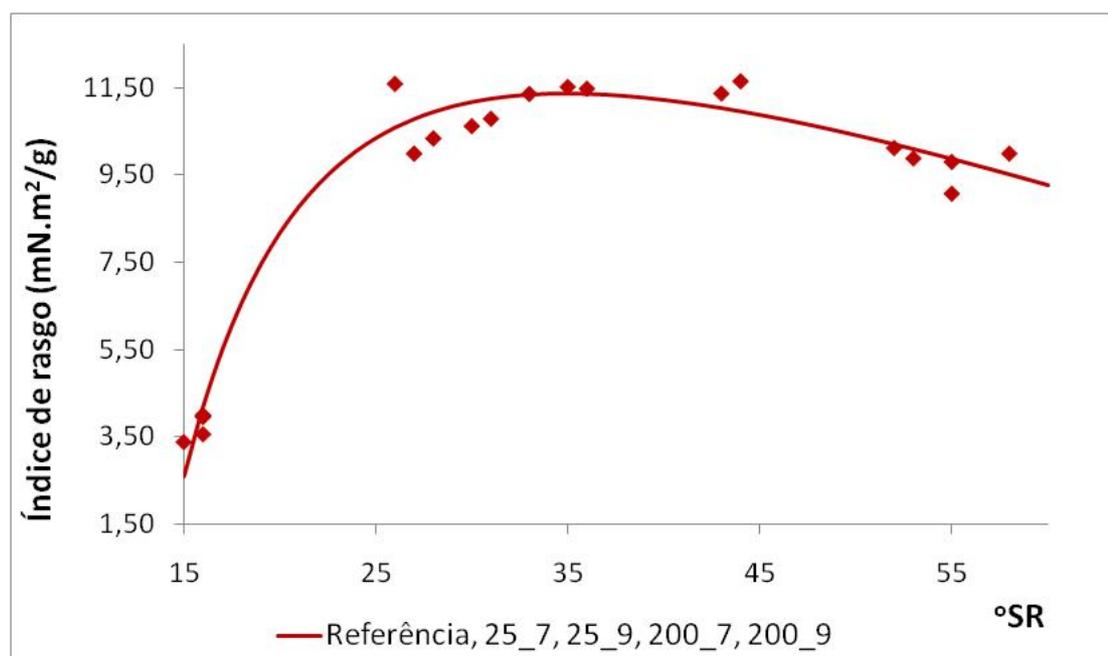
O índice de rasgo é altamente dependente da orientação da fibra no papel (Karlsson et al., 2006). Essa propriedade é influenciada preponderantemente pelo número de ligações interfibras, pela resistência intrínseca da fibra e pelo comprimento destas (Rost, 2004). Assim, quanto maior o número de ligações interfibras, a resistência individual das fibras e o comprimento destas, menor a chance do papel rasgar. O índice de rasgo avaliado em equipamento Elmendorf não é considerado o mais adequado para descrever a qualidade do papel, já que esse equipamento de teste não simula precisamente os tipos de esforços que o papel é submetido ao longo do processo de produção ou durante a sua vida útil. No entanto, o índice de rasgo é comumente utilizado em especificações papeleiras (Karlsson et al., 2006).

Em relação ao consumo energético para o refino, os tratamentos cuja ação enzimática foi mais pronunciada (Figura 11a) apresentaram índice de rasgo semelhante aos outros dois tratamentos, entretanto foi necessário maior refino para se obter o mesmo índice de rasgo. Pode-se inferir que com o tratamento enzimático as fibras ficaram mais rígidas, sendo necessário maior refino para aumentar o colapsamento e, conseqüentemente, o número de ligações interfibras. Em trabalho realizado por Manji et al. (2006) não foi observado alteração no índice de rasgo após a realização do pré-branqueamento enzimático. Por outro lado, Roncero et al. (2005) obtiveram aumento desde índice. Possivelmente as modificações nas estruturas das fibras foram diferentes em cada caso. Já em relação ao grau Schopper (Figura 11b) nota-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Para o mesmo índice de rasgo, percebe-se que o gasto energético é aproximadamente 1,5 vezes maior para os tratamentos de melhor ação enzimática. Entretanto, fixando-se o grau Schopper Riegler, obtém-se igual índice de rasgo para todos os tratamentos. Assim, percebe-se que para esse índice não há alteração significativa na drenabilidade.



(a)



(b)

Figura 11. (a) Índice de rasgo em função da Energia (Wh) (b) Índice de rasgo em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.

A resistência à passagem de ar tem relação próxima com a porosidade, e, conseqüentemente, com a absorção de tinta de impressão. No processo de impressão, a permeância do ar é fundamental na qualidade da operação. Permeâncias muito baixas

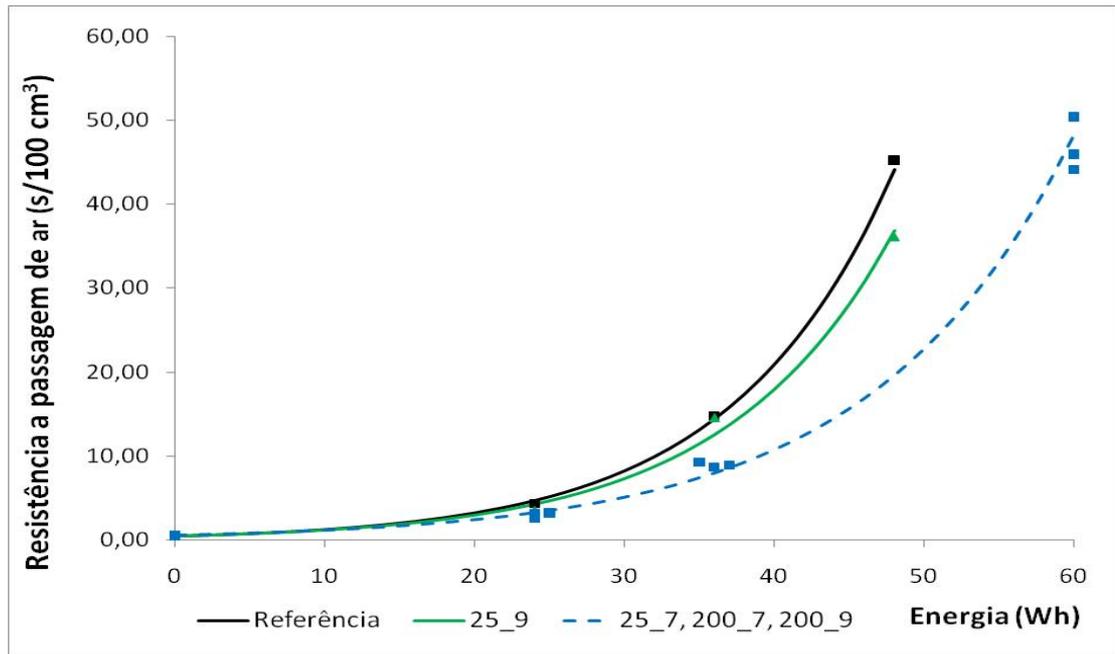
podem causar bolhas na camada de revestimento do papel (fenômeno de Blistering) (Karlsson et al., 2006). A resistência à passagem de ar é influenciada principalmente pelo teor de finos e pelo colapsamento das fibras (Rost, 2004). Assim, quanto mais colapsadas as fibras mais fechada é a rede fibrosa (poros menores e em menor número). Além disso, os finos são materiais que se alocam nesses poros obstruindo-os e dificultando, assim, a passagem do ar.

Na Figura 12a, pode-se notar uma tendência entre dois grupos de tratamentos: tratamentos sem enzima e com baixa ação enzimática (referência e 25 g t^{-1} em pH 9) e aqueles em que o pré-branqueamento enzimático foi mais pronunciado (25 g t^{-1} em pH 7, 200 g t^{-1} em pH 9 e 200 g t^{-1} em pH 7). De maneira semelhante Oksanen et al. (1997) obtiveram redução da resistência à passagem de ar para polpas tratadas com xilanase.

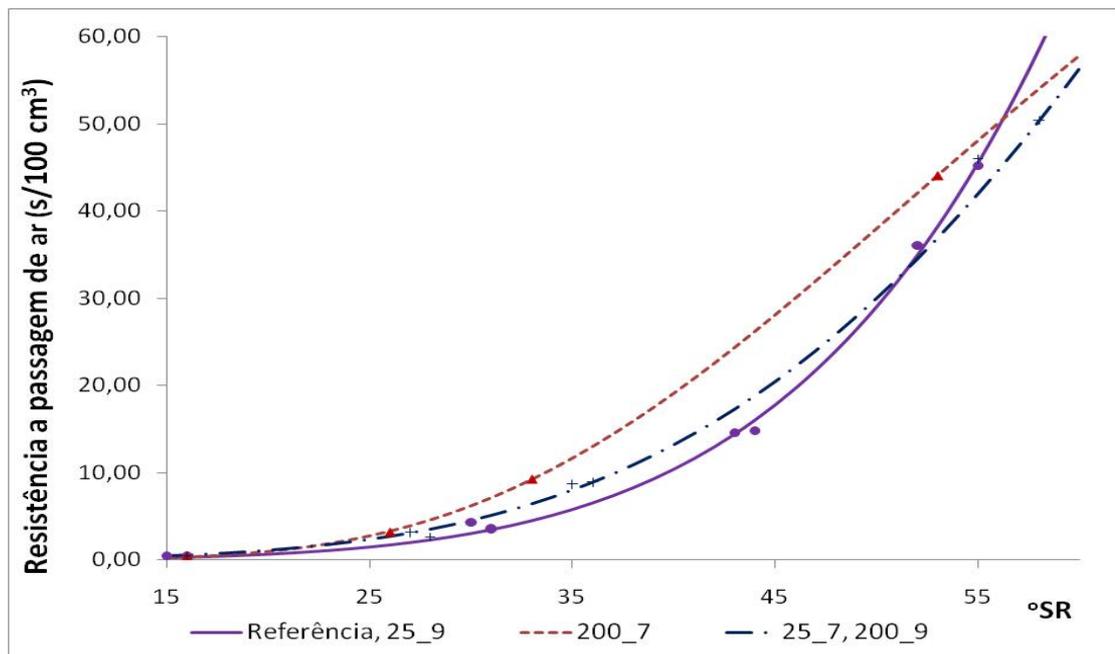
Para a referência e para a menor dosagem em pH 9, nota-se, para o mesmo número de revoluções de refino, maior resistência à passagem de ar (Figura 12a). Assim, pode-se inferir que nessas circunstâncias houve maior número de ligações interfibras e, conseqüentemente, maior colapsamento entre as fibras. O maior colapsamento desses tratamentos pode ser notado pelo menor volume específico observado (Figura 9a).

Por outro lado, em relação ao grau Schopper Riegler (Figura 12b) a resistência à passagem de ar é menor para os tratamentos cuja ação enzimática é menos pronunciada e maior para aquele em que a dosagem de 200 g t^{-1} em pH 7 foi aplicada. Nota-se que para uma mesma resistência à passagem de ar o consumo de energia de refino é aumentado para os tratamentos de maior ação enzimática. Entretanto, para uma mesma resistência à passagem de ar o grau Schopper Riegler reduz, beneficiando a drenagem da polpa.

O índice de tração é bastante dependente da deformação das fibras e orientação das mesmas no papel. Esse teste é usado para analisar a capacidade de ligação entre as fibras (Karlsson et al., 2006). Assim, quanto maior o índice de tração maior é a capacidade de ligações interfibras. Essa propriedade também é influenciada positivamente pela resistência individual da fibra, pelo grau de refinação, pela formação e estrutura da folha e pelo comprimento médio das fibras (Rost, 2004). Uma maior resistência à tração é desejável para papéis de embalagens, relacionando-se à sua durabilidade e utilidade, e papéis de impressão, para que não ocorra a ruptura dos mesmos nos cilindros da impressora.



(a)



(b)

Figura 12. (a) Resistência à passagem de ar em função da Energia (Wh); (b) Resistência à passagem de ar em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.

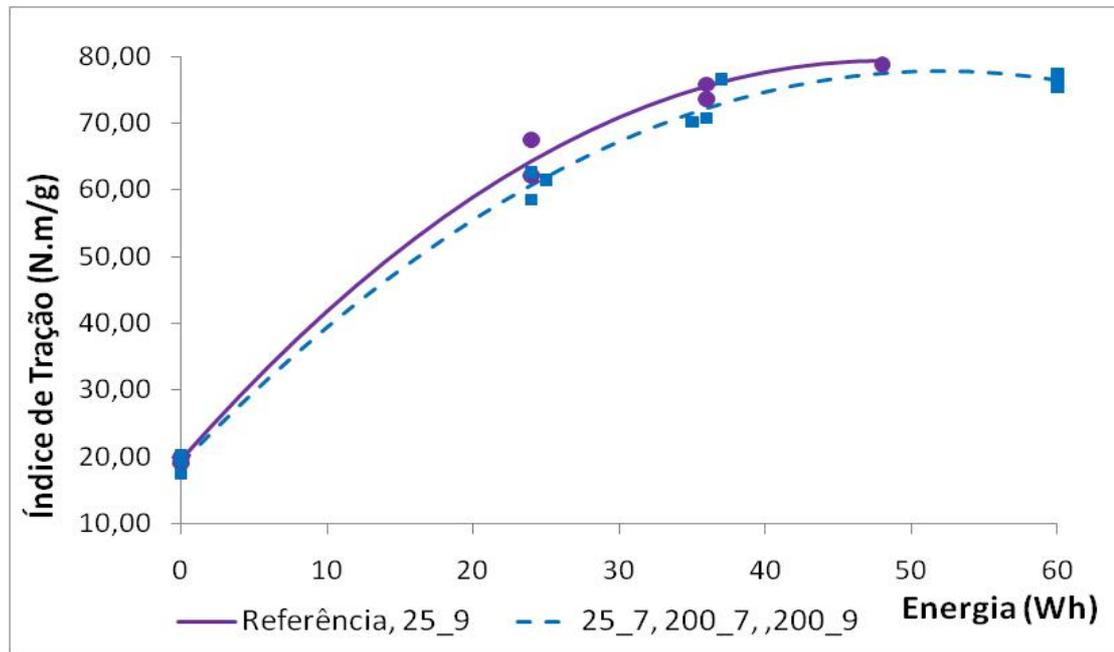
Para o mesmo gasto energético de refino percebe-se que o maior índice de tração foi obtido para os tratamentos de menor ação enzimática (Figura 13a). Isso se deve ao maior grau de colapsamento dessas fibras. Oksanen et al. (1997) e Taleb, et al. (2008) também obtiveram redução no índice de tração das polpas cuja ação enzimática foi mais pronunciada. Por outro lado outros trabalhos não apresentaram diferença nessa propriedade (Atik, et al., 2006; Manji et al., 2006; Ninawe e Kuhad, 2006). Percebe-se que para menores graus Schopper Riegler, a dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 7 apresenta maior força nas ligações entre as fibras que os demais tratamentos (Figura 13b).

A determinação da opacidade tem por objetivo avaliar a quantidade de luz que passa pela folha de papel, ou seja, a probabilidade da difusão da luz através da espessura do papel (D'Almeida, 1988). A opacidade resulta da absorção e difusão da luz que passa do ar para as fibras e volta para o ar (Rost, 2004). A opacidade depende da composição fibrosa e não fibrosa, da alvura, do *bulk* entre outros (D'Almeida, 1988; Rost, 2004). Assim, fibras menos colapsadas, cujo *bulk* é maior, apresentam maior interface fibra-ar, aumentando a chance de refração dos raios e luz. A alvura tende a exercer efeito contrário, pois quanto mais branco é o papel, menor será a sua opacidade.

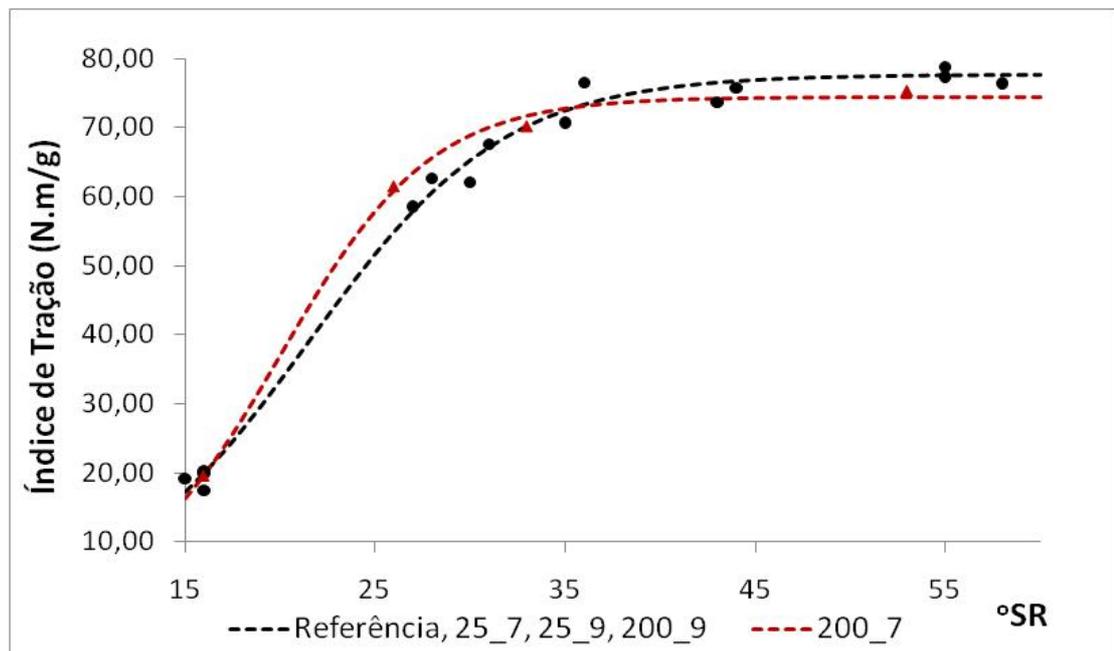
Na Figura 14a percebe-se que para o mesmo consumo energético de refino todos os tratamentos foram estatisticamente iguais. Pelo *bulk* (Figura 9a) poderia se inferir que os tratamentos enzimáticos mais pronunciados apresentariam maior opacidade. Entretanto esses mesmos tratamentos apresentaram maior alvura (Tabela 10). A maior alvura, juntamente com outros fatores, levou à redução da opacidade dos tratamentos enzimáticos, fazendo com que todos os tratamentos realizados apresentassem a mesma opacidade. De modo semelhante, em relação ao grau Schopper, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 14b).

As propriedades que envolvem dispersão de luz podem interagir e estão fortemente relacionadas. A opacidade, por exemplo, depende dos coeficientes de dispersão e absorção de luz (Silva e Oliveira, 2000). A dispersão de luz é influenciada pela superfície da fibra, os vazios entre elas, de modo que o colapsamento tem influência sobre essa propriedade (Rost, 2004), e pelo coeficiente de absorção de luz pelas fibras. Um maior número de fibras aumentará a área superficial interna da estrutura das folhas, favorecendo a dispersão de luz (Silva e Oliveira, 2000). Pelas figuras 15a e 15b nota-se que não houve diferença estatística dentre os tratamentos, tanto em relação à energia de refino, quanto ao grau Schopper Riegler. Como o *bulk* para os tratamentos de melhor ação enzimática foram maiores (Figura 9a), esperava-se

obter maior dispersão de luz para esses tratamentos. No entanto, tal diferença não foi detectada pela análise estatística.

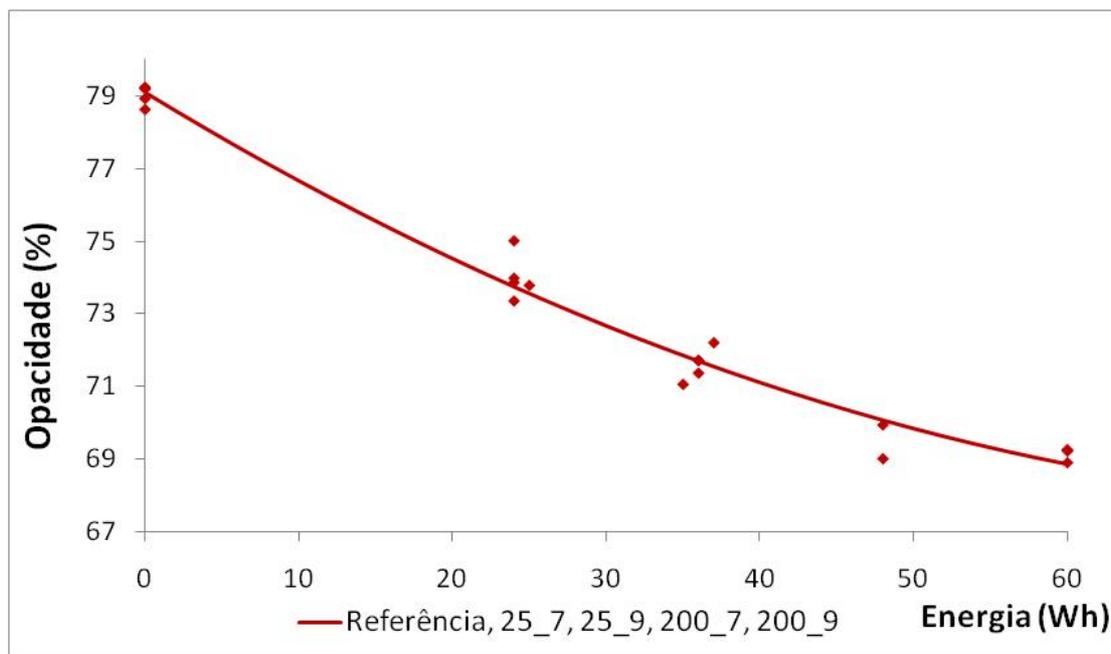


(a)

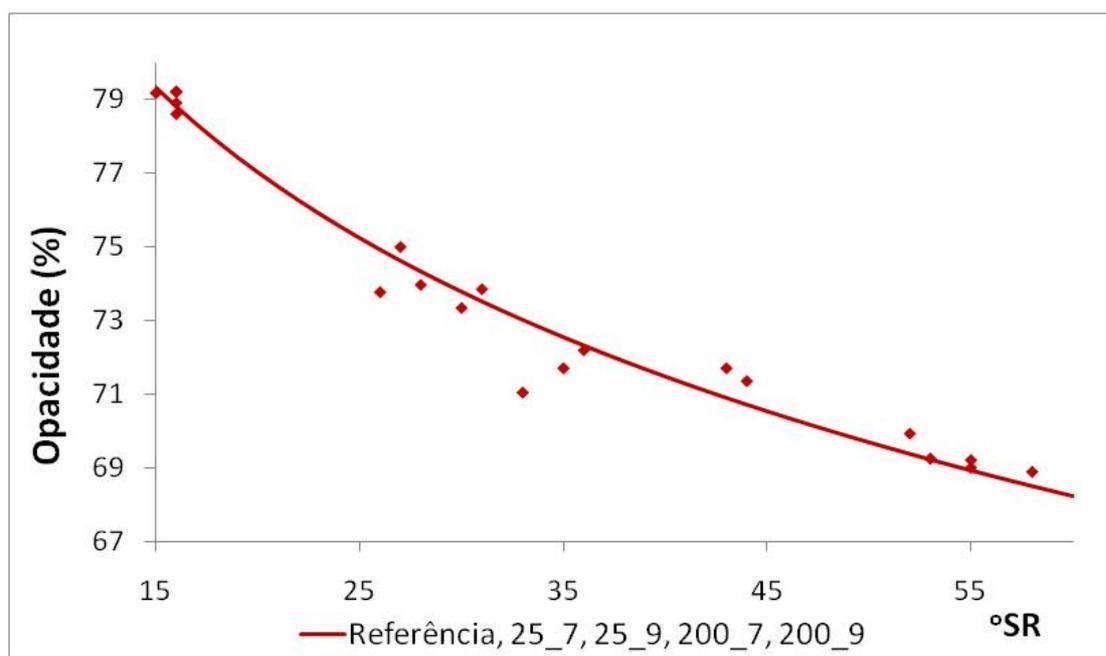


(b)

Figura 13. (a) Índice de tração em função da Energia (Wh); (b) Índice de tração em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.

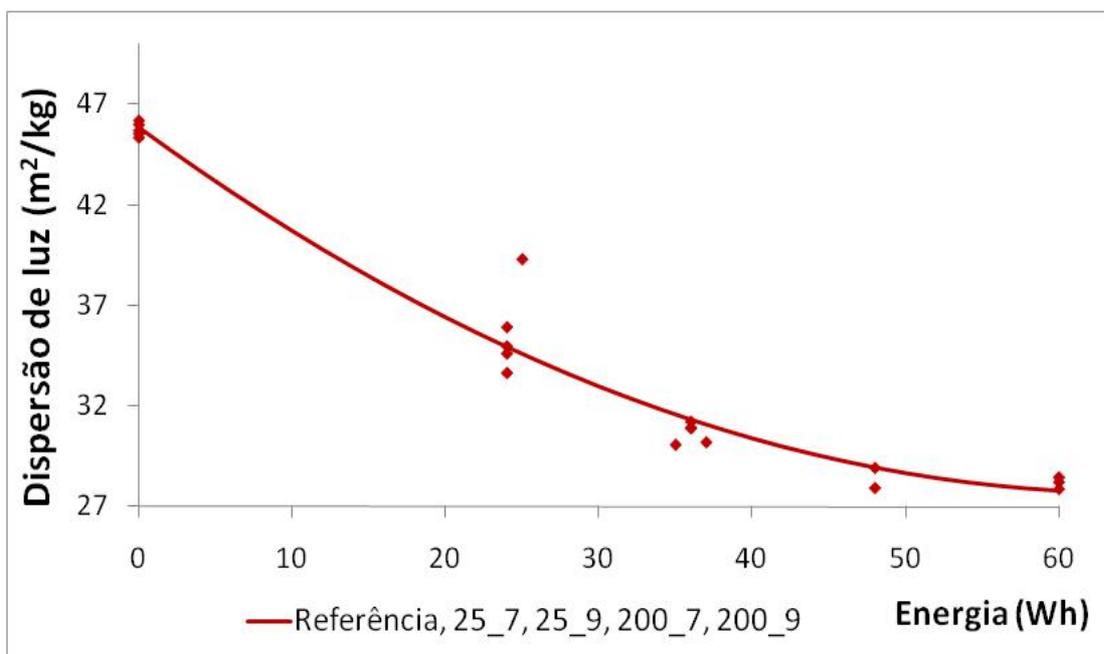


(a)

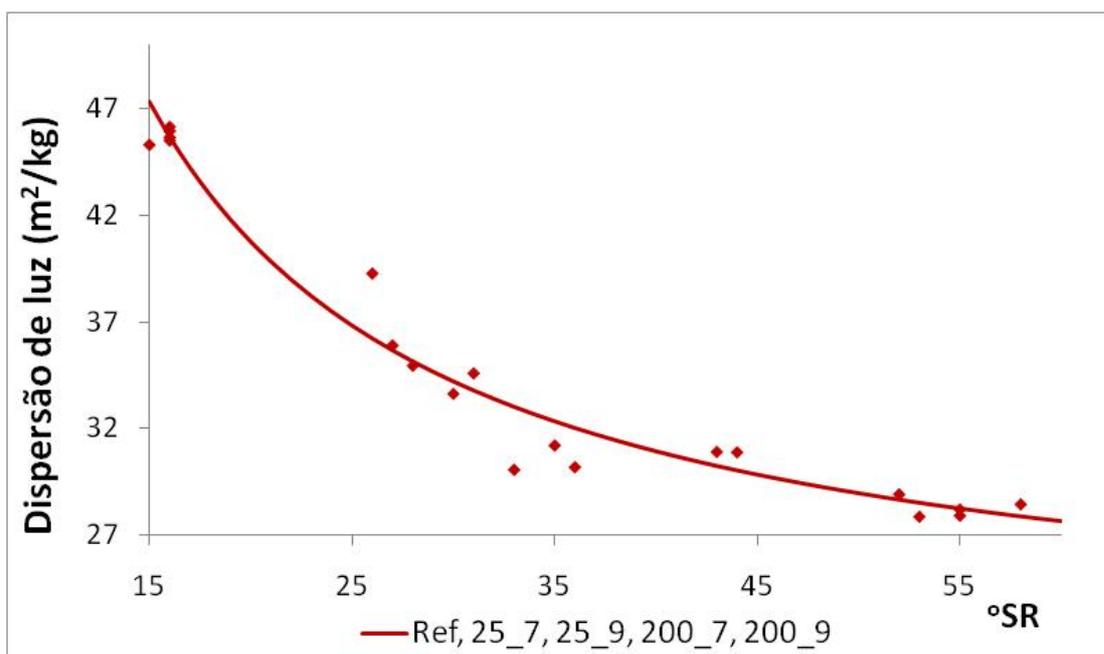


(b)

Figura 14. (a) Opacidade em função da Energia (Wh); (b) Opacidade em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.



(a)



(b)

Figura 15. a) Dispersão de Luz em função da Energia (Wh); (b) Dispersão de Luz em função do Grau Schopper Riegler (°SR). Representação por uma mesma curva dos tratamentos que não apresentaram diferença significativa entre si pelo teste de identidade de modelo a 5% de probabilidade.

O valor de retenção de água (WRV), juntamente com a interação entre as fibras, o tamanho das fibras e as mudanças em sua configuração, exerce importante efeito sobre o refino (Mohlin e Petterson, 2002). O WRV está diretamente relacionado

com o ponto de saturação da fibra. Entretanto, essa variável é uma estimativa empírica do inchaço das fibras e não pode ser considerada uma medida imparcial do grau de inchaço (Bristow e Kolseth, 1986).

A análise do índice de retenção de água mostra que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 22). Como o WRV é um indicador para as ligações existentes na folha de papel (Mohlin e Pettersson, 2002) supõe-se que, o menor número de ligações, ocasionado pela redução no teor de hemicelulose nas polpas tratadas com enzima (Tabela 10), não foi suficiente para alterar a retenção de água, nas polpas não refinadas.

Tabela 22. Índice de retenção de água (WRV) das polpas branqueadas

Tratamentos	WRV
Ref. pH 7	156 ± 4 ns
Ref. pH 9	155 ± 3 ns
25 g t⁻¹ pH 7	156 ± 4 ns
25 g t⁻¹ pH 9	154 ± 2 ns
200 g t⁻¹ pH 7	152 ± 3 ns
200 g t⁻¹ pH 9	155 ± 2 ns

Médias ± desvio padrão

ns: não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

4.5. Considerações finais

A xilanase estudada apresentou limitações ao seu uso principalmente quanto ao incremento da matéria orgânica do efluente e à perda de rendimento. Devido ao aumento pronunciado na DQO do filtrado, a necessidade de se investir na estação de tratamento de efluentes poderia acarretar gastos industriais elevados e inviabilizar a etapa enzimática. Considerando-se a dosagem comercial da enzima e a perda de rendimento causada unicamente pela remoção de xilanas, o pré-branqueamento enzimático acarretaria uma perda de 1,2% de polpa celulósica.

Por outro lado, a economia com dióxido de cloro, diminuição do número kappa e aumento da alvura final foram significativos. Para a dosagem de 25 g t⁻¹ em pH 7 a economia desse reagente foi de 4,8 kg t⁻¹ de polpa.

Assim, para se analisar a viabilidade de aplicação do pré-branqueamento enzimático é importante um balanço de ganhos e perdas de acordo com as necessidades industriais e realidades do mercado. Antes de se aplicar uma determinada enzima é necessário um estudo minucioso da mesma assim como um balanço econômico certificando-se das vantagens e desvantagens que a implantação da nova etapa irá oferecer.

5. CONCLUSÕES

As principais conclusões quanto ao pré-branqueamento enzimático foram:

1. Com a etapa enzimática a polpa ganhou qualidade como a diminuição da concentração dos ácidos hexenurônicos e do número kappa, bem como o ganho de alvura. A maior dosagem enzimática em pH neutro proporcionou redução de 16% na concentração de ácidos hexenurônicos, 20% do número kappa e ganho de alvura de 2,8% ISO imediatamente após a etapa de pré-branqueamento.
2. Em laboratório após a etapa de pré-branqueamento enzimático, observou-se perda de rendimento de até 2,5%, devido à significativa redução de xilanas nesta etapa.
3. A carga orgânica, a cor e a condutividade elétrica dos filtrados aumentaram significativamente nos tratamentos enzimáticos. Para a maior dosagem estudada em pH 7 obteve-se aumento da ordem de 5,4 vezes para a carga orgânica, 3 vezes para a cor e 1,9 vezes para a condutividade elétrica comparando-se com a referência no mesmo pH. Esses incrementos tornam o estágio enzimático de difícil aplicação.
4. Em pH 7 a qualidade da polpa foi melhor do que em pH 9, assim como em temperaturas de reação menores (65°C vs 85°C).
5. A xilanase utilizada proporcionou ganhos maiores na qualidade da polpa quando submetida à temperatura de 60°C do que a 85°C no pré-branqueamento enzimático. Entretanto tais ganhos não foram pronunciados, variando de 4% a 5% na redução do número kappa e 0,4% a 0,95% ISO no ganho de alvura.
6. Os filtrados provenientes do pré-branqueamento enzimático foram eficientemente tratados em biorreatores aeróbios apesar do aumento da carga orgânica inicial, constatado pela elevada Demanda Química de Oxigênio (DQO). Em todos os tratamentos, a remoção de DQO foi superior a 85%. Entretanto, tanto a DQO inicial quanto a final dos filtrados advindos do pré-branqueamento enzimático foram elevadas.
7. Após a realização da sequência completa de branqueamento obtiveram-se menores reversões de alvura e maior viscosidade para os tratamentos enzimáticos.

Para a dosagem de 200 g t⁻¹ em pH 7 a reversão de alvura reduziu em 0,6% ISO e a viscosidade aumentou em 5%.

8. O acréscimo do pré-branqueamento enzimático possibilitou a economia de reagentes químicos no branqueamento. Ocorreu redução do consumo de dióxido de cloro em torno de até 5,8 kg ClO₂ t⁻¹ de polpa. A maior dosagem avaliada em pH 7 reduziu em 27% o consumo de dióxido de cloro, o que equivale a 14% do total de reagentes utilizado.

9. As polpas submetidas ao pré-branqueamento enzimático apresentaram alterações pouco pronunciadas nas propriedades físico-mecânicas do papel. O menor teor de xilanas acarretou maiores bulk e gasto energético, bem como menores índice de arrebetamento, resistência a passagem de ar e índice de tração para os tratamentos de maior ação enzimática. Por outro lado, não houve alteração na opacidade e na dispersão de luz dentre os tratamentos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, M., ATTRIDGE, M.C., BLANCHETTE, R.A., MYERS, G.C., WALL, M.B., SYKES, M.S., KONING Jr., J.W., BURGESS, R.R., WEGNER, T.H., KIRK, T.K. The white-rot fungus *Ceriporiopsis subvermispota* saves electrical energy and improves strength properties during biomechanical pulping of wood. In: Kuwahara, M. and Shimada, M., **Proceeding...** Tokyo: 5th International Conference Biotechnology in the pulp and paper industry. Uni Publishers, p. 3–8. 1992.

ALMEIDA, A. M. Aplicação de enzimas no processo de branqueamento de polpa. Trabalho apresentado para a disciplina de Processos de Branqueamento de Polpa, do Curso de Engenharia Química, da Faculdade de Telêmaco Borba. Telêmaco Borba – PR, 37p. 2008.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20a. Washington: AWWA – WPCF. 1998.

ASSOCIAÇÃO DOS FABRICANTES DE CELULOSE E PAPEL. Relatório anual 2008/2009 – BRACELPA. Disponível em: <<http://www.bracelpa.com.br>>. Acesso em: 20 abril 2010.

ATIK, C., IMAMOGLUB, S., BERMEKC, H. Impact of xylanase pre-treatment on peroxide bleaching stage of biokraft pulp. **International Biodeterioration e Biodegradation**, n 58, p. 22–26. 2006.

BAE, H.J., KIM, H.J., KIM, Y.S. Production of a recombinant xylanase in plants and its potential for pulp biobleaching applications. **Biores. Technol**, n. 99, p. 3513– 3519. 2008.

BAJPAI, P. Biological bleaching of chemical pulps. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 1–58. 2004.

BAJPAI, P., MISHRA, S.P., MISHRA, O.P., KUMAR, S., BAJPAI, P.K. Use of enzymes for reduction in refining energy—laboratory studies, **Tappi Journal**,v. 5, n. 11, p. 25–32. 2006.

BEG, Q. K., KAPOOR, M., MAHAJAN, L., HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 56, p. 326–338. 2001.

BERNIER, R.L., GRAY, A.L., MOSER, G.P., HAMILTON, J., ROBERGE, M., SENIOR, D.J. Fate of residual xylanase after treatment and bleaching of softwood kraft pulp. **Bioresource Technology**, v. 50, n. 1, p. 79-83. 1994.

BRISTOW, J. A., KOLSETH, P. **Paper Structure and Properties**. International Fiber Science and Technology Series, v. 8. New York. 1986. 390 p.

CALL, H.P., MÝCKE, I. History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozym®-process). **Journal of Biotechnology**, n. 53. p. 163–202. 1997.

CPPA - CANADIAN PULP e PAPER TECHNICAL ASSOCIATION –. **Standard Methods**, 1984.

D'ALMEIDA, M. L. O. Tecnologia de fabricação do papel. 2 Ed, v. 2, São Paulo: IPT. 1988. 964 p.

DANIELSSON, S., KISARA, K., LINDSTROM, M.E. Kinetic study of hexenuronic and methylglucuronic acid reactions in pulp and in dissolved xylan during kraft pulping of hardwood. **Ind. Eng. Chem. Res**, n. 45, p. 2174–2178. 2006.

DENCE, C. W., REEVE, D. W. **Pulp Bleaching – Principles and Practice**. Atlanta, GA, USA: Tappi press, 868 p. 1996.

DIENES, D., KEMÉNY, S., EGYHÁZI, A., RÉCZEY, K. Improving the capability of the Schopper–Riegler freeness measurement. **Measurement**. v. 38, n. 3. p. 194-203. 2005.

DURÁN, N., ESPOSITO, E., ARAÚJO, J. S. Enzimas de importância na indústria de polpa de celulose e papel. **O papel – ABTCP**. Ano LVI, n. 12. p. 68 – 74. 1995.

EVANS, R., WALLIS, A. F. A. Cellulose molecular weights determined by viscosity. **Journal of Applied Polymer Science**, n. 37, p. 2331–2340. 1989.

EVANS, R., WALLIS, A. F. A., OWEN, N. L. Weathering of chemically modified wood surfaces - Natural weathering of Scots pine acetylated to different weight gains. **Wood Science and Technology**, n. 34, p. 151-165. 2000.

FALEIROS, M. Químicos aliam-se à ecoeficiência do setor. **O Papel**. p 30-35. 2008.

FARRELL, R. L. Status of enzyme bleaching ReD and Mill work. In: Non-Chlorine Bleaching **PROCEEDINGS...** South Carolina, Pulp and Emerging Technology, March 2 – 5, p. 234 – 291. 1992.

FILLAT, U., RONCERO, M. B. Biobleaching of high quality pulps with laccase mediator system: Influence of treatment time and oxygen supply. **Biochemical Engineering Journal**, n. 44, p. 193–198. 2009.

FORSSTRÖM, A., WACKERBERG, E., GRESCHIK, T., JOUR, P., HOLTINGER, L. High brightness stability in standard ECF sequences. **O Papel**, n. 68, p. 101–112. 2007.

GIL, N., GIL, C., AMARAL, M. E., COSTA, A. P., DUARTE, A. P. Use of enzymes to improve the refining of a bleached *Eucalyptus globulus* kraft pulp. **Biochemical Engineering Journal** n. 46, p. 89–95. 2009.

GOMES, E., GUEZ, M. A. U., MARTIN, N., SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 136-145. 2007.

HART, P. W., HARRY, S.F. Statistical determination of the effects of enzymes on bleached pulp yield. **Tappi Journal Source**, v. 4, n. 8, p. 1-6. 2006.

HIMMEL, M. E., DING, S. Y., JOHNSON, D. K., ADNEY, W. S., NIMLOS, M. R., BRADY, J. W., FOUST, T. D. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. **SCIENCE**, v. 315, p. 1-5. 2007.

HUBBE M. A.; HEITMANN J. A. Review of Factors Affecting the Release of Water from Cellulosic Fibers During Paper Manufacture. **BioResources**, v. 2, n. 3, p 500-533. 2007.

HUDSON, S., MAGNER, E., COONEY, J., HODNETT, B.K. Methodology for the immobilization of enzymes onto mesoporous materials. **Journal of Physical Chemistry**. B 109, p. 19496–19506. 2005.

KARLSSON, H. *Fibre Guide – Fiber analysis and process applications in the pulp and paper industry*. Sweden, Elanders Tofters, 2006, 120 p.

KENEALY, W. R., JEFFRIES, T. W. Enzyme Processes for Pulp and Paper: A Review of Recent Developments - Chapter 12. In: Goodell B., Nicholas D. D., Schultz T. P. (Eds) **Wood Deterioration and Preservation Advances in Our Changing World**. Madison, US: American Chemical Society, 2003. p 210–239. 2003.

KHANDEPARKAR, R., BHOSLE, N. B. Application of thermoalkalophilic xylanase from *Arthrobacter* sp. MTCC 5214 in biobleaching of kraft pulp. **Bioresource Technology**, n. 98. p. 897–903. 2007.

KIELING, D. D. **Enzimas – aspectos gerais**. Trabalho apresentado à disciplina de Engenharia Bioquímica. Universidade Federal de Santa Catarina. 15p, 2002.

KO, C., LIN, Z., TU, J., TSAI, C., LIU, C., CHEN, H., WANG, T. Xylanase production by *Paenibacillus campinasensis* BL11 and its pretreatment of hardwood kraft pulp bleaching. **International Biodeterioration e Biodegradation**, n. 64, p.13–19. 2010.

LI, J., GELLERSTEDT, G. The contribution to kappa number from hexenuronic acid groups in pulp xylan. **Carbohydrate Research**, v. 302, p.213-218, 1997.

LI, X.T., JIANG, Z.Q., LI, L.T., YANG, S.Q., FENG, W.Y., FAN, J.Y., KUSAKABE, I. Characterization of a cellulase-free, neutral xylanase from *Thermomyces lanuginosus* CBS 288.54 and its biobleaching effect on wheat straw pulp. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 12, p. 1370-1379. 2005.

LUMINASE: a nova enzima de alta performance no branqueamento da diversa corporation. São Paulo: Provideo Star Chemicals, dez., 2004.

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. P., PARKER, J. **Brock Biology of Microorganisms**, New Jersey: Prentice Hall, Upper Saddle River, 9ª Ed. 2000, 992p.

- MADLALA A. M., BISSOON S., SINGH S., CHRISTOV L. Xylanase-induced reduction of chlorine dioxide consumption during elemental chlorine-free bleaching of different pulp types. **Biotechnology Letters**, v. 23, p. 345–351. 2001.
- MANJI, A. H. Extended Usage of Xylanase Enzyme to Enhance the Bleaching of Softwood Kraft Pulp. **Tappi journal**, v.5, n.1, p. 23-26. 2006.
- MANSOURI, N. E., SALVADÓ, J. Analytical methods for determining functional groups in various technical lignins. **Industrial Crops and Products**, n. 26, p. 116–124. 2007.
- MARK, R. E. **Handbook of Physical and Mechanical Testing of Paper and Paperboard**, v. 1. New York: Marcel Dekker, INC. 1983. 640p.
- MEDEIROS, R. G., SALLES, B. C., SILVA, L. P., HANADA, R., SILVA, F. G., BÃO, S. N., AZEVEDO, R. B., FILHO, E. X. F. Application of xylanases from Brazilian forest fungal species in bleaching of Eucalyptus kraft pulps. **Journal of Biotechnology**, 136S. 2008.
- MOHANA, S., SHAH, A., DIVECHA, J., MADAMWAR, D. Xylanase Production by *Burkholderia sp.* DMAX strain under solid state fermentation using distillery spent wash. **Bioresource Technology**, n. 99, p. 7553-7564. 2008.
- MOHLIN, U., PETTERSSON, B. Improved papermaking by cellulase treatment before refining. **Biotechnology in the Pulp and Paper Industry**, p. 291-299. 2002.
- NINAWA, S., KUHAD, R.C. Bleaching of wheat straw-rich soda pulp with xylanase from a thermoalkalophilic *Streptomyces cyaneus* SN32. **Bioresource Technology**, n. 97, p. 2291–2295. 2006.
- OKSANEN, T., PERE J., BUCHERT, J., VIKARI, L. The effect of *Trichoderma reesei* cellulases and hemicellulases on the paper technical properties of never-dried bleached kraft pulp. **Cellulose**, n. 4, p. 329-339. 1997.
- OSTERBERG, M., LAINE, J., STENIUS, P., KUMPULAINEN, A., CLAESSON, P. M. Forces between xylan-coated surfaces: effect of polymer charge density and background electrolyte. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 242, p. 59–66. 2001.
- PAICE, M. Enzymes – Basics and Mill Applications. In: **Emerging Pulping & Bleaching Technologies Workshop**. Tappi. Durhan, NC, May, 1995.
- PEDRAZZI, C., COLODETTE, J. L., GOMIDE, J. L., MUGUET, M. C. S. Kraft Pulp of Eucalyptus Woods with varying contents of xylan. **Appita**, p. 137-142. 2010.
- REGAZZI, A. J., Silva, C. H. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. I. Dados no delineamento inteiramente casualizado. **Rev. Mat. Estat.**, São Paulo, v.22, n.3, p.33-45. 2004.
- RONCERO, M.B., TORRES, A.L., COLOM, J.F., VIDAL, T. Effects of xylanase treatment on fibre morphology in totally chlorine free bleaching (TCF) of *Eucalyptus* pulp. **Process Biochemistry**, n. 36, p. 45–50. 2000.

RONCERO, M. B., TORRES, A. L., COLOM J. F., VIDAL T. TCF bleaching of wheat straw pulp using ozone and xylanase - Part A: paper quality assessment. **Bioresource Technology**, n. 87, p. 305–314. 2003.

RONCERO, M. B., TORRES, A. L., COLOM, J.F., VIDAL, T. The effect of xylanase on lignocellulosic components during the bleaching of wood pulps. **Bioresource Technology**, n. 96, p. 21–30. 2005.

ROST, E. M. **Propriedades da pasta celulósica, efeitos do refino na evolução das propriedades da polpa, preparação de massa e as propriedades do papel.** Monografia apresentada à Universidade Federal de Viçosa – Programa de Pós-Graduação Lato Sensu em Tecnologia de Celulose e Papel. Viçosa, MG. 61p. 2004.

RUEGGER, M. J. S., TAUKE-TORNISIELO S. M. Xylanase Production by Filamentous Fungi Isolated from Soil of the Ecological Station of Juréia-Itatins, SP, Brazil. **Holos Environment**, v. 2, n. 2, p. 185-194. 2002.

SANGHI, A., GARG N., KUHAR, K., GUPTA, V. K. Enhanced production of cellulase-free Xylanase by alkalophilic bacillus subtilis ash and its application in biobleaching of kraft pulp. **BioResources**, v. 4, n. 3, p. 1109-1129. 2009.

SAPARRAT, M. C. N. , MOCCHIUTTI, P., LIGGIERI, C. S., AULICINO, M. B., CAFFINI, N. O., BALATTI, P. A., MARTÍNEZ, M. J. Ligninolytic enzyme ability and potential biotechnology applications of the white-rot fungus *Grammothele subargentea* LPSC no. 436 strain. **Process Biochemistry**, n. 43, p. 368–375. 2008.

SAVITHA, S., SADHASIVAM, S., SWAMINATHAN, K. Application of *Aspergillus fumigatus* xylanase for quality improvement of waste paper pulp. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, n. 78, p. 217–221. 2007.

SAVITHA, S., SADHASIVAM, S., SWAMINATHAN, K. Modification of paper properties by the pretreatment of wastepaper pulp with *Graphium putredinis*, *Trichoderma harzianum* and fusant xylanases. **Bioresource Technology**, n. 100, p. 883–889. 2009.

SENIOR, D. J., HAMILTON, J. Use of xylanases for the reduction of AOX in Kraft pulp bleaching. **Journal Pulp and Paper Science**, v. 18, n. 5, p. 165 – 169. 1992.

SENTHILKUMAR, 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 Technology**, n. 99, p. 7781–7787. 2008.

SHAH, A.R., MADAMWAR, D. Xylanase production by a newly isolated *Aspergillus foetidus* strain and its characterization. **Process Biochem**, n. 40, p. 1763–1771. 2005.

SHITOLA, H, KYRKLAND, B, LAAMANEN, L, PALENIUS, I. Comparison and conversion of viscosity and DP value determined by different methods. **Paperi Ja Puu**, v. 45, v. 4a, p. 225–232. 1963.

SILVA, R. P., OLIVEIRA, R. C. Effects of refining and recycling on the characteristics of bleached eucalypt and pine pulp fibers. **Revista Árvore**, v. 24, n. 3, p. 349 – 360. 2000.

SMITH, E. L. et al. **Bioquímica : aspectos gerais**; tradução de Patricia Lydie Voeux Pinto. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 785p, 1985.

SOUZA, G. V., DALVI, L. C. II-054 – Avaliação do Processo de Remoção Biológica da DQO em um Sistema de Tratamento Biológico de Efluentes da Indústria de Celulose Kraft Branqueada. In: 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Anais...** p. 1-7. Belo Horizonte: ABES. 2007.

TALEB, M. C., ADELL, A. M., FORMENTO, J. C., MAXIMINO, M. G. enzymatic refining of a market bleached kraft pulp. In: V Congreso iberoamericano de investigacion en celulosa y papel. **Anais...** Ciadicyp, Guadalajara, Jalisco, México. 10p. 2008.

TAPPI. Technical Association of the Pulp and Paper Industry - standard T414 om-04, Internal tearing resistance of paper (Elmendorf-type method). Atlanta: TAPPI, 2004.

_____ T205 sp-06, Forming handsheets for physical tests of pulp. Atlanta: TAPPI, 2006.

_____ T220 sp-06, Physical testing of pulp handsheets. Atlanta: TAPPI, 2006.

_____ T227 om-09, freeness of pulp (Canadian standard method). Atlanta: TAPPI, 2009.

_____ T230 om-08, viscosity of pulp (capillary viscometer method). Atlanta: TAPPI, 2008.

_____ T236 om-06, kappa number. Atlanta: TAPPI, 2006.

_____ T248 sp-08, laboratory beating of pulp (PFI mill method). Atlanta: TAPPI, 2008.

_____ T403 om-2002, bursting strength of paper. Atlanta: TAPPI, 2002.

_____ T410 om-08, grammage of paper and paperboard (weight per unit area). Atlanta: TAPPI, 2008.

_____ T414 om-04, internal tearing resistance of paper (Elmendorf-type method). Atlanta: TAPPI, 2004.

_____ T 452 om-08, brightness of pulp, paper, and paperboard. Atlanta: TAPPI, 2008.

_____ T494 om-06, tensile properties of paper and paperboard (using constant rate of elongation apparatus). Atlanta: TAPPI, 2006.

- _____ T519 om-96, diffuse opacity of paper. Atlanta: TAPPI, 1996.
- _____ T536 om-07, resistance of paper to passage of air (high pressure Gurley method). Atlanta: TAPPI, 2007.
- _____ T551 om-06, Thickness of paper and paperboard (Soft platen method). Atlanta: TAPPI, 2006.
- 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. **Bioresource Technology**, n. 74 p. 135-140. 2000.
- TRAN, A. V. Decreasing effluent loads through bleaching modification. **Water Research**, n. 40, p. 487 – 494. 2006
- VALLS, C., RONCERO, M. B. Using both xylanase and laccase enzymes for pulp bleaching. **Bioresource Technology**, n. 100. p. 2032–2039. 2009.
- VALLS, C., VIDAL, T., M. RONCERO, B. The role of xylanases and laccases on hexenuronic acid and lignin removal. **Process Biochemistry**, n. 45, p. 425–430. 2010.
- VAN HEININGEN, A., TUNC, M.S., GAO, Y., SILVA PEREZ, D. Relationship between alkaline pulp yield and the mass fraction and degree of polymerization of cellulose in pulp. In: 2003 Annual PAPTAC Meeting. **Proceedings...** Montreal, Quebec, Canada, Paper 0610, January 26-30. 2003.
- VIDAL, G., SOTO, M., FIELD, J., MÉNDEZ-PAMPÍN, R.; LEMA, J. M. Anaerobic biodegradability and toxicity of wastewaters from chlorine and total chlorine-free bleaching of eucalyptus kraft pulps. **Water Research**, v. 31, n. 10, p. 2487-2494. 1997.
- VIIKARI L. Trends in pulp and paper biotechnology. **Progress in Biotechnology**, v. 21 - Biotechnology in the Pulp and Paper Industry: 8th ICBPPI, p. 1-5.
- VUORINEN, T., TELEMAN, A., FAGERSTROM, P., BUCHERT, J., and TENKANEN, M., Selective hydrolysis of hexenuronic acid groups and its application in ECF and TCF bleaching of kraft pulps. In: 1996 Intl. Pulp Bleaching Conf., **Proceeding...** Tappi Press, n.1, p. 43-51. 1996.
- WALLIS, A. F. A.; WEARNE, R. H.; WRIGHT, P. J. Chemical analysis of polysaccharides in plantation eucalypt woods and pulps. **Appita Journal**, v.49, n.4, p.258-262, 1996.
- WONG C. H., WHITESIDES, G. M. **Enzymes in Synthetic Organic Chemistry, Tetrahedron Organic Chemistry Series**, v. 12. Oxford: Elsevier Science Ltd, , 1994, 313p.