



Joana Gaspar Ramos Ferraz

AVALIAÇÃO DE TRATAMENTOS ENZIMÁTICOS NA ESTABILIDADE DA BRANCURA DE PASTAS *KRAFT* DE EUCALIPTO

Dissertação do Mestrado Integrado em Engenharia Química, apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Março, 2013



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Imagem da capa adaptada de *Boletim Estatístico da Celpa 2011*.

Joana Gaspar Ramos Ferraz

**AVALIAÇÃO DE TRATAMENTOS ENZIMÁTICOS NA
ESTABILIDADE DA BRANCURA DE PASTAS *KRAFT* DE
EUCALIPTO**

Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química, apresentada ao
Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologias da
Universidade de Coimbra, inserida no projeto com a ref^a PTDC/EQU-EQU/113547/2009:
Projeto Paperbright – Pastas branqueadas de elevado desempenho: do conhecimento
fundamental à tecnologia avançada

Supervisores:

Professora Doutora Maria da Graça V. S. Carvalho
Professora Doutora Margarida Figueiredo

Instituições:

CIEPQPF – Centro de Investigação em Engenharia dos Processos Químicos e dos Produtos
da Floresta

Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade de Coimbra

Financiamento

FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia

EU – FEDER – Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional

Coimbra
2013



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

AGRADECIMENTOS

No culminar de longos anos de trabalho, não poderia deixar, nesta altura, de agradecer a quem, de uma ou de outra forma, me ajudou a crescer, me incentivou e não me deixou desistir. Não foi, de todo, um percurso como desejei, como algum dia julguei ser. Saberá que não ia ser fácil, mas também o que é fácil não é aliciante nem nos ajuda a evoluir, nem a ser mais e melhor.

Em primeiro lugar, gostaria de expressar um respeitoso agradecimento à minha estimada orientadora, Professora Doutora Maria da Graça Carvalho pela oportunidade que me proporcionou de desenvolver a minha Dissertação na área da pasta e do papel, tema pelo qual surgiu interesse ainda no decorrer do curso. A apresentação deste trabalho é resultado do seu constante apoio, disponibilidade, orientação, incentivo e ensinamentos transmitidos. Agradeço, com igual estima, à Professora Doutora Margarida Figueiredo minha co-orientadora.

Uma palavra de apreço à Novozymes® que facultou as amostras das soluções enzimáticas, as quais, por questões de confidencialidade, não são identificadas, apresentando-se codificadas.

Ao Grupo Portucel Soporcel, em especial ao complexo da Figueira da Foz, pelas amostras de pasta semi-branqueada prontamente cedidas sempre que solicitado.

Ao RAIZ (Instituto de Investigação da Floresta e do Papel) e, em particular, ao Senhor Martins, Senhor José Carlos e Senhor Sousa Pinto pela boa disposição, simpatia e disponibilidade para ajudar e transmitir conhecimentos.

À FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia e UE – FEDER – Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional através do COMPETE - Programa Operacional Fatores de Competitividade (POFC) pelo apoio financeiro deste trabalho no âmbito do Projeto PTDC /EQU-EQU/113547/2009 (COMPETE, ref. FCOMP-01-0124-FEDER-015254).

Agradeço, à Cláudia Esteves, companheira desta Dissertação de quem admiro todo o empenho e dedicação. Por todos os momentos que ajudou a superar e pela constante prontidão em ajudar mesmo quando não o tinha de fazer. À Engenheira Ana Moura e à Engenheira Eva Domingues toda a preciosa ajuda e constante bom ambiente não só de trabalho, bem como das demoradas viagens a Aveiro. Um sincero obrigado por toda a verdadeira ajuda e disponibilidade.

“Onde quer que nos encontremos, são os nossos amigos que constituem o nosso mundo” (William James). Porque fazem parte de mim, parte do que sou, agradeço aos meus amigos todo o apoio, amizade e momentos de confraternização.

Um obrigado dirigido aos que demonstraram companheirismo e paciência em tanta hora de escrita e de árduo trabalho.

A todos os que sentiram a minha ausência e aos que sei que para com eles falhei um verdadeiro pedido de desculpas.

Por último, mas com sentimento de primeiros, à minha família, àquela que é mesmo a minha família que me dá força, energia para lutar e nos quais sempre me apoiaram. Sei que, por vezes, não demonstraram as suas preocupações que bem sabiam que me iam preocupar ainda mais. Agora, estou aqui disponível para vocês.

À minha avó pela constante preocupação e porque me ajudou mais do que julga.

E principalmente a vocês que vos senti sempre sempre comigo e que sei que são, neste momento, as pessoas mais orgulhosas de mim, de nós.

A todos, o meu sincero agradecimento!

Esta dissertação foi escrita de acordo com o novo Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa em vigor desde 2009.

RESUMO

A xilana, um dos polissacarídeos constituintes das fibras de pasta para papel, contribui para a instabilidade da brancura da pasta fruto das ligações covalentes que estabelece com a lenhina residual, e/ou dos grupos potencialmente cromóforos nela contidos, formados durante os processos de cozimento e branqueamento. Para combater este efeito aplicam-se xilanases que são enzimas que hidrolisam a xilana, permitindo a remoção daquelas entidades responsáveis pela reversão da brancura. Por outro lado, o recurso a este tratamento biológico pode permitir um aumento da brancura ISO final da pasta para níveis acima dos habituais 90%, conjuntamente com uma redução da quantidade de reagentes químicos e inerentes vantagens ambientais.

Assim, o principal objetivo deste trabalho passou pela otimização de um estágio enzimático (X) aplicado nas etapas finais do branqueamento de pastas *kraft* de *Eucalyptus globulus* industriais recolhidas após a sequência DED. As pastas resultantes (DEDX) foram posteriormente sujeitas a um branqueamento final, com peróxido de hidrogénio (DEDXP) ou com dióxido de cloro (DEDXD).

A pasta semi-branqueada de eucalipto foi tratada com quatro soluções enzimáticas diferentes (EN2, EN3, EN4 e EN5) a fim de avaliar o seu potencial de remoção de grupos potencialmente cromóforos associados às xilanas. Com o estudo da alteração de parâmetros como o pH, a dosagem de solução enzimática, a temperatura e o tempo de branqueamento, obteve-se um conjunto de condições recomendadas para o tratamento:

- EN2: pH= 6; T= 70°C; t= 60min; dosagem recomendada= 0,08% *odp*; 2 U/g *odp*
- EN3: pH= 7; T= 70°C; t= 60min; dosagem recomendada = 0,085% *odp*; 2 U/g *odp*
- EN4: pH= 5; T= 50°C; t= 60min; dosagem recomendada = 0,15% *odp*; 4,5 U/g *odp*
- EN5: pH= 7; T= 70°C; t= 60min; dosagem recomendada = 0,05% *odp*; 4,9 U/g *odp*

Globalmente, a xilanase comercial EN5 é capaz de produzir a mesma brancura que as demais soluções enzimáticas por aplicação de uma dosagem menor. Contudo, as xilanas experimentais, EN2 e EN3, são as que necessitam de menos unidades de atividade por unidade de massa de pasta (2 U/g *odp*). Entre as duas, a EN3 tem a vantagem de permitir obter uma menor reversão de brancura da pasta (*PC number*=0,42 sendo este valor de 0,45 para a pasta DED, sem tratamento). Além disso, revelou ser mais versátil no que às condições de pH e temperatura diz respeito.

Por comparação com as sequências tradicionais (sem tratamento enzimático) a utilização de xilanases permite obter uma menor reversão da brancura das pastas finais e uma poupança de reagente branqueador no último estágio de branqueamento, tendo em conta a carga aplicada para atingir a mesma brancura (DEDP vs DEDXP ou DEDD vs DEDXD).

ABSTRACT

The xylan is one of the polysaccharides that constitute the fibers of the pulp. It contributes to the instability of whiteness of the pulp in the consequence of establishing covalent bonds with residual lignin, and/or the groups potentially chromospheres therein contained, formed during the cooking processes and bleaching. In order to combat this effect xylanases, which are enzymes that hydrolyze xylan, are applied, allowing the removal of those entities responsible for the reversal of whiteness. On the other hand, the use of this biological treatment may improve the final whiteness ISO of the pulp to normal levels above 90%, leading to a reduced amount of chemical reagents and inherent environmental advantages.

Therefore, the main objective of this work was the optimization of an enzymatic process (X), applied in the final stages of bleaching kraft pulps of industrial Eucalyptus globules, collected after the DED sequence. The pulps resulted from the process (DEDX) were subsequently subjected to a final bleaching with hydrogen peroxide (DEDXP) or chlorine dioxide (DEDXD).

The semi-bleached eucalyptus pulps were processed with four different enzyme solutions (EN2, EN3, EN4 and EN5) to evaluate their potential for removing potentially chromophoric groups linked to xylan. During this study, the change in parameters such as pH, dosage of enzyme solution, the temperature and the time of bleaching was obtained a set of recommended conditions for the treatment:

- EN2: pH = 6; T = 70°C; t = 60min; recommended dosage = 0,08% *odp*; 2 U/g *odp*
- EN3: pH = 7; T = 70°C; t = 60min; recommended dosage = 0,085% *odp*; 2 U/g *odp*
- EN4: pH = 5; T = 50°C; t = 60min; recommended dosage = 0,15% *odp*; 4,5 U/g *odp*
- EN5: pH = 7; T = 70°C; t = 60min; recommended dosage = 0,05% *odp*; 4,9 U/g *odp*

Overall, the commercial xylanase EN5 is capable of producing the same brightness as other enzyme solutions by applying a lower dosage. However the experimental xylanases, EN2 and EN3, need less activity units based on pulp weight (2 U/g *odp*). Between them, the EN3 has the advantage of obtaining a reduced brightness reversion of the pulp (*PC number*= 0,42 and this value was 0,45 for the DED pulp, untreated). Moreover, EN3 was found to be more versatile regarding pH and temperature conditions.

In comparison with traditional sequences (without enzyme treatment) the use of xylanases gives a lower brightness reversion of the pulps and a saving in the final bleaching reagent in the last bleaching stage, taking into consideration the load applied to reach the same whiteness (DEDP vs DEDXP or DEDD vs DEDXD).

ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABELAS	x
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xi
1. Motivação e Organização da Tese	1
2. Introdução	3
2.1 Enquadramento de Portugal no Mercado Europeu e Mundial de Pasta e de Papel.....	7
2.2 O Caso Particular do <i>Eucalyptus globulus</i>	10
3. Principais Constituintes da Madeira	12
3.1 Celulose.....	12
3.2 Hemiceluloses	13
3.3 Lenhina	14
3.4 Reações da Lenhina Durante o Cozimento <i>kraft</i>	15
3.5 Reações dos Polissacarídeos Durante o Cozimento <i>kraft</i>	16
3.6 Fases do Cozimento <i>Kraft</i>	17
4. Propriedades Óticas e Físico-químicas das Pastas	19
4.1 Brancura e Estabilidade.....	19
4.2 Viscosidade Intrínseca.....	21
5. Branqueamento de Pastas <i>Kraft</i>	23
5.1 Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio.....	26
5.2 Branqueamento com Dióxido de Cloro.....	29
5.3 Branqueamento com Xilanases.....	31
6. Metodologia Experimental	39
6.1 Planeamento Experimental.....	41
6.2 Caraterização da Pasta DED	42
6.3 Descrição Experimental dos Ensaios com a Pasta DED	42
6.3.1 Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio	43
6.3.2 Branqueamento com Dióxido de Cloro	44
6.3.3 Tratamento com Xilanases	45
6.4 Caraterização Final das Pastas.....	47
6.4.1 Brancura ISO	47

6.4.2 Reversão de Brancura ISO	47
6.4.3 Viscosidade Intrínseca.....	48
7. Apresentação e Discussão dos Resultados	51
7.1 Tratamento da pasta DED com Xilanase EN2.....	51
7.2 Tratamento da pasta DED com Xilanase EN3.....	54
7.3 Tratamento da pasta DED com Xilanase EN4.....	56
7.3.1 Estudo do Efeito do Tempo de Tratamento – EN4	56
7.3.2 Estudo do Efeito da Carga de Xilanase – EN4	58
7.3.3 Estudo do Efeito do pH e da Temperatura - EN4	59
7.4 Tratamento da Pasta DED com Xilanase EN5.....	61
7.4.1 Estudo do Efeito do Tempo de Tratamento – EN5	61
7.4.2 Estudo do Efeito da Carga de Xilanase – EN5	62
7.4.3 Estudo do Efeito do pH e da Temperatura - EN5	64
7.5 Comparação das Soluções Enzimáticas	66
7.6 Branqueamento da Pasta Original com H ₂ O ₂ (DEDP) e ClO ₂ (DEDD)	67
7.7 Efeito do Tratamento Enzimático no Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio (comparação entre pastas DEDP e DEDXP).....	69
7.8 Efeito do Tratamento Enzimático no Branqueamento com Dióxido de Cloro (comparação entre pastas DEDD e DEDXD).....	71
8. Conclusões.....	75
9. Sugestões de Trabalho Futuro.....	77
Referências Bibliográficas.....	79
Bibliografia Eletrónica.....	84
Anexos	85
Anexo A.....	87
A.1 Acerto do pH para Branqueamento com Xilanases	85
A.2 Determinação da Concentração de Peróxido de Hidrogénio concentrado.....	86
A.3 Determinação da Concentração de Dióxido de Cloro Inicial e Residual	88
A.4 Determinação da Atividade Enzimática das Xilanases.....	90
A.5 Branqueamento - Cálculo das Quantidades de Reagente.....	92
A.6 Determinação da Concentração Residual de Peróxido de Hidrogénio.....	95
A.7 Determinação da Concentração Residual de NaOH.....	97
A.8 Preparação de Folhas para a medição da Brancura ISO.....	99
A.9 Determinação do Teor de Secura das Pastas	100
A.10 Determinação da Viscosidade Intrínseca.....	101
Anexo B.....	105

B.1 Preparação Solução de Peróxido de Hidrogénio	105
B.2 Reta de Calibração Para Cálculo da Atividade Enzimática.....	105
B.3 Conversão de Unidades da Atividade Enzimática.....	106
Anexo C.....	104
C.1 Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Solução Enzimática EN2	109
C.2 Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Solução Enzimática EN3	110
C.3 Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Solução Enzimática EN4	111
C.4 Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Solução Enzimática EN5	112
C.5 Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com Peróxido de Hidrogénio (DEDP) e Dióxido de Cloro (DEDD).....	113
C.6 Condições de Operação e Resultados do Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio nas Sequências DEDP e DEDXP	114
C.7 Condições de Operação e Resultados do Branqueamento com Dióxido de Cloro nas Sequências DEDD e DEDXD	114
Anexo D.....	115
D.1 Autorização para Divulgação de Informação da Celpa.....	115
D.2 Autorização para Divulgação de Informação do Grupo Portucel Soporcel.....	116

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁGINA

FIGURA 1: Produção de pasta de papel por metro cúbico de madeira [Raiz do Grupo Portucel Soporcel].....	4
FIGURA 2: Etapas operacionais de produção de pasta para papel branqueado [adaptado de URL 1].	6
FIGURA 3: Valor de vendas e variação dos produtos produzidos 2010/2011 [adaptado de INE, 2012].	8
FIGURA 4: Tipo de papel produzido [CELPA, 2012].....	9
FIGURA 5: Características das fibras de <i>Eucalyptus globulus</i> e respetivas vantagens e propriedades conferidas ao papel.....	11
FIGURA 6: Estrutura da molécula de celulose [adaptado de Sjöström, 1981].	13
FIGURA 7: Xilana típica de uma <i>hardwood</i> (O-acetil-4-O-metilglucuronoxilana) e de uma <i>softwood</i> (arabino-4-O-metilglucuronoxilana) [adaptado de Suurnäkki <i>et al.</i> , 1997 e de Sixta, 2006].....	14
FIGURA 8: Fórmula geral de uma unidade derivada do fenilpropano [Carvalho, 1999].	15
FIGURA 9: Modelo esquemático da degradação dos polissacarídeos durante o cozimento alcalino.	16
FIGURA 10: Formação de ácido hexenurónico a partir do ácido metilglucorónico [adaptado de Teleman <i>et al.</i> , 1995].....	17
FIGURA 11: Fases do cozimento <i>kraft</i>	18
FIGURA 12: Fatores que influenciam a estabilidade de brancura.....	20
FIGURA 13: Ilustração do aumento da viscosidade.....	22
FIGURA 14: Exemplificação da evolução da cor da pasta ao longo de uma sequência de branqueamento.....	23
FIGURA 15: Reações despoletadas pelo anião HOO ⁻ num branqueamento com peróxido de hidrogénio [Henrique <i>et al.</i> , 2000].....	28
FIGURA 16: Efeito do pH inicial e a brancura final obtida num estágio com peróxido de hidrogénio [adaptado de Dence & Reeve, 1996].....	29
FIGURA 17: Exemplo de ligação da enzima ao substrato pelo modelo “chave-fechadura”.	31
FIGURA 18: Complexo lenhina-hidratos de carbono [adaptado de Bajpai & Bajpai, 1997].	34
FIGURA 19: Imagem obtida por SEM da superfície da fibra de pasta <i>kraft</i> de <i>E. globulus</i> antes (a) e depois de tratada com enzima (b) [Roncero <i>et al.</i> , 2000].	34
FIGURA 20: Degradação enzimática da xilana [adaptado de Suurnäkki <i>et al.</i> , 1997].	35
FIGURA 21: Representação esquemática do trabalho laboratorial desenvolvido.....	40
FIGURA 22: Representação geométrica e matricial do <i>design 2³</i> [adaptado de Montgomery, 2009].	41
FIGURA 23: Suporte com folhas de pasta utilizado no processo de envelhecimento.....	48

FIGURA 24: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN2: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.1)	52
FIGURA 25: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN3: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.2)	55
FIGURA 26: Efeito do tempo de tratamento da pasta DED1 com a solução enzimática EN4: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.3).	57
FIGURA 27: Efeito da carga de solução enzimática EN4 no tratamento da pasta DED1: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.3)	58
FIGURA 28: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN4: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.3)	60
FIGURA 29: Efeito do tempo de tratamento da pasta DED1 com a solução enzimática EN5: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.4)	62
FIGURA 30: Efeito da carga de solução enzimática EN4 no tratamento da pasta DED1: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.4)	63
FIGURA 31: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN4: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.4)	65
FIGURA 32: Resultados obtidos após o branqueamento da pasta DED2 com peróxido de hidrogénio e dióxido de cloro (como cloro ativo): a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.5)	68
FIGURA 33: Resultados obtidos após o branqueamento da pasta DED2 com peróxido de hidrogénio com ou sem pré-tratamento enzimático com as enzimas EN2 e EN5: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.6)	70
FIGURA 34: Resultados obtidos após o branqueamento da pasta DED2 com dióxido de cloro com ou sem pré-tratamento enzimático com as enzimas EN2, EN4 e EN5: a) Brancura; b) <i>PC number</i> ; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.7)	72
Figura 35: Reta de calibração da xilose produzida	105
FIGURA 36: Curva da atividade padrão da xilanase	106

ÍNDICE DE TABELAS

PÁGINA

TABELA 1: Vantagens e desvantagens do processo <i>kraft</i> [Carvalho, 1999; Johansson, 2008].....	5
TABELA 2: Consumo de pasta para venda direta ou produção de papel [CELPA, 2012].....	9
TABELA 3: Substâncias macromoleculares da parede celular da madeira [Shackford, 2003].....	12
TABELA 4: Funções, vantagens e desvantagens de agentes de branqueamento mais utilizados [adaptado de Dence & Reeve, 1996].	25
TABELA 5: Exemplos de aplicações das enzimas nas indústrias de pasta e do papel [Sousa, 2002].	32
TABELA 6: Gama de condições de operabilidade das xilanases [Oliveira, 2010].....	33
TABELA 7: Condições de tratamento enzimático estudadas	37
TABELA 8: Propriedades das pastas DED1 e DED2.....	42
TABELA 9: Condições operatórias aplicadas durante o branqueamento com H ₂ O ₂	44
TABELA 10: Condições operatórias aplicadas durante o branqueamento com ClO ₂	45
TABELA 11: Atividade enzimática das soluções de xilanases utilizadas.	46
TABELA 12: Condições operatórias para as enzimas EN2 e EN3.	46
TABELA 13: Condições operatórias dos ensaios adicionais de EN2 e EN3.	46
TABELA 14: Condições operatórias estudadas para as enzimas EN4 e EN5.	47
TABELA 15: Comparação dos resultados obtidos com as várias soluções enzimáticas aplicadas às pastas DED1 e DED2, nas melhores condições de operação e semelhante atividade.	66
TABELA 16: Valores de $[\eta] \times c$ correspondentes aos diferentes valores do rácio de viscosidade, $\eta_{\text{ratio}} (\eta/\eta_0)$	104
TABELA 17: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN2.	109
TABELA 18: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN3.	110
TABELA 19: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN4.	111
TABELA 20: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN5.	112
TABELA 21: Condições operatórias e resultados do branqueamento com dióxido de cloro (DEDD).	113
TABELA 22: Condições operatórias e resultados do branqueamento com peróxido de hidrogénio (DEDP).	113
TABELA 23: Condições operatórias e resultados do branqueamento com peróxido de hidrogénio (DEDP e DEDXP).	114
TABELA 24: Condições operatórias e resultados do branqueamento com dióxido de cloro (DEDD e DEDXD).	114

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A	Atividade
ad	<i>Air dried</i> (amostra seca ao ar)
AOX	<i>Adsorbable organic halides</i> (halogenetos orgânicos adsorvíveis – compostos organoclorados)
AXU	Unidade de atividade de xilanase
CED	Cuprietilenodiamina
CQO	Carência química de oxigênio
D	Branqueamento com dióxido de cloro
E	Extração alcalina
ECF	<i>Elemental chorine free</i>
E _{OP}	Extração alcalina na presença de oxigênio e de peróxido de hidrogênio
E _P	Extração alcalina na presença de peróxido de hidrogênio
g	Grama
GP	Grau de polimerização
HexA	Ácido hexenurônico
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
kg	Quilograma
LCC	Complexo lenhina-hidratos de carbono
MeGlcA	Ácido 4-O-metilglucurônico
O	Deslenhificação com oxigênio
odp	<i>Oven-dry pulp</i> (pasta absolutamente seca)
P	Branqueamento com peróxido de hidrogênio
p.e.	Por exemplo
PC number	<i>Post Color number</i>
Q	Quelação de metais
SEM	Microscopia eletrônica de varrimento
t	Tonelada
X	Tratamento enzimático

1. MOTIVAÇÃO E ORGANIZAÇÃO DA TESE

É por todos observado o fenómeno de amarelecimento (ou perda de brancura) do papel ao longo do tempo. Este é um fenómeno que ocorre devido aos grupos cromóforos ou potenciais cromóforos que as fibras contêm e que resulta de reações de foto-oxidação. Tem sido comprovado que um estágio final de branqueamento de pasta para papel com peróxido de hidrogénio (H_2O_2) permite uma maior estabilidade da brancura do que um estágio final com dióxido de cloro (ClO_2) [Loureiro *et al.* (2010)]. Na procura de explicação para este diferente desempenho destes dois reagentes foi encontrado recentemente que as xilanas constituintes das pastas de eucalipto são uma fonte de instabilidade da brancura causada pelas suas ligações covalentes à lenhina residual, provocando não só o consumo adicional de reagentes como também um entrave ao ganho de brancura (Loureiro, 2012).

A utilização de xilanases surge, assim, como coadjuvante do branqueamento no pressuposto de induzirem a remoção desta lenhina residual ligada à xilana por hidrólise deste polissacarídeo. Neste âmbito, o presente trabalho teve como principal objetivo o estudo do desempenho de quatro xilanases (designadas EN2, EN3, EN4 e EN5) nos últimos estágios da sequência de branqueamento de pastas de papel, com posterior aplicação de estágios oxidativos de dióxido de cloro e peróxido de hidrogénio. Esse desempenho foi avaliado através da influência do tratamento enzimático na brancura final e na sua estabilidade (ou reversão de brancura), bem como no consumo de reagentes. Como estudo complementar procedeu-se à avaliação do grau de degradação da pasta com o tratamento enzimático e no estágio final do branqueamento.

Foram disponibilizadas cinco enzimas para este estudo, por fornecedores diferentes. Por questões de confidencialidade o nome das enzimas não é mencionado, tendo sido, por este motivo, codificadas. Devido ao elevado número de ensaios associados a cada uma delas, foi necessário dividir o trabalho por duas dissertações. Assim, esta dissertação é complementada pela de Esteves (2013) intitulada “Efeito da aplicação de xilanases na redução do consumo de reagentes no branqueamento de pastas *kraft* de eucalipto” cujos objetivos principais se centraram no estudo enzimático com uma xilanase codificada de EI1 e comparação de duas sequências de branqueamento (DE e DED) incluindo tratamento enzimático otimizado (sequência DEDXD, DEDXP e DEXD). O tratamento enzimático otimizado até então incluiu as soluções enzimáticas EI1, EN4 e EN5.

Esta dissertação está dividida em quatro partes estruturais. A primeira inclui uma referência introdutória a tópicos que serão posteriormente desenvolvidos: diversidade, composição e origem da madeira e ainda algumas características do *Eucalyptus globulus*. Nela está também descrito uma parte do processo de produção de pasta branqueada, primordial matéria-prima a tratar neste trabalho.

A segunda parte constitui uma componente experimental onde consta uma explicação do trabalho que foi desenvolvido, a caracterização da matéria-prima e uma pequena explicação dos procedimentos mais importantes.

Na terceira parte constam os resultados obtidos com o trabalho experimental e a sua discussão.

Por último, na quarta parte do trabalho, são apresentadas as conclusões, bem como sugestões de trabalho futuro que permitirão enriquecer e completar este tema.

PARTE I

2. INTRODUÇÃO

2.1 Enquadramento de Portugal no Mercado Europeu e Mundial da Pasta e de Papel

2.2 O Caso Particular do *Eucalyptus globulus*

3. PRINCIPAIS CONSTITUINTES DA MADEIRA

3.1 Celulose

3.2 Hemiceluloses

3.3 Lenhina

3.4 Reações da Lenhina Durante o Cozimento *Kraft*

3.5 Reações dos Polissacarídeos Durante o Cozimento *Kraft*

3.6 Fases do Cozimento *Kraft*

4. PROPRIEDADES ÓTICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS PASTAS

4.1 Brancura e Estabilidade

4.2 Viscosidade Intrínseca

7. BRANQUEAMENTO DE PASTAS *KRAFT*

7.1 Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio

7.2 Branqueamento com Dióxido de Cloro

7.3 Branqueamento com Xilanases

2. INTRODUÇÃO

Apesar da indiscutível evolução tecnológica na área da informática, o papel continua a ser um recurso imprescindível não só como suporte de escrita como também noutras aplicações papelarias (p.e. embalagens), assumindo-se como um produto de utilização diária em diferentes domínios.

A principal matéria-prima do qual provém o papel, a madeira, apresenta uma grande diversidade de características tanto a nível químico como a nível morfológico (devido à idade, origem genética, condições ambientais e nutricionais), que conferem diferentes propriedades ao produto final. De forma introdutória, a madeira é constituída essencialmente por celulose, hemicelulose, lenhina, cinzas e extratáveis. Durante o processo químico de produção de pasta, no qual se promove a remoção da lenhina (responsável pela aglutinação das fibras), nomeadamente durante a etapa de cozimento, verifica-se uma perda indesejável de hemiceluloses vantajosas para a preservação de algumas das propriedades do papel. Pelo que foi dito anteriormente é facilmente perceptível que a escolha do tipo de fibras celulósicas está estritamente relacionada com o papel que se pretende produzir. A matéria-prima disponível pode ser de origem resinosa (fibras longas de 2 a 5 milímetros de comprimento) designada também por *softwood*, ou de origem folhosa (fibras curtas de 0,5 a 2 milímetros de comprimento), designada por *hardwood*. Como exemplos destes tipos de madeira usada em Portugal tem-se a madeira de pinho (resinosa) e de eucalipto (folhosa), sendo esta última a mais usada para a produção da pasta para papel [Dence & Reeve, 1996].

As madeiras de folhosas, sobretudo eucalipto, são cada vez mais utilizadas, principalmente pelas suas características propícias à produção de papéis de impressão e escrita. Este recente reconhecimento da qualidade das fibras de eucalipto deve-se, em parte, às suas características biométricas (espessura, largura e comprimento da fibra) que permitem obter produtos com melhores propriedades. Em Portugal recorre-se à espécie *Eucalyptus globulus* cujas fibras se distinguem por possuírem uma parede celular espessa tendo em conta o seu comprimento (fibra curta). Como consequência do seu pequeno comprimento, as folhas apresentam um elevado número de fibras por unidade de massa. Estas características biométricas traduzem-se em vantagens papelarias nomeadamente no que respeita a opacidade, formação da folha, suavidade, lisura, índice de mão (ou volume específico do papel) e estabilidade dimensional. Por outro lado, comparativamente com outras árvores e até com outras espécies, o *E. globulus* permite uma maior obtenção de pasta tendo como base o mesmo volume de madeira. Como se pode verificar pela Figura 1, consegue produzir-se mais 34% de pasta de *E. globulus* do que de Bétula por m³ de madeira [Raiz do grupo Portucel Soporcel; URL 1].

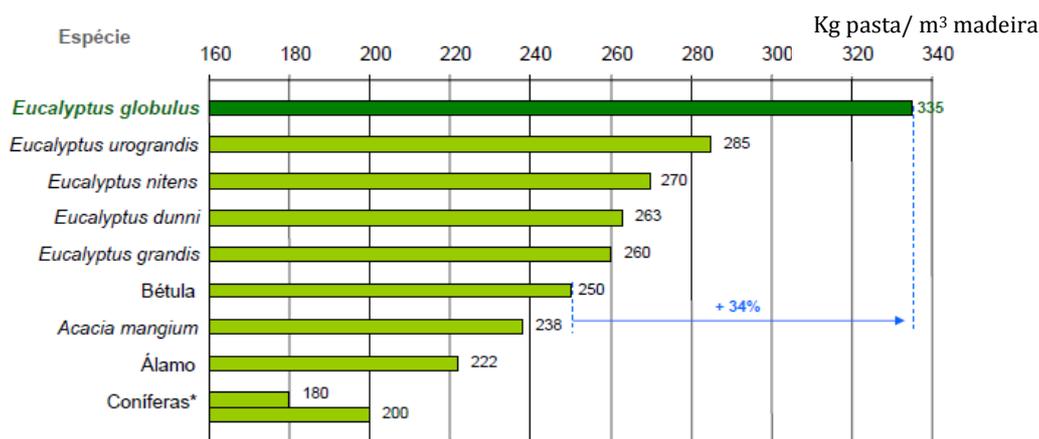


FIGURA 1: Produção de pasta de papel por metro cúbico de madeira [Raiz do Grupo Portucel Soporcel].

Dado que neste trabalho o amago se centra na pasta de eucalipto para produção de papel, será abordado o processo produtivo apenas até à obtenção da pasta branqueada e não até à produção de folhas de papel.

De forma sucinta, o processo tem início num destroçador com a obtenção de pedaços de madeira sem casca (aparas) com as dimensões adequadas de modo a uniformizar as reações a que toda a madeira vai ser sujeita. Para a obtenção de pasta pode ser utilizado um processo mecânico ou um processo químico (ou cozimento) sendo, este último, o mais recorrente por originar papéis com melhor qualidade. Para papéis de impressão e escrita, exigentes a nível de propriedades óticas, torna-se necessário retirar das fibras o componente principal corado que é a lenhina, garantindo, no entanto, a máxima preservação da celulose e das hemiceluloses. Para isso, recorre-se a um processo químico para dissolução da lenhina que mantém as fibras unidas. Neste tipo de indústria existem, principalmente, dois tipos de processos químicos de cozimento: o sulfito e o sulfato (*kraft*¹), sendo este último o processo de deslenhificação mais comum a nível mundial [Bajpai & Bajpai, 1997].

No cozimento *kraft*, as aparas de madeira são encaminhadas para um digestor onde são sujeitas, sob certas condições de temperatura e de pressão (140-170°C, 7 a 12 bar), a uma solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) e de sulfureto de sódio (Na₂S) à qual se dá o nome de licor branco [Sixta, 2006]. Nesta solução aquosa, encontram-se os reagentes efetivamente ativos e necessários ao cozimento das aparas, o ião hidroxilo (OH⁻) e o ião hidrogenossulfureto (HS⁻) formados de acordo com as Equações 1, 2 e 3:



¹ O processo de cozimento mais usado para produção de pasta designa-se por processo *kraft* ou processo ao sulfato por usar o sulfureto de sódio para além do hidróxido de sódio como reagentes químicos. *Kraft* significa forte em alemão por comparação com as fibras obtidas exclusivamente com hidróxido de sódio.

Após 1 a 3 horas de reação, à mistura líquida resultante, contendo os compostos inorgânicos residuais que não reagiram juntamente com material orgânico (componentes da madeira que foram degradados e dissolvidos), dá-se o nome de licor negro (pela sua cor). Como o cozimento não é um processo seletivo, paralelamente à degradação da lenhina ocorre também alguma degradação dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose) que contribui negativamente para a qualidade final da pasta e para a perda de rendimento. Neste tipo de pastas químicas é passível a obtenção de rendimentos de aproximadamente 50% [Mimms 1993; Sjöström, 1981].

Por motivos económicos e ambientais procede-se ao aproveitamento energético da parte orgânica do licor negro e à recuperação dos reagentes inorgânicos de cozimento enviando-o para uma caldeira após evaporação/concentração. Na caldeira de recuperação o material orgânico é queimado para produção de energia suscetível de ser utilizada em qualquer etapa de produção de pasta e de papel (cozimento, branqueamento e secagem) [Sixta, 2006]. Colmatando possíveis perdas, adiciona-se nesta fase sulfato de sódio (Na_2SO_4) para ser reduzido a sulfureto na parte redutora da caldeira. É por este motivo que o processo *kraft* é frequentemente denominado processo ao sulfato. Na Tabela 1 são apresentadas as notórias vantagens do processo *kraft* relativamente a outros processos. A compensação da desvantagem do elevado custo de capital é conseguida com a recuperação eficiente dos produtos químicos e de produção de energia, o que torna o processo economicamente viável e competitivo.

TABELA 1: Vantagens e desvantagens do processo *kraft* [Carvalho, 1999; Johansson, 2008].

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> • Obtenção de pastas com elevada qualidade; • Maior resistência físico-mecânica dos papéis produzidos; • Aplicável a várias espécies de madeira, independentemente das características físico-químicas; • Facilidade de recuperação dos subprodutos orgânicos e inorgânicos; • Ciclo de cozimento mais curto. 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado custo de investimento na construção da fábrica; • Pastas cruas com menor brancura relativamente às obtidas por processos ácidos; • Emissão de compostos sulfurosos de odor desagradável;

No final do cozimento, obtém-se uma pasta castanha (pasta crua), indicativo da presença de lenhina residual, pelo que, quando se pretende produzir pastas brancas, é essencial a realização de um processo de branqueamento [Bajpai & Bajpai, 1997]. Após lavagem (para remoção do licor negro associado às fibras) e crivagem (para remoção de impurezas, nós e agregados de fibras não cozidas) segue-se o processo de branqueamento. Para a produção de pasta branqueada, a lenhina residual e os restantes cromóforos (entidades químicas que absorvem luz numa frequência específica) da pasta *kraft* são eliminados

ou oxidados com base na aplicação de diferentes reagentes branqueadores (oxigénio, peróxido de hidrogénio, ozono ou dióxido de cloro) mais seletivos comparativamente aos reagentes de cozimento. O processo de branqueamento é sequencial e intercalado com estágios de lavagem. No final da pasta ser sujeita a toda a sequência de branqueamento, grande parte da água que a pasta contém é drenada numa teia. Para a produção de papéis de impressão e escrita é requerido que a pasta apresente elevado nível de brancura (geralmente brancura ISO > 90%), pelo que o agente de branqueamento ou a sequência a aplicar deve ser escolhida criteriosamente, por forma a aliar o custo de produção com o máximo cumprimento possível do objetivo principal [Dence & Reeve, 1996; Linhares, 2008].

No caso de fábricas integradas, como é o caso da Soporcel na Figueira da Foz, a pasta produzida é diretamente encaminhada para a unidade de produção de papel, enquanto que numa fábrica não integrada, como é o caso da Celbi na Figueira da Foz, a pasta é enviada para a máquina de formação de folha de pasta sendo depois seca, cortada e embalada em fardos. Desta forma, as folhas de pasta são distribuídas pelo mercado, onde sofrem diferentes transformações para produção de distintos tipos de produtos finais. A Figura 2 mostra de uma forma esquemática e resumida as etapas de produção de pasta de papel branqueada.

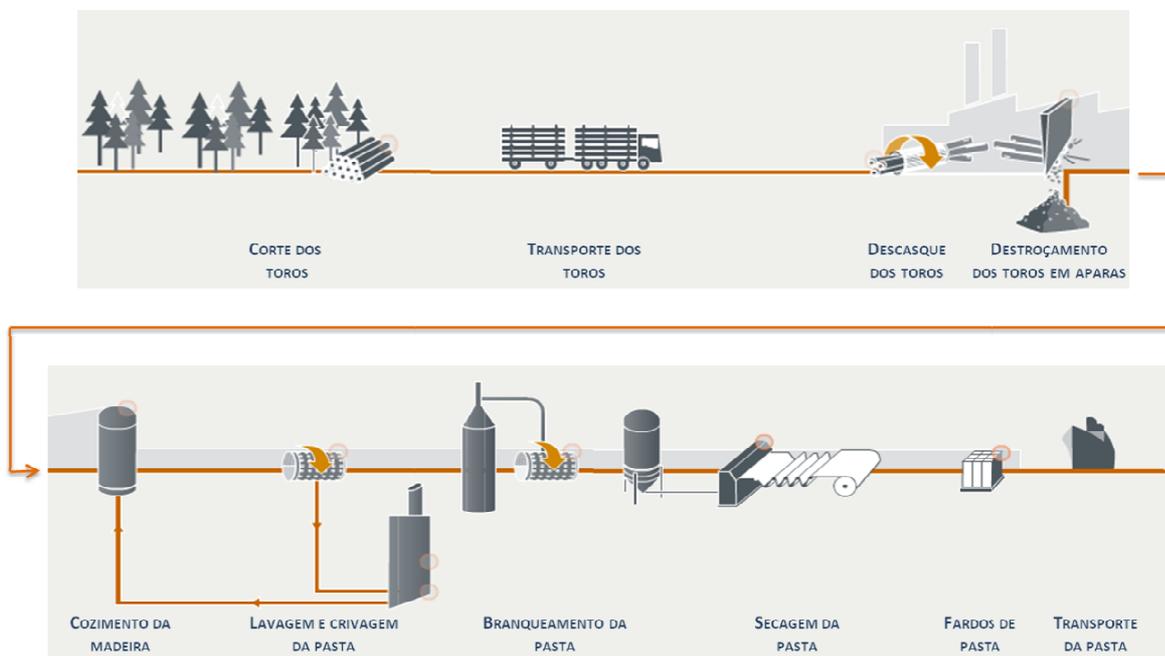


FIGURA 2: Etapas operacionais de produção de pasta para papel branqueado [adaptado de URL 1].

Este tipo de indústria tem vindo a focar-se na utilização das melhores tecnologias disponíveis (BAT), como por exemplo, na redução de emissões gasosas, de produção de efluentes, do uso de agentes químicos nefastos para o ambiente (como o cloro) e na poupança de energia. A também notória evolução da biotecnologia, nomeadamente na área de reações enzimáticas, passou a potenciar a aplicação de enzimas, como a xilanase,

no processamento das fibras celulósicas. A nível geral, as enzimas são catalisadores biológicos, biodegradáveis, não tóxicos e com elevado grau de especificidade que permitem romper ligações de forma a quebrar ou a juntar moléculas para originar novos compostos [Junior, 2001]. Ao nível da indústria papelreira, estudos anteriores revelaram que da aplicação de um tratamento enzimático com xilanases antes da sequência de branqueamento advêm as vantagens de redução do consumo de agente branqueador e de aumento da brancura final, preservando as propriedades de resistência da pasta [Damiano e Silva, 2003]. Com a redução do uso de compostos químicos, este setor industrial torna-se menos poluente dada a diminuição de químicos agressivos nos efluentes. Por estes motivos, as enzimas constituem um coadjuvante no branqueamento químico da pasta para papel, pelo que a sua inclusão em sequências de branqueamento tem-se mostrado uma mais-valia nesta etapa processual.

2.1 ENQUADRAMENTO DE PORTUGAL NO MERCADO EUROPEU E MUNDIAL DE PASTA E DE PAPEL

“PORTUGAL É O 4º MAIOR PRODUTOR EUROPEU DE PASTA, COM 6,3% DO TOTAL O 3º MAIOR PRODUTOR EUROPEU DE PASTAS QUÍMICAS, COM 9,2% DA PRODUÇÃO DESTE TIPO DE PASTA.”

“PORTUGAL É O 11º MAIOR PRODUTOR EUROPEU DE PAPEL E CARTÃO, COM 2,2% DO TOTAL E O 2º MAIOR PRODUTOR EUROPEU DE PAPEL FINO NÃO REVESTIDO (UWF) COM 16,1% DA PRODUÇÃO TOTAL DESTE TIPO DE PAPEL.”

[CELPA, 2012]

É ao nível dos papéis de impressão e escrita, que representam um terço do mercado europeu de papel e cartão, que a indústria da celulose portuguesa verdadeiramente se tem imposto e destacado internacionalmente. Para este realce está subjacente o aumento do consumo mundial de papel que tem sabido adaptar-se e evoluir paralelamente aos novos desenvolvimentos tecnológicos. Neste segmento, em Portugal, o setor da pasta e do papel usufrui do elevado grau de automatização e de mão-de-obra especializada das empresas para evoluir e ganhar posição de destaque. Faz-se prova com a Figura 3 do Instituto Nacional de Estatística que evidencia o franco aumento de produção de pastas químicas em 2011 relativamente a 2010 conjuntamente com a sua elevada comercialização (678 000 000€).

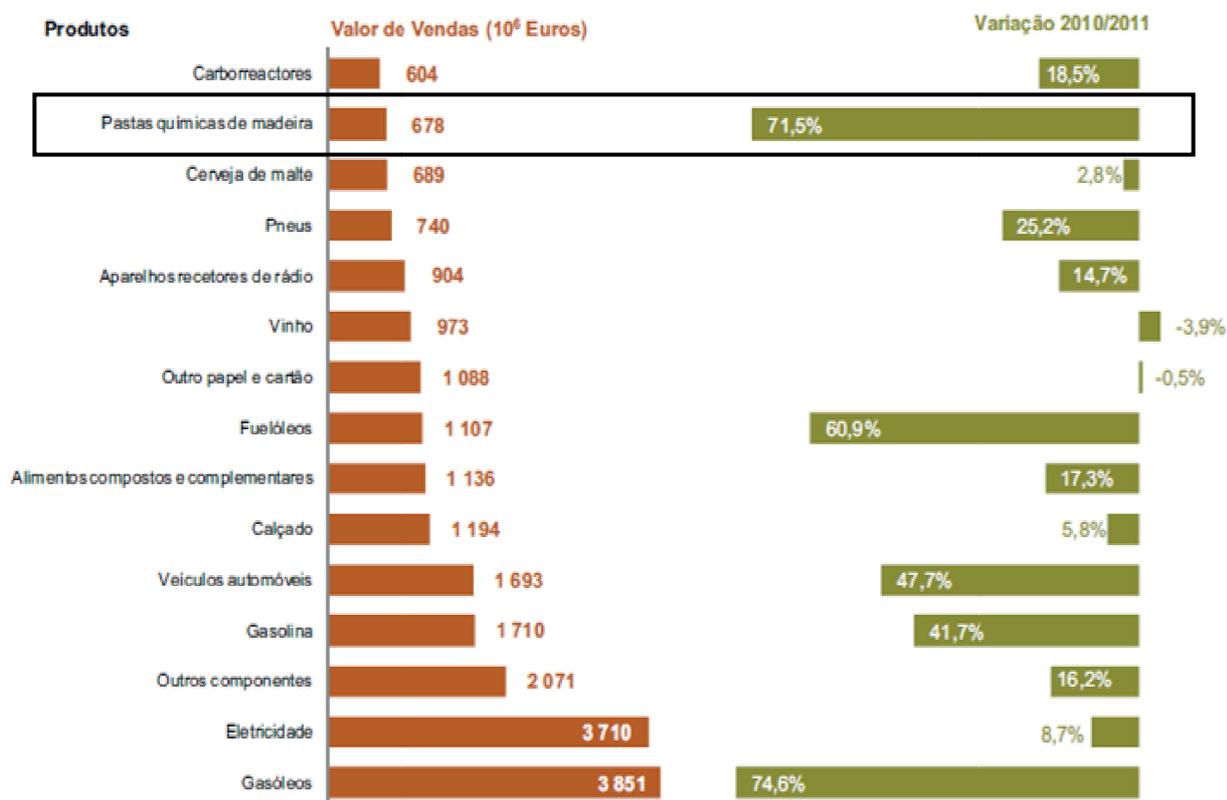


FIGURA 3: Valor de vendas e variação dos produtos produzidos 2010/2011 [adaptado de INE, 2012].

Segundo dados publicados pela CELPA (Associação da Indústria Papeleira), o setor de pasta e papel em Portugal, apesar do atual enquadramento negativo a nível económico nacional e europeu, tem conseguido apresentar solidez e um bom desempenho, contribuindo positivamente para a riqueza nacional. O relatório de sustentabilidade de 2011² refere que não é só na área do papel de impressão e escrita que o país tem merecido lugar de destaque. Entre 2010 e 2011 houve um aumento de 7,1% da produção de cartão para usos gráficos, papéis sanitários e de uso doméstico. A Figura 4 traduz o aumento da produção destes tipos de papéis por parte das empresas associadas da CELPA (Renova, Grupo Altri, Grupo Portucel Soporcel).

² Último relatório disponibilizado pela associação até à data em URL 1.

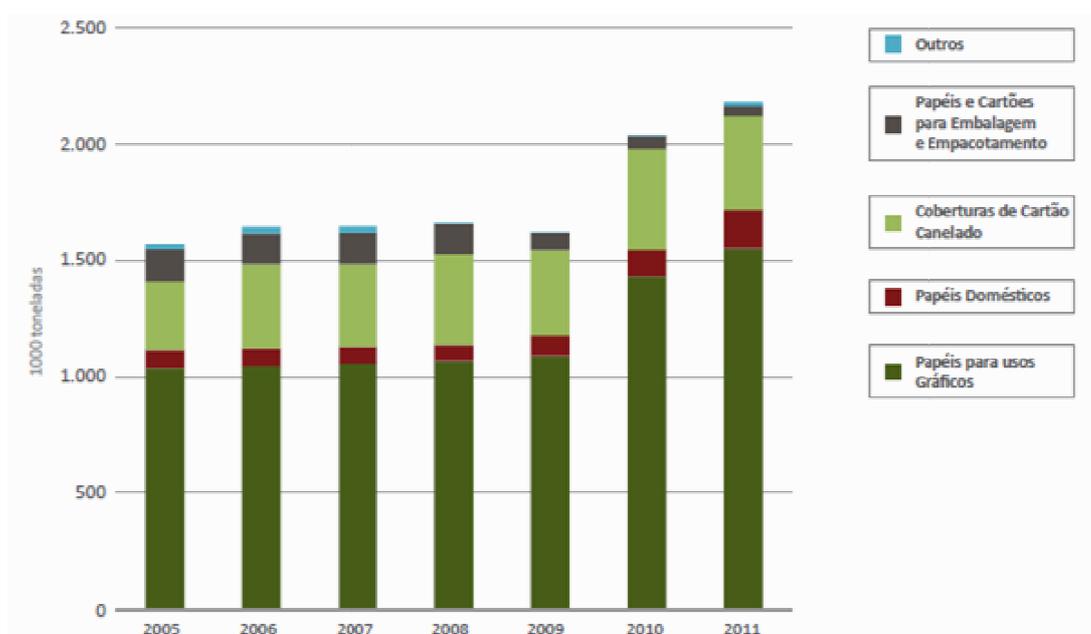


FIGURA 4: Tipo de papel produzido [CELPA, 2012].

Verifica-se, ainda nesta altura (2011), um aumento das exportações de 1,7% para o comércio internacional, mas é a nível nacional que se observa um maior acréscimo do volume de vendas (mais 30%), contribuição positiva para o tão necessário crescimento económico. Assim, o desempenho positivo deste setor industrial torna-se novamente um marco em 2011 com a repetição do volume de vendas superior a 2 mil milhões de euros (mais de 1% que em 2010). Relativamente aos principais países consumidores do papel e cartão produzido em Portugal pode destacar-se a Espanha (16,6%), Portugal (15,4%), França (11,5%) e Alemanha (11,3%) [CELPA, 2012].

No que respeita ao mercado de pasta, Portugal também apresenta um efetivo crescimento, sendo cada vez menos a quantidade de pasta importada. O aumento de produção em 2011 de pastas virgens (8,2%), apesar da diminuição de pastas recicladas em 1,8% face a 2010 (mantendo-se aproximadamente em 320 mil toneladas), prevê a cada vez mais auto sustentabilidade do país na produção dos vários tipos de papel. Não só se mantém a venda direta de pasta, quer interna quer externamente, como engrandece a produção integrada para fabrico próprio e direto de papel (Tabela 2). Para o ano de 2012 e 2013 é, pelos dados apresentados, expectável a continuidade do aumento do uso de pasta para papel.

TABELA 2: Consumo de pasta para venda direta ou produção de papel [CELPA, 2012].

Consumo de Pastas para Produção de Papel por Origem (Un. 1000 ton)						
	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Pasta Integrada	915,0	914,1	934,8	991,0	1.127,6	1.320,6
Pasta de Mercado (Interno e Externo)	144,4	169,0	173,6	175,6	193,7	175,3
Pastas de Papel Recuperado	349,3	349,4	327,9	314,8	325,8	319,9
Consumo	1.408,6	1.433,5	1.436,3	1.481,4	1.647,1	1.815,8

2.2 O CASO PARTICULAR DO *EUCALYPTUS GLOBULUS*

O notório crescimento e desenvolvimento que se tem vindo a verificar ao longo de décadas na indústria papelreira portuguesa prende-se principalmente com a grande disponibilidade e qualidade da matéria-prima: o *Eucalyptus globulus*. De acordo com dados de 2011, aproximadamente 74% da floresta continental é constituída predominantemente por três espécies arbóreas contribuindo o pinheiro bravo (*Pinus pinaster*) com 885 mil hectares, o eucalipto (*Eucalyptus spp*) com 740 mil hectares e o sobreiro (*Quercus suber*) com 716 mil hectares [CELPA, 2012]. O característico clima temperado proporciona o bom desenvolvimento do *Eucalyptus globulus*, originalmente proveniente, como a maioria dos eucaliptos, da Austrália, permitindo ciclos de crescimento entre 7 e 9 anos.

A perceção das vantajosas propriedades da pasta e do papel produzidos com este tipo de árvore tem tornado Portugal um potencial concorrente a nível mundial, neste setor. Na verdade, nem sempre a pasta de *Eucalyptus globulus* foi positivamente reconhecida, dada a considerada baixa qualidade da fibra curta: fibras de enchimento barato (usadas para conferir opacidade e lisura, propriedades difíceis de conseguir apenas com a fibra longa) e fracas, sendo, por isso, de baixo custo. Ao invés, durante muito tempo, a fibra longa foi a preferida pois potencia a obtenção de papéis com maior resistência mecânica. Com a evolução do conhecimento papelreiro, a pasta *kraft* branqueada de eucalipto passou a marcar uma posição mais destacada no mercado. É ao nível do papel de impressão e escrita e de sanitários que as fibras de eucalipto apresentam os melhores requisitos dada a possibilidade de produção sem necessidade de incorporar fibras de reforço [Carvalho, 1999; Foelkel, 1997]. Segundo Foelkel (1997), esta matéria-prima adapta-se às especificações diferenciadas que os dois segmentos anteriores exigem. Para os papéis de impressão e escrita propriedades como a lisura, opacidade, formação, volume, porosidade, imprimabilidade, resistência e estabilidade dimensional. Quanto aos papéis sanitários, as propriedades pretendidas são, entre outras, a macieza, a resistência, a suavidade ao tato e a capacidade de absorção de líquidos. Todas estas propriedades são conseguidas com as inúmeras fibras curtas e estreitas, que possuem elevada rigidez, baixo grau de colapsabilidade, alguma relativa resistência à refinação, capazes de se manterem unidas, mas originando uma rede suficientemente porosa.

Na Figura 5 encontram-se as características vantajosas da fibra curta de *Eucalyptus globulus*, bem como as propriedades conferidas, que a tornam promissora, num contexto em que se pretende, cada vez mais, uma qualidade de excelência do produto final relativamente aos concorrentes [Carvalho, 1999; Ferreira, 2000; Foelkel, 1997].

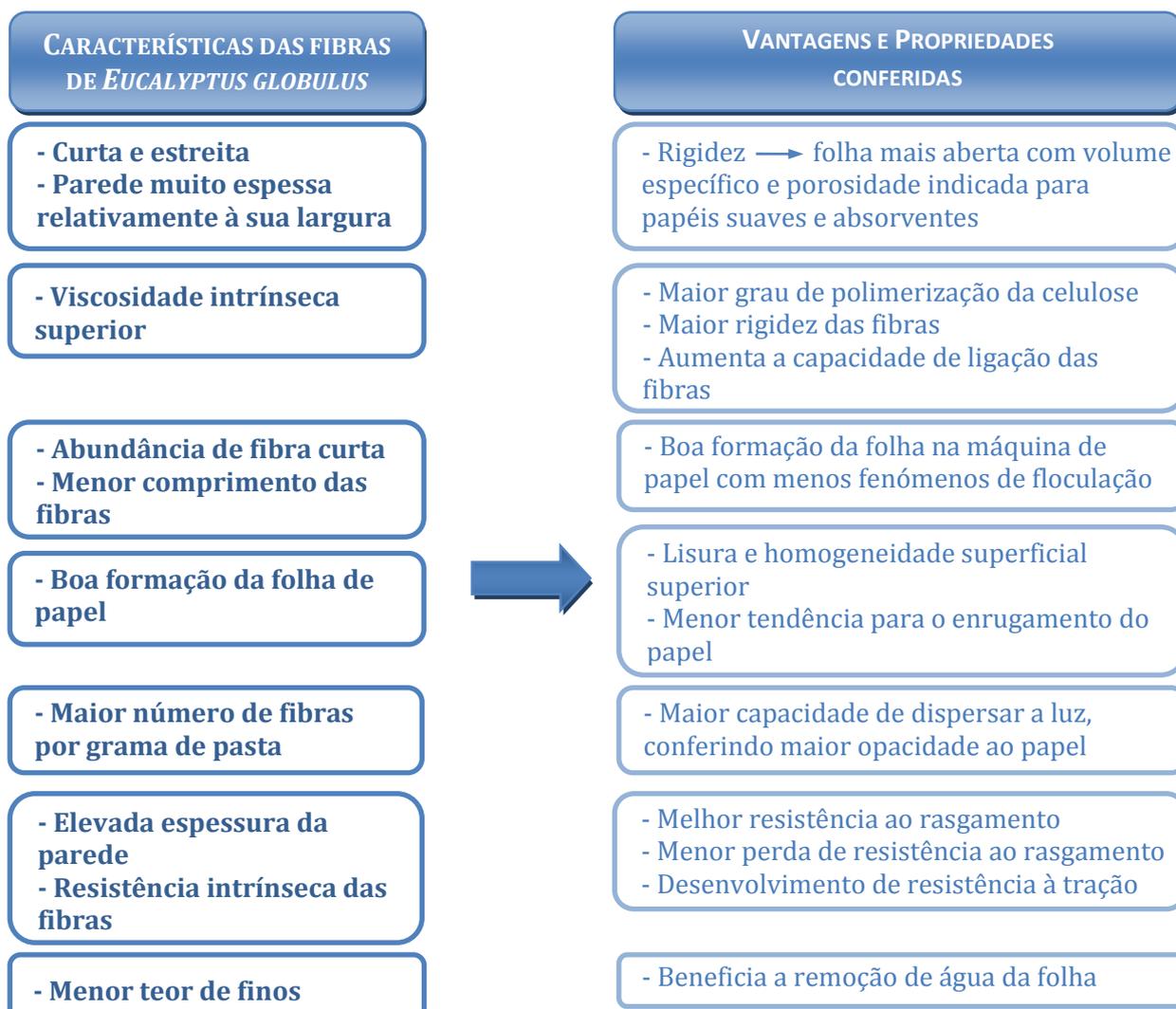


FIGURA 5: Características das fibras de *Eucalyptus globulus* e respetivas vantagens e propriedades conferidas ao papel.

Apesar das inquestionáveis e conhecidas vantagens, muitos estudos têm sido desenvolvidos no sentido de melhorar geneticamente esta espécie, suportados no conhecimento de que as características da matéria-prima condicionam fortemente o desempenho das pastas. Com estes programas de potenciamento florestal tem-se conseguido melhorar o rendimento, consequência da manipulação de parâmetros como o crescimento volumétrico, a densidade da madeira, o teor de lenhina e a facilidade de deslenhificação durante o cozimento da madeira de *E. globulus*.

3. PRINCIPAIS CONSTITUINTES DA MADEIRA

Como foi referido no capítulo introdutório, a variabilidade química que se observa na madeira compromete, não só etapas operacionais do processo, nomeadamente etapas de separação dos constituintes, como também o tipo de produto final obtido. Desta forma, a escolha da espécie de árvore está intimamente relacionada com o papel que se pretende produzir.

A madeira é um biocompósito³ bem organizado a nível celular e molecular. É constituída por compostos de elevado peso molecular como os polissacarídeos (celulose e hemiceluloses) e a lenhina e em compostos de baixo peso molecular como os extrativos (substâncias orgânicas) e as cinzas (substâncias inorgânicas) [Sixta, 2006]. A percentagem destes compostos varia consoante o tipo de árvore como se pode constatar na Tabela 3.

TABELA 3: Substâncias macromoleculares da parede celular da madeira [Shackford, 2003].

	<i>SOFTWOOD</i> (%)	<i>HARDWOOD</i> (%)
Celulose	41-46	42-49
Hemiceluloses	25-32	23-34
Lenhina	26-31	20-26
Extratáveis	10-25	3-8
Cinzas	0,2-0,4	0,2-0,8

Pelos valores anteriores, dir-se-ia que a *hardwood* seria a melhor para a produção de pasta para papel por possuir maior percentagem de polissacarídeos. Relativamente às resinosas, este tipo de folhosa apresenta menor quantidade de lenhina, pelo que a sua deslenhificação se torna facilitada, havendo um menor consumo de reagente durante o cozimento da matéria-prima e maior preservação dos polissacarídeos [Rydholm, 1985]. Porém, a escolha do tipo de madeira recai sobre todas as propriedades que, de um modo geral, os constituintes conferem ao tipo de produto final que se deseja, como seja, a brancura e sua estabilidade, a resistência mecânica, a opacidade e a lisura.

3.1 CELULOSE

De fórmula química $(C_6H_{10}O_5)_n$ (n , grau de polimerização (GP)), a celulose é um homopolímero⁴ linear constituído por inúmeras repetições do monómero glucose que se ligam por meio de uma ligação glicosídica covalente $\beta(1\rightarrow4)$ (Figura 6). A madeira chega a possuir um grau de polimerização de 10000 enquanto nas pastas químicas esse valor desce para 1000 [Dence & Reeve, 1996; Sjöström, 1993]. A unidade estrutural que se repete

³ Material de origem natural que possui pelo menos dois componentes ou duas fases com propriedades físicas e químicas nitidamente distintas na sua composição.

⁴ Polímero resultante da polimerização de um único monómero.

é na realidade constituída por duas moléculas de glucose orientadas espacialmente de forma diferente (celobiose).

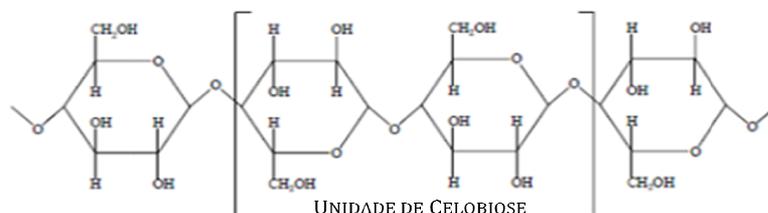


FIGURA 6: Estrutura da molécula de celulose [adaptado de Sjöström, 1981].

As moléculas deste principal constituinte da madeira são lineares e apresentam propensão para formar ligações por pontes de hidrogénio no mesmo plano e ligações de Van der Waals em planos diferentes intra e intermoleculares, entre várias moléculas de celulose. São estas ligações que conferem às fibras de celulose uma estrutura coesa, compacta e ordenada permitindo apresentar um grau de cristalinidade cerca de 60% para o *E. globulus* nacional [Bastos, 1999]. A celulose é, então, um material sólido e branco que pode ser encontrado no estado amorfo-cristalino. Enquanto a parte amorfa se consegue atacar e degradar primeira e facilmente, a fase cristalina apresenta-se como sendo bastante resistente ao ataque químico e à degradação microbiana [Biermann, 1996; Neto *et al.*]. Naturalmente, a cristalinidade afeta a qualidade da pasta com conseqüente propagação às propriedades do papel final. Quanto maior for a cristalinidade maior será a densidade, a rigidez, a resistência das fibras à tração e menor a absorção de solventes [Sjöström, 1993]. No fim do cozimento da madeira verifica-se um aumento do grau de cristalinidade devido à remoção de material amorfo nesta etapa. A solubilidade da celulose pode ser conseguida nas zonas amorfas durante a degradação da cadeia por hidrólise alcalina no cozimento da madeira, ou então, recorrendo a solventes fortes como o caso de cuprietilenodiamina (CED) útil, por exemplo, na medição da viscosidade de soluções de pastas.

3.2 HEMICELULOSES

O termo hemiceluloses não designa, por si só, apenas um tipo de composto químico, mas antes um conjunto de componentes poliméricos não celulósicos (mostrando a Figura 7 um exemplo) cada um com propriedades específicas e peculiares.

As hemiceluloses são polissacarídeos constituídos por várias unidades de diferentes açúcares, que podem ser genericamente agrupados em pentoses (β -D-xilose ou α -L-arabinose), hexoses (β -D-glucose, β -D-manose ou α -D-galactose), ácidos urónicos (ácido β -D-glucurónico, ácido 4-O-metil- α -D-glucurónico ou ácido α -D-galacturónico) e desoxihexoses (α -L-raminose ou α -L-fucose). Estes componentes unem-se por diferentes tipos de ligações originando estruturas ramificadas e amorfas sendo, as mais comuns, as

xilanas (polímeros de xilose) e as glucomananas (polímeros de glucose e manose), variando a sua constituição consoante o tipo de madeira: arabinoglucuronoxilana e galactoglucomanana em resinosas; glucuronoxilana e glucomanana em folhosas [Hon & Minemura, 2000; Sjöström, 1981] (Figura 7). Além destas podem ainda ser encontradas galactanas como a arabinogalactana [Dhiman *et al.*, 2008]. O teor e a proporção dos diferentes componentes encontrados nas hemiceluloses variam grandemente com a espécie e até de árvore para árvore. Enquanto as folhosas possuem maior quantidade de xilanas (15-30% de O-acetil-4-O-metilglucuronoxilana) do que glucomananas (2-5%), as resinosas, ao invés, possuem mais glucomananas (20%) do que xilanas (7-10 % de arabino-4-O-metilglucuronoxilana) [Sjöström, 1993].

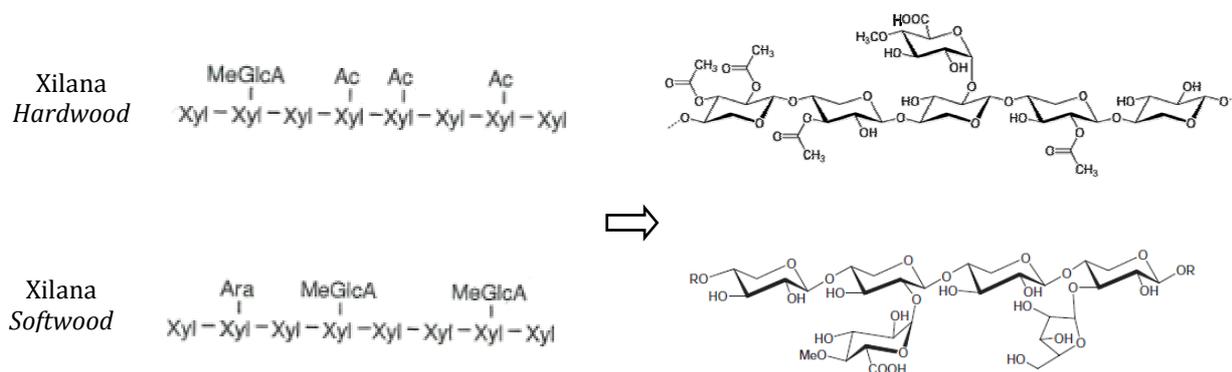


FIGURA 7: Xilana típica de uma *hardwood* (O-acetil-4-O-metilglucuronoxilana) e de uma *softwood* (arabino-4-O-metilglucuronoxilana) [adaptado de Suurnäkki *et al.*, 1997 e de Sixta, 2006].

Ao contrário do que se verifica para a celulose, as hemiceluloses são maioritariamente amorfas com configuração irregular e ramificada, pelo que se torna fácil o seu ataque por agentes químicos. Tal propriedade constitui uma notória desvantagem deste componente, uma vez que durante o cozimento da madeira e seu posterior branqueamento se desencadeia despropositadamente a sua degradação. É necessário garantir que esteja presente uma certa quantidade de hemiceluloses dado que esta facilita o intumescimento da parede da fibra (inchamento pela entrada de água) e da sua flexibilidade contribuindo para uma poupança energética na etapa de refinação. Pela sua afinidade com a água, apresenta também elevada importância na formação da folha de papel, pois favorece a ligação entre as fibras de celulose, conferindo à folha maior resistência à tracção e ao rebentamento [Dence & Reeve, 1996, Rice, 2001].

3.3 LENHINA

A lenhina é um polímero complexo, orgânico e natural que, na madeira, apresenta a função de aglutinação das fibras e coesão da estrutura fibrosa no tecido vegetal, conferindo rigidez à parede celular. Por outro lado, a lenhina funciona como proteção da celulose e hemiceluloses ao ataque biológico [Sjöström, 1993]. É formada por unidades

derivadas do fenilpropano (Figura 8) sendo um polímero aromático de estrutura ramificada, com elevado peso molecular. Na parede celular encontra-se associada à hemicelulose através de ligações covalentes, o que dificulta a sua remoção durante o processo de fabrico de pasta branqueada. Dada a sua complexidade estrutural, depreende-se que os mecanismos lenhicolíticos que levam à sua formação devam ser extracelulares e oxidativos em detrimento dos hidrolíticos, pois a lenhina encontra-se interligada por conexões bastante estáveis de éter e de carbono-carbono [Hammel, 1997].

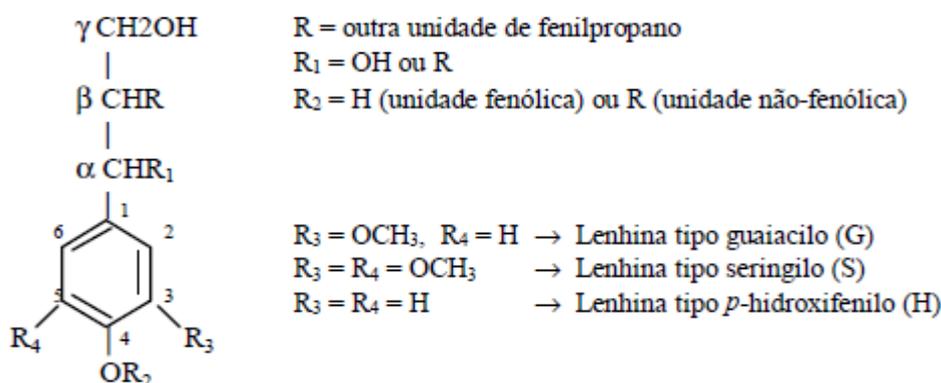


FIGURA 8: Fórmula geral de uma unidade derivada do fenilpropano [Carvalho, 1999].

Considerando a complexidade das suas ligações, é difícil remover a lenhina e isolar as fibras durante a etapa de cozimento, pelo que, dependendo do tipo de papel a produzir, se torna por vezes necessária uma etapa de branqueamento da lenhina residual da pasta crua. Por ser preponderantemente hidrofóbica, dificulta o intumescimento das fibras durante a refinação, apresentando ainda a desvantagem de favorecer a rápida reversão de brancura.

3.4 REAÇÕES DA LENHINA DURANTE O COZIMENTO *KRAFT*

Como já referido anteriormente, os reagentes ativos do cozimento *kraft* são o hidróxido de sódio e o sulfureto de sódio em solução aquosa (licor de cozimento contendo os iões OH⁻ e o HS⁻). Dada a complexidade da lenhina, as reações que a envolvem com os reagentes de cozimento ainda não estão bem definidas e completamente explanadas. O ataque dos reagentes provoca a despolimerização da lenhina pela clivagem das ligações éter (C-O-C) que são mais abundantes. Todavia, tal não se constata nas ligações carbono-carbono por estas serem muito estáveis. Os fragmentos formados são dissolvidos no licor. A presença de HS⁻ apresenta-se especialmente benéfica porque catalisa as reações de despolimerização da lenhina e retarda a velocidade das reações inevitáveis de condensação. Estas últimas são consideradas reações de competição com a fragmentação da lenhina e são indesejadas porque podem originar produtos de maior peso molecular insolúveis. No final do cozimento, principalmente se o pH do licor é inferior a 12, pelo consumo de reagentes durante o cozimento, pode ocorrer reprecipitação na superfície das fibras dos fragmentos de lenhina já dissolvidos. Nesta

precipitação é gerada uma camada que atua como uma barreira física para os agentes químicos no processo seguinte que é o branqueamento [Beg *et al.*, 2001].

3.5 REAÇÕES DOS POLISSACARÍDEOS DURANTE O COZIMENTO *KRAFT*

Devido às condições de elevada alcalinidade e temperatura, o cozimento não é totalmente seletivo em relação à lenhina, pelo que ocorrem reações com os polissacarídeos que são indesejadas mas também impossíveis de evitar. Tal inconveniente reflete-se no rendimento do processo e na qualidade da pasta obtida, dois dos fatores a ter em conta para um bom desempenho da etapa de cozimento. Estas reações apenas envolvem o ião hidróxido, independentemente da concentração de HS presente no licor. A reatividade depende de características estruturais dos polissacarídeos principalmente a cristalinidade e o grau de polimerização [Sixta, 2006].

Nos momentos iniciais do cozimento ($T < 70^{\circ}\text{C}$) os polissacarídeos sofrem reações de hidrólise dos grupos acetilo ($-\text{COCH}_3$) que constituem 3,5% da massa de madeira de *E. globulus* [Evtuguin *et al.*, 2003], pelo que a desacetilação das hemiceluloses contribuem significativamente para a perda total de rendimento durante o processo de cozimento [McDonough; Sixta, 2006].

Outro tipo de reação que ocorre é o denominado *peeling* primário ($T > 80^{\circ}\text{C}$) que consiste na clivagem da ligação glicosídica terminal da cadeia do polissacarídeo. Nas temperaturas mais elevadas ocorre outra hidrólise alcalina que é a clivagem aleatória deste tipo de ligações ($T > 140^{\circ}\text{C}$), formando-se cadeias mais pequenas de polissacarídeos. Consequentemente, são expostos mais grupos terminais passíveis, também eles, de sofrerem *peeling*, designando-se, nesta altura, *peeling* secundário (Figura 9). Felizmente, este processo não é infundável, competindo com reações de *stopping* que provocam o seu bloqueio e estabilizando o polissacarídeo [McDonough; Sixta, 2006].

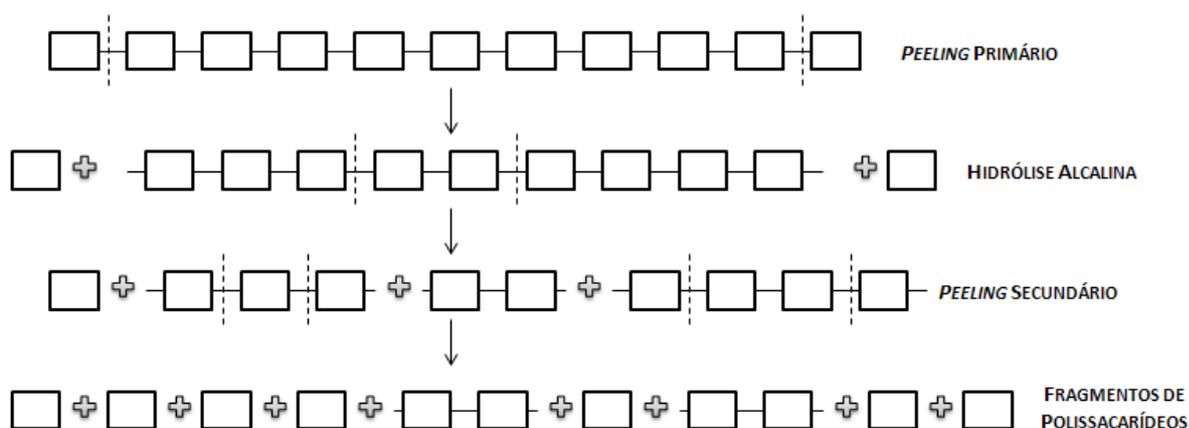


FIGURA 9: Modelo esquemático da degradação dos polissacarídeos durante o cozimento alcalino.

Todas estas transformações têm grande impacto no grau de polimerização e no rendimento, uma vez que a diminuição do tamanho da cadeia dos polissacarídeos os torna mais solúveis no licor. As hemiceluloses, dado o seu carácter amorfo, baixo grau de polimerização e maior ramificação das suas moléculas são degradadas em maior extensão que a celulose [Sjöström, 1993]. No entanto, a xilana, principal hemicelulose das folhosas, manifesta uma grande resistência à reação de *peeling*. Durante o cozimento, devido à elevada temperatura ($T > 120^{\circ}\text{C}$) e alcalinidade, os grupos laterais do ácido 4-O-metilglucurónico (MeGlcA) perdem um grupo metanol (CH_3OH) sendo, então, convertidos em ácidos hexenurónicos (HexA) (Figura 10) [Danielsson *et al.*, 2006]. A elevada estabilidade que possuem permite prevenir reações de *peeling*, não contribuindo para mais reações de degradação de polissacarídeos [Shatalov & Pereira, 2008; Simeonova *et al.*, 2007; Sixta, 2006; Valls & Roncero, 2009].

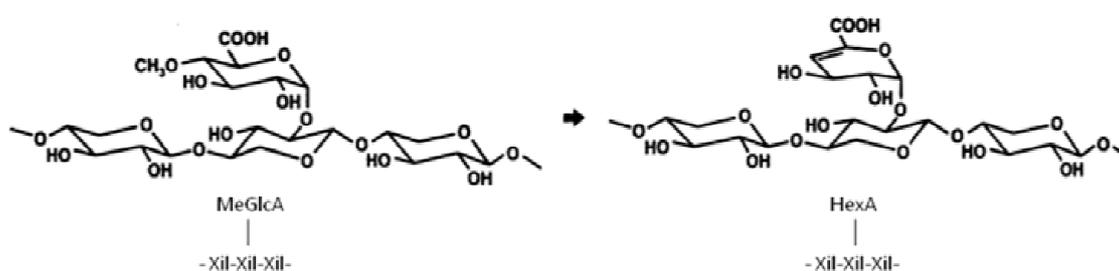


FIGURA 10: Formação de ácido hexenurónico a partir do ácido metilglucurónico [adaptado de Teleman *et al.*, 1995].

Este tipo de ácidos acarreta consequências negativas na etapa de branqueamento, em particular no que toca ao aumento do consumo de reagentes e à perda de eficiência. Adicionalmente, provoca a retenção de iões metálicos, favorecendo o amarelecimento da pasta [Fillat *et al.*, 2012]. A sua ação também é notada nas propriedades finais da pasta, repercutindo-se na diminuição da brancura final e visível aumento da reversão de brancura [Shatalov & Pereira, 2008, Valls & Roncero, 2009]. Uma solução para eliminar estes efeitos passaria por removê-los por hidrólise ácida da pasta ($T \approx 90\text{-}110^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} \approx 3\text{-}4$, $t \approx 60\text{-}180$ min de reação) [Sixta, 2006; Vuorinen *et al.*, 1999], uma vez que os HexA são instáveis em condições ácidas. Todavia, com este tratamento, induz-se uma perda de rendimento e de viscosidade da pasta. Uma outra alternativa, mais viável, seria a sua remoção com um tratamento enzimático, com a redução mais eficiente do amarelecimento [Simeonova *et al.*, 2007].

3.6 FASES DO COZIMENTO *KRAFT*

Tendo em conta o que foi supra referido, pode agora explicar-se as fases que constituem o cozimento *kraft*, bem como o que nelas ocorre relativamente à lenhina e aos polissacarídeos. Como pode ser visto na Figura 11, o cozimento pode ser subdividido em

três fases: a fase inicial (*initial*), a fase principal (*bulk*) e a fase residual (*residual*) [Sixta, 2006].

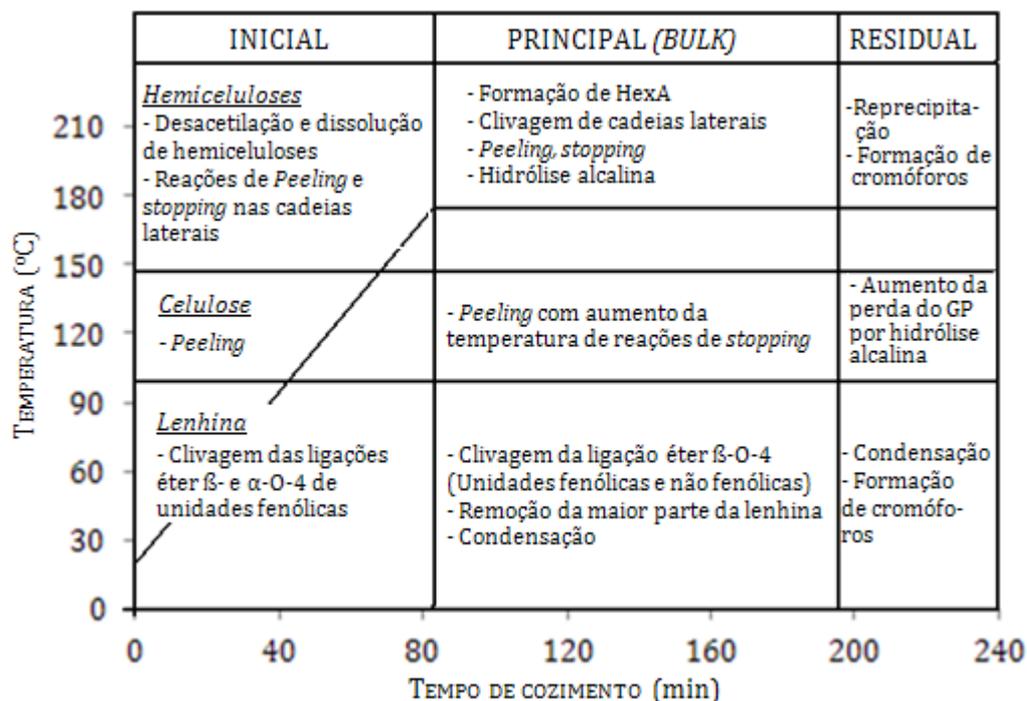


FIGURA 11: Fases do cozimento kraft.

Fase inicial:

- Perda de uma fração de hidratos de carbono.
- As hemiceluloses começam a sofrer desacetilação, dissolução física e começo das reações de *peeling*.
- Nesta fase a degradação da celulose é insignificante para a contabilização da perda de rendimento.

Fase principal:

- Máxima deslenhificação: remoção de aproximadamente 70% da lenhina.
- Nos polissacarídeos dá-se início às reações de *peeling* secundário, bem como às reações de *stopping*.
- Início da formação de ácidos hexenurónicos.

Fase residual:

- Começa com uma taxa de deslenhificação de aproximadamente 90%.
- Diminuição da deslenhificação devido à escassez de unidades reativas na lenhina. A natureza da lenhina residual é vista como um obstáculo ao desenvolvimento de mais reações de degradação.
- Rápida e desproporcionada degradação de hidratos de carbono.

4. PROPRIEDADES ÓTICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS PASTAS

Para avaliar a qualidade papelreira das pastas estas podem ser caracterizadas a nível de propriedades estruturais (gramagem, espessura, densidade aparente, índice de mão e resistência ao ar), óticas (brancura, opacidade e coeficiente específico de dispersão de luz) e de resistência mecânica (índice de tração, rigidez à tração, índice de rebentamento, índice de rasgamento e zero-span), recorrendo-se para tal à produção de folhas de pasta a analisar [Ferreira, 2000; Sêco, 2006]. No âmbito deste trabalho a brancura e a sua estabilidade são as propriedades de maior interesse, bem como a viscosidade de pastas branqueadas. Para um maior entendimento relacionado com as propriedades físico-mecânicas das pastas remete-se para a leitura de outros documentos (p.e. Ferreira, 2000).

4.1 BRANCURA E ESTABILIDADE

Para pastas branqueadas destinadas à produção de papéis de impressão e escrita é de extrema importância as características óticas, como a brancura e sua estabilidade avaliada através da reversão de brancura.

A brancura pode ser definida como sendo a refletância da luz visível na banda do azul (457nm) sendo a cor acastanhada o resultado da luz absorvida pela lenhina e por outros grupos cromóforos presentes na pasta [Dence & Reeve, 1996]. Como a própria definição evidencia, trata-se de uma medida de interação da luz com as fibras. Esta propriedade pode ser encarada como uma avaliação do sucesso do processo de branqueamento, no sentido em que os químicos branqueadores reduzem a absorção de luz por todos os grupos cromóforos aumentando, deste modo, a refletância da luz pela folha [Dence & Reeve, 1996].

Segundo Hon & Minemura (2000) a direção da luz incidente, o teor de humidade e a rugosidade da superfície são exemplos de fatores externos que podem afetar a cor da pasta. Por isso, a determinação da brancura/refletância deve seguir uma metodologia padrão, como a descrita pela norma ISO 2470. O método comum de medição faz uso de uma escala absoluta: enquanto a brancura ISO de um material preto e não refletor é 0%, um material com difusão máxima e perfeita é caracterizado por uma brancura ISO de 100% [Sixta, 2006].

Já a estabilidade, ou reversão de brancura, refere-se à diferença entre a brancura ISO da pasta antes e depois de tratamento térmico. Esta técnica consiste num envelhecimento acelerado das folhas de pastas induzido sob condições de temperatura, tempo e humidade específicas traduzindo o amarelecimento natural de qualquer folha de papel com o passar do tempo. O simples procedimento experimental tenta recriar o complexo processo de reversão de brancura que, na realidade, se desenvolve. O envelhecimento

pode ser associado a efeitos térmicos com a oxidação dos compostos químicos presentes no papel, fruto do seu longo armazenamento à temperatura ambiente ou por efeito fotoquímico com consequente oxidação causada pela exposição do papel à luz do dia [Dence & Reeve, 1996; Loureiro, 2012].

Segundo Costa *et al.* (2003) e Sêco (2006), a estabilidade de brancura (e até a brancura final) depende de grupos residuais presentes na pasta branqueada tais como, a lenhina residual e precipitada, grupos oxidados nos polissacarídeos, ácidos hexenurónicos, extratáveis, grupos carbonilo e metais de transição. Simeonova *et al.*, (2007) também são defensores da ideia exposta indo mais longe, ao afirmar que as causas do amarelecimento podem ser distribuídas por duas categorias; por um lado, a composição química, como anteriormente referido, e, por outro, as condições físicas a que a pasta é sujeita desde o secador de folhas de pasta até ser novamente conduzida ao desintegrador de pasta aquando do fabrico de papel. De acordo com Forsskåhl (2000) citado por Sêco (2006), existem outros fatores diversos que afetam a reversão da brancura como a natureza da matéria-prima, processo de produção e armazenamento da própria pasta (Figura 12).

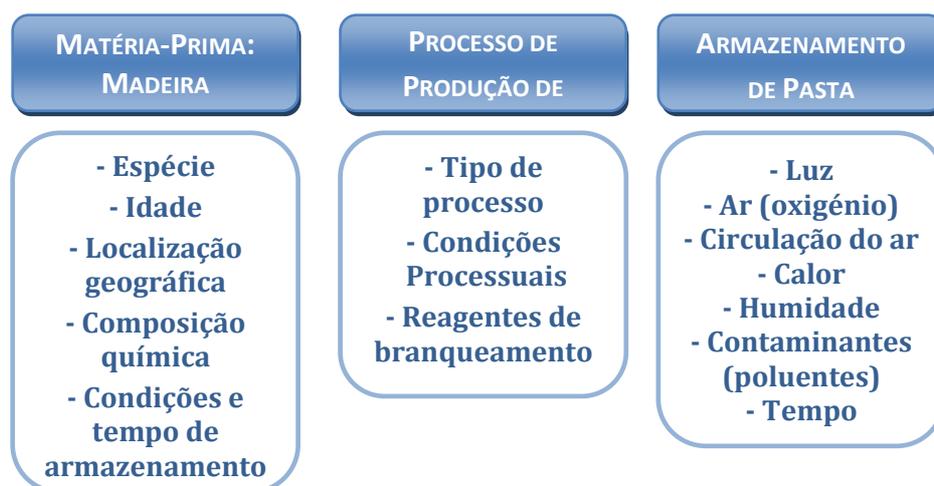


FIGURA 12: Fatores que influenciam a estabilidade de brancura.

As condições processuais, nomeadamente a influência da temperatura de um estágio de branqueamento, têm vindo a ser alvo de estudo por vários autores, por forma a contrabalançar o maior ganho de brancura (e menor reversão) com os custos associados a este melhoramento. No que respeita a esta temática, Sêco (2006) refere que um aumento de temperatura no estágio final de uma sequência DEDD de 65°C para 75°C se traduz numa diminuição na reversão. Em contrapartida, um maior aumento de temperatura até 85°C já provoca efeitos indesejados, uma vez que a reversão da pasta final aumenta.

Na prática, a reversão de brancura é expressa pelo *Post Color number*, vulgarmente designado por *PC number*, conceito sugerido pela primeira vez em 1945 por Giertz [Dence & Reeve, 1996] e cuja expressão matemática é traduzida pela seguinte Equação:

$$P.C. number = 100 \times \left\{ \left(\frac{k}{s} \right)_{\text{Depois reversão}} - \left(\frac{k}{s} \right)_{\text{Antes reversão}} \right\} \quad \text{EQUAÇÃO 4}$$

Nesta equação k/s é dado pela equação de Kubelka-Munk:

$$\frac{k}{s} = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} \quad \text{EQUAÇÃO 5}$$

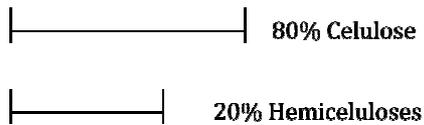
onde, k é o coeficiente de absorção (proporcional à concentração de cromóforos), s é o coeficiente de dispersão e R_{∞} representa a refletância ($\lambda = 475\text{nm}$) de uma folha opaca [Dence & Reeve, 1996].

Para tal, mede-se a brancura num conjunto de folhas sobrepostas (macete de folhas) a fim de conferir a opacidade necessária à medição. Esta determinação assenta no pressuposto de que se a dispersão se mantiver constante durante o amarelecimento (quer por via térmica, quer por luz) k/s pode ser encarado como uma medida dos cromóforos produzidos na pasta, sendo o *PC number* diretamente proporcional a esta quantidade formada [Dence & Reeve, 1996; Sixta, 2006]. Por conseguinte, quanto maior a quantidade de cromóforos formados, menor será a brancura da pasta. Em termos práticos, é desejável que o *PC number* tome um valor baixo, uma vez que corresponderá a uma maior estabilidade de brancura (menor reversão).

4.2 VISCOSIDADE INTRÍNSECA

Este parâmetro de caracterização é especialmente importante na medida em que permite avaliar a qualidade da pasta através do grau de polimerização dos polissacarídeos constituintes, designadamente da celulose (por ser este o polímero de maior peso molecular e o mais abundante). Por este motivo, pode afirmar-se que o valor da viscosidade intrínseca é principalmente afetado pelo comprimento médio das cadeias de celulose [Dence & Reeve, 1996]. Lembra-se a importância da preservação dos polissacarídeos dado que a sua degradação até um nível crítico pode comprometer propriedades importantes como a resistência físico-mecânica que as fibras da pasta irão conferir ao produto final. A viscosidade intrínseca permite assim avaliar as potencialidades papeleiras da pasta [Carvalho, 1999; Dence & Reeve, 1996; Emsley & Heywood, 1997]. A sua variação com a remoção da lenhina e com o branqueamento permite avaliar a seletividade destes processos. É necessário, contudo, ter em atenção que o enriquecimento da fração de celulose na pasta, como consequência p.e. de uma diminuição do teor de hemiceluloses, poderá traduzir-se num aumento de viscosidade (dado que a média ponderada do comprimento dos polímeros dissolvidos aumenta), não reproduzindo este aumento um maior grau de polimerização da celulose (Figura 13, caso 2) [Senior *et al.*, 1992].

CASO 1: Antes do tratamento enzimático



CASO 2: Depois do tratamento enzimático

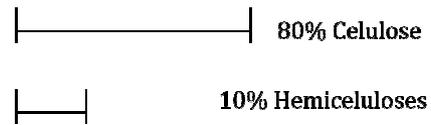


FIGURA 13: Ilustração do aumento da viscosidade.

Recorrendo às normas SCAN-CM 15 ou ISO 5351, a viscosidade intrínseca de uma solução de fibras de pasta é determinada a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ através da comparação entre o tempo de escoamento por um tubo capilar de um dado volume de solução, e o tempo de escoamento do solvente puro utilizado para dissolver a celulose, sendo conhecida a concentração de fibra.

5. BRANQUEAMENTO DE PASTAS KRAFT

A etapa de branqueamento caracteriza-se por ser um processo químico que se aplica a materiais celulósicos com o objetivo de obter uma brancura adequada às exigências do mercado, aumentando a sua capacidade de aceitação de tinta, quer impressa, quer escrita.

Tal como qualquer outra etapa, também o branqueamento é influenciado por diversas variáveis que afetam a eficiência do processo. Por conseguinte, há que ter em conta variáveis como a temperatura a que vai estar sujeita a mistura (pasta + reagentes), o pH, o tempo de retenção e a carga de branqueador a aplicar. As condições ótimas são determinadas de acordo com o tipo de pasta e os objetivos e aplicações que se pretende para o produto final. A temperatura é o parâmetro que controla a extensão e a velocidade da reação. No entanto, é necessário ter em consideração que o seu aumento se reflete num maior custo energético, o que pode não ser vantajoso. O pH também afeta as reações de branqueamento e pode ser ajustado pela adição de bases, por exemplo, NaOH para reações em meio básico e HCl ou H₂SO₄ para branqueamentos em meio ácido.

Os agentes branqueadores removem ou modificam componentes responsáveis pela coloração da pasta, nomeadamente a lenhina e os seus produtos degradados, os ácidos hexenurónicos, os extrativos e iões metálicos. Para além do mais, o branqueamento permite eliminar partículas indesejadas que contaminam as fibras de celulose. A pasta é sujeita a reações complexas onde o seu progresso pode ser avaliado pela determinação de parâmetros como o teor de lenhina, a brancura e até a concentração residual dos químicos aplicados [Dence & Reeve, 1996; Costa *et al.*, 2003]. Além de se promover a brancura, com a remoção da lenhina consegue-se melhorar uma das principais propriedades valorizadas, a estabilidade da brancura final do produto. Na prática, os reagentes químicos branqueadores são aplicados de forma intercalada com estágios de lavagem, uma vez que não é possível promover uma remoção ou descoloração suficiente da lenhina em apenas um só estágio (Figura 14).



FIGURA 14: Exemplificação da evolução da cor da pasta ao longo de uma sequência de branqueamento.

Estes compostos são introduzidos na pasta, sendo a mistura sujeita a pH, temperatura e concentração de branqueador específica durante um período de tempo adequado que pode ir desde alguns minutos até algumas horas. Durante este tempo, é expectável que a lenhina residual do cozimento fragmente por oxidação a fim de baixar ainda mais o seu peso molecular para tornar, então, possível a sua dissolução. O mesmo se constata para os extratáveis pretendendo-se, simultaneamente, que a celulose e as hemiceluloses se mantenham inalteradas. A preservação destes dois componentes, com enfoque especial da celulose é de primordial importância na medida em que a sua degradação contribui para uma perda efetiva das propriedades de resistência da folha de papel, tal como induz uma diminuição do rendimento da pasta. Já as hemiceluloses apresentam-se vantajosas para a refinabilidade da pasta, e a sua degradação contribui também para a perda de rendimento.

Nesta fase processual deve investir-se, desenvolver e inovar tendo em vista a otimização processual, a qualidade do produto acabado e o melhoramento de aspetos a respeitar, cuidar e diminuir (como é o caso do impacte ambiental). Tendo em conta estas considerações, a indústria da celulose tem notoriamente evoluído no que se refere à utilização de produtos químicos com menor impacte ambiental no processo de branqueamento.

Muitos são os compostos que podem ser aplicados nesta etapa, podendo destacar-se enquanto bons branqueadores compostos oxidantes como o cloro elementar (Cl_2), o dióxido de cloro (ClO_2), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o oxigénio (O_2) e o ozono (O_3); compostos redutores como o hidrossulfito (ou ditonito) e compostos alcalinos como o hidróxido de sódio. Para a escolha do agente branqueador deve ter-se em consideração parâmetros como o custo, a eficiência de branqueamento, a estabilidade, a disponibilidade, a facilidade de manuseamento e a sua seletividade, o rendimento de branqueamento que proporciona e o impacte ambiental como o consumo de água que pressupõe, o efluente gerado e seu tratamento [Dence & Reeve, 1996; Colodette *et al.*]. Na Tabela 4 encontram-se os compostos mais aplicados num processo de branqueamento, as respetivas funções, vantagens e desvantagens.

TABELA 4: Funções, vantagens e desvantagens de agentes de branqueamento mais utilizados [adaptado de Dence & Reeve, 1996].

REAGENTES (DESIGNAÇÃO DO ESTÁGIO)	FUNÇÃO	VANTAGENS	DESVANTAGENS
OXIDANTES			
Cloro (C)	Oxidar e clorar a lenhina	Deslenhificação eficaz e económica	Formação de AOX; altamente corrosivo
Hipoclorito (H)	Oxidar, descolorar e solubilizar a lenhina	Fácil preparação e uso; baixo custo	Perda de resistência da pasta
Dióxido de Cloro (D)	Oxidar, descolorar e solubilizar a lenhina	Elevada brancura sem degradação significativa da pasta	Deve ser preparado no local; caro; altamente corrosivo; formação de AOX
Oxigénio (O)	Oxidar e solubilizar a lenhina	Baixo custo	Perda de resistência da pasta se usado na presença de metais de transição
Peróxido de Hidrogénio (P)	Oxidar e descolorar a lenhina	Fácil de usar; baixo custo capital	Caro; Origina perda de resistência da pasta se usado na presença de metais de transição
Ozono (Z)	Oxidar, descolorar e solubilizar a lenhina	Eficiência	Caro; não seletivo, provocando elevada degradação da pasta
REDUTORES			
Hidrosulfito (Y)	Reduzir e descolorar a lenhina em pastas de elevado rendimento	Fácil de usar; baixo custo capital	Decompõe-se rapidamente; ganho de brancura limitada
ENZIMAS			
Xilanase (X)	Catalisar a hidrólise das xilanas e ajudar na remoção de lenhina	Fácil de usar; baixo custo capital	Eficiência limitada; custo
ALCALINOS			
Hidróxido de Sódio (E)	Hidrolisar e solubilizar a lenhina degradada	Eficiência e economia	Escurece a pasta
QUELANTES			
EDTA ou DTPA (Q)	Remover iões metálicos	Aumenta a seletividade e a eficiência do peróxido	Custo, não biodegradável

Nos primórdios desta indústria utilizava-se como agente de branqueamento o Cl_2 por possuir um elevado poder branqueador capaz de descolorar a lenhina. No entanto, origina efluentes altamente nocivos contendo compostos organoclorados e dioxinas, para além de ser um componente tóxico e bioacumulável [Damiano e Silva, 2003]. Por acarretar todas estas desvantagens, o cloro elementar passou a ser substituído pelo dióxido de cloro (ClO_2) que é extremamente eficiente na descoloração da lenhina, o que permite atingir uma elevada brancura sem degradar excessivamente a pasta. Assim se consegue aliar o bom poder branqueador com a produção de efluentes menos nefastos

para o ambiente [Dence & Reeve, 1996]. Com este desenvolvimento, há uma diminuição do consumo de reagentes à base de cloro e surge uma nova sequência de branqueamento sem cloro elementar (ECF - *Elemental Chlorine Free*) [Carvalho *et al.*, 2008, Thakur *et al.*, 2012].

Apesar dos efluentes provenientes do uso de dióxido de cloro se apresentarem menos prejudiciais para o ambiente constatou-se que não deixavam de constituir uma potencial fonte de dioxinas [Damiano e Silva, 2003; Dence & Reeve, 1996]. Para combater esta desvantagem emergem os compostos à base de oxigénio: oxigénio elementar (O_2), peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e ozono (O_3), que reduzem significativamente a presença de compostos organoclorados nos efluentes [Valls & Roncero, 2009]. Assim, evoluiu-se para uma nova técnica de branqueamento de pasta totalmente isenta de cloro: TCF - *Total Chlorine Free*.

Contudo, os agentes branqueadores à base de oxigénio não são tão seletivos relativamente aos compostos clorados, o que se reflete em pastas TCF de menor brancura e com maior degradação da celulose, com uma inerente diminuição da resistência da pasta. Por este motivo, muitos estudos têm sido realizados para avaliar a eficiência destes compostos, incluindo processos de pré-tratamento no processo (estágios ácidos, quelantes e biológicos) ou aditivos no branqueamento para colmatar esta desvantagem. Neste seguimento, inúmeros países, incluindo Portugal, continuam a adotar a tecnologia ECF dado que os custos de produção são inferiores e a qualidade da pasta superior, nomeadamente no que respeita à viscosidade (mais elevada) [Carvalho *et al.*, 2008].

Neste trabalho, serão abordados os branqueamentos com peróxido de hidrogénio e com dióxido de cloro enquanto agentes branqueadores alternativos no final de uma sequência do tipo ECF. Como foi dito acima, o branqueamento ECF à base de dióxido de cloro é a tecnologia mais utilizada, podendo a sequência ter também agentes à base de oxigénio de forma a reduzir o consumo de dióxido de cloro nas designadas sequências ECF-light. No seguimento de estudos anteriores, que revelaram uma redução no consumo de agentes branqueadores e um aumento da brancura final através da aplicação de um tratamento enzimático com xilanases, também se irá abordar este tema.

5.1 BRANQUEAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO

O peróxido de hidrogénio (vulgarmente conhecido como água oxigenada) caracteriza-se por ser um líquido incolor e miscível em água com elevado poder oxidante. É necessário ter cuidado na sua manipulação já que, consoante a sua concentração, pode originar irritações e queimaduras ao nível da pele, olhos e membranas mucosas [Dence & Reeve, 1996]. Este reagente pode ser armazenado por um longo período de tempo em tanques de aço inoxidável, em meio ácido e sem contaminantes. Todavia, pequenas alterações destas condições (por exemplo: contaminação metálica, compostos orgânicos e

redutores) condicionam a estabilidade do H_2O_2 levando à sua decomposição com consequente diminuição do poder branqueador. A sua decomposição é exotérmica e acompanhada pela formação de oxigénio gasoso com consequente aumento da pressão, o que requer especial atenção quando tal acontece em sistemas fechados.

O controlo de metais, a remoção dos ácidos hexenurónicos e de impurezas das pastas favorecem a estabilidade e a eficiência do H_2O_2 , podendo mesmo ser aplicado em estágios de branqueamento sob condições de pressão e de temperatura mais rigorosas [Siqueira e Filho]. A presença de metais, principalmente de transição e destes o manganês, constitui uma das maiores ameaças quanto à estabilidade do peróxido de hidrogénio, uma vez que atuam como catalisadores da reação de decomposição. Neste sentido, têm sido desenvolvidos estudos neste âmbito que incluem a adição de estabilizadores e a utilização de estágios ácidos ou estágios quelantes para a remoção de metais da pasta. No caso dos estabilizadores é comumente usado o magnésio (na forma de sulfato de magnésio) que, para além de impedir a decomposição do H_2O_2 , é bastante benéfico como agente “protetor” no que respeita à despolimerização da celulose. No caso de um estágio ácido, adiciona-se à pasta, por exemplo, ácido sulfúrico para baixar o pH ($pH < 3$), que permite a remoção dos metais embora de forma não seletiva. Por este motivo, torna-se fundamental, pelo que foi referido, a adição de magnésio à pasta no final da lavagem ácida. Para além de eliminar os metais da pasta, este tratamento leva à remoção de grupos de ácido hexenurónico da pasta, os quais consomem parte dos reagentes de branqueamento, como o dióxido de cloro ou o ozono [Henrique *et al.*, 2000]. Já o estágio quelante, mais seletivo que o anterior, implica a adição de compostos orgânicos complexantes solúveis em água, por exemplo o EDTA (ácido etilenodiaminatetraacético), capazes de formar estruturas em anel, onde incluem no seu interior o metal a remover.

Muitos estudos já comprovaram o bom desempenho do H_2O_2 que tem vindo a revelar-se um potencial substituto do cloro e seus derivados. As suas vantagens englobam a diminuição de AOX (halogenetos orgânicos adsorvíveis) e de CQO (carência química de oxigénio) no efluente, com preservação da resistência das fibras (elevada viscosidade) [Dence & Reeve, 1996; Henrique *et al.*, 2000; Siqueira e Filho]. Além disso, o efluente pode ser encaminhado para a caldeira de recuperação, ao contrário de efluentes de sequências com cloro que não podem ser queimados na caldeira de recuperação por causarem corrosão e até explosões. As principais razões da sua frequente aplicação como estágio final de branqueamento resultam da proveitosa contribuição para o ganho de brancura em pastas de elevada brancura ISO ($\geq 90\%$), sobretudo quando a brancura ISO antes do seu uso é superior a 87%, e a melhoria da estabilidade desta mesma propriedade. Esta premissa quanto à prestação do H_2O_2 no final de sequências com ClO_2 é defendida por diversos autores [Robitaille 1988, referido por Dence & Reeve 1996].

Para colmatar o seu menor poder branqueador relativamente ao dióxido de cloro o peróxido de hidrogénio é incluído em sequências ECF, tendo o benefício de se conseguir minorar os evidentes efeitos nefastos dos compostos clorados dos efluentes no ambiente

contemplando-se no branqueamento o melhor dos dois reagentes. O seu poder branqueador resulta da capacidade de reagir e oxidar grupos cromóforos presentes na lenhina que, sendo estruturas que absorvem luz, são responsáveis pela cor da pasta. Na realidade, o grupo reativo é o anião hidroperóxido (HOO^-), que é um nucleófilo forte que ataca as ligações $\text{C}=\text{C}$ e o grupo carbonilo da lenhina residual [Siqueira e Filho]. Durante a fase de branqueamento com H_2O_2 é inevitável a ocorrência de duas reações paralelas (Equações 6 e 7): enquanto uma leva ao aumento de brancura pela formação do anião HOO^- , a segunda reação, por sua vez, conduz à decomposição do H_2O_2 em H_2O e O_2 dada a sua forte instabilidade [Dence & Reeve, 1996; Yang, 1998].



Na Figura 15 encontra-se ilustrado as reações suscetíveis de ocorrer entre o anião hidroperóxido e a lenhina. A primeira reação, (a), exemplifica a degradação oxidativa de grupos quinona presentes na lenhina pelo anião HOO^- . Por sua vez, a segunda reação (b) pretende elucidar a oxidação de um grupo carbonilo, provocando a fragmentação da lenhina residual (grupo R).

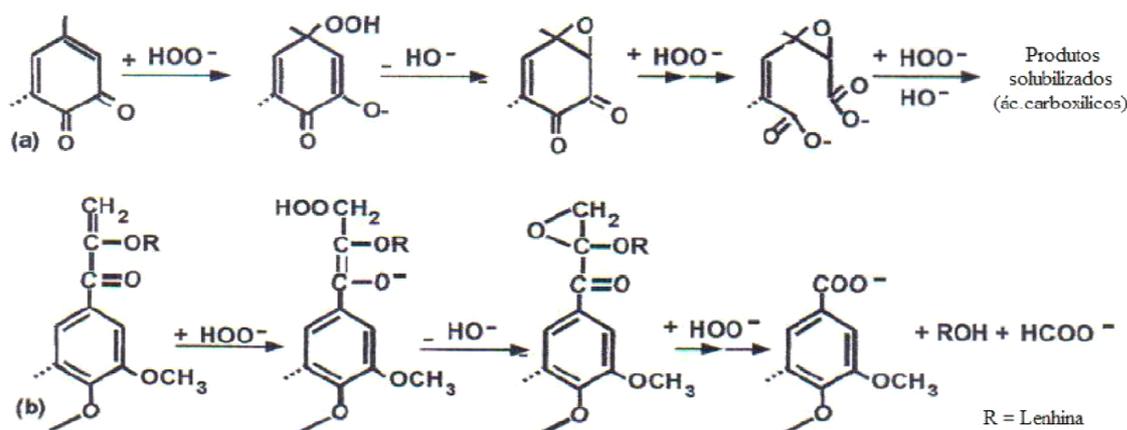


FIGURA 15: Reações despoletadas pelo anião HOO^- num branqueamento com peróxido de hidrogénio [Henrique *et al.*, 2000].

A formação do anião HOO^- é favorecida a pH superior a 10,5 [Stevens & Hsieh, 1997], pelo que o branqueamento com peróxido de hidrogénio se processa em condições alcalinas (p.e. adição de NaOH). Contudo, há que estabelecer uma carga alcalina ótima, de acordo com a carga de H_2O_2 que se pretende introduzir, de forma a obter o maior ganho de brancura final possível. Como se pode visualizar na Figura 16 para um pH inicial superior a 12 (condições de carga alcalina elevada) há um aumento da velocidade de decomposição do H_2O_2 que se traduz num maior consumo de reagente com conseqüente decréscimo acentuado da brancura final da pasta. Por outro lado, para baixa carga alcalina a velocidade de reação é baixa, não havendo ião OH^- suficiente para garantir que as reações sejam completas, comprometendo também a remoção da lenhina [Dence & Reeve, 1996; Stevens & Hsieh, 1997].

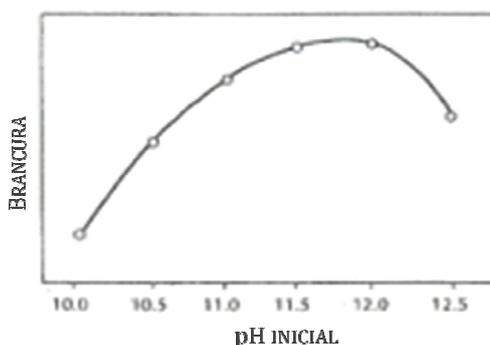
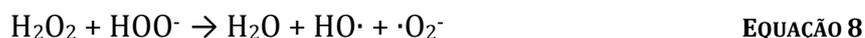


FIGURA 16: Efeito do pH inicial e a brancura final obtida num estágio com peróxido de hidrogénio [adaptado de Dence & Reeve, 1996].

Como se reconhece nas reações a seguir apresentadas (Equação 8 e 9), o anião HOO^- reage com o próprio H_2O_2 , originando radicais livres como o radical hidroxilo $\text{HO}\cdot$ e superóxido $\cdot\text{O}_2^-$.



Como consequência desta reação, verifica-se uma diminuição de H_2O_2 disponível para branquear [Colodette *et al.*, 1988; Lapierre *et al.*, 1995]. Além disso, se, por um lado, os radicais $\text{HO}\cdot$ participam positivamente na deslenhificação e no branqueamento da pasta (reagindo com as estruturas da lenhina, degradando-a em fragmentos solúveis), os radicais $\cdot\text{O}_2^-$, por outro lado, promovem a despolimerização da celulose, com a consequente redução da viscosidade da pasta comprometendo a sua resistência mecânica [Henrique *et al.*, 2000]. Como estes radicais são pouco seletivos, é essencial minimizar a decomposição do peróxido de hidrogénio podendo tal ser alcançado com a manipulação da temperatura, do pH e do teor de metais, especialmente os de transição.

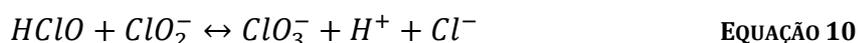
5.2 BRANQUEAMENTO COM DIÓXIDO DE CLORO

O dióxido de cloro é um gás verde-amarelado que cristaliza a -59°C . Apresenta-se como sendo muito tóxico e nocivo para o ambiente afetando os recursos hídricos, flora e fauna. Consoante a sua concentração pode originar irritações e queimaduras ao nível da pele, olhos e membranas mucosas. Pode também causar danos nos dentes e hemorragias nas mucosas da boca, tubo digestivo e estômago quando ingerido. Com pressão, este gás instável decompõe-se espontaneamente em cloro e oxigénio, por vezes acompanhado de explosão. Por este motivo, deve ser produzido na própria fábrica e guardado em solução aquosa com a concentração aproximadamente de 1% [Dence & Reeve, 1996]. Pode ser guardado desta forma estável a 5°C durante alguns meses verificando-se apenas pequenas alterações na sua concentração. Para minimizar a alteração de concentração o

recipiente de armazenamento deverá ter pouco espaço para conter gás ou dever-se-á induzir uma atmosfera inerte no seu interior.

Com elevado poder oxidante é amplamente aplicado na desinfecção de água e em branqueamento de pasta de celulose. Neste último campo, assumiu especial destaque quando passou a ser incorporado, na década de 80, em sequências de branqueamento como substituto do cloro elementar com forte redução de compostos clorados nos efluentes que, até então, constituíam uma grande problemática [Damiano e Silva, 2003]. O ClO_2 destaca-se pela sua seletividade, ou seja, pela sua capacidade de reagir preferencialmente com a lenhina e sem reagir de forma significativa com os hidratos de carbono.

Pela sua instabilidade, este oxidante degrada-se formando compostos clorados intermediários, antes de produzir o ião cloreto (Cl^-), com diferentes estados de oxidação como iões clorato, clorito, ácido hipocloroso e cloro. Das reações de oxidação da lenhina, o primeiro passo é constituído pela formação de iões clorito (ClO_2^-) que, por sua vez, reagem com a pasta dando origem a ácido hipocloroso (HClO) que, em parte, é convertido a Cl_2 por hidrólise. Estes dois compostos químicos intermediários reagem entre si gerando, como produto de reação, o ião clorato (ClO_3^-), de acordo com a Equação 10.



A formação do ião clorato constitui uma desvantagem na medida em que representa uma diminuição da eficiência de branqueamento do dióxido de cloro [Dence & Reeve, 1996]. O ácido hipocloroso também reage com a pasta para formar o ião cloreto, que não reage quando o pH é superior a 4, levando a uma perda de potencial branqueador. Assim, de todas as variáveis processuais, o pH é a que apresenta maior relevância para o processo de branqueamento com dióxido de cloro, uma vez que influencia a formação de clorato, a degradação da lenhina e a quantidade de compostos clorados (AOX). Se, por um lado, o pH for baixo, próximo de 2, maior é a presença de HClO e, conseqüentemente, maior a quantidade de Cl_2 que promove a despolimerização da lenhina. No entanto, como desvantagens potencia a presença de AOX no efluente. Ao invés, se o pH for superior a 4, não se observam reações de cloração o que indesejavelmente restringe a degradação da lenhina. Assim sendo, não se pode indicar apenas um valor ótimo de pH para este tipo de branqueamento. O que tem sido sugerido por vários autores é que, numa sequência do tipo DED, é aconselhável que o primeiro estágio de ClO_2 termine perto de pH 2,5 a 3 e que no segundo estágio se mantenha entre 3 e 4, por forma a conseguir-se uma otimização máxima desta etapa processual [Afonso, 2010; Carvalho, 1999; Dence & Reeve, 1996].

5.3 BRANQUEAMENTO COM XILANASES

A biotecnologia tem evoluído e dado o seu manifesto contributo neste setor de atividade com a introdução de enzimas capazes de tratar a pasta, por forma a obter-se um processo de branqueamento menos dispendioso, associado à redução dos reagentes à base de cloro e à melhoria de propriedades finais das pastas como é o caso da estabilidade da brancura. Esta evolução das sequências de branqueamento é bastante benéfica, na medida em que induz um menor impacte ambiental comparativamente a sequências que não incluam enzimas [Fillat *et al.*, 2012; Senior *et al.*, 1992; Valls & Roncero, 2009].

As enzimas são proteínas constituídas por longas cadeias de aminoácidos unidos covalentemente por uma ligação peptídica que, apesar de serem formadas no interior das células, podem atuar dentro ou fora destas. Em termos funcionais são catalisadores biológicos que, através da quebra ou da junção de outras moléculas, têm a função de gerar novos compostos. Estas moléculas são específicas nas reações que catalisam, dado que apresentam uma estrutura tridimensional que possibilita a ligação com o substrato, o que conduz à formação do produto pelo complexo enzima-substrato [Ko *et al.*, 2010]. A ligação ocorre no chamado centro ativo da enzima pelo mecanismo de “chave-fechadura” estando dependente de fatores como a estrutura da proteína, arranjo das cadeias peptídicas e natureza do substrato. Como exemplo, refere-se a quebra da ligação glicosídica na maltose, em que a maltase (enzima) se une à maltose (substrato) –(b)- para originar duas moléculas de glicose (mesmo que glucose) –(c) (Figura 17).

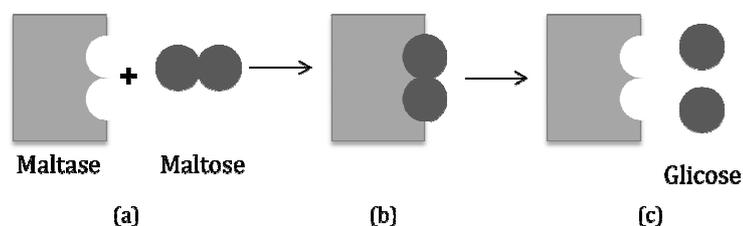


FIGURA 17: Exemplo de ligação da enzima ao substrato pelo modelo “chave-fechadura”.

A crescente motivação para a aplicação das enzimas advém das suas inúmeras características, bem como do grande leque ao dispor das indústrias, permitindo uma escolha adaptada ao método que se pretende ver desenvolvido. Assim, podem ser citadas vantagens tais como o facto de: serem produtos naturais biológicos, apresentarem um elevado grau de especificidade, serem eficientes por acelerarem a velocidade das reações que catalisam, reduzirem a energia de ativação necessária a essas reações, serem biodegradáveis (motivo pelo qual os efluentes podem ser reciclados como biofertilizante) e, ainda, não serem tóxicas. No que respeita à produção, as enzimas podem ser obtidas comercialmente por síntese microbiana, através de fungos, bactérias e algas.

A atividade enzimática máxima é conseguida em condições ótimas de operabilidade (específicas para cada enzima) e pode ser condicionada por diversas variáveis,

destacando-se o pH, a temperatura e o tempo de reação [Beg *et al.*, 2001]. A sensibilidade a estas condições depende do organismo do qual a enzima é proveniente [Hart & Sharp, 2005]. O pH influencia as variações do estado de ionização do centro ativo, uma vez que são compostos por grupos ionizáveis. Este efeito traduz-se negativamente na ligação da enzima ao substrato que, para que ocorra, é crucial que o centro ativo se encontre numa forma iónica adequada para que a sua configuração se mantenha inalterável. A temperatura mostra igualmente uma influência bastante forte sobre a atividade catalítica. Como na maioria das reações químicas, também a atividade catalítica depende da temperatura, observando-se que o seu aumento potencia a velocidade da reação. Porém, no que toca a enzimas, um valor demasiado elevado é prejudicial, pois conduz a dois efeitos: se por um lado a taxa de reação aumenta, por outro, a estabilidade da proteína diminui devido à sua desativação térmica com consequente perda de atividade biológica. O último efeito é resultado do excesso de absorção de energia que provoca o rompimento da estrutura terciária e com ele a desnaturação da molécula. Por estes motivos, é determinante para o sucesso do processo que se opere à temperatura ótima de atuação da enzima. Só desta forma se consegue garantir a atividade máxima, segundo a qual a enzima possui atividade constante.

As enzimas têm, cada vez mais, vindo a assumir-me como uma tecnologia promissora de peculiar importância na indústria papelreira (Tabela 5), no que toca ao processo de cozimento, mas em especial no processo de branqueamento. O tratamento das fibras por parte de complexos enzimáticos resulta na conveniente modificação das suas propriedades que se traduz num melhoramento papelreiro das pastas.

TABELA 5: Exemplos de aplicações das enzimas nas indústrias de pasta e do papel [Sousa, 2002].

ENZIMA	FUNÇÃO
Lacases	Deslenhificação
Peroxidasas	Deslenhificação, branqueamento
Lipases	Destintagem*, remoção de materiais resinosos
Hemicelulases	Modificação de fibras, drenabilidade, branqueamento, destintagem
Celulases	Modificação de fibras, drenabilidade, destintagem
Pectinases	Destintagem, descasque
Amilases	Impressão de tinta, drenabilidade

*Remoção da tinta na reciclagem de papel.

Os tipos de enzimas que se encontram disponíveis para a etapa de branqueamento, tema central deste trabalho, são as lenhinolíticas e as hemicelulolíticas. As primeiras a ser utilizadas no setor foram as lenhinolíticas, nomeadamente a lenhina peroxidase e a lacase, responsáveis pela degradação da lenhina. Ambas as enzimas atuam mais rapidamente na presença de um mediador, moléculas de baixo peso molecular, que ajudam as enzimas a atravessar a parede celular. Estas enzimas são oxidativas pelo que, naturalmente, provocam a oxidação de grupos fenólicos constituintes da lenhina. Apesar

do seu benefício, ainda não são usadas em larga escala em ambiente industrial, atendendo ao elevado custo do mediador.

Contudo, é na modificação das hemiceluloses pela aplicação de hemicelulases que mais se tem investigado, sendo as mais comuns as mananases e as xilanases. Como vantagens pode destacar-se: o baixo investimento para a implementação da etapa enzimática, a diminuição do custo de produção por redução do consumo de dióxido de cloro, a menor concentração de AOX no efluente, o aumento da brancura da pasta. Como desvantagens refira-se o seu efeito limitado (substituição de reagentes químicos utilizados no branqueamento não superior a 20%) e a sua ação não visível em alguns tipos de pasta.

Hemicelulases é o termo genérico atribuído às enzimas que hidrolisam as hemiceluloses. Apesar das hemiceluloses apresentarem uma estrutura complexa, não são capazes de formar agregados cristalinos, o que torna mais fácil e eficaz a acessibilidade das enzimas a este substrato [Saha, 2003]. As mananases são enzimas produzidas por várias espécies de fungos e bactérias capazes de hidrolisar as glucomananas. A nível da indústria papelreira e no que respeita à etapa de branqueamento, as xilanases são as enzimas mais aplicadas, por se mostrarem mais eficientes [Bajpai & Bajpai, 1997], tendo conseguido colmatar as desvantagens a nível comercial e ambiental dos processos químicos de branqueamento [Novozymes, 2010]. São proteínas catalíticas específicas que promovem a hidrólise das xilanas sem, supostamente, hidrolisarem a celulose, sendo as mais recorrentes em ambiente industrial as de origem bacteriana ou fúngica. Consoante a sua origem têm de ser aplicadas condições diferentes para se garantir a sua máxima atividade (Tabela 6).

TABELA 6: Gama de condições de operabilidade das xilanases [Oliveira, 2010].

ORIGEM	pH	TEMPERATURA (°C)
Bacteriana	5-8	50-90
Fúngica	3,5-6	40-60

A ação da xilanase sobre a pasta tem vindo a ser estudada tendo em conta dois mecanismos de atuação. No primeiro mecanismo, as xilanases quebram a ligação glicosídica da xilana numa zona em que esta se encontra ligada à lenhina destruindo os complexos lenhina-hidratos de carbono (LCC's) (Figura 18) Ao mesmo tempo, é facilitada a remoção da lignina por solubilização na fase líquida. A segunda provável explicação reside na possibilidade das xilanases hidrolisarem a xilana reprecipitada durante o cozimento na superfície das fibras [Bajpai & Bajpai, 1997; Shatalov & Pereira, 2009; Suurnäkki *et al.*, 1997]. Ambas as possibilidades aumentam o acesso à pasta por parte dos agentes de branqueamento, o que se traduz numa maior facilidade de extração da lenhina residual [Suurnäkki *et al.*, 1997]. Para além da ação dos dois mecanismos é, ainda, possível a remoção de grupos cromóforos presentes na pasta, o que explica tanto o aumento de brancura como a sua estabilidade.

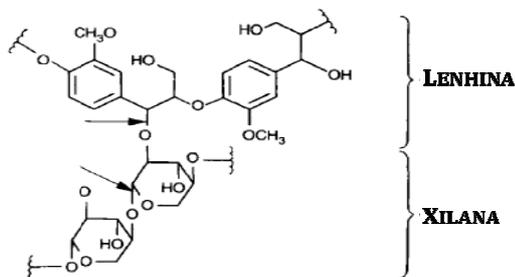


FIGURA 18: Complexo lenhina-hidratos de carbono [adaptado de Bajpai & Bajpai, 1997].

Na prática, as xilanases são responsáveis pelo aumento da porosidade da parede celular que permite um melhor acesso por parte dos agentes químicos de branqueamento. Simultaneamente a este aumento de permeabilidade ocorre uma maior difusão da lenhina para o exterior da fibra [Roncero *et al.*, 2000; Shatalov & Pereira, 2008] libertada durante a degradação das xilanas [Damiano & Silva, 2003]. Na Figura 19 pode ser visto a superfície homogênea de fibras que não foram submetidas a tratamento enzimático (a) e a superfície alterada de fibras após a aplicação das enzimas (b).

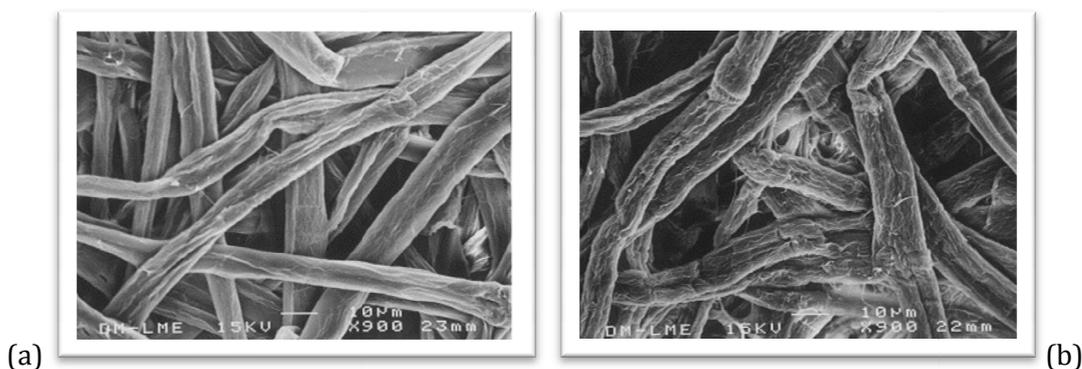


FIGURA 19: Imagem obtida por SEM⁵ da superfície da fibra de pasta kraft de *E. globulus* antes (a) e depois de tratada com enzima (b) [Roncero *et al.*, 2000].

Todas as alterações na fibra provocadas pelas xilanases permitem obter dois tipos de branqueamento: o branqueamento direto visível logo após o tratamento enzimático e o denominado *bleach boosting* que consiste num aumento de branqueamento no final de toda a sequência de branqueamento adotada.

Tomemos como exemplo o estudo de Wong *et al.* (1997) no qual foi conseguido um ganho de 0,3% e de 0,8% ISO com duas xilanases diferentes imediatamente após o tratamento enzimático com ganhos de brancura total final de 1,2% ISO relativamente à pasta inicial. Segundo os autores, o branqueamento direto é atribuído à remoção direta da lenhina que é conseguida com o tratamento enzimático, enquanto o *bleach boosting* é consequência da subsequente remoção da lenhina. Neste último efeito, a contribuição

⁵ Microscopia Eletrônica de Varrimento: “incidência de um feixe de elétrons num ponto da superfície da amostra-alvo, e a subsequente recolha dos sinais eletrónicos emitidos pelo material-alvo. As amostras são percorridas sequencialmente por um feixe de elétrons acelerado por uma tensão que varia entre 0 e 40KV, finamente focado através de um sistema de lentes eletromagnéticas” [URL 2]

das xinalases prende-se com o facto de estas proporcionarem uma maior e mais fácil acessibilidade dos agentes de branqueamento às fibras.

Os HexA têm sido alvo de estudo devido à sua capacidade de afetar negativamente os estágios de branqueamento, bem como as propriedades das pastas branqueadas, dificultando o ganho de brancura e aumentando a reversão de brancura. Neste aspeto, as xilanasas dão o seu positivo contributo ao removerem, durante a sua ação, HexA presentes na pasta, formados na etapa de cozimento. É por este motivo que, no final de um estágio enzimático, se observa o branqueamento direto [Shatalov & Pereira, 2009].

A comparação de enzimas exige o conhecimento das suas origens (bacteriana ou fúngica), a sua constituição e, ainda, as suas atividades. O segundo requisito é de especial importância dado que a enzima pode ser comercializada pura (constituída por apenas um tipo de enzima), ou como uma mistura enzimática.

Na verdade, para se promover a biodegradação da xilana é necessário aplicar uma panóplia de enzimas que, conjuntamente, são responsáveis por uma quebra completa, dada a atuação em diferentes sítios da cadeia da xilana (Figura 20).

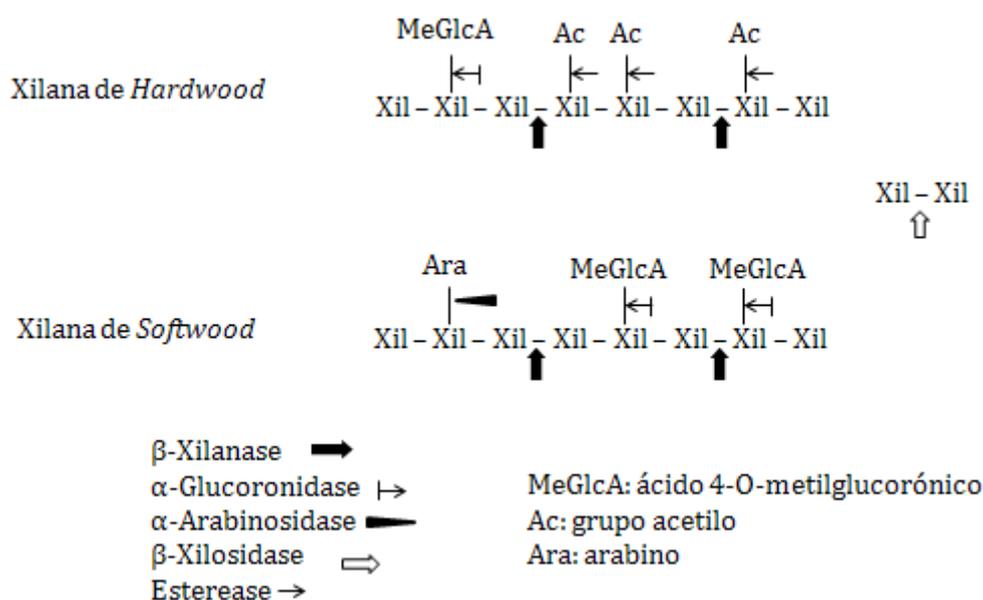


FIGURA 20: Degradação enzimática da xilana [adaptado de Suurnäkki *et al.*, 1997].

As enzimas hidrolíticas compreendem a β-1,4-endoxilanasase que ataca a cadeia principal da xilana, hidrolisando as ligações internas principais; a exo-xilanasase que hidrolisa a xilose do terminal não redutor da xilana; a β-xilosidase que forma xilose a partir da xilobiose e de xilo-oligossacarídeos de cadeia curta; a α-glucuronidase que hidrolisa as ligações (4-O-metil)glucuronosil no meio da cadeia das xilanas de *hardwood*, existindo ainda a α-L-arabinofuranosidase e a acetil esterease necessárias para a quebra de outras ligações da cadeia [Dhiman *et al.*, 2008; Saha, 2003]. Só com a ação conjunta de um conjunto de enzimas com diferente especificidade e modo de atuação se consegue converter totalmente a molécula de xilana [Wong *et al.*, 1988]. Apesar disto, as enzimas mais aplicadas na indústria são apenas as endoxilanasases por conseguirem, por si só, quebrar e retirar o mais importante da xilana.

A atividade enzimática pode ser expressa em várias unidades. Uma das possibilidades é TXU (unidade de xilanase termoestável) que traduz a quantidade de enzima que produz açúcares redutores com um poder redutor correspondente a uma nanomole de xilose, a partir de xilana de bétula, num segundo, em condições de ensaio. Uma outra unidade é a AXU que equivale à quantidade de enzima, sob condições padrão (pH=9; T=50°C; tempo de incubação=30min), que liberta uma quantidade definida de corante a partir de xilana tingida [Shatalov & Pereira, 2008]. Por fim, indica-se a IU (unidade internacional) que corresponde à quantidade de enzima que catalisa a formação de um micro mole de xilose por minuto a partir de uma solução que contém xilana [Senior *et al.*, 1992; Thakur *et al.*, 2012]. Este parâmetro pode ser, na prática, designado apenas por XU (unidade de xilanase) ou simplesmente por U (unidade), sendo geralmente dado a conhecer pelo fornecedor. Para a sua determinação recorre-se a um substrato de modo a promover a sua degradação por parte da xilanase cuja atividade se pretende conhecer. Muitas são as opções de xilana disponíveis no mercado: xilana de *birch wood*, *beech wood*, *larch wood*, *oat selpt*, *rye* arabinóxilana e *wheat* arabinóxilana [Ghatora *et al.*, 2006]. Desta forma, é de extrema importância o conhecimento do substrato usado, uma vez que a xilanase exhibe diferentes atividades consoante a xilana escolhida.

A maioria dos estudos desenvolvidos foca-se na aplicação deste tipo de enzimas como tratamento inicial (antes a sequência de branqueamento) que, de acordo com Li *et al.* (2011), torna as fibras mais acessíveis aos agentes de branqueamento. Neste âmbito, as enzimas também aumentam a dificuldade de refinação devido à remoção de hemiceluloses (mais propriamente de fragmentos de xilana), que facilitam esta etapa [Roncero *et al.*, 2005]. É por este decréscimo que o processo é, comumente, acompanhado por um aumento da viscosidade intrínseca (explicação anteriormente descrita no ponto 5.2) [Senior *et al.*, 1992].

Os estudos desenvolvidos por Vicuña *et al.* (1997) e Colodette *et al.* revelam ambos que em sequências XDED (em que X representa o tratamento enzimático) há um menor consumo, tanto de dióxido de cloro como de peróxido de hidrogénio, nos estágios de branqueamento subsequentes com produção da mesma brancura.

A nível dos efluentes gerados, a sua qualidade melhora substancialmente (menos AOX), apesar do aumento da CQO resultado da hidrólise das hemiceluloses com quebra das cadeias de xilana. Por este motivo é que se consegue a remoção de compostos cromóforos ligados a estas cadeias como a lenhina e os ácidos hexenurónicos [Roncero *et al.* 2005].

Apesar de ainda serem escassos os estudos da inclusão do tratamento enzimático nos últimos estágios da sequência de branqueamento, já há alguns que permitem retirar algum tipo de conclusões. É por este motivo que o presente trabalho pretende aumentar e completar o conhecimento, dando o seu positivo contributo no desenvolvimento deste tema. Segundo Ko *et al.* (2010), no final do branqueamento, o efeito da enzima pode não ser tão perceptível por ser disfarçado pelos outros agentes de branqueamento. Já no trabalho de Simeonova *et al.* (2007) está patente o estudo da influência deste

tratamento no final da sequência, no que respeita ao aumento da estabilidade da brancura. Neste foi concluído que houve uma degradação dos HexA e efetivamente uma redução do amarelecimento da pasta. Os efeitos no amarelecimento aumentaram visivelmente até uma carga de 1U/g de pasta seca ao ar (uma unidade de xilanase por grama de pasta seca ao ar), mas cargas superiores não acrescentaram um efeito adicional a esta propriedade. Apesar dos efeitos benéficos, o tratamento enzimático não proporcionou, como desejável, uma hidrólise limitada da xilana, com consequência no rendimento e nas propriedades finais do papel, nomeadamente, a sua resistência. Uma das desvantagens apresentadas neste estudo Simeonova *et al.* (2007) resulta da não remoção, como seria expectável, da xilana precipitada sobre a fibra, o que dificultou a atuação dos agentes de branqueamento no último estágio.

Na Tabela 7, encontram-se resumidas as condições aplicadas segundo vários autores cujo estudo se centrou no tratamento enzimático.

TABELA 7: Condições de tratamento enzimático estudadas.

ORDEM	FONTE	ENZIMA FORNECEDOR	CARGA DE XILANASE	CONDIÇÕES OPERAÇÃO	SEQUÊNCIA ESTUDADA	MATÉRIA-PRIMA RESULTADOS
TRATAMENTO INICIAL	Shatalov & Pereira (2008)	Ecopulp® TX-200A de AB Enzymes	76 U/g pasta <i>odp</i>	T=65°C pH=7 t=180 min	XQP XQPP XQPPP	<i>Eucalyptus globulus</i> - Branqueamento direto de 1,5 e 1,2% para Ecopulp® TX-200A e Pulpzyme® HC, respetivamente após o tratamento enzimático. - Ganho de brancura de 1,4 e 1,2% para Ecopulp® TX-200A e Pulpzyme® HC, respetivamente no final da sequência completa de branqueamento.
		Pulpzyme® HC de Novozymes	1 U/g pasta	T=60°C pH=7 t=180 min		
	Colodette <i>et al.</i>	Codificada como: Xyl A	0,3 kg/t pasta <i>ad</i>	T=60°C pH=7 t=120 min	XDE _P D	<i>Eucalyptus</i> - Poupança de 4 ClO ₂ kg/t de pasta <i>ad</i> para brancura de 90% ISO
		Codificada como: Xxl B	0,2 kg/t pasta <i>ad</i>			
	Vicuña <i>et al.</i> (1997)	Pulpzyme® HC de Novo Nordisk	0,5 U/g pasta	T=55°C pH=8 t=120 min	XDED	<i>Eucalyptus globulus</i> (Pulpzyme® HC e Cartazyme NS-10) <i>Eucalyptus nitens</i> (Pulpzyme® HC e Ecopulp) - Para uma brancura de 90% ISO: poupança de ClO ₂ entre 12 e 14% para Pulpzyme® HC; 40% para Cartazyme NS-10 e 28% para Ecopulp.
		Cartazyme NS-10 de Clariant	0,5 mg/g pasta			
Ecopulp de ICI		5 U/g pasta	T=55°C pH=6 t=120 min			
TRATAMENTO NO FINAL DA SEQUÊNCIA	Simeonova <i>et al.</i> (2007)	Ecopulp® TX-100 de AB Primalco Ltd	4 kg/t pasta <i>ad</i>	T=60°C pH=7 t=120 min	OD(E _{OP})DX	Bétula - Máximo efeito das enzimas para uma carga de 1 U/g pasta <i>ad</i> - Ambas as enzimas provocaram uma aumento da estabilidade da brancura
		Pulpzyme® HC de Novozymes				

LEGENDA: *odp* (*oven dry pulp*) – pasta absolutamente seca; Q - estágio quelante; *ad* (*air dried*) – amostra seca ao ar; O - oxigénio; P - peróxido de hidrogénio; D - dióxido de cloro; E – extração.

Embora uma das características das enzimas seja o elevado grau de especificidade, a xinalase pode também possuir atividade celulolítica, independentemente da ordem de aplicação do branqueamento enzimático. Neste caso, a celulose degrada-se [Dhiman *et al.*, 2008] traduzindo-se, esta quebra, numa diminuição da viscosidade (consequência da redução do comprimento médio da cadeia de celulose).

Em jeito de resumo, podem ser indicadas as vantagens e desvantagens deste tratamento enzimático na indústria papeleira [Atik *et al.*, 2006; Bajpai & Bajpai, 1997; Beg *et al.*, 2001; Damiano & Silva, 2003; Hart & Sharp, 2005; Kulkarni *et al.*, 1999; Senior *et al.*, 1992; Shatalov & Pereira, 2008; Shatalov & Pereira, 2009; Suurnäkki *et al.*, 1997; Thakur *et al.*, 2012]:

VANTAGENS:

- Grande especificidade para a xilana;
- Elevada termoestabilidade;
- Aumento da deslenhificação que acarreta um menor uso de reagentes de branqueamento (menor custo com o branqueamento);
- Baixo investimento de capital para a sua aplicação;
- Redução da concentração de AOX nos efluentes;
- Aumento da brancura final da pasta;
- Processo fácil de combinar com outras sequências de branqueamento ECF e TCF.

DESVANTAGENS:

- Possibilidade de perda de rendimento;
- Perda de resistência à tração da pasta;
- Ajuste do pH do processo;
- Aumento da carga orgânica (CQO) nos efluentes.

PARTE II

6. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

6.1 Planeamento Experimental

6.2 Caraterização da Pasta DED

6.3 Descrição Experimental dos Ensaios com a Pasta DED

6.3.1 Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio

6.3.2 Branqueamento com Dióxido de Cloro

6.3.3 Tratamento com Xilanases

6.4 Caraterização Final das Pastas

6.4.1 Brancura ISO

6.4.2 Reversão de Brancura ISO

6.4.3 Viscosidade Intrínseca

6. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

O trabalho desenvolvido compreendeu, de forma sucinta, as seguintes etapas:

- Determinação da atividade de cada solução enzimática. Todas as amostras foram recebidas na forma líquida, denominadas neste trabalho EN2, EN3, EN4 e EN5.
- Averiguar as melhores condições operatórias do tratamento da pasta DED com enzimas (DEDX) que compreendeu o estudo do efeito do tempo, da dosagem de enzima, do pH e da temperatura. Foram usadas pastas DED recolhidas na fábrica em duas alturas diferentes, tendo sido designadas DED1 e DED2.
- Medição da brancura, bem como da reversão de brancura de folhas de pasta DEDX para comparação com a brancura de folhas de pasta inicial, sem tratamento com enzima, DED.
- Produção de pasta tratada com enzima, nas melhores condições de atividade, em quantidade suficiente para branqueamentos posteriores com H_2O_2 e ClO_2 – obtenção de pastas DEDXP e DEDXD.
- Construção de curvas de branqueamento com peróxido de hidrogénio e dióxido de cloro (pastas DEDP e DEDD) para efeitos de comparação com pastas tratadas com enzimas.
- Avaliação da poupança da quantidade de reagente de branqueamento em pastas previamente tratadas com enzimas, tendo como objetivo a mesma brancura final nas pastas DEDXP e DEDXD.
- Medição da brancura e sua reversão e determinação da viscosidade de todas as pastas.
- Seleção das condições de ensaio mais vantajosas que otimizam o processo de branqueamento da pasta em sequências que incluam enzimas, peróxido de hidrogénio e dióxido de cloro.

NOTA: Sempre que, por uma forma mais prática, for indicado o termo enzima deve ter-se em conta que se trata de uma solução enzimática e não de enzima pura. Nesta tese, trabalhou-se com a solução enzimática por ser assim disponibilizada pelo fornecedor sendo também aplicada da mesma forma no meio industrial.

Para uma melhor visualização e entendimento dos conteúdos a seguir desenvolvidos apresenta-se, de forma esquemática, o trabalho realizado (Figura 21).

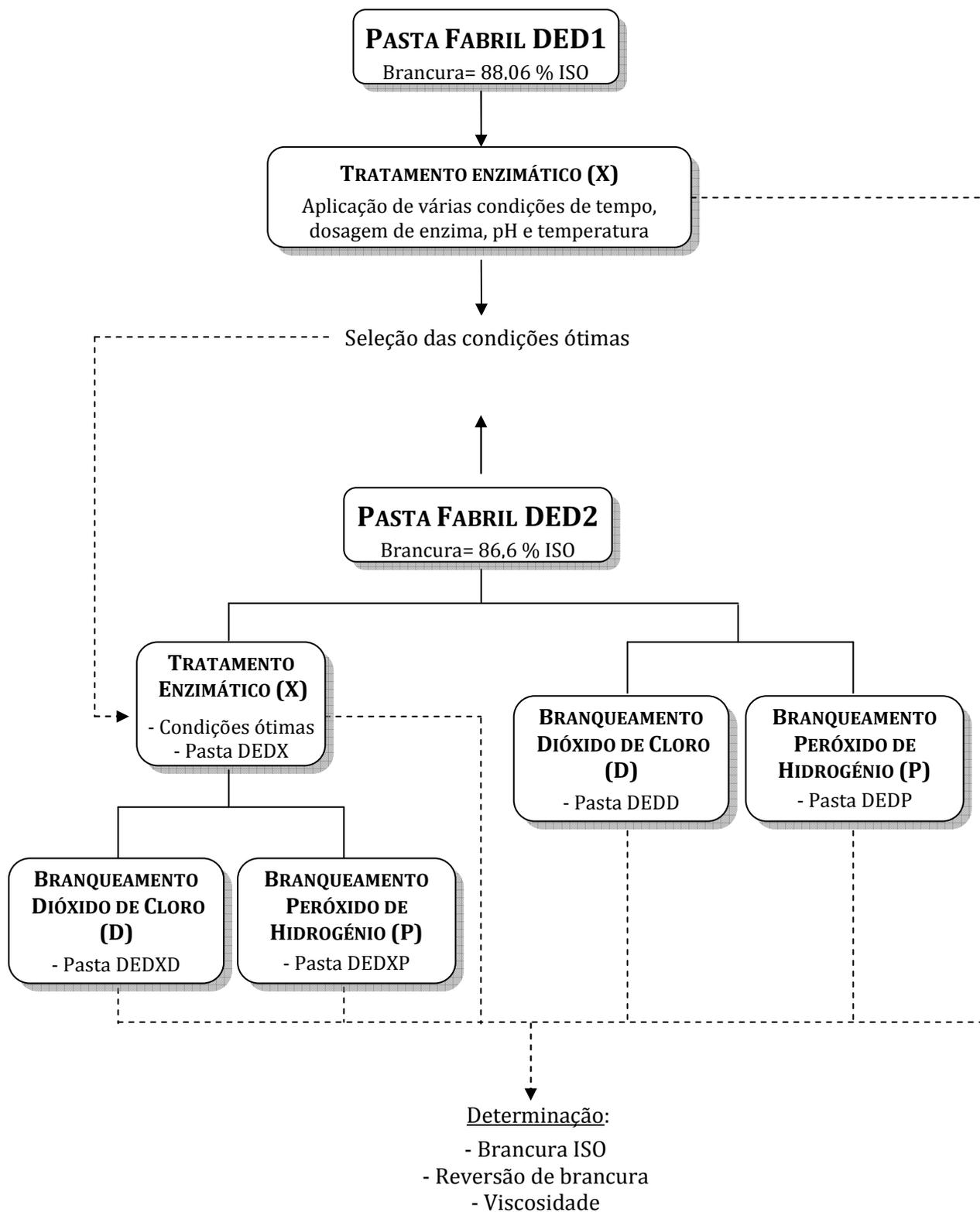


FIGURA 21: Representação esquemática do trabalho laboratorial desenvolvido.

6.1 PLANEAMENTO EXPERIMENTAL

De forma a evitar um número elevado de ensaios (que se traduz numa investigação morosa), para a avaliação do comportamento e interligação de variáveis, seguiu-se um planeamento estatístico de experiências do tipo fatorial 2^k . Esta metodologia, ideal para estágios iniciais de trabalhos experimentais onde a informação ainda é escassa, recorre a uma matriz de condições experimentais para definir ensaios capazes de fornecer informação relativa à influência que variáveis de entrada podem conferir ao processo. Tal é conseguido com o estudo das repercussões que perturbações do *input* podem ter nas respostas das variáveis de saída (ou variáveis resposta). Com esta metodologia é possível identificar quais as variáveis mais importantes, bem como a melhor combinação possível dos parâmetros para a otimização do processo [Montgomery, 2009; Box *et al.*, 2005]. No *design* fatorial de dois níveis, 2^k , a base corresponde ao número de níveis da variável a estudar que pode ser quantitativo, por exemplo dois valores de temperatura ou qualitativo, por exemplo duas máquinas ou dois operadores. O expoente k representa o número de variáveis a estudar.

Reportando para o tratamento com enzimas, tem-se sempre três variáveis de entrada ($k=3$) a serem manipuladas (o pH, a dosagem de enzima e a temperatura, genericamente designadas por A, B e C), pelo que se fica com $2^3=8$ ensaios a realizar, aos quais se associa a repetição (3 vezes) de um ponto central. Cada uma das variáveis assume um nível baixo (-1) e um nível alto (+1), sendo comparadas com ponto central (0). Neste método surge a necessidade de contornar a sua desvantagem em conferir uma resposta linear das variáveis de saída. Neste sentido, a inclusão de um ponto central permite a confirmação da possível linearidade do problema [Campos *et al.*, 2005].

As combinações resultantes podem ser representadas sob uma forma geométrica, recorrendo-se a um cubo, ou sob a forma matricial, tal como ilustrado pela Figura 22. É de notar que em ambas as representações os dois níveis possíveis são indicados por - e + para nível baixo e nível alto, respetivamente.

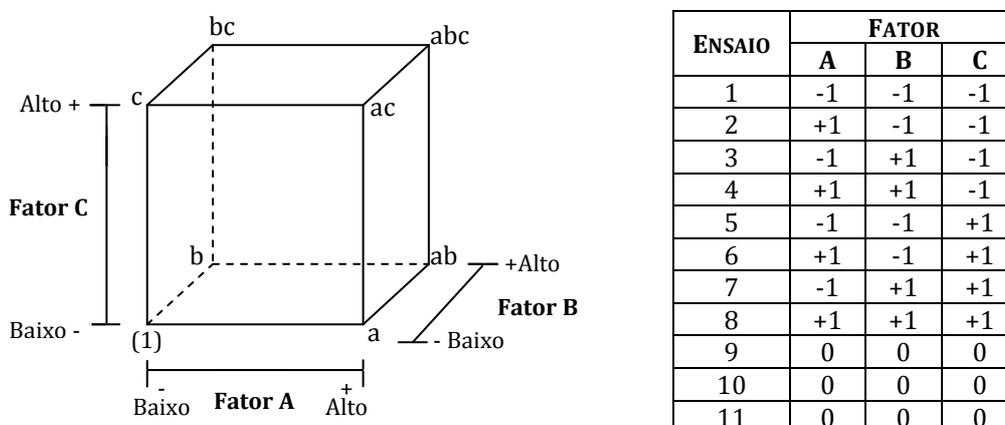


FIGURA 22: Representação geométrica e matricial do *design* 2^3 [adaptado de Montgomery, 2009].

6.2 CARATERIZAÇÃO DA PASTA DED

Para o desenvolvimento deste trabalho foi utilizada uma pasta *kraft* de *Eucalyptus globulus* semi-branqueada de acordo com uma sequência $D_0E_{OP}D_1$ (que, por uma questão de simplicidade foi designada neste trabalho por DED), proveniente de uma unidade industrial nacional de produção de pasta para papel.

Neste trabalho, foram utilizadas duas pastas com a mesma sequência (DED) recolhidas em alturas do ano distintas. Ambas as amostras, após a sua receção, foram lavadas com água destilada nas instalações do RAIZ, centrifugadas e esfareladas. A primeira pasta trabalhada, doravante referida por DED1, foi sujeita a todo o estudo de otimização de condições processuais (dosagem de enzima, tempo, temperatura e pH). Com a segunda pasta, designada por DED2, continuou-se o estudo das condições e, de seguida, aplicou-se as melhores condições de tratamento com enzima, com posterior branqueamento com H_2O_2 e ClO_2 . Naturalmente que as pastas apresentavam valores de propriedades óticas e físicas diferentes, como indicado na Tabela 8. Como consequência, a resposta destas duas pastas aos tratamentos enzimáticos e branqueamentos não será a mesma como se irá ver mais adiante.

TABELA 8: Propriedades das pastas DED1 e DED2.

PROPRIEDADE	DED1	DED2
Viscosidade (mL/g)	997	1021
Brancura ISO (%)	88,06	86,60
PC number	0,46	0,45

6.3 DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS COM A PASTA DED

Nesta secção são explicitados, sumariamente, alguns procedimentos executados durante a realização dos ensaios de branqueamento da pasta DED com peróxido de hidrogénio, dióxido de cloro e no seu tratamento com xilanases. A explicação detalhada e completa pode ser visualizada nos anexos.

Todos os ensaios foram realizados com recurso a sacos de plástico no qual foram introduzidas as massas de pasta e de reagentes previamente calculadas e pesadas, considerando 20g de pasta seca. No caso do tratamento das pastas com as soluções enzimáticas, o pH da solução enzimática a adicionar à pasta foi previamente corrigido para o valor pretendido com ácido clorídrico ou com hidróxido de sódio (Anexo A.1).

Como as quantidades de reagentes originais a usar seriam baixas prepararam-se soluções menos concentradas diminuindo deste modo os erros associados à medição de pequenos volumes. Contudo, ao longo do trabalho as dosagens referem-se ao reagente 100% puro; no caso das enzimas as dosagens referem-se à utilização da solução enzimática original, tal como é fornecida pelo produtor.

Após a impregnação dos reagentes com a pasta através de uma boa mistura manual (com o saco fechado), colocou-se o saco dentro de outro (para proteção) e estes num

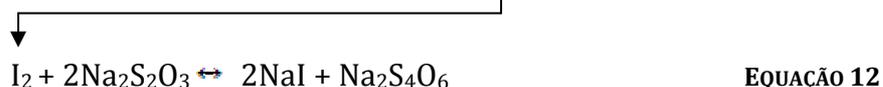
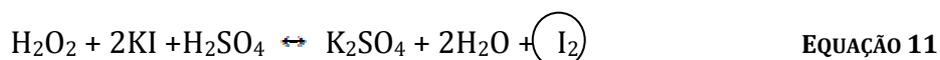
banho de água quente à temperatura desejada. Findo o tempo de branqueamento/tratamento colocou-se o saco com a mistura em gelo durante 15 minutos para terminar as reações. Filtrou-se a pasta numa teia metálica e analisaram-se os residuais presentes no filtrado para avaliar o consumo de reagentes: NaOH, H₂O₂ ou ClO₂ consoante o caso. Nestes residuais foi também determinado o pH.

Por fim, a lavagem da pasta foi realizada com 3L de água destilada a aproximadamente 35°C por três etapas (1L cada). Para terminar este procedimento, espremeu-se, esfarelou-se e armazenou-se a pasta no frigorífico, devidamente identificada.

A quantidade de reagente utilizada nas etapas de branqueamento ou tratamento enzimático é definida geralmente com base na unidade de massa de pasta, sendo denominada “carga”. Por conseguinte, sempre que no decorrer desta tese for referida a carga de peróxido de hidrogénio ou de dióxido de cloro (como cloro ativo), em percentagem, isso significa 100 x massa de reagente por unidade de massa de pasta (base seca) ou % *odp*. No caso dos tratamentos com xilanases, a dosagem de enzima é apresentada também como % *odp* (massa de solução enzimática original por unidade de massa de pasta em base seca).

6.3.1 BRANQUEAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO

Foi utilizado peróxido de hidrogénio da marca Panreac comercializado com a concentração de 30% (w/w). Dada a facilidade de decomposição do peróxido de hidrogénio, é necessário proceder à sua aferição antes da sua utilização, com o intuito de se determinar a concentração exata (procedimento detalhado no Anexo A.2). Para esta determinação recorreu-se a uma titulação redox iodométrica em meio ácido usando molibdato de amónio como catalisador da reação de formação do iodo. Na prática, faz-se reagir o peróxido de hidrogénio com iodeto de potássio, promovendo a libertação de iodo conforme a reação descrita pela Equação 11. Depois o iodo com tiosulfato de sódio de concentração conhecida (Equação 12).



A etapa de branqueamento com peróxido de hidrogénio (estágio P) requer a utilização de condições alcalinas e da adição de estabilizantes. Assim, para além de peróxido de hidrogénio utilizou-se hidróxido de sódio e sulfato de magnésio. Na Tabela 9 indicam-se as condições de operação para o branqueamento da pasta DED com H₂O₂. Em pastas previamente tratadas com enzima (pastas DEDX) a carga de NaOH requerida foi superior, para garantir um pH residual acima de 10,5.

TABELA 9: Condições operatórias aplicadas durante o branqueamento com H₂O₂.

VARIÁVEL	VALOR DE OPERAÇÃO	
	PASTA DEDP	PASTA DEDXP
Carga de H ₂ O ₂ (% <i>odp</i>)	0,30-1,20	0,50
Carga de NaOH (% <i>odp</i>)	0,55	0,65
Carga de MgSO ₄ .7H ₂ O (% <i>odp</i>)	0,20	0,20
Temperatura (°C)	70	70
Tempo (min)	60	60
Consistência (%)	10	10

6.3.2 BRANQUEAMENTO COM DIÓXIDO DE CLORO

O Dióxido de cloro utilizado neste trabalho foi gentilmente cedido pelo RAIZ que o produziu nos seus laboratórios. Dada a sua volatilidade também com o dióxido de cloro se torna fundamental a determinação da sua concentração no momento da sua utilização como agente de branqueamento. Para este reagente, tanto a determinação da concentração inicial como a da residual segue o mesmo procedimento, passando também por uma titulação iodométrica. Como a solução de ClO₂ pode também conter cloro e clorito é necessário criar condições favoráveis para que todas as formas de cloro possam reagir com o iodeto e, desta forma, serem contabilizadas. O procedimento detalhado apresenta-se descrito no Anexo A.3.

É de salientar que o manuseamento da solução de ClO₂ deve ser sempre feito na *hotte* para prevenir a inalação de vapores clorados e com o frasco de armazenamento mergulhado em gelo para diminuir a sua volatilização.

Na prática, a unidade comum de medição da concentração mássica deste reagente é na base de cloro ativo, sendo uma unidade de massa de cloro ativo igual a 2,63 unidades de massa de dióxido de cloro. Em termos matemáticos, tal conversão pode ser expressa pela seguinte Equação 13:

$$[Cl_{2\text{Ativo}}] = [ClO_2] \times 2,63 \quad \text{EQUAÇÃO 13}$$

O fator 2,63 entra em conta com o número de eletrões em jogo nas reações de oxidação associadas a estes dois reagentes (Equação 14 e 15):



	Cl ₂	ClO ₂
Massa molar (g/mol) (1)	71	67,5
Eletrões transferidos (2)	2	5
Equivalentemente grama = (1)/(2)	35,5	13,5

$$\frac{\text{Peso equivalente de Cl}_2}{\text{Peso equivalente de ClO}_2} = 2,63$$

EQUAÇÃO 16

Na Tabela 10 encontram-se indicadas as condições operatórias no branqueamento das pastas DED e DEDX com dióxido de cloro.

TABELA 10: Condições operatórias aplicadas durante o branqueamento com ClO₂.

VARIÁVEL	VALOR DE OPERAÇÃO	
	PASTA DEDD	PASTA DEDXD
Carga Cl ₂ ativo (% <i>odp</i>)	0,10-0,60	0,10-0,3
Temperatura (°C)	70	70
Tempo (min)	150	150
Consistência (%)	10	10

6.3.3 TRATAMENTO COM XILANASES

Neste trabalho utilizaram-se quatro xilanases para o tratamento da pasta DED: duas experimentais (EN2 e EN3) e duas comerciais (EN4 e EN5), todas sob a forma de solução enzimática, provenientes de um mesmo fabricante. Por questões de confidencialidade, não é possível divulgar quaisquer características destas soluções enzimáticas. As soluções enzimáticas EN2 e EN3 foram disponibilizadas na forma congelada, tendo sido guardadas congeladas em pequenas quantidades até à sua utilização, enquanto as soluções EN4 e EN5 foram fornecidas em solução líquida e guardadas à temperatura ambiente.

No decorrer do trabalho foi necessário comparar o desempenho das xilanases tendo por base, não só a mesma dosagem de solução enzimática (tal qual), mas também a mesma atividade por unidade de massa de pasta. Uma vez que não se possuíam dados relativos à atividade das enzimas, tornou-se necessário a sua determinação laboratorial. Para isso, seguiu-se a metodologia descrita por Ghose & Bisaria (1987) sendo usada a xilana de *Oat Spelts* como substrato (a qual foi adquirida à Sigma). A xilanase é uma enzima capaz de hidrolisar a xilana, quebrando as ligações xilose-xilose pelo que é possível medir a sua atividade através da quantidade de xilose formada. Esta quantificação foi feita recorrendo ao reagente DNS conforme descrito no Anexo A.4. Na sua reação com os açúcares redutores, como a xilose, este reagente produz um composto corado cuja absorvância é analisada num espectrofotómetro UV/VIS. Foi ainda construída uma curva de calibração (Anexo B.2) usando xilose, com concentração conhecida, em função da absorvância observada.

Na Tabela 11, encontram-se as atividades das quatro soluções enzimáticas utilizadas no decorrer do trabalho nas unidades U/mL de solução enzimática tal qual é adquirida ao fornecedor. No entanto, as dosagens são normalmente referidas tendo por base a unidade

de pasta (U/massa de pasta, em base seca). Este cálculo encontra-se detalhado no Anexo B.3.

TABELA 11: Atividade enzimática das soluções de xilanases utilizadas.

Solução Enzimática	Atividade (U/mL de solução enzimática)
EN2	2560
EN3	2420
EN4	3200
EN5	10000

XILANASE EN2 E EN3

Pelo facto das xilanases EN2 e EN3 serem experimentais não se possuía qualquer conhecimento de gamas operatórias possíveis para o tratamento enzimático, pelo que se optou por elaborar um planeamento experimental do tipo 2^3 , aplicando dois níveis de pH, temperatura e dosagem de solução enzimática – Tabela 12. Os níveis foram seleccionadas com base em estudos anteriores com xilanases comerciais aplicados a uma pasta DED de eucalipto [Sousa, 2012] e no resumo apresentado anteriormente na Tabela 7.

TABELA 12: Condições operatórias para as enzimas EN2 e EN3.

	NÍVEL BAIXO (-1)	PONTO CENTRAL (0)	NÍVEL ALTO (+1)
pH	6	7	8
T (°C)	60	70	80
Carga enzima (% <i>odp</i>)*	0,01	0,05	0,09
Tempo (min)	60		

* Massa de solução enzimática original por unidade de massa de pasta seca (em percentagem).

O planeamento fatorial serviu como escrutínio da direção a tomar dado que não eram conhecidas as gamas de aplicação destas xilanases em pastas celulósicas. Após a observação dos resultados deste planeamento, houve necessidade de ensaios suplementares cujas condições estão resumidas na Tabela 13, apresentando-se a informação completa no Anexo C.1 e C.2.

TABELA 13: Condições operatórias dos ensaios adicionais de EN2 e EN3.

VARIÁVEL	EN2	EN3
pH	6; 7	6; 7
Temperatura (°C)	60; 70	60; 70; 80
Carga enzima (% <i>odp</i>)*	0,08; 0,09	0,05; 0,85; 0,09
Tempo (min)	60	60
Consistência (%)	10	10

XILANASES EN4 e EN5

Dado que as xilanases EN4 e EN5 eram soluções enzimáticas comercializadas considerou-se para o tratamento enzimático alguns dos valores indicados pelo fornecedor, tendo sido ajustadas no decorrer do trabalho, consoante os resultados obtidos – Tabela 14.

TABELA 14: Condições operatórias estudadas para as enzimas EN4 e EN5.

VARIÁVEL	EN4	EN5
pH	5; 7; 8	7; 8; 8,5
Temperatura (°C)	50; 60; 70; 80	60; 70; 80; 85
Carga enzima (% odp)*	0,005; 0,01; 0,05; 0,15; 0,3; 0,5	0,005; 0,025; 0,01; 0,05; 0,15
Tempo (min)	60; 120; 240	30; 60; 120; 240
Consistência (%)	10	10

**odp*: oven dry pulp- pasta absolutamente seca.

6.4 CARATERIZAÇÃO FINAL DAS PASTAS

As pastas de todos os ensaios laboratoriais foram caracterizadas em termos de brancura ISO, estabilidade de brancura e viscosidade.

6.4.1 BRANCURA ISO

Para avaliar esta propriedade, foi seguida as normas ISO 3688 e ISO 2569. Foram produzidas folhas de pasta circulares com distribuição aleatória das fibras e com uma gramagem de 200g/m² (Anexo A.8). Este procedimento passa pela desintegração de 2g de fibras (base seca) por folha, durante 30 minutos em 500mL de água destilada. A complexação de possíveis iões presentes na amostra é conseguida com a adição de 1mL de EDTA, sendo filtrados durante a formação da folha num funil de Büchner. Após prensagem, as folhas foram secas numa câmara ventilada (à temperatura ambiente) e novamente prensadas para ficarem apropriadas para análise. Foram produzidas duas folhas para cada amostra de pasta. Com recurso a um espectrofotómetro *Elrepho* disponível no RAIZ determinaram-se as brancuras de cada folha utilizando um macete de folhas, opaco, por baixo da face não exposta à luz incidente [Dence & Reeve, 1996]. Em cada folha fizeram-se quatro medições para obter um valor médio, sendo este um resultado mais representativo de toda a folha.

6.4.2 REVERSÃO DE BRANCURA ISO

Para avaliar a reversão da brancura colocaram-se as folhas de pasta produzidas em laboratório sob condições de tempo, humidade e temperatura específicas no interior de um vaso fechado. A água dentro do vaso é aquecida até ao ponto de ebulição, o que faz

manter as folhas (Figura 23) em contato com uma fase de vapor. Assim, durante 1 hora, a 100% de humidade e 100°C fomentou-se o seu envelhecimento térmico, recriando o processo natural de envelhecimento após branqueamento.



FIGURA 23: Suporte com folhas de pasta utilizado no processo de envelhecimento.

Findo os 60 minutos, as folhas foram secas durante 1 hora numa câmara ventilada e, no fim, prensadas. De seguida, procedeu-se à medição da brancura após envelhecimento, de acordo com o mesmo procedimento descrito para a determinação da brancura. Com os valores de brancura antes e após envelhecimento pode determinar-se o *PC number* (Equação 4).

6.4.3 VISCOSIDADE INTRÍNSECA

A viscosidade de soluções de celulose depende (entre outros fatores) da concentração da solução (C , em kg/dm^3), aumentando com ela. Por isso, a viscosidade deve ser determinada quando a concentração da celulose no solvente tende para zero, atingindo-se o que se designa por número limite de viscosidade ou, mais correntemente, viscosidade intrínseca $[\eta]$, definida por:

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{\text{rel}} - 1}{C} \right) \quad (\text{dm}^3/\text{kg}) \quad \text{EQUAÇÃO 17}$$

onde $\eta_{\text{rel}} = \eta/\eta_0$, sendo η e η_0 a viscosidade da solução e do solvente, respetivamente. Esta definição ilustra a razão pela qual normalmente se exprime a viscosidade em unidades de $(\text{concentração})^{-1}$.

Esta propriedade foi determinada com o recurso à norma ISO 5351. Numa balança analítica pesou-se o equivalente a 0,15g de fibra (base seca) no interior de um frasco ao qual se juntou 25mL de água destilada, pequenas esferas de vidro, pedaços de cobre e um magnete para auxiliar a desintegração das fibras num agitador magnético. Após 20 minutos de agitação, adicionou-se 25mL de solução cuprietenodiamina (0,5M), para solubilizar os polímeros (celulose e hemicelulose). Tapou-se o frasco tendo o cuidado de retirar o ar nele contido e colocou-se num agitador mecânico rotativo durante 30 minutos. Colocou-se depois o frasco 10 minutos num banho com temperatura aproximadamente igual a 25°C.

Encheu-se um viscosímetro capilar com a solução e mediu-se o tempo de escoamento entre duas marcas indicadas no viscosímetro. Esta medição é repetida para se obter dois valores concordantes. Quando o tempo de escoamento não estava no intervalo 90 a 100 s, as condições requeridas para o ensaio não eram satisfeitas devendo a determinação ser repetida, mas com um valor de massa de pasta corrigido, de modo a respeitar o intervalo do valor do produto $[\eta]C = 3,0 \pm 0,4$ (correspondente a valores de η_{rel} entre 6,6 e 10,4). O erro máximo associado a este método é cerca de 3% [Carvalho, 1999] (Anexo A.10).

PARTE III

7. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

7.1 Tratamento da pasta DED com Xilanase EN2

7.2 Tratamento da pasta DED com Xilanase EN3

7.3 Tratamento da pasta DED com Xilanase EN4

7.3.1 Estudo do Efeito do Tempo de Tratamento - EN4

7.3.2 Estudo do Efeito da Carga de Xilanase - EN4

7.3.3 Estudo do Efeito do pH e da Temperatura - EN4

7.4 Tratamento da Pasta DED com Xilanase EN5

7.4.1 Estudo do Efeito do Tempo de Tratamento - EN5

7.4.2 Estudo do Efeito da Carga de Xilanase - EN5

7.4.3 Efeito do efeito do pH e da Temperatura - EN5

7.5 Comparação das Soluções Enzimáticas

7.6 Branqueamento da Pasta Original com H₂O₂ (DEDP) e ClO₂ (DEDD)

7.7 Efeito do Tratamento Enzimático no Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio (comparação entre pastas DEDP e DEDXP)

7.8 Efeito do Tratamento Enzimático no Branqueamento com Dióxido de Cloro (comparação entre pastas DEDD e DEDXD)

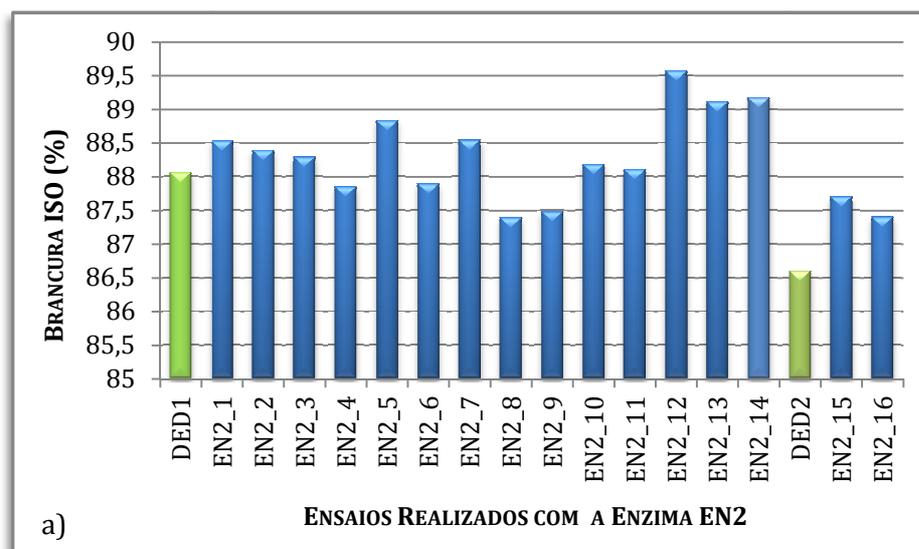
7. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A matéria-prima usada compreendeu duas amostras de uma pasta *kraft* industrial de *Eucalyptus globulus* pré-branqueada através da sequência DED: DED1 e DED2, assim designadas por terem sido recolhidas na fábrica em alturas distintas. Sendo o objetivo principal deste trabalho a seleção das condições operatórias mais adequadas de um estágio enzimático (X) aplicado na pasta DED, analisar-se-ão, neste capítulo, os resultados obtidos nesta etapa (pastas DEDX), bem como na etapa posterior de branqueamento final com H₂O₂ e ClO₂ (pastas DEDXP e DEDXD). Uma vez que foram usadas quatro soluções enzimáticas, codificadas com o nome EN2, EN3, EN4 e EN5, os resultados são apresentados em quatro subcapítulos.

7.1 TRATAMENTO DA PASTA DED COM XILANASE EN2

A xilanase EN2 apresentou uma atividade enzimática de 2560 U/mL conforme descrito na Tabela 11.

Num primeiro conjunto de testes seguiu-se um planeamento fatorial 2³ (Tabela 12) de que resultaram 11 ensaios (EN2_1 a EN2_11). Perante os resultados obtidos, houve necessidade de expandir este conjunto com mais três ensaios (EN2_12 a EN2_14). Posteriormente, já com uma nova pasta recolhida na fábrica (DED2) foram aplicadas duas das condições consideradas mais adequadas de pH, temperatura e tempo tendo-se designado os ensaios por EN2_15 a EN2_16. No Anexo C.1 podem ser verificadas as condições de todos os ensaios, bem como os resultados mais importantes. Na Figura 24 encontram-se representados esses mesmos resultados.



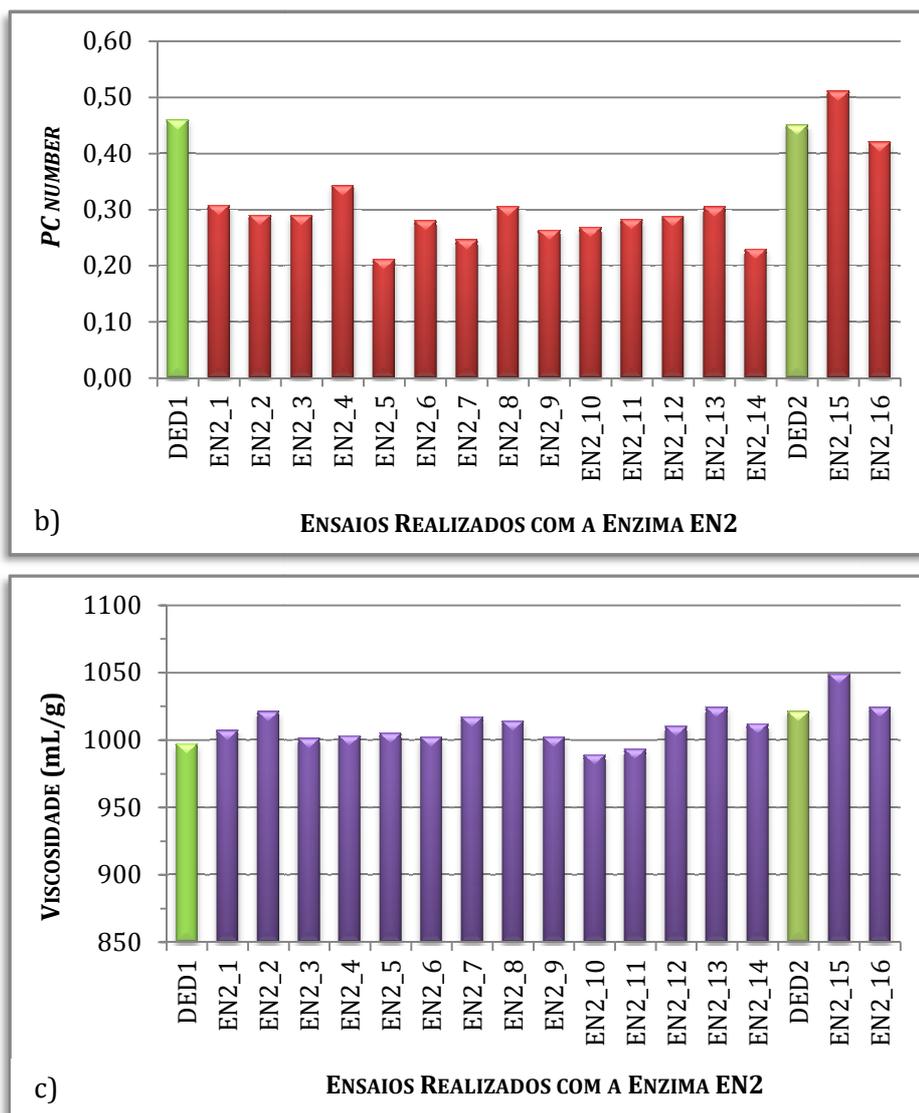


FIGURA 24: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN2: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.1)

Analisando os resultados obtidos na pasta DED1, constata-se globalmente que a solução enzimática EN2 pode efetivamente contribuir para o aumento de brancura (em relação à pasta original), mas apenas em certas condições operatórias. Contudo, independentemente das condições ensaiadas, a xilanase tem um excelente contributo para o aumento da estabilidade da brancura (diminuição do *PC number*) quando aplicada à pasta DED1, não afetando significativamente o valor da viscosidade.

As condições para as quais não se obteve aumento da brancura corresponderam às menores dosagens de solução enzimática usadas no planeamento fatorial: 0,01% *odp* (que corresponde a uma atividade de 0,2 U/g *odp*) - ensaios EN2_4, EN2_6, EN2_8 e EN2_9. Também se observou que a xilanase tinha menos eficiência para o valor de pH 8 do que para pH 6, independentemente da temperatura, apesar da maior carga utilizada (0,09% *odp* ou 2,2 U/g *odp*: ensaios EN2_10, EN2_11, em comparação com EN2_7 e EN2_5). Para além do pH 8, também a temperatura de 80°C se revelou pouco adequada

para a ação enzimática no desenvolvimento de brancura (ensaio EN2_7 a 80°C, vs EN2_5 a 60°C, ambos a pH 6 e 0,09% *odp*).

No conjunto destes resultados as condições do ensaio EN2_5 (dosagem de solução enzimática=0,09% *odp*; t=60min; pH=6 e T=60°C) permitiram alcançar a maior brancura ISO, 88,8%, embora as condições correspondentes ao ponto central (carga=0,05% *odp*; t=60min; pH=7 e T=70°C) também apresentassem resultados interessantes (brancura ISO 88,4%). Por isso, foram efetuados mais três ensaios complementares (ensaios EN2_12 a 14) onde se variou o pH entre 6 e 7 e a temperatura entre 60 e 70°C por comparação com o ensaio EN2_5. Como se pode visualizar na Figura 24 a), as condições que permitiram atingir maior brancura foram as correspondentes ao ensaio EN2_12 (brancura ISO=89,6%; *PC number*=0,29), onde se usou pH 6, 70°C, 60 min, 0,09% *odp*, embora os resultados do ensaio EN2_14 (pH 7, 70°C) também fossem satisfatórios no que respeita ao valor do *PC number* obtido (brancura ISO=89,2%; *PC number*=0,23).

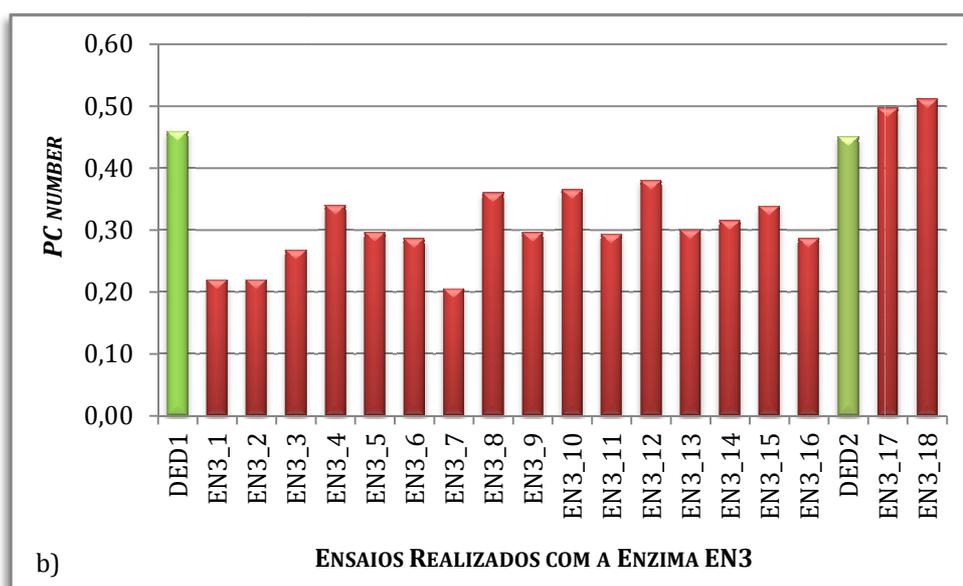
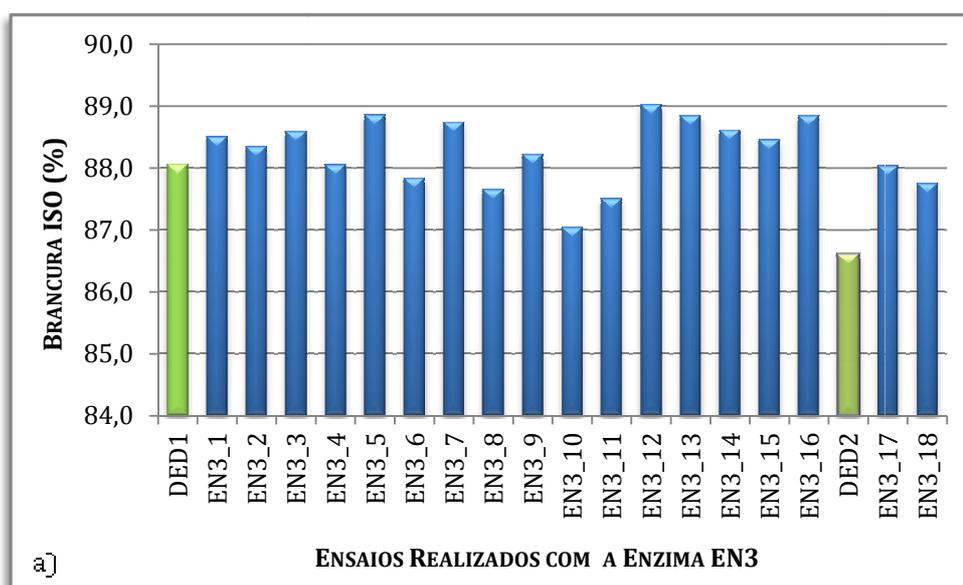
Quando foi recebida uma nova amostra de pasta industrial, DED2, aplicaram-se as condições dos ensaios EN2_12 e EN2_14 embora com uma dosagem de 0,08% *odp* (2 U/g *odp*), ensaios designados agora EN2_15 e EN2_16. O primeiro (carga=0,08% *odp* ou 2 U/g *odp*; t=60min; pH=6 e T=70°C) foi eleito como o melhor, tendo em conta a brancura e a sua reversão (Figura 24). Contudo, apesar da maior brancura das pastas DEDX, o valor da sua reversão é superior à da pasta original DED2, ao contrário do que tinha sucedido com a pasta DED1. A pasta DED2 exibia menor brancura que a DED1 (Tabela 8) pelo que se pode inferir que a “história” da pasta vai afetar o desempenho da xilanase.

No que respeita à viscosidade intrínseca ocorre uma variação aleatória sendo a gama dos valores obtidos inferior ao erro do método (que é de 3%), à exceção do ensaio EN2_15, quando comparado com a pasta original correspondente. O aumento de viscosidade pode significar a solubilização de xilo-oligossacarídeos de baixo peso molecular, como consequência deste tratamento, com consecutivo aumento do teor de celulose [Valls *et al.*, 2011]. O aumento da viscosidade de pastas tratadas com xilanases é concordante com descrições da literatura [Bajpai & Bajpai, 1997].

Concluindo, se o objetivo for aplicar um estágio final de branqueamento com peróxido de hidrogénio ou com dióxido de cloro nas pastas pré-tratadas com xilanases, DEDX, as condições eleitas seriam as do ensaio EN2_15 (carga=0,08% *odp*; t=60min; pH=6 e T=70°C).

7.2 TRATAMENTO DA PASTA DED COM XILANASE EN3

Também para o tratamento da pasta DED1 com a xilanase EN3 (atividade da solução enzimática de 2420 U/mL - Tabela 11) se seguiu o mesmo planejamento fatorial 2^3 , de que resultaram 11 ensaios (EN3_1 a EN3_11). Adicionalmente, houve ainda a necessidade de completar este conjunto com mais cinco ensaios (EN3_12 a EN3_16). Com a nova pasta recolhida na fábrica, DED2, foram aplicadas duas das condições consideradas mais adequadas de pH, temperatura e tempo tendo-se designando os ensaios por EN2_17 e EN2_18. As condições de todos os ensaios podem ser consultadas no Anexo C.2, sendo representados na Figura 25.



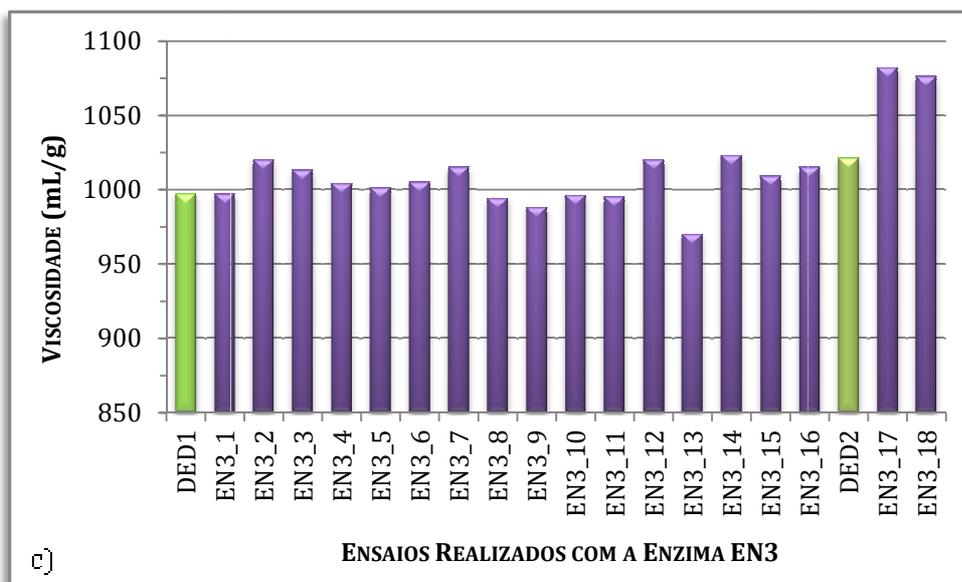


FIGURA 25: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN3: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.2)

Os resultados patentes na Figura 25 a) a c) mostram que a ação desta enzima é muito semelhante à da EN2.

Dos ensaios referentes ao planeamento experimental, os dois melhores foram o EN3_5 (pH 6, 60°C) e EN3_7 (pH 6, 80°C) com brancura ISO de 88,9% e 88,7%, respetivamente, para a dosagem de 0,09% *odp*. No entanto, as condições do ensaio EN3_7 conduziram a uma menor reversão de brancura (*PC number* 0,20 vs 0,30 – Figura 25 b)).

Os resultados obtidos nos 3 ensaios correspondentes ao ponto central (EN3_1 a EN3_3, pH=7, 70°C, dosagem de 0,05% *odp*) também foram interessantes (valores médios de brancura ISO de 88,5% e de 0,24 para o *PC number*).

Foram depois efetuados mais cinco ensaios complementares (ensaios EN3_12 a 16) onde se variou o pH entre 6 e 7 e a temperatura entre 60 e 70°C usando as dosagens 0,05 e 0,09% *odp*. Como se pode visualizar na Figura 25 a), as condições que permitiram atingir maior brancura foram as correspondentes ao ensaio EN3_12, EN3_13 e EN3_16 mas os valores mais baixos de reversão foram observados nos ensaios EN3_13 (0,09% *odp*) e EN3_16 (0,05% *odp*). Conjugando todos os ensaios concluiu-se que as condições mais adequadas de pH e temperatura eram 7 e 70°C, respetivamente, embora a xilanase tenha uma ação muito semelhante se estas condições baixarem para pH 6 e 60°C.

Na pasta industrial DED2 aplicou-se as condições do ensaio EN3_13 para uma dosagem de 0,085% *odp* (2 U/g *odp*), ensaio EN3_17. Dado que o valor mais baixo de reversão foi conseguido no ensaio EN3_7, usou-se também essas condições na pasta DED2 (EN3_18). Como se pode concluir dos resultados apresentados, as condições de pH=7 e T= 70°C foram as mais eficientes tendo em conta a brancura das pastas DEDX e a sua reversão, embora o valor da reversão seja superior à da pasta original DED2, ao contrário do que tinha sucedido com a pasta DED1.

Relativamente à viscosidade, como é perceptível na Figura 25 c), até ao ensaio EN3_16, o seu valor apresentou poucas oscilações. As pastas dos dois últimos ensaios apresentaram viscosidades mais elevadas que a pasta original DED2, indicativo de remoção de xilanas.

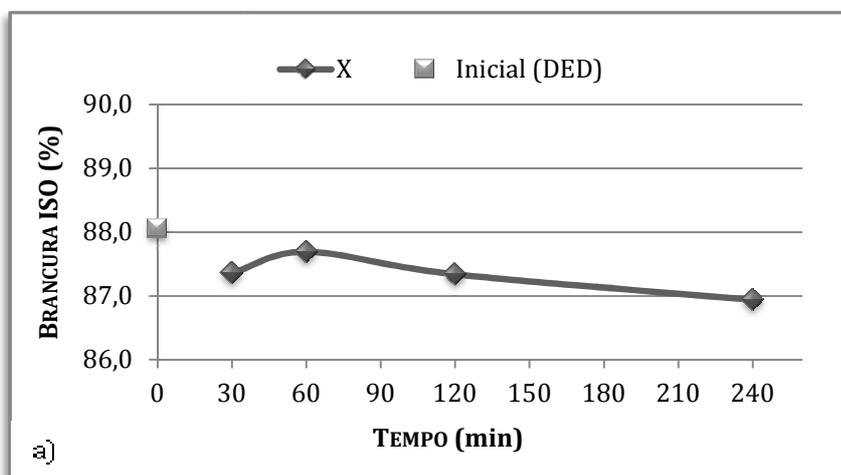
De forma geral, para inclusão numa sequência de branqueamento optar-se-ia pelas condições do ensaio EN3_17 (carga=0,085% *odp*; t=60min; pH=7 e T=70°C).

7.3 TRATAMENTO DA PASTA DED COM XILANASE EN4

Esta solução enzimática exibiu uma atividade de 3200 U/mL, tendo-se estudado, numa primeira fase, o efeito do tempo bem como da dosagem para selecionar as melhores condições de operação. No Anexo C.3 encontram-se os ensaios realizados para esta enzima e respetivas condições.

7.3.1 ESTUDO DO EFEITO DO TEMPO DE TRATAMENTO – EN4

Para este estudo variou-se o tempo de tratamento com a enzima EN4 (30, 60, 120 e 240min) mantendo-se constantes as restantes condições: pH=7, T=70°C, dosagem= 0,05% *odp* ou 1,5 U/g *odp* (ensaios EN4_1; EN4_2; EN4_4; EN4_6). A Figura 26 a) apresenta os resultados obtidos.



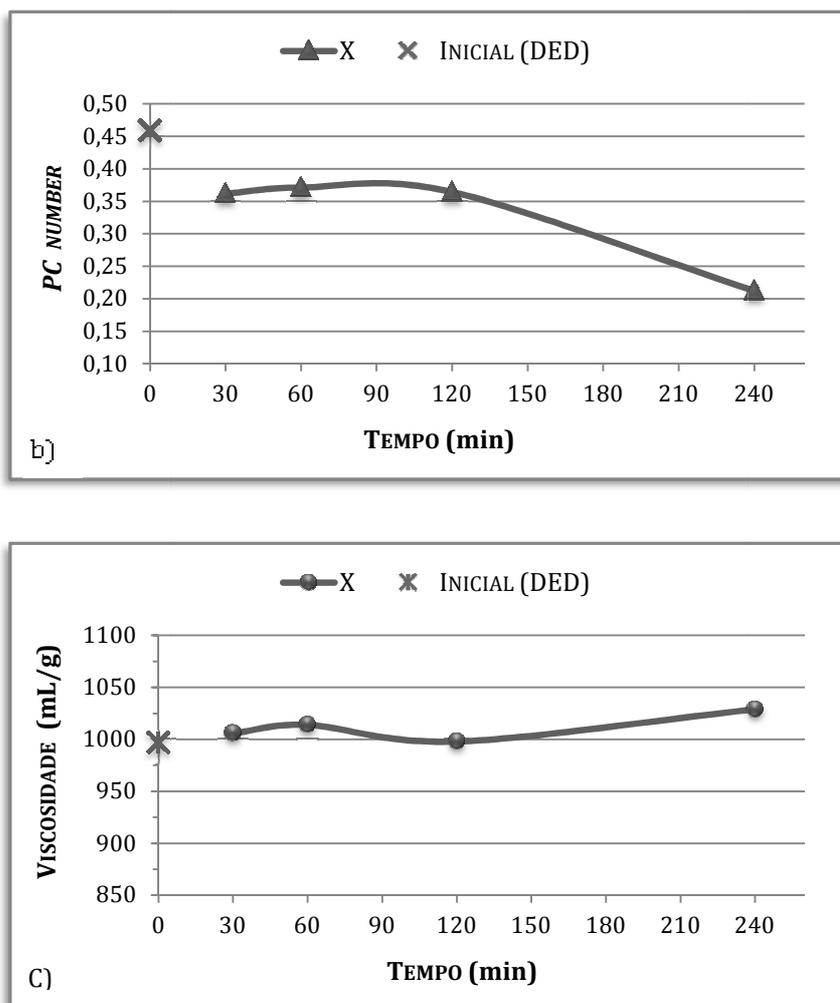


FIGURA 26: Efeito do tempo de tratamento da pasta DED1 com a solução enzimática EN4: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.3).

Apesar das condições utilizadas não terem permitido obter uma brancura na pasta DEDX superior à inicial DED1, facilmente se constata pela análise da Figura 26 a) que o melhor tempo de tratamento com a enzima EN4 é de 60 minutos. De 30 para 60 minutos a brancura da pasta aumenta, mas para tempos de operação superiores a 60 minutos o valor desta propriedade decai. Ainda assim, pela análise do *PC number* (Figura 26 b)) verifica-se que a reversão da brancura é sempre inferior face à da pasta de origem, o que permite inferir que, apesar de não elevar a brancura, a ação enzimática é benéfica para esta propriedade. Com o aumento do tempo de reação, o *PC number* diminui, o que revela uma clara indicação da ação da enzima na estabilidade da brancura por permitir a remoção dos grupos potencialmente cromóforos. Contudo, o menor *PC number* corresponde ao ensaio que conduz a uma menor brancura da pasta. Relativamente à viscosidade intrínseca (Figura 26 c)), a variabilidade dos seus valores encontra-se dentro do erro experimental associado a esta determinação (3%).

7.3.2 ESTUDO DO EFEITO DA CARGA DE XILANASE – EN4

A carga de solução enzimática a aplicar foi estudada para o tempo ótimo anteriormente averiguado, 60min, mantendo constante o pH=7 e a temperatura T=70°C: carga de enzima=0,005; 0,01; 0,05; 0,15; 0,3 e 0,5% *odp* que corresponde a 0,2; 0,3; 1,5; 4,5; 9,0 e 15,0 U/g *odp* (ensaios EN4_3; EN4_5; EN4_6; EN4_7; EN4_13 e EN4_14). A Figura 27 a) a c) espelha os resultados conseguidos para esta etapa.

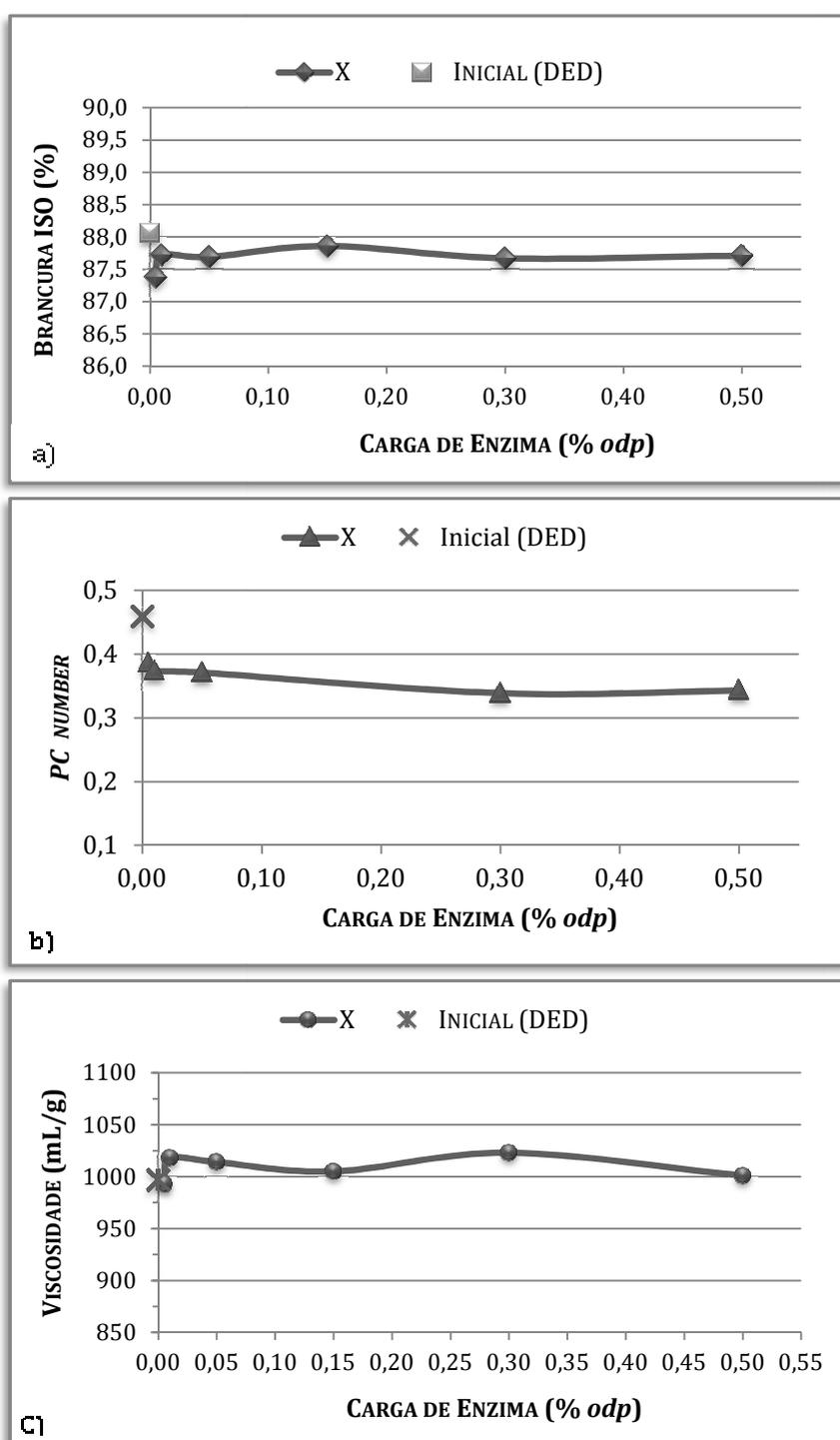


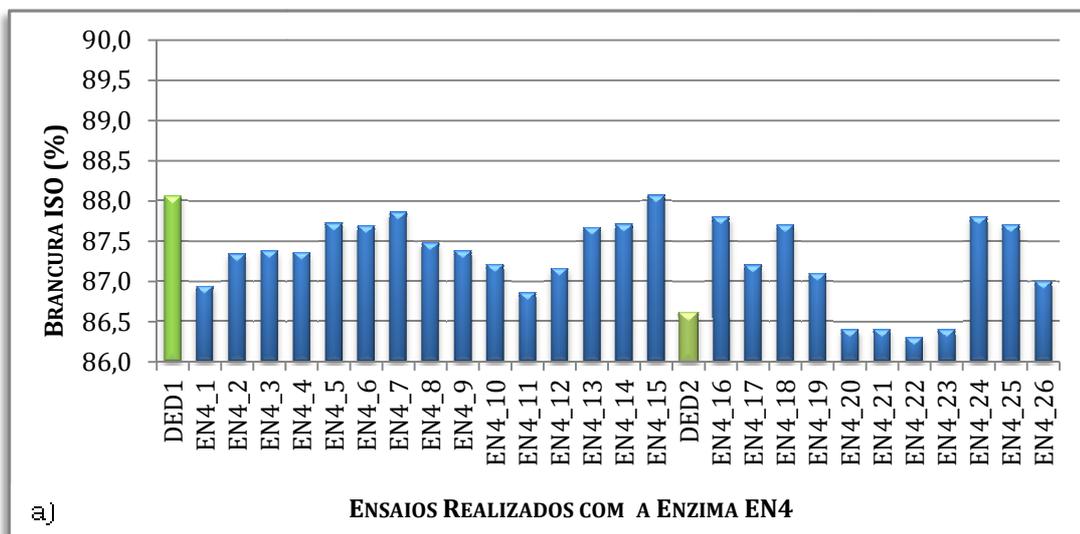
FIGURA 27: Efeito da carga de solução enzimática EN4 no tratamento da pasta DED1: a) Brancura; b) PC number; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.3)

Também no que respeita à carga de solução enzimática aplicada, a brancura é sempre inferior à da pasta inicial. Ainda assim, a brancura que mais se aproxima da de partida (88,1% ISO) é a do ensaio onde se aplica uma carga de 0,15% *odp* (87,9% ISO) que corresponde a uma atividade de 4,5 U/g *odp*. Apesar desta ineficiência no aumento da brancura, o valor de *PC number* é inferior para todas as cargas, relativamente ao valor inicial, resultado da boa atuação da enzima ao nível da remoção dos grupos potencialmente cromóforos. A alteração da viscosidade intrínseca, mais uma vez, não é estatisticamente significativa.

Com os ensaios descritos até agora é o EN4_7 (pH=7; T=70°C; tempo de tratamento=60min e carga de enzima=0,15% *odp*) que conduziu à obtenção de maior brancura ISO e menor *PC number* (87,9% e 0,18).

7.3.3 ESTUDO DO EFEITO DO pH E DA TEMPERATURA - EN4

Dado que os ensaios anteriores não conduziram a ganhos de brancura após o tratamento enzimático, efetuou-se uma exploração mais completa por alteração da temperatura e do pH. É de realçar que não se possuía informações acerca das gamas de atuação recomendadas para esta enzima, nem qual a sua origem (bacteriana ou fúngica). Na Figura 28 a) a c) estão apresentados todos os ensaios realizados para a enzima EN4, para uma mais fácil visão e comparação entre eles.



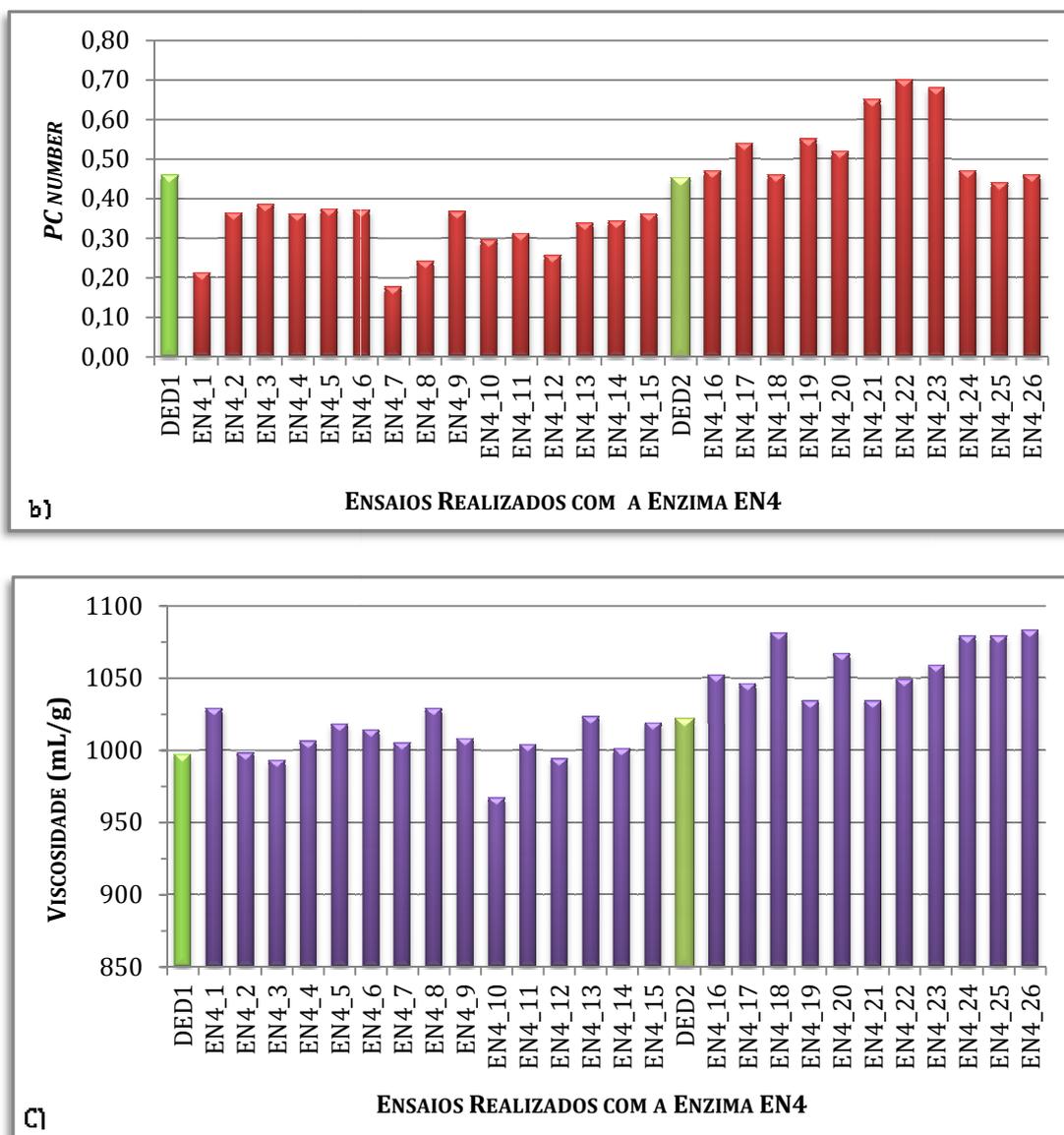


FIGURA 28: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN4: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.3)

Nos ensaios EN4_8 a EN4_12, explorou-se o efeito do aumento do pH para 8 e da temperatura para 80°C para diferentes cargas (0,15; 0,3 e 0,5% *odp*). Todavia, a brancura atingida foi, maioritariamente, menor do que para os ensaios anteriores. Este resultado pode ser fruto da possível formação de grupos cromóforos característica do pH alcalino, o que se reflete numa diminuição da brancura inicial.

Por sua vez, o *PC number* manteve-se abaixo do valor da pasta original, tal como tinha acontecido até aqui.

Tendo em conta que estas novas condições nada acrescentaram de positivo aos resultados anteriores testou-se, de seguida, a diminuição conjunta do pH e da temperatura para a carga e tempo ótimo primeiramente encontrados (0,15% *odp* e 60 minutos) – ensaio EN4_15. Assim, foi para as condições deste ensaio (pH=5 e T=50°C) que se conseguiu uma brancura próxima da inicial.

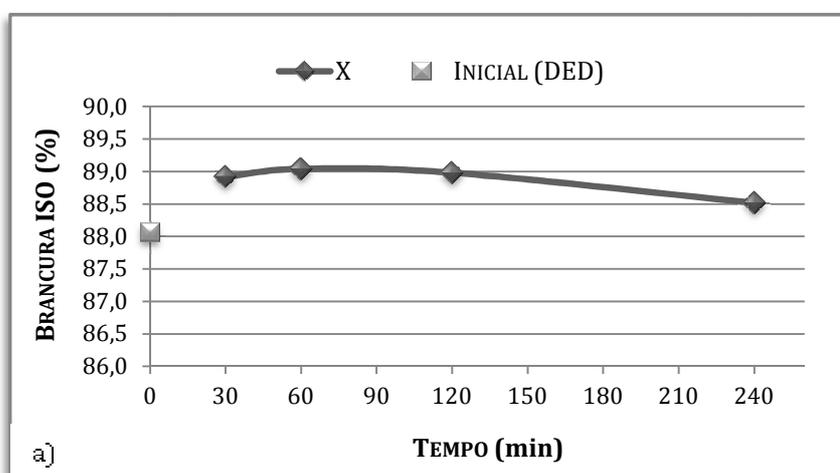
A boa resposta da solução enzimática em termos de brancura a condições mais baixas de pH e de temperatura pode levar à conclusão de que, provavelmente a enzima EN4 é de origem fúngica, as quais possuem como condições ótimas, pH entre 3,5 e 6 e temperatura na gama dos 40 a 60°C (Tabela 6). Na tentativa de confirmar esta conclusão explorou-se, do ensaio EN4_16 ao EN4_26, agora com a pasta DED2, a resposta da enzima para valores de pH 6, 5 e 4 e de temperaturas de 50 e 60°C. Pela Figura 28 comprova-se o bom resultado para as condições ótimas de operação para as xilanases de origem fúngica. As condições pH=5, T=50°C, 60 min, foram consideradas mais adequadas para atuação desta solução enzimática tendo em conta o ganho de brancura, o *PC number* e uma variação de viscosidade não muito elevada. A aplicação de uma carga entre 0,05 e 0,15% (1,5 a 4,5 U/g *odp*) vai determinar o nível do ganho de brancura relativamente à pasta original (0,5 a 1,2 unidades).

7.4 TRATAMENTO DA PASTA DED COM XILANASE EN5

Dado que também para esta enzima não se conhecia o valor da atividade procedeu-se à sua determinação laboratorial, a qual permitiu obter o valor de 10000 U/mL. À semelhança do que foi desenvolvido para a enzima EN4, também para a enzima EN5 se estudou o melhor tempo de contacto entre a enzima e a pasta, bem como a carga que produzia melhores resultados. Todas as condições operatórias, acompanhadas dos principais resultados de todos os ensaios realizados estão registadas no Anexo C.4.

7.4.1 ESTUDO DO EFEITO DO TEMPO DE TRATAMENTO – EN5

O estudo do efeito do tempo foi efetuado fazendo variar este parâmetro (30, 60, 120 e 240 minutos) e mantendo constante o pH=7, a temperatura, 70°C, e a carga de enzima, 0,05% *odp* (correspondente a uma atividade de 4,9 U/mL) - ensaios EN5_1, EN5_3, EN5_5 e EN5_6. A Figura 29 a) a c) apresenta os resultados obtidos.



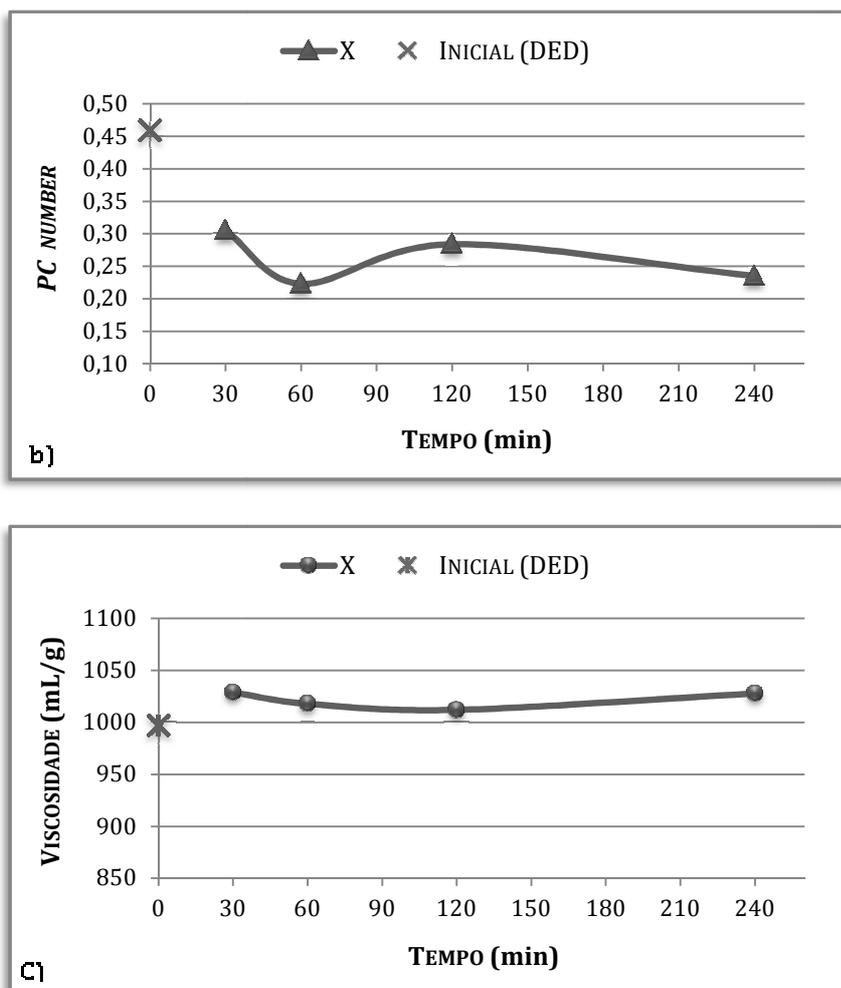


FIGURA 29: Efeito do tempo de tratamento da pasta DED1 com a solução enzimática EN5: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.4)

Como se pode visualizar, a brancura aumenta até cerca de 60 minutos de reação, mantendo-se depois praticamente inalterável até 120 minutos, a partir do qual decresce. O *PC number* tendencialmente diminui com o aumento do tempo (maior estabilidade de brancura). A viscosidade mantém-se em níveis próximos do valor original. Tendo em conta todos estes resultados, foi escolhido o tempo de 60 minutos para a prossecução dos restantes ensaios.

7.4.2 ESTUDO DO EFEITO DA CARGA DE XILANASE – EN5

A dosagem de enzima a usar será a que estabelece um bom compromisso entre as melhores propriedades e o menor custo associado. Naturalmente, que na perspetiva económica será desejável a aplicação da menor quantidade de enzima capaz de produzir o resultado mais elevado. Desta forma, realizaram-se cinco ensaios com cargas diferentes (0,005; 0,01; 0,025; 0,05 e 0,15% *odp* – atividades de 0,5; 1,0; 2,5; 4,9; 14,8

U/g *odp*) nas seguintes condições comuns: pH=7, T=70°C e tempo de reação=60min (EN5_2; EN5_4; EN5_6; EN5_7 e EN5_12) - Figuras 30 a) a c).

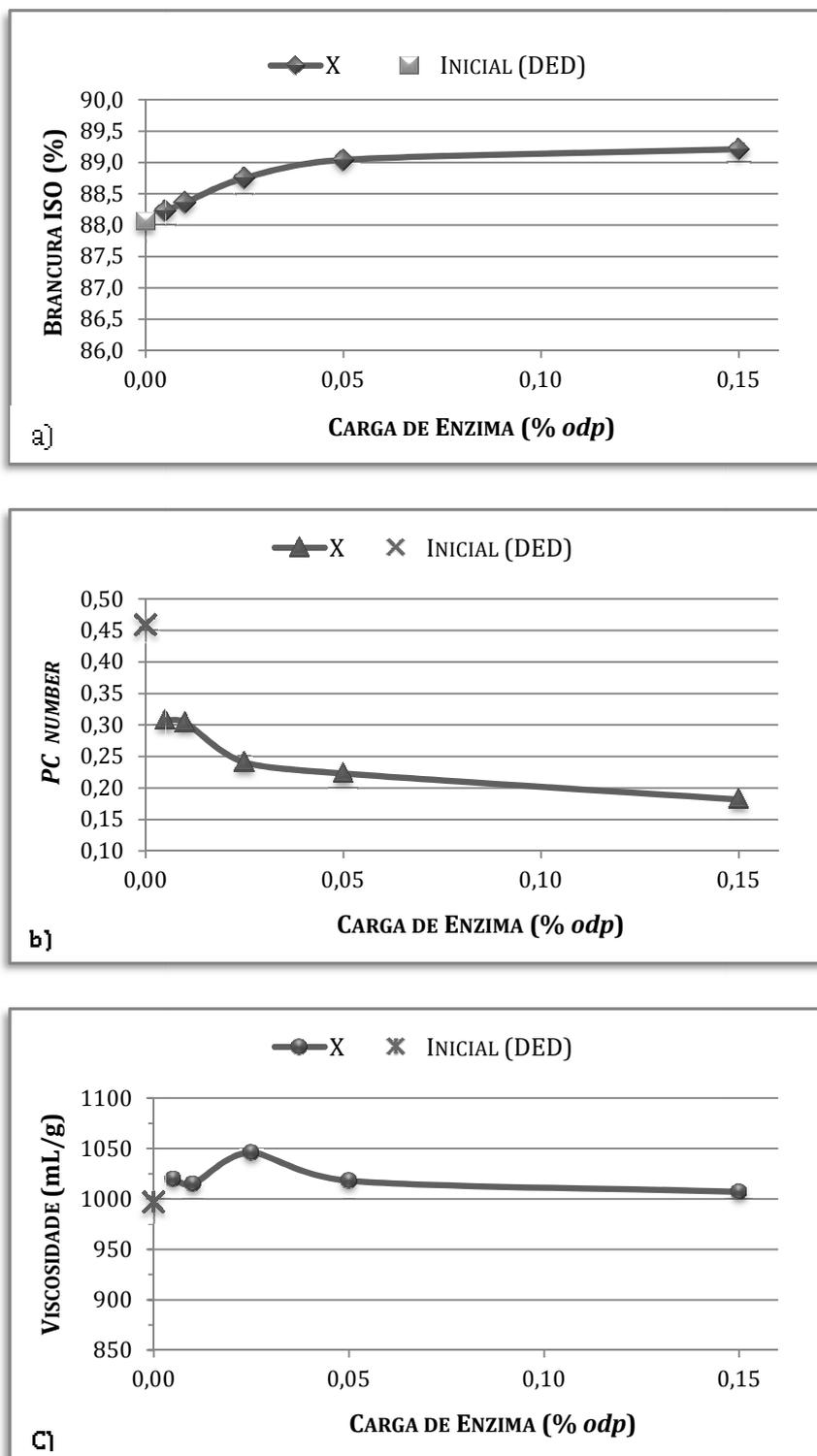


FIGURA 30: Efeito da carga de solução enzimática EN4 no tratamento da pasta DED1: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.4)

Da representação da brancura em função da carga (Figura 30 a)) observa-se uma notória evolução mais acentuada do ganho de brancura para cargas mais baixas,

tendendo a estabilizar para cargas superiores. Este esperado aumento de brancura resulta provavelmente do papel das xilanases na degradação dos complexos lenhina-xilanas. Ao serem quebradas as ligações entre monómeros de xilose, promove-se a solubilização da parte que contém ligações à lenhina e/ou a outros compostos cromóforos responsáveis pela absorção da luz pela pasta [Ko *et al.*, 2010]. Consequentemente, esta remoção é, naturalmente, acompanhada pelo aumento de brancura da pasta. Averigua-se, através deste gráfico, que a carga de solução enzimática que permite produzir uma elevada brancura é 0,05% *odp*. Maiores cargas acarretariam, proporcionalmente, maiores custos desnecessários, tendo em conta o insignificante ganho adicional de brancura.

Esta conclusão é também sustentada pela Figura 30 b), pela qual se constata que o tratamento enzimático com a enzima EN5 se mostra benéfico na estabilização da brancura independentemente da carga associada. Também até à carga de 0,05% *odp* há um acentuado decréscimo do *PC number*, não havendo uma melhoria significativa para cargas superiores.

Embora sempre superior ao valor original, verifica-se que alteração nos valores da viscosidade não é significativa (à exceção do ensaio para a carga de 0,025%, possivelmente fruto de algum erro na sua determinação). Embora haja estudos em que foi observado um aumento da viscosidade como resultado da remoção de xilanas de baixo peso molecular [Ko *et al.*, 2010], outros indicam que a viscosidade se manteve inalterada com o tratamento enzimático [Roncero *et al.*, 2000], o que pode revelar que a variação da viscosidade depende do tipo de enzima utilizada e das condições operatórias.

De acordo com os dois estudos apresentados para a enzima EN5, selecionou-se como melhor ensaio, o EN5_6 com as condições: pH=7; T=70°C; tempo de tratamento=60min e carga de enzima=0,05% *odp* (4,9U/g *odp* de atividade). Este permitiu uma brancura de 89,0% ISO, 0,18 de *PC number* e uma viscosidade de 1018 mL/g.

7.4.3 ESTUDO DO EFEITO DO pH E DA TEMPERATURA - EN5

Por forma a avaliar a robustez da enzima a condições mais elevadas de pH e temperatura, tendo em conta as condições industriais dos estágios D e/ou P anteriores e posteriores a um possível tratamento enzimático, efetuou-se uma exploração mais completa por alteração daquelas variáveis para 80 e 85°C e pH de 8 e 8,5 (EN5_8, EN5_9, EN5_10 e EN5_11), para t=60 minutos e carga de 0,05% *odp*. Na Figura 31 a) a c) estão apresentados todos os ensaios realizados para a enzima EN5.

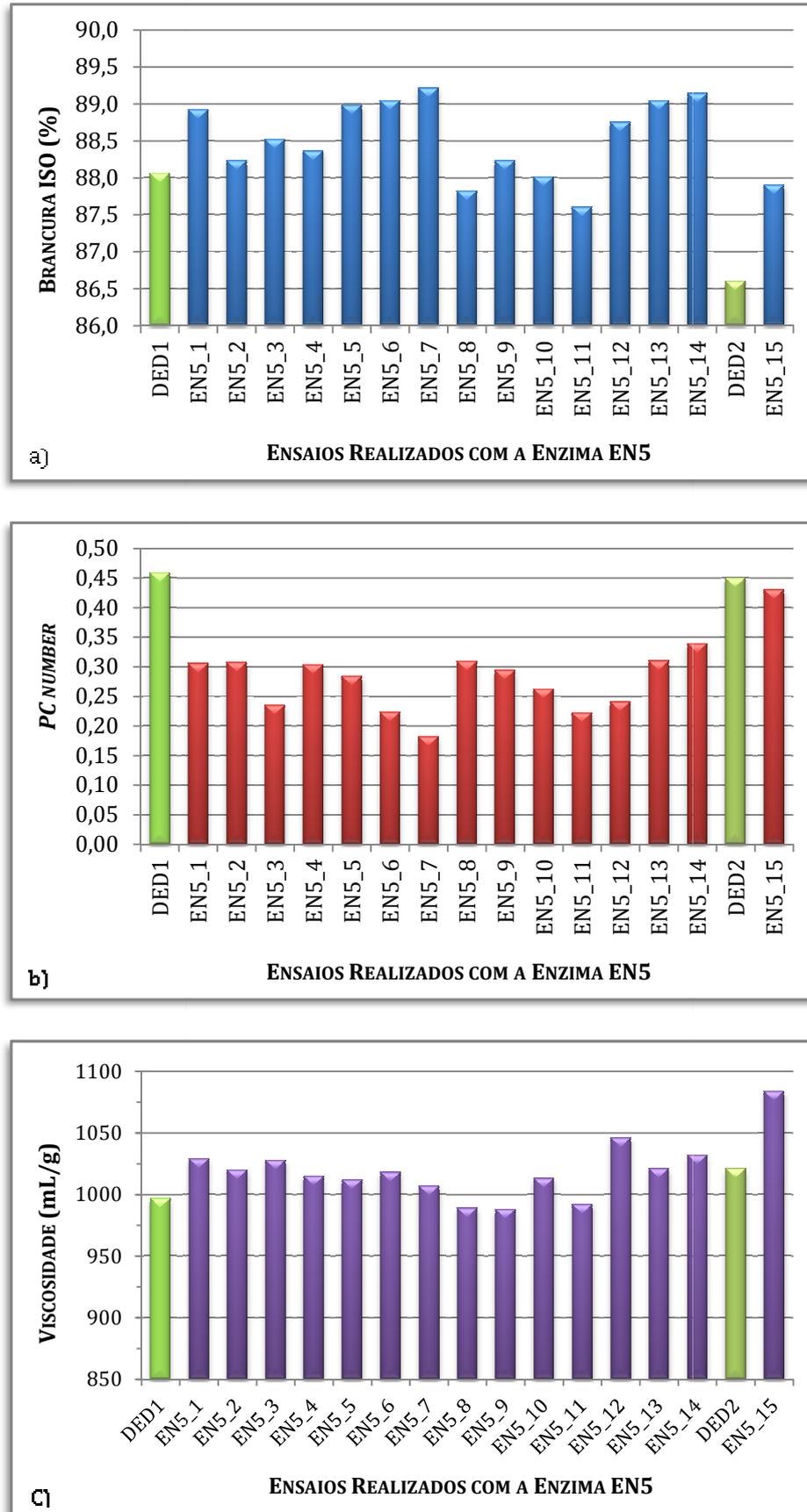


FIGURA 31: Resultados obtidos após tratamento das pastas DED1 e DED2 com a solução enzimática EN4: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.4)

Como se pode rapidamente concluir as novas condições testadas não se mostraram favoráveis ao aumento do ganho de brancura da pasta. É notório que se obtiveram valores de brancura mais baixos que os anteriormente alcançados e alguns até mesmo inferiores à da pasta inicial, embora se consiga maior estabilidade da brancura.

Explorou-se ainda outros pares de valores nos ensaios EN5_13 e EN5_14, pH=6 e T=70°C, pH=7 e T=60°C, respetivamente, tendo-se obtido brancuras próximas do melhor ensaio até aqui, EN5_6. Contudo, obteve-se uma maior reversão da brancura o que leva à rejeição destas condições operatórias.

Para posterior avaliação de estágios de branqueamento com H₂O₂ e ClO₂ considerou-se então as condições do ensaio EN5_6. O ensaio EN5_15 foi desenvolvido nas mesmas condições que o ensaio EN5_6 mas foi aplicado à pasta DED2. Apesar desta pasta ser diferente, o elevado ganho de brancura atingido permite confirmar que as condições utilizadas para o seu tratamento com a solução enzimática EN5 (carga=0,05% *odp*; t=60min; pH=7 e T=70°C) foram bem selecionadas. Adicionalmente, ao contrário do que sucedeu com a ação das enzimas EN2, EN3 e EN4 nesta pasta, observou-se uma diminuição do *PC number*

7.5 COMPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES ENZIMÁTICAS

Nesta secção faz-se uma comparação da ação das quatro soluções enzimáticas estudadas sobre as pastas DED, principalmente em termos de desenvolvimento de brancura e sua reversão. Para tal, selecionaram-se os ensaios onde se aplicaram as condições operatórias que se consideraram ser mais adequadas ao longo da discussão apresentada nas seções anteriores. Além disso, dado que a atividade enzimática das soluções originais era muito variável, selecionaram-se, para esta comparação, os ensaios com valores de atividade semelhantes (U/g *odp*) (Tabela 15).

TABELA 15: Comparação dos resultados obtidos com as várias soluções enzimáticas aplicadas às pastas DED1 e DED2, nas melhores condições de operação e semelhante atividade.

ENSAIO	ATIVIDADE (U/mL solução enzimática)	DOSAGEM (% <i>odp</i>)	ATIVIDADE DO ENSAIO (U/g <i>odp</i>)	BRANCURA ISO (%)	GANHO DE BRANCURA	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED1	-	-	-	88,1	-	0,46	997
EN4_15	3200	0,15	4,5	88,1	0	0,36	1019
EN5_6	10000	0,05	4,9	89,0	0,9	0,22	1018
DED2	-	-	-	86,6	-	0,45	1021
EN2_15	2560	0,08	2,0	87,7	1,1	0,51	1067
EN3_17	2420	0,085	2,0	87,7	1,1	0,42	1082
EN4_16	3200	0,15	4,5	87,8	1,2	0,47	1052
EN5_15	10000	0,05	4,9	87,9	1,3	0,43	1084

Pelos resultados evidenciados na Tabela 15, para a pasta DED1, conclui-se que a enzima EN5 é mais eficaz que a EN4 uma vez que, para uma atividade semelhante (4,5-4,9 U/g odp), a primeira permite maior ganho de brancura e menor reversão. Já na pasta DED2 as enzimas EN4 e EN5 conduzem a resultados semelhantes, embora se consiga um melhor conjunto de resultados (brancura e estabilidade) para a solução enzimática EN5. As diferenças entre os ensaios da mesma solução enzimática aplicada a pastas distintas, DED1 e DED2, podem ser atribuídos à composição da segunda pasta que é mais rica em grupos cromóforos, pelo que a ação das enzimas se torna facilitada no que ao ganho de brancura diz respeito. Na pasta DED1, onde parte desses cromóforos foram removidos pelo dióxido de cloro, a enzima EN4 tem mais dificuldade em hidrolisar a parte das xilanas que contêm os cromóforos residuais e que possivelmente serão também de mais difícil acesso.

No caso das xilanases EN2 e EN3, em que foi aplicada a mesma atividade na pasta DED2 (2 U/g odp), obteve-se o mesmo ganho de brancura, embora a EN3 proporcione, como desejado, uma maior estabilidade da brancura (menor *PC number*). Comparando agora estes resultados com os obtidos para as enzimas EN4 e EN5 na mesma pasta, onde foram aplicadas dosagens mais elevadas (4,5-4,9 U/g odp) conclui-se que as soluções enzimáticas EN2 e EN3 são as mais eficazes (sendo a EN3 a melhor entre elas) pois dão origem a pastas com idêntica brancura com menos unidades de atividade.

O aumento consistente na viscosidade em relação às pastas originais (DED1 e DED2) confirma a ação das xilanases na remoção de parte dos xilo-oligossacarídeos de menor peso molecular, fazendo aumentar a proporção de celulose.

7.6 BRANQUEAMENTO DA PASTA ORIGINAL COM H₂O₂ (DEDP) E ClO₂ (DEDD)

Para avaliar a possível mais-valia do tratamento enzimático (X) é essencial ter conhecimento do efeito da inclusão deste estágio na sequência vulgar de branqueamento na pasta original. Assim, para construir as curvas de branqueamento, aplicaram-se várias cargas, tanto de peróxido (para a sequência DEDP) como de dióxido de cloro (para a sequência DEDD), à pasta DED2, detentora de uma brancura inicial de 86,6% ISO. É de salientar que a carga nos estágios de dióxido de cloro é geralmente convertida na base de cloro ativo, conforme explicado na secção experimental. A Figura 32 a) a c) ilustra os resultados obtidos, podendo ser visualizado no Anexo C.5 as condições de todos os ensaios.

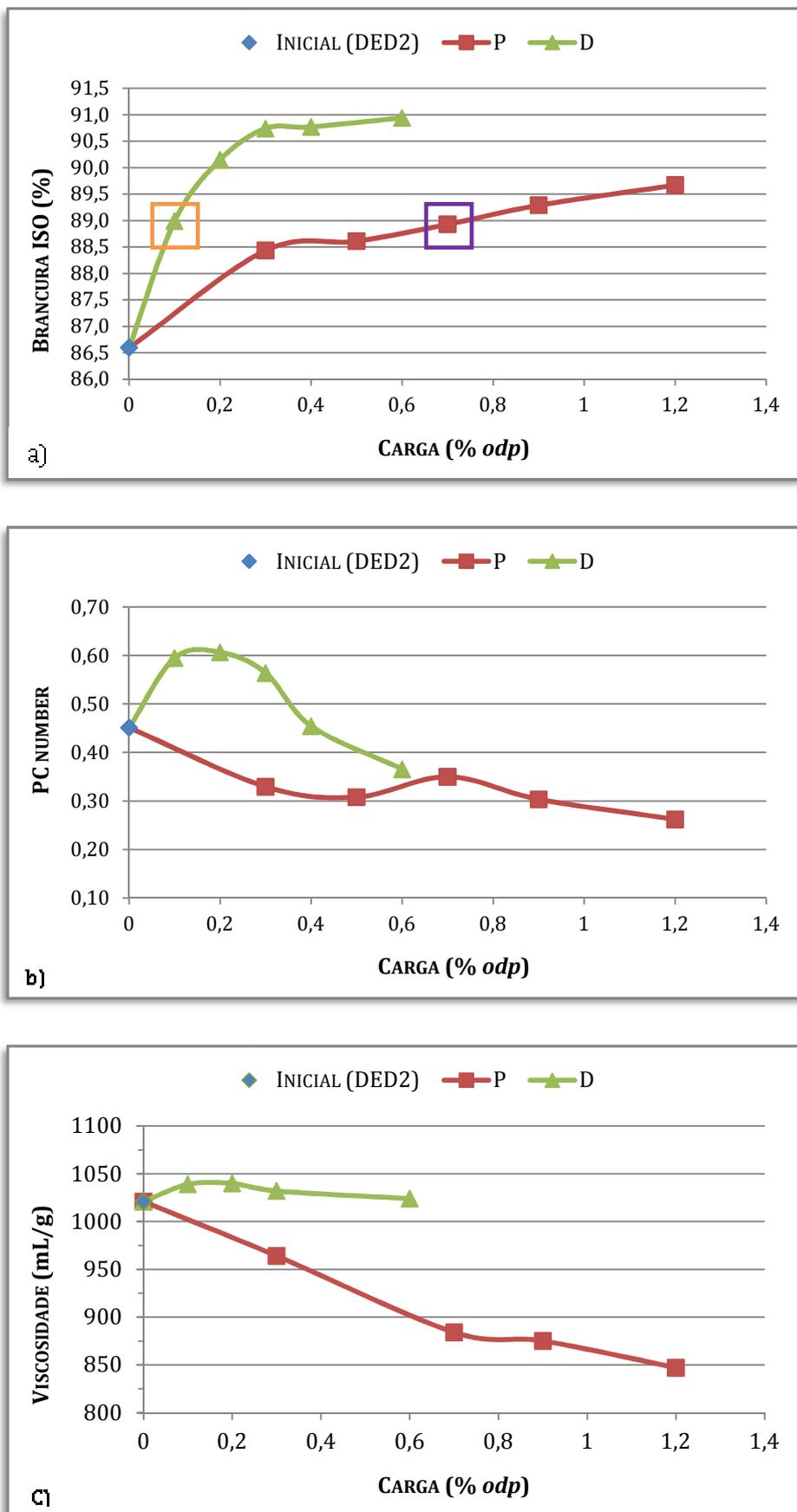


FIGURA 32: Resultados obtidos após o branqueamento da pasta DED2 com peróxido de hidrogénio e dióxido de cloro (como cloro ativo): a) Brancura; b) PC number; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.5)

Como seria expectável observa-se na Figura 32 a) um ganho notório de brancura para os dois agentes de branqueamento. Ambos os reagentes provocam um aumento da brancura da pasta com a incrementação da carga. Porém, tal não se verifica indefinidamente. Para as cargas mais elevadas o aumento da brancura é mais ténue, mostrando tendência para estabilizar. Também nesta figura, o peróxido de hidrogénio revela a sua menor eficiência comparativamente ao dióxido de cloro, explicando assim a extensa utilização deste último nas sequências industriais de branqueamento, apesar do seu custo mais elevado. De facto, para atingir a mesma brancura é inevitável aplicar uma quantidade muito maior de H_2O_2 . Por exemplo, podem ser comparados dois ensaios com brancura final muito próxima, assinalados na Figura 32 a): o (DED)P3 e o (DED)D1 com uma brancura ISO de 88,9 - 89,0%, respetivamente, Foi necessário aplicar uma carga de 0,7% *odp* de peróxido de hidrogénio, enquanto que, de dióxido de cloro é suficiente uma carga de 0,1% *odp* (como cloro ativo).

Partindo de uma pasta com 86,5% de brancura ISO torna-se evidente que não será economicamente (e tecnicamente) viável utilizar peróxido de hidrogénio para se conseguir obter o valor de brancura desejado para comercialização de pasta de mercado de elevada qualidade (geralmente > 90% ISO). De facto, foi já demonstrado por Carvalho *et al.* (2008) a necessidade de uma brancura mínima de 87,5% na pasta à entrada de um estágio com peróxido de hidrogénio para que se tire o máximo partido da ação deste reagente e ao mesmo tempo a obtenção do valor de brancura final objetivo.

Neste estudo está também patente um dos motivos pelo qual o peróxido de hidrogénio tem sido, cada vez mais, introduzido em sequências de branqueamento. Efetivamente, este agente químico proporciona uma maior estabilidade da brancura, pelo que os ensaios nos quais foi aplicado apresentam menor *PC number*, ou seja, menor reversão de brancura (Figura 32b)). Embora os resultados permitam afirmar que o H_2O_2 é mais eficiente na remoção dos grupos potencialmente cromóforos da pasta, este reagente é, por outro lado, mais prejudicial para os polissacarídeos provocando uma maior degradação da celulose (menor viscosidade).

Estes resultados corroboram os de trabalhos anteriormente desenvolvidos, nomeadamente de Sousa (2012) e Loureiro *et al.* (2010), nos quais os estágios de peróxido de hidrogénio e de dióxido de cloro mostraram a mesma tendência de comportamento que aqui foi exposto.

7.7 EFEITO DO TRATAMENTO ENZIMÁTICO NO BRANQUEAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO (COMPARAÇÃO ENTRE PASTAS DEDP E DEDXP)

A pasta DED2 foi tratada com as soluções enzimáticas EN2 e EN5 antes de ser aplicado um estágio com peróxido de hidrogénio. O efeito do tratamento enzimático pode ser avaliado pela comparação entre os resultados obtidos (Figura 33) nas pastas DEDP e DEDXP.

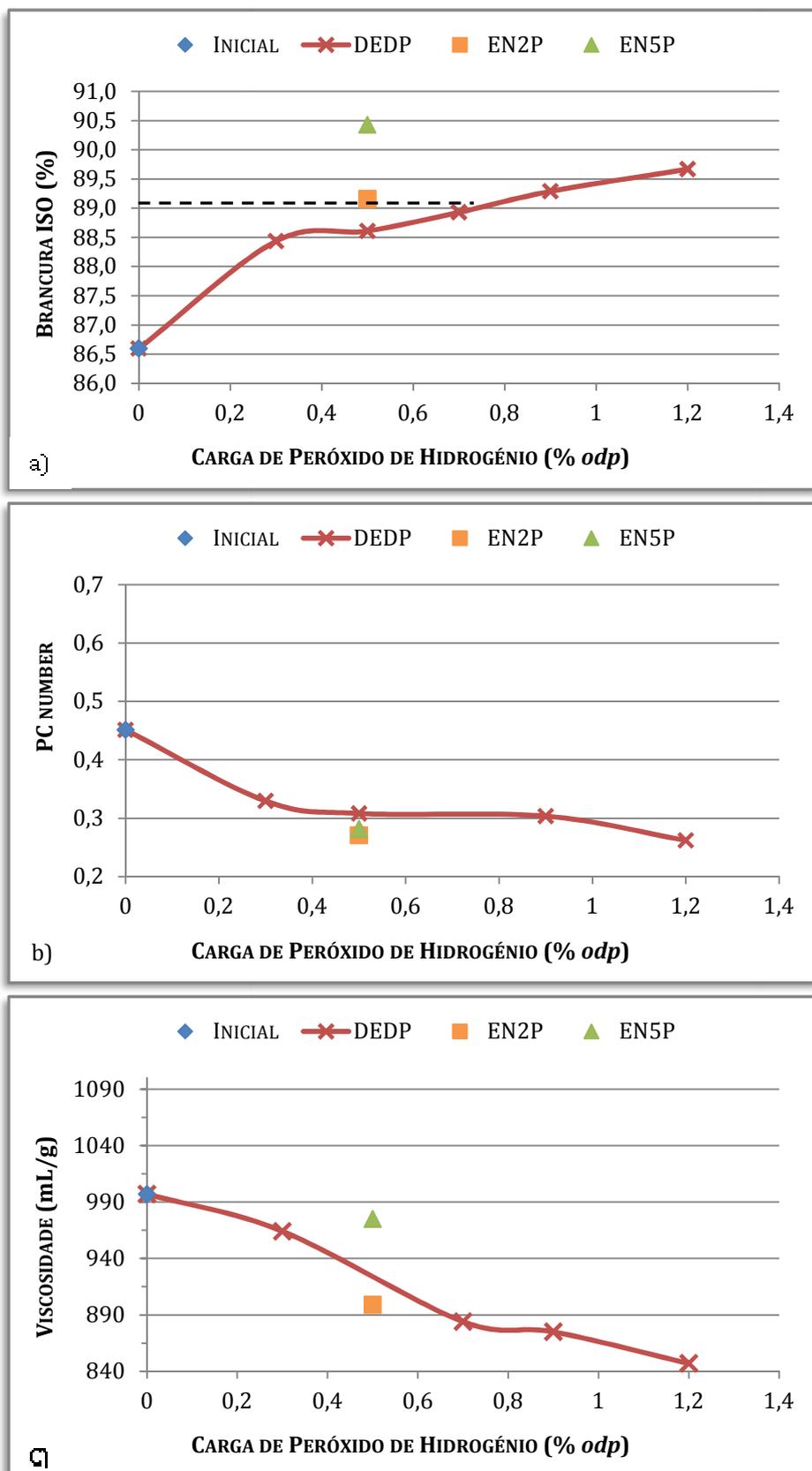


FIGURA 33: Resultados obtidos após o branqueamento da pasta DED2 com peróxido de hidrogênio com ou sem pré-tratamento enzimático com as enzimas EN2 e EN5: a) Brancura; b) PC number; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.6)

Pela Figura 33 a) observa-se, a título exemplificativo, que para uma brancura aproximada de 89% ISO é necessário aplicar uma menor carga de peróxido de hidrogénio (0,5% *odp*) à pasta DEDX pré-tratada com a enzima EN2 (EN2P) do que à pasta original DED (0,8% *odp*) – sequência DEDP. Neste caso, obteve-se uma poupança de 0,3% *odp* de reagente em valores absolutos ou 38% em valores relativos. O facto das soluções enzimáticas conduzirem a uma poupança de reagente, não significa necessariamente que a sequência que inclui o tratamento enzimático é menos dispendiosa. Para se fazer essa análise económica é necessário ter em consideração a quantidade de reagente e de enzima aplicados, bem como o respetivo custo.

Para a outra solução enzimática representada (EN5) o uso de menor carga de reagente é ainda mais evidente, tendo sido apenas aplicada uma carga de 0,5% *odp* para uma brancura final de 90,4%. No caso da sequência DEDP a carga máxima testada permitiu atingir apenas uma brancura ISO aproximada de 89,7%, valor distante da conseguida com EN5P.

No caso da reversão da brancura, também se confirma o benefício do tratamento enzimático no aumento da estabilidade da brancura, Figura 33 b), sendo o *PC number* dos ensaios contendo tratamento com xilanase inferior ao da pasta DEDP. Ao promover a remoção de grupos responsáveis pela reversão de brancura, associados à xilana, consegue-se aumentar a estabilidade da brancura. Em termos de viscosidade (Figura 33 c)) o tratamento enzimático permite que esta propriedade não tenha um decréscimo tão acentuado, quando se compara os resultados para a mesma brancura final.

7.8 EFEITO DO TRATAMENTO ENZIMÁTICO NO BRANQUEAMENTO COM DIÓXIDO DE CLORO (COMPARAÇÃO ENTRE PASTAS DEDD E DEDXD)

Similarmente, procedeu-se à avaliação do efeito do tratamento enzimático não só na evolução de brancura no estágio final com dióxido de cloro mas também na poupança deste reagente, na estabilidade da brancura e na viscosidade, comparando as sequências DEDD e DEDXD - Figura 34 a) a c).

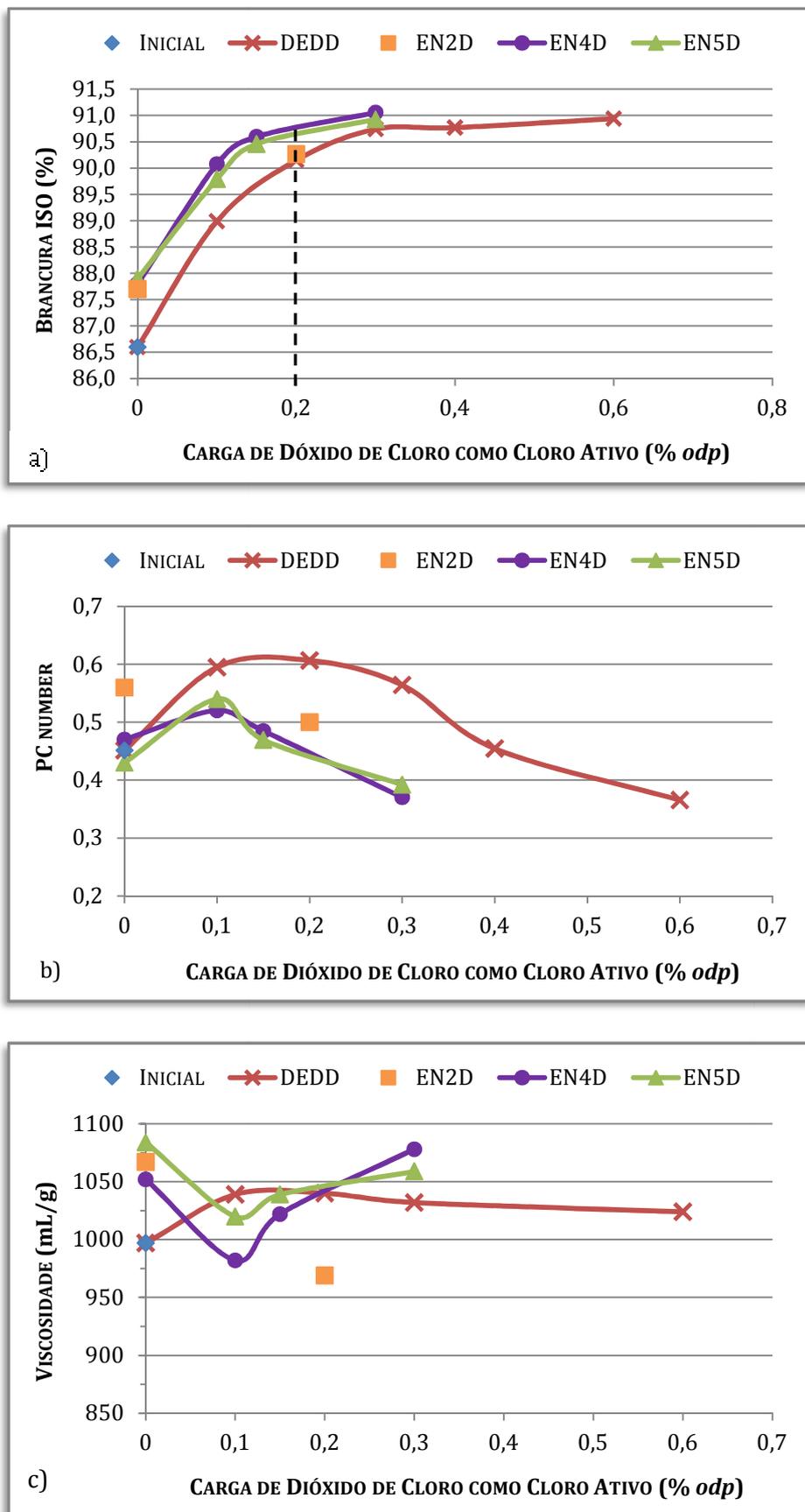


FIGURA 34: Resultados obtidos após o branqueamento da pasta DED2 com dióxido de cloro com ou sem pré-tratamento enzimático com as enzimas EN2, EN4 e EN5: a) Brancura; b) *PC number*; c) Viscosidade. (informação completa no Anexo C.7)

Analogamente ao que se verificou para o peróxido de hidrogénio, também com o dióxido de cloro é necessário uma menor carga num estágio final quando previamente foi aplicado um estágio enzimático (pasta DEDXD). É visível na Figura 34 a) que, p.e., para uma carga de ClO_2 de 0,2% *odp* se atinge uma maior brancura com a sequência DEDXD do que com DEDD. Este resultado já era esperado, sendo consequência do fenómeno do branqueamento direto da pasta após o tratamento enzimático, que faz com que DEDXD passe a possuir maior brancura que DED.

Além disso, o tratamento enzimático volta, uma vez mais, a aumentar a estabilidade da brancura, sendo a *PC number* da sequência DEDXD sempre inferior à sequência DEDD (Figura 34 b)). Para esta pasta DED2, a ação do dióxido de cloro faz aumentar a viscosidade independentemente do prévio tratamento com xilanase – Figura 34 c). Este aumento indicia que, mesmo no estágio D, há alguma remoção de polímeros de menor peso molecular sendo maior a contribuição da celulose (de maior peso molecular) para o valor da viscosidade.

Na Figura 34 a) é possível também contabilizar a poupança de reagente que se obtém com a aplicação de um pré-tratamento enzimático. As consequências não se refletem apenas no menor impacte ambiental do reagente clorado mas também na maior estabilidade da pasta e no menor custo de branqueamento. Contudo, é necessário também contabilizar o custo da solução enzimática.

Para uma melhor noção da viabilidade económica das sequências que incluem o tratamento enzimático aconselha-se a leitura da tese de dissertação que foi elaborada em paralelo a esta por Esteves (2013), onde se avalia o custo envolvido nas sequências DEDXD e DEDXP, por comparação com sequências comuns de branqueamento DEDD e DEDP. De acordo com os resultados apuraram-se os ensaios com brancura semelhante e próxima a 90% ISO, valor requerido para papéis de impressão e escrita.

PARTE IV

8. CONCLUSÕES

9. SUGESTÕES DE TRABALHO FUTURO

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOGRAFIA ELETRÔNICA

8. CONCLUSÕES

A aplicação de biotratamentos com xilanases na indústria de pasta e de papel tem como finalidade a hidrólise das xilanas constituintes da pasta. Através da sua remoção, grupos cromóforos a si ligados são igualmente removidos, promovendo-se o aumento da estabilidade da brancura, uma das principais propriedades papeleiras desejadas em papéis de impressão e escrita.

Fazendo-se uso de duas amostras de pasta semi-branqueadas, DED1 e DED2, com brancura ISO inicial de 88,1% (*PC number*=0,46) e 86,6% (*PC number*=0,45), respetivamente, analisou-se e otimizou-se a ação de quatro soluções enzimáticas: EN2, EN3, EN4 e EN5.

Para as xilanases EN2 e EN3, dada a escassa informação, optou-se por desenvolver um planeamento de experiências fatorial do tipo 2^k , tendo sido completado com ensaios adicionais para um conhecimento mais detalhado.

A EN2 não conseguiu produzir brancura superior à inicial com a carga mais baixa de 0,01% *odp*, tendo sido a carga de 0,09% *odp* a mais favorável, segundo o planeamento experimental, com as restantes condições de: $t=60\text{min}$; $\text{pH}=6$ e $T=60^\circ\text{C}$. Examinando todos os resultados, as condições eleitas para esta enzima foram: $\text{pH } 6$, 70°C , 60 min , 0,09% *odp* de xilanase que produziu uma brancura ISO de 89,6% e *PC number* de 0,29, usando a amostra de pasta DED1.

Para a xilanase EN3, com comportamento semelhante à anterior, foi conseguida a melhor brancura para $\text{pH } 7$, 70°C e 0,09% *odp* com brancura ISO final de 88,8% e *PC number* igual a 0,30. Verificou-se, ainda, que esta xilanase apresentava uma ação semelhante para $\text{pH } 6$ e 60°C , denotando uma maior versatilidade.

Relativamente à solução enzimática EN4 estudou-se o efeito do tempo de contato da pasta com a xilanase, bem como o da dosagem ótima, tendo-se obtido como melhores condições o tempo de 60 min e a carga de 0,15% *odp*. De acordo com os resultados, suspeita-se que esta enzima seja de origem fúngica, uma vez que apenas produziu uma resposta positiva aquando da aplicação de pH e temperatura mais baixas. Assim, para a solução enzimática EN4 selecionou-se como melhor conjunto de brancura produzida e sua reversão o referente ao ensaio EN4_15 ($\text{pH } 5$, 50°C , 60min e 0,15% *odp*) que levaram a uma brancura ISO final de 88,1% e *PC number* de 0,36.

A solução enzimática EN5 respondeu, tal como as duas primeiras soluções, para gamas de condições operatórias próprias de xilanases de origem bacteriana (pH e temperatura mais elevada). De forma semelhante à EN4, também com a EN5 o estudo do efeito do tempo levou à conclusão de que 60min é o tempo ideal de contato entre a pasta e a enzima. Relativamente ao efeito da carga averiguou-se que 0,05% *odp* seria suficiente para elevar a brancura da pasta, diminuindo, como desejável, a sua reversão, comparativamente à pasta inicial.

O melhor ensaio (EN5_15) produziu uma brancura ISO de 87,9% e *PC number* 0,43 (com a pasta DED2) correspondente às condições: carga=0,05% *odp*; t=60min; pH=7 e T=70°C. Para a inclusão em sequências de branqueamento, nomeadamente para o estudo da aplicação de um estágio P ou D posterior teve-se em conta estas melhores condições estudadas.

No subcapítulo de comparação das enzimas, para a pasta DED1, EN5 apresenta-se mais eficaz que EN4, dado que, para a mesma atividade, se obtém uma maior brancura e menor reversão. Na pasta DED2, as duas xilanases apresentam comportamento idêntico, embora EN5 volte a ser um pouco superior quanto aos resultados pretendidos.

No caso das duas xilanases experimentais (EN2 e EN3), para a mesma atividade, a solução enzimática EN3 assume-se mais eficaz no que concerne ao aumento da brancura e diminuição da sua reversão.

Comparando, na generalidade, todas as soluções enzimáticas (usando a pasta DED2), EN3 é que se mostra mais vantajosa, sendo necessário menos unidades de atividade por unidade de massa de pasta para atingir a mesma brancura, produzindo-se uma maior estabilidade da brancura final.

Tal como já tinha sido concluído por diversos estudos publicados, também este estudo revela que o branqueamento com dióxido de cloro (DEDD) é mais eficiente na elevação da brancura inicial do que com peróxido de hidrogénio (DEDP). Aliando ao facto de ser necessário uma menor carga de reagente, é, por estes motivos, que o ClO₂ continua atualmente a ser o reagente de branqueamento de eleição quando se pretende produzir pasta com elevada brancura. No entanto, o H₂O₂ é, por parte de algumas indústrias papeleiras, um reagente adotado na sequência de branqueamento por proporcionar um aumento da estabilidade da brancura.

Da comparação das pastas DEDP e DEDXP infere-se que a sequência que inclui o pré-tratamento enzimático exige uma menor quantidade de agente de branqueamento para atingir a mesma brancura final. Além da poupança de reagente, ainda se observa a efetiva contribuição do peróxido de hidrogénio no aumento da estabilidade de brancura. Também para as sequências DEDD e DEDXD se alcançou uma poupança de dióxido de cloro quando se incluiu o pré-tratamento enzimático. Igualmente se averiguou o contributo positivo do tratamento enzimático na diminuição da reversão de brancura apresentando as sequências DEDXD, em geral, *menor PC number* que a sequência DEDD. No que respeita à viscosidade, ambas as sequências originaram uma maior viscosidade final, indicativo da remoção de polímeros de menor peso molecular, com consequente aumento da fração de celulose.

Do ponto de vista industrial, hoje-em-dia, não é apenas importante o custo, focando-se também a qualidade do produto final. É nestes aspetos que o tratamento enzimático pode oferecer a sua vantajosa contribuição ao diminuir a reversão de brancura. Adicionalmente há uma propensão para o aumento de brancura e uma diminuição, como

se constatou, do consumo de reagentes de branqueamento em estágio subsequente. Assim, no caso do dióxido de cloro, proporciona-se ainda uma melhoria a nível ambiental com menor produção de efluentes com compostos organoclorados.

Globalmente, pode afirmar-se que os objetivos principais propostos inicialmente foram todos atingidos.

9. SUGESTÕES DE TRABALHO FUTURO

- Aplicação de um estágio final de branqueamento com peróxido de hidrogénio às condições otimizadas das xilanases EN4 e EN3 e, nesta última, também um estágio final com dióxido de cloro, a fim de avaliar a brancura ISO e a sua reversão nestas condições;
- Analisar e quantificar os grupos cromóforos presentes nas pastas DEDXP e DEDXD;
- Estudo da influência da história da pasta no modo de atuação das xilanases, nomeadamente na reversão de brancura, procedendo-se à recolha de pastas em diferentes unidades industriais;
- Incorporação de mais do que um tratamento enzimático em locais diferentes da sequência de branqueamento, por forma a verificar-se se existe melhoria significativa da brancura ISO final, mas especialmente da reversão de brancura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO**, Ana Catarina Rodrigues, (2010) "*Avaliação da influência de um estágio D_{HT} na branqueabilidade das pastas de *E. globulus**", Tese de Mestrado Integrado em Engenharia Química, Universidade de Aveiro;
- ATIK**, Celil; Imamoglu, Sami; Bermek, Hakan, (2006) "*Impact of xylanase pre-treatment on peroxide bleaching stage of biokraft pulp*", International Biodeterioration & Biodegradation, Volume n.º58: pág. 22-26;
- BAJPAI**, Pratima; Bajpai, Pramod K., (1997) "*Realities and Trends in Enzymatic Prebleaching of Kraft Pulp*", em Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, Managing Editor: T. Schepper, Springer-Verlag, Berlin, Volume n.º56: pág. 1-31;
- BASTOS**, M. M. M., (1999) "*Efeito da sulfidez em algumas características de pastas kraft de *E. globulus**", Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra;
- BEG**, Q. K.; Kapoor, M.; Mahajan, L.; Hoondal, G. S., (2001) "*Microbial xylanases and their industrial applications: a review*", Appl Microbiol Biotechnol, Volume n.º 56: pág. 326-338;
- BOX**, George E. P.; Hunter, J. Stuart; Hunter, William G., (2005) "*Statistics for experimenters: Design, Innovation, and Discovery*", 2ª Edição, John Wiley and Sons;
- BUCHERT**, Johanna; Teleman, Anita; Harjunpää, Vesa; Tenkanen, Maija; Viikari, Liisa; Vuorinen, Tapani, (1995) "*Effect of cooking and bleaching on the structure of xylan in conventional pine kraft pulp*", TAPPI Journal, Volume n.º 78(11): pág. 125-130;
- CARREIRA**, Hélio, (2009) "*Redução de grupos cromóforos responsáveis pela cor da pasta kraft*", Tese de Mestrado Integrado em Engenharia Química, Universidade de Aveiro;
- CARVALHO**, Maria da Graça, (1999) "*Efeito das variáveis de cozimento nas características químicas de pastas kraft de *Eucalyptus globulus**", Tese de Doutoramento em Engenharia Química, Universidade de Coimbra;
- CARVALHO**, Maria da Graça; Loureiro, Pedro; Evtuguin, Dmitry V., (2008) "*Utilização de Peróxido de Hidrogénio no estágio final do branqueamento ECF de pastas Kraft de *Eucalyptus globulus* – Estudo de optimização*", V Congreso Iberoamericano de Investigación en Celulosa y Papel, Universidad de Guadalajara, Mexico;
- CARVALHO**, Maria da Graça; Carvalho, N.M.V; Loureiro, Pedro, (2008) "*Performance of a Final Hydrogen Peroxide Stage in the ECF Bleaching of *Eucalypt D₀E_{0p}D₁* Kraft Pulps*", TAPPI Journal, Volume n.º7(8): pág. 8-13;
- CELPA**, "*Boletim Estatístico da Celpa 2011*"
Disponível em www.celpa.pt, consultado a 18 de Outubro de 2012;
- CAMPOS**, Marco A., (2005) "*Aplicação de Peróxido de Hidrogénio no Branqueamento Final de Pastas Kraft de *Eucalipto**", Relatório de Seminário, Universidade de Coimbra: FCTUC-DEQ;
- COSTA**, Marcelo; Oliveira, Maria José de; Santos, Carlos A.; Filho, César Leporini, (2003) "*Efeito do fator kappa na estabilidade de alvura de polpas kraft branqueada de *Eucalyptus spp.**",

trabalho apresentado no 1st Colloquium International on *Eucalyptus Kraft Pulp*, UFV, 4-5 Setembro de 2003;

COLODETTE, Jorge L.; Del'Antônio, Nelson R. N.; Azevedo, Marco Antônio B.; Eiras, Kátia M. M.; Jameel, Hassan, "*Status and Trends on Eucalyptus Pulp Bleaching*", Pulp & Paper Laboratory, Federal University of Viçosa, Brazil;

COLODETTE, Jorge Luiz; Rothenberg, S., & Dence, C. W. (1988) "*Factors Affecting Hydrogen Peroxide Stability in the Brightening of Mechanical and Chemimechanical Pulps*" Part I: Hydrogen Peroxide Stability in the Absence of Stabilizing Systems, Journal of Pulp and Paper Science, Volume 14 n^o. 6: pág. 126-132;

DAMIANO, Valquíria Barco; Silva, Roberto, (2003) "*Aplicação de xilanase termoestável do Bacillus licheniformis 77-2 a pasta kraft de eucalipto*", Revista UNORP, Volume n^o 3(2): pág. 41-47;

DANIELSSON, Sverker; Kisara, Koki; Lindström, Mikael E., (2006) "*Kinetic Study of Hexenuronic and Methylglucuronic Acid Reactions in Pulp and in Dissolved Xylan during Kraft Pulping of Hardwood*", Ind. Eng. Chem. Res, Volume n^o45: pág. 2174-2178;

DENCE, Carlton W.; Reeve, Douglas W., (1996) "*Pulp Bleaching: Principles and Practice*", Atlanta, Georgia: Tappi Press;

DHIMAN, Saurabh Sudha; Sharma, Jitender; Battan, Bindu, (2008) "*Industrial applications and future prospects of microbial xilanases: a review*", BioResources, Volume n^o3(4): pág. 1377-1302;

EMSLEY, Alan M.; Heywood, Richard J., (1997) "*On the Kinetics of Degradation of Cellulose*", Cellulose, Volume n^o 4: pág. 1-5;

EVTUGUIN, Dmitry; Tomás, Jorge; Silva, Artur; Pascoal, Neto, (2003) "*Characterization of an acetylated heteroxylan from Eucalyptus globulus Labill*", Carbohydrate Research, Volume n^o338(7): pág. 597-604;

ESTEVES, Cláudia, (2013) "*Efeito da aplicação de xilanases na redução do consumo de reagentes no branqueamento de pastas kraft de eucalipto*", Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade de Coimbra;

FERREIRA, Paulo Jorge Tavares, (2000) "*Estudos de pastas kraft de eucalyptus globulus: Características estruturais e aptidão papeleira*", Tese de Doutorado em Engenharia Química, Universidade de Coimbra;

FILLAT, Ursula; Roncero, M. Blanca; Bassa, Alexandre; Sacón, Vera Maria, (2012) "*Effect of commercial xylanases applied at extreme conditions in a eucalyptus pulp mill*", Tappi Journal, Volume n^o11(10);

FOELKEL, Celso, (1997) "*Qualidade da madeira de eucalipto para atendimento das exigências do mercado de celulose e papel*", Conferência IUFRO sobre Silvicultura e Melhoramento de Eucaliptos, Anais, pág. 15-22;

GHATORA, Sonia K.; Chadha, Bhupinder S.; Badhan, A. K.; Saini, H. S.; Bhat, M. K., (2006) "*Identification and characterization of diverse xilanases from thermophilic and thermotolerant fungi*", BioResources, Volume n^o 1(1): pág. 18-33;

- GHOSE**, T. K.; Bisaria, V.S., (1987) "*Measurement of hemicelulase activities part 1: xylanases*", Pure & Appl. Chem., Volume n.º59(12): pág. 1739-1752;
- HAMMEL**, K.E., (1997) "*2 Fungal Degradation of Lignin*", Cab International Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition, Editado por G. Cadisch e K.E. Giller;
- HART**, Peter W.; Sharp, Harry F., (2005) "*Statistical determination of the effects of enzymes on bleached pulp yield*", Tappi Journal, Volume n.º4(8);
- HENRIQUE**, Paulo Molinar; Costa, Marcelo Moreira; Correia, Flávio Marcelo; Fonseca, Maria José Oliveira; Santos, Jorge Roberto Cardoso; Landim, Alexandre Brandão, (2000) "*Peróxido de Hidrogénio em Planta de Branqueamento ECF: A Experiência Industrial da Ceniba*", ABTCP-TAPPI, Congresso Internacional de Celulose e Papel, São Paulo, Brazil;
- HENRISSAT**, Bernard, (1994) "*Cellulases and their interaction with cellulose*", Cellulose, Volume n.º 1: pág. 169-196;
- HON**, David N.-S.; Minemura, Nobuya, (2000) Capítulo 9: "*Color and Discoloration*" em "*Wood and Cellulosic Chemistry*", Second edition, revised and expanded, Editado por David N.-S. Hon e Nobuo Shiraishi, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel;
- INE**, (2012) "*Estatísticas da Produção Industrial 2011*", Lisboa;
- JOHANSSON**, Dan, (2008) "*Carbohydrate degradation and dissolution during Kraft cooking*", Faculty of Technology and Science Chemical Engineering, Karlstad University Studies;
- JUNIOR**, Agenor Furigo, (2001) "*Enzimas e suas aplicações, cinética enzimática*", Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis;
- KO**, Chun-Han; Lin, Zi-Ping; Tu, Jenn; Tsai, Chung-Hung; Liu, Chia-Chen; Chen, Hsin-Tai; Wang, Tzu-Pin, (2010), "*Xynlanase production by Paenibacillus campinasensis BL11 and its pretreatment of hardwood kraft pulp bleaching*", International Biodeterioration e Biodegradation, Volume n.º64: pág. 13-19;
- KULKARNI**, Neeta; Shendye, Abhay; Rao, Mala, (1999) "*Molecular and biotechnological aspects of xylanases*", FEMS Microbiology Reviews, Volume n.º 23(4): pág. 411-456;
- LAPIERRE**, L.; Bouchard, J.; Berry, R. M.; Van Lierop, B., (1995) "*Chelation Prior to Hydrogen Peroxide Bleaching of Kraft Pulps: An Overview*", Journal of Pulp and Paper Science, Volume n.º21(8): pág. 268-273;
- LI**, Xiuting; Sun, Baoguo; Zhao, Jin; Lv, Yuegang; Song, Hongxia; Li, E.; Zhu, Yunping, (2011) "*Production and improved bleaching abilities of a thermostable xylanase from a newly isolated Streptomyces chartreusis strain*", African Journal of Biotechnology, Volume n.º 10(64): pág. 14132-14142;
- LINHARES**, Filipa Isabel Martins, (2008) "*Industria de celulose, pré engenharia de um parque de madeiras*", Tese de Mestrado em Engenharia Química, Universidade de Aveiro;
- LOUREIRO**, P., Fernandes, A., Carvalho, M. G., Evtuguin, D., (2010) "*The assessment of chromophores in bleached cellulosic pulps employing UV-Raman spectroscopy*", Carbohyd. Res., Volume n.º 345(10): pág. 1442-1451;
- LOUREIRO**, Pedro E., (2012) "*On the role of xylan in the final bleaching of Eucalyptus globulus kraft pulps*", Tese de Mestrado Integrado em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade de Coimbra;

- McDONOUGH**, Thomas J., "*Kraft Pulp Yield Basics*", Institute of Paper Science and Technology
Disponível em: <http://www.tappi.org/Downloads/Conference-papers/1998/YIE98/YIE9801.aspx>, consultado a 5 de Janeiro de 2013;
- MIMMS**, A., (1993) "*Kraft Pulping: a compilation of notes*", 2ª edição, Tappi Press, Atlanta
Disponível em: <http://www.sefs.washington.edu/classes.pse.476/schedule.htm>, consultado a 3 de Janeiro de 2013;
- MONTGOMERY**, Douglas C., (2009) "*Design and analysis of experiments*", 7ª Edição, John Wiley and Sons, Nova Iorque;
- NETO**, Carlos Pascoal; Evtuguin, Dmitry; Pinto, Paula; Silvestre, Armando; Freire, Carmen, "*Química da madeira de Eucalyptus globulus: especificidades e impacto nos processos de cozimento e de branqueamento*", CICECO e Departamento de Química, Universidade de Aveiro;
- NOVOZYMES**, (2010) "*Enzymes at Work*"
Disponível em www.novozymes.com, consultado a 11 de Janeiro de 2013;
- OLIVEIRA**, Sandra Cristina Tavares, (2010) "*Efeito do tratamento hiperbárico na hidrólise de pasta kraft com xilanase*", Tese de Doutoramento em Engenharia Química, Universidade de Aveiro;
- RICE**, Matthew, (2001) "*New Techniques for Continuous Chemical Analysis in the Pulp&Paper Industry*", Division of Analytical Chemistry, Royal Institute of Technology, Sweden;
- RONCERO**, M. B., Torres, A. L., Colom, J.F., Vidal, T., (2000) "*Effects of xylanase treatment on fibre morphology in totally chlorine free bleaching (TCF) of Eucalyptus pulp*", Process Biochemistry, Volume n.º36: pág. 45-50;
- RONCERO**, M. B., Torres, A. L., Colom, J.F., Vidal, T., (2005) "*The effect of xylanase on lignocellulosic components during the bleaching of wood pulps*", Bioresource Technology, Volume n.º96: pág. 21-30;
- RYDHOLM**, Sven A., (1985) "*Pulping Processes*", John Wiley & Sons, N. Y.;
- SAHA**, Badal C., (2003) "*Hemicellulose bioconversion*", Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, Volume n.º30 (5): pág. 279-291;
- SANTIAGO**, Ana Sofia Vila Mona, (2008) "*Estratégias para o aumento da retenção de polissacarídeos durante a produção de pasta kraft de Eucalyptus globulus*", Tese de Doutoramento em Engenharia Química, Universidade de Aveiro;
- SANTOS**, A. Fernando; Queiróz, José H. de; Colodette, Jorge L.; Fernandes, Sergio A.; Guimarães, Valéria M.; Rezende, Sebastião T., (2012) "*Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol*", Universidade Federal de Viçosa, Brasil, publicado em Química Nova, Volume n.º35(5);
- SAUL**, David J.; Gibbs, Moreland D.; L., Peter, "*Enzymatic bleaching of wood pulp*", IV Forestry E Enzymatic Bleaching
Disponível em: <http://nzic.org.nz/ChemProcesses/forestry/4E.pdf>, consultado a 20 de Janeiro de 2013;

- SÊCO**, Isabel Maria C. L., (2006) *“Reversão da brancura em pastas kraft de Eucalyptus globulus”*, Tese de Mestrado em Processos de Produção de Pasta para Papel, Universidade de Aveiro;
- SENIOR**, David J.; Hamilton, Janice; Bernier, Roger; Manoir, John R. du Manoir, (1992) *“Reduction in chlorine use during bleaching of kraft pulp following xylanase treatment”*, Tappi Journal, Volume n.º75(11): pág. 125-130;
- SHACKFORD**, Lewis D., (2003) *“A comparison of pulping and bleaching of kraft softwood and Eucalyptus pulps”*, 36th International Pulp and Paper Congress and Exhibition, October 13-16, São Paulo, Brazil;
- SHATALOV**, Anatoly A; Pereira, Helena, (2008) *“Effect of xylanases on peroxide bleachability of eucalypt (E. globulus) kraft pulp”*, Biochemical Engineering Journal, Volume n.º40: pág. 19-26;
- SHATALOV**, Anatoly A; Pereira, Helena, (2009) *“Impact of hexenuronic acids on xylanase-aided bio-bleaching of chemical pulps”*, Bioresource Technology, Volume n.º100: pág. 3069-3075;
- SIMEONOVA**, Galya; Sjö Dahl, Ragnar; Ragnar, Martin; Lindstrom, Mikael E.; Henriksson, Gunnar, (2007) *“On the effect of a xylanase post-treatment as a means of reducing the yellowing of bleached hardwood kraft pulp”*, Nord. Pulp and Paper Research Journal, Volume n.º22(2): pág. 172 -176;
- SIQUEIRA**, José Luiz Dutra; Filho, Luiz Leonardo da Silva, *“Branqueamento de polpa kraft de eucalipto – O papel do Peróxido de Hidrogénio”*, Peróxidos do Brasil Ltdª, São Paulo;
- SIXTA**, Herbert, (2006) *“Handbook of pulp”*, Herbert Sixta (eds), John Wiley and Sons, Volume 1 e 2;
- SJÖSTRÖM**, E., (1981) *“Wood Chemistry: fundamentals and applications”*, San Diego, California: Academic Press;
- SOUSA**, Helena Manuela Pala Dias, (2002) *“Aplicação de celulasas e xinalases na reciclagem de fibras de papel”*, Tese de Doutoramento, Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho;
- SOUSA**, Joana I. T., (2012) *“Avaliação de um tratamento redutor e enzimático no branqueamento final de pastas kraft de eucalipto”*, Tese de Mestrado Integrado em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade de Coimbra;
- STEVENS**, Jeff A; Hsieh, Jeffery S., (1997) *“Achieving Maximum Peroxide Bleaching Response Through Proper Selection of pH-A Comparison of Decomposition and Bleaching Reaction Rates”*, Pulping Conference, pág. 765-773;
- SUURNÄKKI**, A.; Tenkanen, M.; Buchert, J.; Viikari, L., (1997) *“Hemicellulases in the bleaching of chemical pulps”*, em Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, Managing Editor: T. Schepper, Springer-Verlag, Berlin, Volume n.º57: pág. 261-287;
- THAKUR**, Vasanta; Jain, Rakesh Kumar; Mathur, Rajeev Mohan, (2012) *“Studies on xylanase and laccase enzymatic prebleaching to reduce chlorine-based chemicals during CEH and ECF bleaching”*, Bioresources, Volume n.º7(2): pág. 2220-2235;
- VALLS**, Cristina; Roncero, M. Blanca, (2009) *“Using both xylanase and laccase enzymes for pulp bleaching”*, Bioresource Technology 100, pág. 2032-2039;

- VICUÑA**, Rafael; Escobar, Fabiola; Osses, Miguel; Jara, Arnoldo, (1997) "*Bleaching of eucalyptus Kraft pulp with commercial xylanases*", Biotechnology Letters, Volume n.º 19(6): pág. 575-578;
- VUORINEN**, Tapini; Fagerstrom, Pirjo; Buchert, Johanna; Tenkanen, Maija; Teleman, Anita, (1999) "*Selective hydrolysis of hexenuronic acid groups and its application in ECF and TCF bleaching of kraft pulps*", Journal of pulp and paper science, Volume n.º25(5): pág. 155-162;
- WONG**, Ken K. Y.; Tan, Larry U. L.; Saddler, John N., (1988) "*Multiplicity of β -1,4-Xylanase in Microorganisms: Functions and Applications*", Microbiological Reviews, Volume n.º52(3): pág. 305-317;
- WONG**, Ken K. Y.; Martin, Lori. A.; Gama, F. Miguel; Saddler, John N.; Jong, Ed de, (1997) "*Bleach Boosting and Direct Brightening by Multiple Xylanase Treatments During Peroxide Bleaching of Kraft Pulps*", Biotechnology and Bioengineering, Volume n.º 54(4): pág. 312-318;
- YANG**, Wen Xiang, (1998) "*Peroxide Decomposition and its effect on Bleaching of a TMP Pulp*", Tese de Mestrado em Engenharia Química, Universidade de New Brunswick.

BIBLIOGRAFIA ELETRÓNICA

URL 1: www.celbi.pt, consultado a 3 de Outubro de 2013;

URL 2: <http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/3280/5/Cap%C3%ADtulo%204.pdf>, consultado a 11 de Janeiro de 2013.

ANEXOS

ANEXO A

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

- A.1** Acerto do pH para Branqueamento com Xilanases
- A.2** Determinação da Concentração de Peróxido de Hidrogénio concentrado
- A.3** Determinação da Concentração de Dióxido de Cloro Inicial e Residual
- A.4** Determinação da Atividade Enzimática das Xilanases
- A.5** Branqueamento - Cálculo das Quantidades de Reagente
- A.6** Determinação da Concentração Residual de Peróxido de Hidrogénio
- A.7** Determinação da Concentração Residual de NaOH
- A.8** Preparação de Folhas para a medição da Brancura ISO
- A.9** Determinação do Teor de Secura das Pastas
- A.10** Determinação da Viscosidade Intrínseca

A.1 ACERTO DO PH PARA BRANQUEAMENTO COM XILANASES

Para garantir que o estágio de branqueamento com enzimas é realizado a pH pretendido é necessário um ensaio de teste. Neste, avalia-se o pH adicionando suspensão de enzima a um dado pH à quantidade de pasta a usar no tratamento.

Reagentes

- Solução alcalina a diferentes molaridades (NaOH)
- Solução ácida a diferentes molaridades (HCl)
- Pasta
- Xilanase
- Água destilada

Material

- Medidor de pH com eletrodo de pH
- Pipetas de Pasteur
- Copos de 150 e 250 mL
- Magnetes

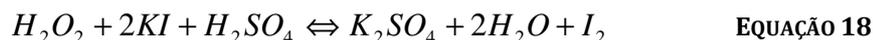
Procedimento Experimental

- Pesar num copo de 250 mL, 20 g de pasta absolutamente seca (correspondente a 10% de consistência e a 200 g de suspensão);
- Pesar a quantidade de água num copo de 150 mL necessária para 200 g de suspensão;
- Para cada carga de enzima pesar a quantidade necessária, diluindo primeiro a enzima;
- Transferir a água para o copo contendo a xilanase, juntamente com um magnete;
- Colocar a solução numa placa magnética para promover a homogeneidade;
- Medir o pH da solução. Este passo deve ser feito acompanhado de agitação contínua. O valor observado deve ser registado;
- Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur adicionar determinadas gotas de NaOH/HCl a uma determinada molaridade à solução anterior. Este passo tem que ser feito tendo em conta o pH final que se deseja obter. O pH final deve ser registado;
- Adicionar a solução anterior à pasta e promover a mistura;
- Colocar o eletrodo de pH no interior da mistura e esperar que o pH estabilize;
- Espremer a mistura a fim de obter o filtrado;
- Medir o pH do filtrado, sempre com agitação;
- Se o pH for aquele que se pretendia obter repetir todo o procedimento para confirmar os valores. Caso contrário repetir todo o procedimento avaliando várias gotas e diferentes molaridades.

A.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO CONCENTRADO

1. Objetivo

Dado que o peróxido de hidrogénio se decompõe muito facilmente, após a preparação deste composto é necessário determinar o valor real da sua concentração inicial, de modo calcular a quantidade de solução a utilizar no estágio de peróxido, face às condições operatórias previamente definidas. Esta determinação é feita por iodometria, em que se utiliza molibdato de amónio que atua como catalisador, acelerando a reação de formação de iodo livre:



2. Reagentes

- H_2SO_4 , 2 M (4 N)
- KI, 1 M
- Solução de Molibdato de Amónio (5%)
- $Na_2S_2O_3$, 0.1 M (0,1 N)
- H_2O_2 (\cong 20 g/L)

3. Material

- Titrino
- Eléctrodo de Platina
- Balão Volumétrico de 25, 1000 e 2000 mL
- Copo de 150 mL
- Pipetas volumétricas de 10mL
- Frascos com Kipp de 15 e 20 mL
- Pipeta de Pasteur
- Magnetes
- Pera

4 - Procedimento experimental

Preparação da solução de H_2SO_4 2M (4 N)

- Diluir 222 mL de ácido concentrado (pureza: 96%, densidade: 1,84 kg/L, massa molecular: 98,08 g/mol) num balão volumétrico de 2000 mL em água destilada gelada. **ATENÇÃO:** MISTURA ALTAMENTE EXOTÉRMICA! Colocar primeiro ~1000 mL de água gelada, adicionar o ácido com cuidado, com o balão envolvido em gelo e colocado num recipiente para o efeito; depois de atingir a temperatura ambiente, perfazer o volume de 2000 mL;
- Transferir a solução para um frasco com Kipp de 20 mL.

Preparação da solução de KI 1N:

- Pesar 166,33 g para um copo;
- Dissolver com um pouco de água destilada, introduzir num balão volumétrico de 1000 mL e perfazer com água destilada.

Preparação de Molibdato de Amónio a 5%:

- Pesar 1,525 g para um copo;

- Dissolver com um pouco de água destilada, introduzir num balão volumétrico de 25 mL e perfazer com água destilada. **ATENÇÃO:** a solução tem apenas validade de uma semana!

Preparação da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1M (0,1 N):

- Introduzir o conteúdo de uma ampola de Tiosulfato de Sódio 0,1 N num balão volumétrico de 1000 mL e perfazer com água destilada;
- Transferir a solução para um frasco compatível com a unidade intermutável do TITRINO.

Determinação da Concentração inicial:

1. Colocar no TITRINO a solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,1 M);
2. Pipetar 25 mL da solução de Peróxido de Hidrogénio (~20 g/L) para um balão volumétrico de 500 mL e perfazer o volume com água destilada (solução diluída de H_2O_2);
NOTA: preparação de uma solução de H_2O_2 , caso se parta de uma solução de H_2O_2 30% (w/w): medir 66,7 mL da solução para um balão volumétrico de 1 L.
3. Introduzir num copo de 150 mL, 40 mL de ácido sulfúrico, 3 gotas de molibdato de amónio e um magnete;
4. Adicionar 10 mL da solução diluída de peróxido de hidrogénio preparada no ponto 2 e 15 mL de iodeto de potássio;
5. Colocar o copo no TRITINO (a utilizar em modo DOS), mergulhando a ponta doseadora;
6. Após ligar a agitação, iniciar a titulação do preindo DOS (antentar no controlo do caudal de titulante);
7. Quando a solução apresentar uma cor amarelo pálido, introduzir com a pipeta de Pasteur (cheia) a solução de amido: ocorre a mudança de cor amarelo-azul escuro;
8. Continuar o doseamento até ocorrer a mudança de cor azul/violeta-incolor: ponto de equivalência atingido;
9. Registrar o volume gasto de titulante;
10. Lavar a ponta doseadora com água destilada.
11. Fazer duplicado e obter o valor médio.

5. Cálculos

A concentração inicial de peróxido de hidrogénio é dada por:

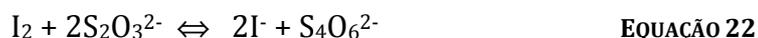
$$[\text{H}_2\text{O}_2] = \frac{1}{2} \times \frac{[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3] \times V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}}{V_{\text{toma}}} \times \text{factor de diluição} \times 34 \quad \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) \quad \text{EQUAÇÃO 20}$$

em que $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3] = 0,1 \text{ mol/L}$ e $V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ é o volume gasto de titulante, em mL; o fator de diluição é $(500/25=20)$; $V_{\text{toma}}=10 \text{ mL}$; a massa molar $M(\text{H}_2\text{O}_2)=34 \text{ g/mol}$ permite expressar a concentração em g/L; o fator $\frac{1}{2}$ respeita a estequiometria da reação de titulação: $n(\text{H}_2\text{O}_2):n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 1:2$. Numa forma condensada tem-se:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] = V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \times 3,4 \quad \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) \quad \text{EQUAÇÃO 21}$$

A.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CLORO INICIAL E RESIDUAL

A determinação da concentração de ClO_2 é efetuada por iodometria, sendo o iodo libertado titulado com tiosulfato de sódio:



As soluções de dióxido de cloro podem também conter cloro, clorito e clorato. Por isso, fazem-se variar as condições de reação para que todas as formas de cloro possam reagir com o iodeto de potássio.

Reagentes

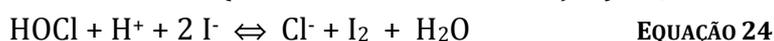
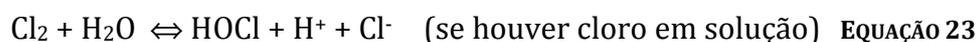
- Manter o frasco de ClO_2 em gelo.
- Solução de iodeto de potássio KI, a 10% (volume)
- Solução tampão de borato (pH=8,3)
- Solução de tiosulfato de sódio, 0,1M (padronizada) ou 0,05 M
- Solução de ácido clorídrico, 2 mol/L
- Indicador de cozimento de amido
- Cloreto de titânio a 1,5% (diluir 10x a solução comercial de 15%, da Merck B406407 946, 500 mL)

Material

- Bureta normal ou automática
- Medidor de pH
- Pipeta de 5,0 mL
- Copos de 250 mL
- Agitador magnético/magnetes
- Pipetas Pasteur
- Provetas de 25 e 50 mL
- Pompete

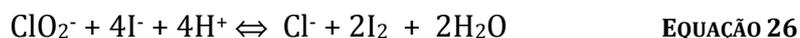
Procedimento Experimental

- Medir 25 mL de iodeto de potássio a 10% e cerca de 50 mL de água destilada e introduzir os dois volumes num copo de 250 mL. Juntar à solução anterior uma quantidade de tampão de borato (pH 8,3) que se verifique apropriada para a reação ocorrer em meio neutro ou ligeiramente alcalino (~3x pipetas Pasteur). Adicionar 5,0 ml (no caso do residual, adicionar 25 ml) de solução de dióxido de cloro a titular (esta operação deve ser efetuada no interior de uma hotte; alternativa: pesar 5,830 g de solução de ClO_2 e converter em volume com a densidade (pesa-se, numa balança analítica de precisão 0,0001g, um determinado volume conhecido da solução de ClO_2 (5 mL ou 10 mL, por exemplo); a densidade é calculada fazendo a razão entre a massa e o volume). Ocorrem as seguintes reações:



- O iodo libertado é titulado com tiosulfato de sódio adicionando-se 1 ml de cozimento de amido como indicador após a solução ficar amarelo claro. O volume de tiosulfato gasto quando a solução muda de violeta para incolor é designado por V_1 . (levar a contagem de volume de titulante a zero.)

- Adiciona-se em seguida ácido clorídrico para o pH da solução ficar abaixo de 2, ocorrendo a seguinte reação:



- A solução fica novamente violeta, e o iodo libertado é titulado com tiosulfato de sódio. O volume gasto nesta segunda titulação é designado por V_2 . (levar a contagem de volume de titulante a zero.)

Cálculos

No tratamento dos resultados têm que se considerar dois casos diferentes:

$$(a) \quad V_1 \leq \frac{V_2}{4} \quad (b) \quad V_1 > \frac{V_2}{4} \quad \text{EQUAÇÕES 27 (a) E 28 (b)}$$

Caso (a) – Solução de dióxido de cloro isenta de cloro. O teor em dióxido de cloro e em clorito podem ser calculados a partir das seguintes expressões:

$$C_{\text{ClO}_2} = 67,5 \cdot M \cdot \frac{V_1}{V_a} \quad (\text{g/l}) \quad \text{EQUAÇÃO 29}$$

$$C_{\text{ClO}_2^-} = 67,5 \cdot M \cdot \frac{(V_2 - 4 \cdot V_1)}{4 \cdot V_a} \quad (\text{g/l}) \quad \text{EQUAÇÃO 30}$$

Caso (b) – A solução de dióxido de cloro contém cloro. Neste caso não contém clorito. Teoricamente os teores de dióxido de cloro e de cloro podem ser calculados da seguinte forma:

$$C_{\text{ClO}_2} = 67,5 \cdot M \cdot \frac{V_2}{4 \cdot V_a} \quad (\text{g/l}) \quad \text{EQUAÇÃO 31}$$

$$C_{\text{Cl}_2} = 71 \cdot M \cdot \frac{\left(V_1 - \frac{V_2}{4}\right)}{2 \cdot V_a} \quad (\text{g/l}) \quad \text{EQUAÇÃO 32}$$

Para as expressões acima descritas foram utilizadas as seguintes notações:

M= Molaridade da solução de tiosulfato de sódio, mol/L;

V_a = Volume de amostra (titulado), mL;

V_1, V_2 = Consumo de tiosulfato de sódio em cada titulação, mL.

O valor 67,5 corresponde ao peso molecular de dióxido de cloro (g/mol).

O valor 71 refere-se ao peso molecular do cloro (g/mol).

Para converter gClO_2/L em gCl_2 ativo/L multiplica-se o primeiro por 2,63.

A.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS XILANASES

1. Reagentes

- Ácido cítrico monohidratado ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)
- Hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4)
- Tartarato duplo de sódio de potássio
- Hidróxido de sódio
- Ácido 3,5-dinitrosalicílico
- Fenol
- Sulfito de sódio
- Xilana (from oat spelts, Sigma)
- Xilose

2. Preparação Reagentes

1. Tampão Mclivaine (pH=7,2) (no caso de enzimas produzidas por bactérias)

Misturar 13,8 mL de ácido cítrico de molaridade 0,1 M (21 g $C_6H_8O_7 \cdot H_2O/L$) com 86,2 mL de Na_2HPO_4 de molaridade 0,2 M (35,6 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O/L$). Diluição do tampão de 1:10.

2. Reagente DNS

Dissolver, em copos separados, cada um dos seguintes reagentes em água destilada, utilizando um total de 600 mL de água.

- 192 g tartarato duplo de sódio de potássio
- 10 g de hidróxido de sódio
- 10 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico
- 2 g de fenol
- 0,5 g de sulfito de sódio

Juntar todos os reagentes num copo de 1L seguindo a ordem anterior, estando este em banho de maria. Deixar arrefecer, transferir para um balão volumétrico de 1L adicionar água destilada até à marca.

3. Xilana

1% (w/v) suspenso em água. Manter numa suspensão uniforme, promovendo a agitação contínua.

4. Xilose

1000 μ g de xilose por mL de água.

3. Curva de Calibração

- I. Em seis tubos de ensaio introduzir (fazer em duplicado, exceto para o branco):

Xilose (mL)	Água (mL)	Tampão (mL)	
1,0	1,0	1,0	
0,8	1,2	1,0	
0,6	1,4	1,0	
0,4	1,6	1,0	
0,2	1,8	1,0	
0,0	2,0	1,0	(branco)

- II. Adicionar 3 mL de DNS a cada tubo, agitar e colocá-los num banho de água a ferver durante 15 min.
- III. Colocar os tubos em gelo, durante aproximadamente 5 min.
- IV. Ler a absorvância no espectrofotômetro a 640 nm em cuvetes, começando pelo branco (que não contém xilose). Fazer a curva de calibração com os valores da absorvância.

4. Diluição da solução enzimática

Efetuar diferentes diluições com solução tampão da solução enzimática (e.g. 1:1000; 1:10000; 1:100000).

5. Teste

- I. Colocar em cada conjunto de 3 tubos (1 branco + 2 duplicados):
- 1ml de tampão
 - 1ml de xilana
- II. Colocar os tubos num banho a 37°C durante 10 min, bem como as diluições da solução enzimática.
- III. Juntar a dois tubos de cada conjunto (os duplicados A e B) a solução da enzima diluída. No terceiro tubo não se adiciona a enzima, uma vez que este é o branco.
- IV. Agitar e colocar no banho todos os tubos durante 60 min, caso o banho não tenha agitação mecânica, agitar os tubos de vez em quando.
- V. De seguida, adicionar 3 mL de DNS a cada tubo. Nos tubos correspondentes ao ensaio branco adicionar ainda 1 mL da enzima diluída.
- VI. Colocar os tubos de ensaio num banho de água a ferver durante 15 min. No final deste período colocar os tubos em gelo, durante 5 min.
- VII. Ler a absorvância no espectrofotômetro a 640 nm em cuvetes, começando sempre pelo branco.

6. Conversão dos açúcares redutores em atividade da xilanase

1 mL de enzima deve libertar entre 300 a 800 µg de açúcares redutores em 60 min. Se não estiver dentro deste intervalo fazer diluições maiores

A.5 BRANQUEAMENTO - CÁLCULO DAS QUANTIDADES DE REAGENTE

PREPARAÇÃO DE UM ENSAIO NO REATOR (SACO DE PLÁSTICO)

Determinação das quantidades de reagentes

No reator (saco de plástico) é introduzido o reagente (solução enzimática, dióxido de cloro (ClO₂) ou peróxido de hidrogénio (H₂O₂) e hidróxido de sódio (NaOH)) e a pasta. Mas para determinar as quantidades a adicionar é necessário que ter em conta as definições de consistência (teor de sólidos) e da carga alcalina:

$$\text{consistência (\%)} = \frac{\text{massa de pasta seca}}{\text{massa de suspensão}} \times 100 \quad \text{EQUAÇÃO 33}$$

$$\text{carga alcalina (\%)} = \frac{\text{massa de reagente}}{\text{massa de pasta seca}} \times 100 \quad \text{EQUAÇÃO 34}$$

➤ Cálculo da massa de pasta húmida:

Vamos definir como massa de pasta seca 20g, dado que experiências já realizadas indicam-nos que esta será a massa necessária para obter um volume de residual suficiente para as análises a realizar.

Uma vez que a pasta armazenada contém água, a massa de pasta húmida (m_{ph}) calcula-se tendo em conta o seu teor de secura:

$$\text{teor de secura} = \frac{m_{ps} (g)}{m_{ph} (g)} \quad \text{EQUAÇÃO 35}$$

Para determinar a massa de água:

$$m_{\text{água pasta}} = m_{ph} - m_{ps} \quad \text{EQUAÇÃO 36}$$

➤ Cálculo da quantidade de reagente:

O primeiro passo é definir a Carga Alcalina de cada reagente para o ensaio. De seguida determina-se a massa de reagente.

$$m_{\text{reagente}} (g) = \frac{m_{ps} (g) \times \text{carga (\%)}}{100} \quad \text{EQUAÇÃO 37}$$

Como as quantidades de reagente a usar são pequenas é necessário preparar uma solução cuja concentração seja perfeitamente conhecida.

Assim,

$$m_{\text{solução de reagente}} (g) = \frac{m_{\text{reagente}} \times \rho_{\text{solução reagente}}}{[\text{reagente}]} \quad \text{EQUAÇÃO 38}$$

Sendo $\rho_{\text{solução reagente}}$ a massa volúmica da solução de Reagente (g/l) que se determina pesando a massa correspondente a 10,0 ml de solução.

➤ Cálculo da massa de água a adicionar:

Uma vez que neste trabalho utilizamos uma consistência de 10,0% e vamos utilizar 20g de pasta seca, temos:

$$\text{massa de suspensão} = \frac{\text{massa pasta seca}}{\text{consistência (\%)}} \times 100 \quad \text{EQUAÇÃO 39}$$

Logo, a massa de suspensão dos nossos ensaios será de 200g.

De seguida, determinamos a massa de água que necessita de ser adicionada.

$$m_{\text{água adic}} = m_{\text{suspensão}} - \sum m_{\text{solução reagente}} - m_{ph} \quad \text{EQUAÇÃO 40}$$

Assim, a massa total de água existente no reator será

$$m_{T\text{água}} = m_{\text{água adic}} + \sum m_{\text{água reagente}} + m_{\text{água pasta}} \quad \text{EQUAÇÃO 41}$$

Na determinação da concentração inicial de reagente considera-se $\rho_{\text{solução}} \approx 1$ e será então:

$$[\text{Re agente}]_i = \frac{m_{\text{reagente}}}{M(\text{reagente}) \times \left(\frac{m_{T\text{água}}}{\rho_{\text{solução}}} \right)} \quad \text{EQUAÇÃO 42}$$

$$M(\text{ClO}_2) = 67,451 \text{ g / mol}$$

$$M(\text{NaOH}) = 39,997 \text{ g / mol}$$

$$M(\text{H}_2\text{O}_2) = 34,014 \text{ g / mol}$$

Procedimento Experimental:

A título exemplificativo apresenta-se apenas as etapas do branqueamento com peróxido de hidrogénio, desenvolvendo-se da mesma forma para os outros tipos de reagentes.

1. Ligar o aparelho onde se vai deixar o “saco de branqueamento”.

2. Pesar a pasta húmida correspondente aos 20g de pasta seca. Registrar o valor exato. (Esta pesagem, pode e deve ser efetuada diretamente no saco de plástico.)
3. Pesar os reagentes necessários ao branqueamento num gobelé (acertar com conta-gotas), deixando o H₂O₂ (caso seja utilizado) para último. Registrar os valores exatos. (As massas dos reagentes são determinadas como explicado em cima.)
4. Misturar os reagentes e adiciona-los à pasta, tendo o cuidado de lavar os gobelés com uma parte da água necessária. Fechar o saco, retirando o máximo de ar possível. Depois de fechado, misturar bem a pasta com as mãos. Colocar este saco dentro de outro e com a ajuda de um disco (peso) submergir a mistura no banho. Começar a cronometrar e registrar a temperatura do banho. (Todo este passo deve ser realizado o rápido quanto possível.)
5. Passado o tempo definido para branqueamento, retirar o saco do banho e meter num banho de gelo. Registrar o tempo do banho em água quente.
6. Depois de “repousar” no gelo aproximadamente 15 minutos, abrir o saco e filtrar bem a pasta com uma rede metálica. Guardar o filtrado, identificando-o bem, para futura análise.
7. Lavar a pasta com 3 litros de água destilada a aproximadamente 35°C. Estes 3 litros devem ser divididos em 3 partes iguais de forma a se realizar 3 lavagens. No último processo de lavagem adicionar 1 ou 2 gotas de antifúngico.
8. Recolher a massa e guardá-la no frigorífico corretamente identificada. (Poderá ser necessário antes de guardar a pasta retirar uma pequena quantidade para determinar o teor de secura da pasta.).

A.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO RESIDUAL DE PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO

1. Objetivo

Os valores das concentrações de peróxido de hidrogénio nos ensaios em branco e com pasta permitem o cálculo do consumo deste composto no respetivo estágio de branqueamento, daí a importância da sua determinação experimental. Esta é feita por iodometria, em que se utiliza molibdato de amónio que atua como catalisador, acelerando a reação de formação de iodo livre.

2. Reagentes

- H_2SO_4 , 2 M (4 N)
- KI, 1 M
- Solução de Molibdato de Amónio (5%)
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,1 M (0,1 N)
- Cozimento de amido

3

. Material

- | | | |
|---|----------------------------------|-------------------------------|
| ▪ Titrino | ▪ Frascos com Kipp de 15 e 20 mL | ▪ Magnete |
| ▪ Balão Volumétrico de 25, 1000 e 2000 mL | ▪ Placa de aquecimento | ▪ Pipeta volumétrica de 10 mL |
| ▪ Copo de 150 mL | ▪ Triturador | ▪ Pipeta de Pasteur |
| ▪ | ▪ Proveta de 100 mL | ▪ Pompette |

4. Procedimento experimental

O procedimento de preparação de algumas soluções já foi descrito anteriormente na determinação da concentração inicial da solução de peróxido de hidrogénio.

Preparação do Cozimento de Amido (indicador):

- Pesar entre 0,2 a 0,3 g de amido solúvel e triturar com alguns mililitros de água fria;
- Verter esta pasta em 100 mL de água a ferver, deixando-se ferver durante 2 minutos;
- Filtrar ou deixar repousar usando-se apenas a camada de líquido límpida. Guardar no frigorífico!

Determinação da Concentração residual:

1. Colocar no TITRINO a solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,1 M);
2. Introduzir num copo de 100 mL, 40 mL de ácido sulfúrico, 3 gotas de molibdato de amónio e um magnete;
3. Adicionar 10 mL do efluente do estágio de peróxido de hidrogénio e 15 mL de iodeto de potássio;
4. Colocar o copo no TRITINO (a utilizar em modo DOS), mergulhando a ponta doseadora;
5. Após ligar a agitação, iniciar a titulação do premando DOS (atentar no controlo do caudal de titulante);

6. Quando a solução apresentar uma cor amarelo pálido, introduzir com a pipeta de Pasteur (cheia) a solução de amido: ocorre a mudança de cor amarelo-azul escuro;
7. Continuar o doseamento até ocorrer a mudança de cor azul/violeta-incolor: ponto de equivalência atingido;
8. Registrar o volume gasto de titulante;
9. Lavar a ponta doseadora com água destilada.

5. Cálculos

A concentração de peróxido de hidrogénio na amostra de efluente é dada por:

$$[H_2O_2] = \frac{1}{2} \times \frac{[Na_2S_2O_3] \times V_{Na_2S_2O_3}}{V_{toma}} \times 34 \quad \left(\frac{g}{L} \right) \quad \text{EQUAÇÃO 43}$$

em que $[Na_2S_2O_3] = 0,1 \text{ mol/L}$ e $V_{Na_2S_2O_3}$ é o volume gasto de titulante, em mL; $V_{toma} = 10 \text{ mL}$; a massa molar $M(H_2O_2) = 34 \text{ g/mol}$ permite expressar a concentração em g/L; o fator $\frac{1}{2}$ respeita a estequiometria da reação de titulação: $n(H_2O_2):n(Na_2S_2O_3) = 1:2$. Numa forma condensada tem-se:

$$[H_2O_2] = 0,17 \times V_{Na_2SO_3} \quad \left(\frac{g}{L} \right) \quad \text{EQUAÇÃO 44}$$

A.7 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO RESIDUAL DE NaOH

(Nos filtrados do branqueamento com peróxido de hidrogénio)

Para a determinação da quantidade de OH⁻ residual é necessário efetuar-se uma titulação ácido/base ao licor (filtrado) resultante da deslenhificação da pasta com oxigénio ou peróxido de hidrogénio.

REAGENTES

- Cloreto de bário a 20% (w/w);
- Ácido clorídrico (0,01 M)

MATERIAL

- Titrino;
- Medidor de pH;
- Proveta de 100 mL e tampa;
- Frascos~100mL;
- Funil;
- Papel de filtro;
- Pipeta de 25 mL;
- Copos altos de 50 mL.

PREPARAÇÃO DO CLORETO DE BÁRIO A 20% (w/w)

Numa balança, colocar um copo de 2 litros e pesar 244,27 g de BaCl₂ • 2H₂O e adicionar água destilada até obter 1000 g de solução.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- Colocar, numa proveta, 75 mL de filtrado e 25 mL de cloreto de bário, agitar e deixar repousar tapado, para precipitar os carbonatos os fenolatos e outros compostos orgânicos provenientes da reação dos componentes da pasta com o Peróxido de Hidrogénio e o NaOH;

NOTA: Caso não haja residual suficiente proceder de acordo com a tabela seguinte:

Volume de filtrado, V _f (mL)	Volume de cloreto de bário, V _{BaCl2} (mL)	Volume total, V _t (mL)
30	10	40
40	13	53
50	17	67
75	25	100

- Filtrar para um frasco com a ajuda de um funil e papel de filtro e tapar o frasco;
- Medir 25 mL de amostra para um copo+magnete;
- Colocar no TITRINO a solução de HCl (0,01 M);

- Introduzir o elétrodo de pH no suporte do TITRINO, ligá-lo ao aparelho de análise e colocá-los em água destilada;
- No TITRINO, usando o teclado, premir User method (3) → Recall method → Enter;
- Escolher o método pretendido, premindo repetidamente Select até se visualizar no ecrã “NaOH PGL” → Enter;
- Medir 25 mL da amostra filtrada para um copo de 50 mL com magnete;
- Colocar o copo no TRITINO, introduzindo o elétrodo com o cuidado de submergir a cabeça do elétrodo sem tocar no magnete;
- Ligar a agitação e premir START para dar início à titulação;
- Quando a curva de titulação estabilizar (aparece EP1) e o TITRINO automaticamente terminará a titulação;
- Premir Select até aparecer Fix EP's → premir Enter; registar o valor do volume gasto de titulante até um pH=8,6 (o método selecionado faz automaticamente esta avaliação);
- Efetuar duas réplicas concordantes (diferença menor que 0,5 mL de volume de titulante).

CÁLCULOS

Cálculo da concentração de OH⁻ no licor residual.

$$[NaOH]_R (mol / L) = \frac{V \times [HCl]}{25} \times \frac{V_t}{V_f} \quad \text{EQUAÇÃO 45}$$

A concentração em g/L obtém-se por multiplicação do resultado anterior pela massa molar do NaOH=40 g/mol.

A.8 PREPARAÇÃO DE FOLHAS PARA A MEDIÇÃO DA BRANCURA ISO

Referência: ISO 3688 – “Pulps – Preparation of laboratory sheets for the measurement of diffuse blue reflectance factor (ISO brightness)”.

Procedimento:

- Pesar 4 gramas de pasta seca, de forma a produzir duas folhas de ensaio com gramagem de 200g/m²;
- Num copo de vidro de 2L juntar a pasta pesada, 1L de água destilada e 2mL de EDTA, 5g/L (1mL por folha) e deixar desintegrar, com auxílio de um agitador, durante cerca de 30 minutos;
- Com a ajuda de um medidor de pH (com leitura a 0,1 unidades), verificar se o pH da suspensão obtida é aproximadamente 5 (4,9-5). Caso não esteja, ajustar o pH a este intervalo por meio de adições de solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L ou de solução de ácido sulfúrico 0,05 mol/L, agitando sempre cuidadosamente com o eletrodo;
- Depois de acertado o pH, agitar bem a suspensão (pode agitar-se cuidadosamente com o eletrodo) e dividir em duas porções idênticas (2 x 500mL), contendo cada uma 2 g de pasta seca;
- Colocar um papel de filtro espesso no funil de Büchner (o qual deve ter um diâmetro interno de 115 a 150 mm) e molhá-lo com água;
- Colocar o funil de modo a que o fundo permaneça na posição horizontal e verter uma das suspensões de pasta;
- Deixar escorrer a água com sucção, evitando que passe uma quantidade apreciável de ar através da folha formada;
- Retirar a folha, virando o funil ao contrário e soprando no bico, recebendo a folha sobre uma folha de papel de filtro fina. Proceder da mesma forma para a segunda folha;
- Prensar as folhas (até 6 folhas), empilhadas segundo a sequência: disco metálico, dois mata-borrões secos, a folha de ensaio coberta pelos papéis de filtro, dois mata-borrões secos, disco metálico, dois mata-borrões secos, a segunda folha de ensaio coberta pelos papéis de filtro e assim sucessivamente, durante 1 minuto de maneira a que seja aplicada às folhas uma pressão de cerca de 400 kPa, tendo o cuidado de verificar que elas se encontram bem centradas debaixo do prato compressor;
- Depois da prensagem, retirar com cuidado o papel de filtro espesso e colocá-lo novamente junto à folha de modo a protegê-la;
- Secar as folhas de ensaio à temperatura ambiente dentro da “estufa” durante 2h30 a 4h, até atingir uma humidade de 5 a 15%.
- Após a secagem prensar novamente as folhas durante 30 segundos, usando desta vez só 1 mata-borrão.

A.9 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE SECURA DAS PASTAS

Pesar ~1 g (base seca) de uma amostra de pasta, numa caixa de pesagem (Nota: Como, normalmente, as amostras de pasta húmida têm um teor de secura ~0,03 g fibra/g pasta, dever-se-á pesar ~3 g de pasta húmida).

Colocar a caixa destapada (e a tampa) na estufa à temperatura de $105 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante um tempo superior a 4 h e inferior a 24 horas (geralmente durante a noite). Após secagem, colocar a caixa, tapada, dentro de um exsiccador, e deixar arrefecer durante 20 a 30 min à temperatura ambiente (não esquecer de fechar a torneira do exsiccador).

Após arrefecimento, pesa-se a caixa com a amostra da pasta, retira-se a pasta, e pesa-se novamente a caixa vazia.

O teor de secura (decimal) é obtido pela razão entre a massa seca de fibra sobre a massa de pasta húmida.

A humidade, em percentagem, é $100 \times (1 - \text{teor de secura decimal})$.

Efetuar o ensaio em duplicado e determinar a média dos valores obtidos.

$$\text{teor de secura} = \frac{m_{ps}(\text{g})}{m_{ph}(\text{g})} \quad \text{EQUAÇÃO 46}$$

A.10 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA

Devido à elevada massa molecular e grau de cristalinidade da celulose, esta não é solúvel na maioria dos solventes. Idealmente, o processo de dissolução da celulose deveria resultar de uma completa desintegração em moléculas individuais sem alteração do comprimento da cadeia. De todos os solventes usados para esse efeito, a cupri-etilenodiamina (CED), complexo de cobre e amina, é o mais vulgar, sendo extensamente utilizado no controlo de viscosidades de pastas a nível industrial. A viscosidade traduz o grau de degradação (ou despolimerização) da celulose, sendo portanto uma característica da pasta que é imprescindível determinar. Um dos métodos mais simples de a determinar consiste em comparar o tempo de escoamento de um determinado volume de solução de pasta celulósica através de um capilar de um viscosímetro e o tempo de escoamento do solvente puro (normas SCAN-CM 15 e ISO 5351). Em geral, a viscosidade (aparente) de soluções de polímeros de elevado peso molecular varia com o gradiente de velocidade, apresentando no caso da celulose um comportamento pseudoplástico. Além disso, a viscosidade de soluções de celulose depende ainda da concentração da solução (C , em kg/dm^3), aumentando com ela. Por isso, a viscosidade deve ser determinada em condições tais que a interação entre as suas moléculas seja desprezável (quando a concentração da celulose no solvente tende para zero), atingindo-se o que se designa por número limite de viscosidade ou, mais correntemente, viscosidade intrínseca $[\eta]$, definida por:

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{\text{rel}} - 1}{C} \right) \quad (\text{dm}^3/\text{kg}) \quad \text{EQUAÇÃO 47}$$

onde $\eta_{\text{rel}} = \eta/\eta_0$, sendo η e η_0 a viscosidade da solução e do solvente, respetivamente. Esta definição ilustra a razão pela qual normalmente se exprime a viscosidade em unidades de $(\text{concentração})^{-1}$. O resultado é convertido em viscosidade intrínseca pela fórmula de Martin a qual traduz a dependência da viscosidade de uma solução de celulose em CED (0,5 M) relativamente à concentração:

$$\eta_{\text{rel}} - 1 = [\eta]C e^{k'[\eta]C} \quad \text{EQUAÇÃO 48}$$

onde k' é uma constante empírica que toma o valor 0,30 para o sistema celulose-CED. Esta expressão é normalmente utilizada para um valor constante do produto $[\eta]C$, conforme proposto por Martin. A escolha deste valor, que, segundo as normas referidas, deve ser $[\eta]C = 3,0 \pm 0,4$ (correspondente a valores de η_{rel} entre 6,6 e 10,4) é baseada em considerações de exequibilidade prática do ensaio e em razões que se prendem com o facto de se estar a determinar a viscosidade intrínseca a partir de um único valor de concentração (erros inerentes à determinação da concentração e do tempo de escoamento e ao erro associado à constante k'). Assim, a precisão máxima do cálculo obtém-se quando $[\eta]C$ é o mais próximo possível de 3,0 ($3,0 \pm 0,1$), especialmente para valores de $[\eta]$ superiores a $1100 \text{ dm}^3/\text{kg}$, devendo a viscosidade ser determinada a um gradiente de $200 \pm 30 \text{ s}^{-1}$ num viscosímetro de dimensões perfeitamente definidas

(volume de 1,0 cm³ e raio do capilar de 0,040 cm). Nestas condições, o tempo de escoamento é próximo de 100 s.

A viscosidade relativa (η_{rel}) é calculada pela razão entre os tempos de escoamento da solução de ensaio e do solvente. Porém, como este último valor é muito baixo, são utilizados dois viscosímetros: um (de calibração) onde se determina o tempo de escoamento do solvente e o de uma solução de glicerol a 65% (viscosidade cerca de 10 mPa.s e densidade 1,16475 a 25°C), e outro (de leitura) onde se ensaia a solução de pasta e a de glicerol. A concentração de pasta deve ser tal que o valor do produto $[\eta]C$ se encontre na gama referida o que implica um ajustamento da concentração para compensar as variações no grau de polimerização médio das pastas celulósicas a serem testadas, sendo, nestas condições, as viscosidades aparentes das soluções próximas de 15 mPa.s.

Antes de proceder às medições no viscosímetro é necessário desintegrar a amostra de pasta, em água, e, em seguida, solubilizá-la em CED, sendo 30 minutos o tempo máximo indicado na norma SCAN-CM 15 para cada uma destas operações. A pasta não deve ter um índice $kappa$ superior a 18-20 (lenhina Klason maior que cerca de 2%) pois pode não ocorrer a completa solubilização da amostra. A repetibilidade do ensaio (isto é, a diferença entre 2 determinações efetuadas na mesma amostra) é inferior a 25 dm³/kg.

Reagentes e Material

- Frascos de plástico de 50 mL com tampa perfurada e molas
- Bolas de vidro e pedaços de cobre
- magnetes
- 2 viscosímetros (um de medida e outro de calibração)
- Agitador magnético
- Agitador rotativo
- Banho termostático
- CED – Cuprietilenodiamina

Procedimento Experimental

Calibração do viscosímetro (viscosímetro (anualmente ou sempre que se mude de viscosímetro ou de marca de CED))

- Medir o tempo de escoamento para uma solução de glicerol a 65% em água e para uma solução CED com água a 25°C (iguais volumes).

Preparação da solução de ensaio

Se o valor da viscosidade da amostra for previamente conhecido, escolhe-se a massa de pasta (em base seca) como indicado na Tabela 1.

Tabela 1 – Massa de pasta a pesar, adequada aos valores previstos para a viscosidade da pasta.

Índice de viscosidade limite ou viscosidade intrínseca (dm ³ /kg)	Concentração de pasta (mg/mL)	Gramas de pasta calculadas numa base seca (mg/50 mL)
401-650	5	250
651-850	4	200
851-1100	3	150
1101-1400	2,4	120

Não se conhecendo a viscosidade da pasta, faz-se um ensaio com 3 mg/mL (base seca) e se a viscosidade não se encontrar na gama indicada, fazer por tentativas (ver Metodologia) até encontrar a massa de pasta seca a pesar idealmente. Em geral, para pastas cruas ou semi-branqueadas de *E. globulus*, é adequado pesar ~0,4 g de pasta húmida com ~0,3 de teor de secura, correspondente a ~0,12 g de pasta em base seca.

Metodologia:

- Pesar a massa de pasta conforme indicado acima, ou de acordo com o conhecimento já adquirido do valor aproximado da viscosidade intrínseca (precisão $\pm 0,1$ mg); pesar também uma quantidade adequada para determinação do teor de secura, caso este seja desconhecido.
- Adicionar 25 mL de água destilada, o magnete e algumas esferas de vidro e pedaços de cobre (1 colher de chá); enroscar a tampa do frasco;
- Desintegrar a pasta ~20 min num agitador magnético a ~700 rpm;
- Adicionar 25 mL solução CED, começar a contagem do tempo, colocar tampa de borracha perfurada, homogeneizar e expulsar o ar existente (se necessário adicionar mais 1 colher de bolas/cobre) fechando o tubo flexível com uma mola;
- Colocar no agitador mecânico rotativo durante 25 - 30 min;
- Colocar os frascos no banho termostático e esperar que a temperatura estabilize a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (~5 min); (no Inverno, usar primeiro água quente (40- 50°C) num copo para aquecer a solução – 30 a 60 s);
- Aspirar 1 ou 2 vezes a solução para o viscosímetro para lavar o capilar, aspirar de novo e medir o tempo de escoamento entre as duas marcas, com uma precisão de $\pm 0,2$ s. Efetuar pelo menos duas medições que sejam concordantes, $\pm 0,5$ s.
- Despejar a solução anterior para um coador, para que as bolas e o cobre não sigam para o esgoto! Guardar o resíduo da solução de CED num frasco de “resíduos de CED” para enviar posteriormente para uma empresa de tratamento de resíduos.
- Calcular o tempo de escoamento médio e a viscosidade relativa (use o valor da constante viscosimétrica que se encontra na tabela anexa). Usar as tabelas anexas para obter o valor do produto $c[\eta]$ e calcular a viscosidade da solução da amostra de pasta ensaiada.
- Efectuar novo ensaio e determinar a média, arredondando o resultado às dezenas. Corrigir a massa de pasta a pesar se o produto $c[\eta]$ estiver fora do intervalo $3 \pm 0,1$

(ver introdução). Se usar a folha de cálculo Excel existente no DEQ/FCTUC, siga as instruções da folha de cálculo (só as células coloridas devem ser alteradas).

TABELA 16: Valores de $[\eta] \times c$ correspondentes aos diferentes valores do rácio de viscosidade, $\eta_{\text{ratio}} (\eta/\eta_0)$.

η_{ratio}	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
7,5	2,806	2,809	2,811	2,813	2,816	2,818	2,820	2,823	2,825	2,827
7,6	2,829	2,832	2,834	2,836	2,839	2,841	2,843	2,846	2,848	2,850
7,7	2,853	2,855	2,857	2,859	2,862	2,864	2,866	2,869	2,871	2,873
7,8	2,875	2,878	2,880	2,882	2,885	2,887	2,889	2,891	2,894	2,896
7,9	2,898	2,900	2,903	2,905	2,907	2,909	2,911	2,914	2,916	2,918
8,0	2,920	2,923	2,925	2,927	2,929	2,932	2,934	2,936	2,938	2,940
8,1	2,943	2,945	2,947	2,949	2,951	2,954	2,956	2,958	2,960	2,962
8,2	2,964	2,967	2,969	2,971	2,973	2,975	2,978	2,980	2,982	2,984
8,3	2,986	2,988	2,991	2,993	2,995	2,997	2,999	3,001	3,003	3,006
8,4	3,008	3,010	3,012	3,014	3,016	3,018	3,020	3,023	3,025	3,027
8,5	3,029	3,031	3,033	3,035	3,037	3,040	3,042	3,044	3,046	3,048
8,6	3,050	3,052	3,054	3,056	3,058	3,061	3,063	3,065	3,067	3,069
8,7	3,071	3,073	3,075	3,077	3,079	3,081	3,083	3,085	3,087	3,090
8,8	3,092	3,094	3,096	3,098	3,100	3,102	3,104	3,106	3,108	3,110
8,9	3,112	3,114	3,116	3,118	3,120	3,122	3,124	3,126	3,128	3,130
9,0	3,132	3,134	3,136	3,138	3,140	3,142	3,144	3,147	3,149	3,151
9,1	3,153	3,155	3,157	3,159	3,161	3,163	3,165	3,166	3,168	3,170
9,2	3,172	3,174	3,176	3,178	3,180	3,182	3,184	3,186	3,188	3,190
9,3	3,192	3,194	3,196	3,198	3,200	3,202	3,204	3,206	3,208	3,210

ANEXO B

CÁLCULOS E GRÁFICOS AUXILIARES

B.1 Preparação Solução de Peróxido de Hidrogénio

B.2 Reta de Calibração Para Cálculo da Atividade Enzimática

B.3 Conversão de Unidades da Atividade Enzimática

B.1 PREPARAÇÃO SOLUÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO

Explicação dos cálculos necessários para a preparação de 1L de solução de peróxido de hidrogénio com concentração aproximadamente igual a 20g/L. A concentração da solução preparada tem de ser aferida (de acordo com o procedimento descrito no Anexo..., pág...) de modo a ser conhecido o seu valor exato.

Parte-se de uma solução mãe com concentração de 30% (w/w)

$$30\% = \frac{\text{massa}_{\text{soluta}}}{\text{massa}_{\text{solução}}} \times 100 \quad \text{EQUAÇÃO 49}$$

Sendo a $\text{massa}_{\text{soluta}} = 20\text{g}$, a massa de solução, pela equação anterior, é 66,667g.

$$\rho_{\text{H}_2\text{O}_2} = \frac{\text{massa}_{\text{solução}}}{\text{volume}_{\text{solução}}} \quad \text{EQUAÇÃO 50}$$

Como $\rho_{\text{H}_2\text{O}_2} \approx 1\text{g/mL}$, o volume de solução mãe a pipetar é 66,67mL.

B.2 RETA DE CALIBRAÇÃO PARA CÁLCULO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Representação da xilose tendo em conta a absorvância medida no ensaio de calibração (Figura 35) de modo a determinar-se, em cada ensaio de teste, a xilose final no meio, valor necessário para a determinação de t_s .

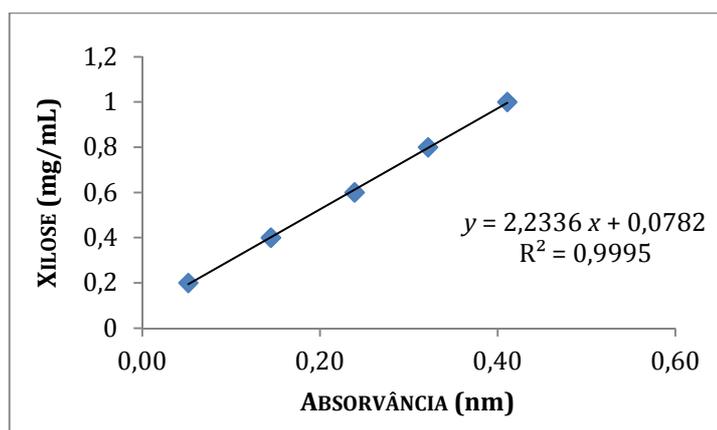


Figura 35: Retas de calibração da xilose produzida.

Representação de t_s em função da xilose libertada (Figura 36) para com a equação que melhor se ajusta à curva do gráfico se determinar t_s (correspondente à quantidade de xilose formada durante o ensaio) necessário para o cálculo da atividade da solução enzimática.

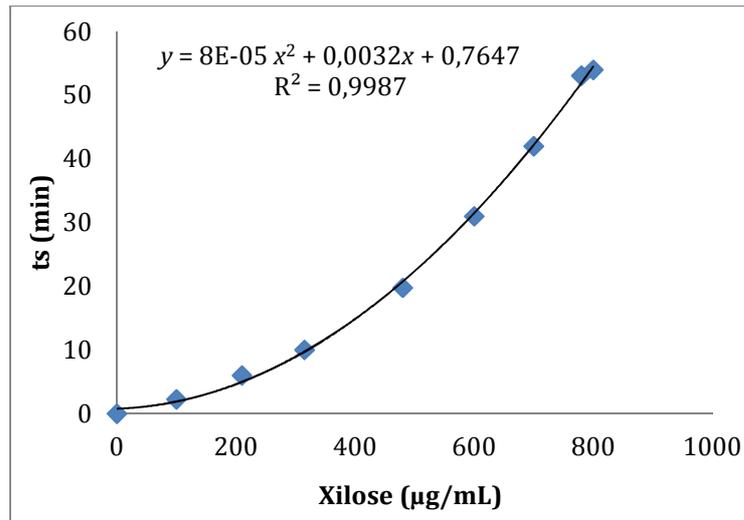


FIGURA 36: Curva da atividade padrão da xilanase.

B.3 CONVERSÃO DE UNIDADES DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A título exemplificativo apresenta-se apenas a conversão de unidades de atividade para um ensaio de branqueamento com a solução enzimática EN2, desenvolvendo-se similarmente para os outros ensaios e outras soluções enzimáticas.

De forma geral, apresenta-se a seguinte sequência de conversão de unidades de atividade (A):

Atividade em U/mL de solução enzimática → Atividade em U/g de solução enzimática → Atividade em U/g *odp*

Dados: carga de solução enzimática= 0,05% *odp*

A=2560 U/mL de solução enzimática EN2

$\rho=1,04$ g/mL

$m_{ps}=20$ g (quantidade de massa de pasta seca utilizada em cada ensaio)

Sendo a massa volúmica (ρ) da solução enzimática EN2 de 1,04 g/mL, a atividade em U/g de solução enzimática será:

$$Atividade_{solução\ enzimática\ EN2} = \frac{Atividade\ (U/mL)}{\rho_{solução\ enzimática\ EN2}} = \frac{2560}{1,04} = 2461,5\ U/g\ de\ solução\ enzimática\ EN2$$

Para uma carga de 0,05% *odp* de solução enzimática tem-se a seguinte massa de solução enzimática:

$$m_{solução\ enzimática} = \frac{m_{ps} \times carga}{100} = \frac{20 \times 0,05}{100} = 0,01\ g\ de\ solução\ enzimática\ EN2$$

$$2461,5 \left(\frac{U}{g_{\text{solução enzimática}}} \right) \times 0,01 g_{\text{solução enzimática}} = 24,6 U$$

Tendo em conta que se tratam 20 g de pasta seca em cada ensaio:

$$\frac{24,6 (U)}{20 (g \text{ odp})} = 1,2 U/g \text{ odp}$$

Num ensaio com uma carga de 0,05% *odp* de solução enzimática EN2 aplicam-se 1,23 unidades por cada grama de pasta absolutamente seca.

NOTA: Como não se tinha conhecimento da massa volúmica das soluções enzimáticas EN2 e EN3 nem se possuía volume de solução suficiente para se proceder à sua determinação considerou-se, para seu valor, a média aritmética das massas volúmicas das soluções enzimáticas EN4 ($\rho=1,065 \text{ g/mL}$) e EN5 ($\rho=1,014 \text{ g/mL}$).

ANEXO C

RESULTADOS EXPERIMENTAIS

- C.1** Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Enzima EN2
- C.2** Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Enzima EN3
- C.3** Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Enzima EN4
- C.4** Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com a Enzima EN5
- C.5** Condições de Operação e Resultados dos Branqueamentos com Peróxido de Hidrogénio (DEDP) e Dióxido de Cloro (DEDD)
- C.6** Condições de Operação e Resultados do Branqueamento com Peróxido de Hidrogénio nas Sequência DEDP e DEDXP
- C.7** Condições de Operação e Resultados do Branqueamento com Dióxido de Cloro nas Sequência DEDD e DEDXD

C.1 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO E RESULTADOS DOS BRANQUEAMENTOS COM A SOLUÇÃO ENZIMÁTICA EN2

Condições dos ensaios realizados com a solução enzimática EN2, tendo em conta o planeamento experimental, atividade correspondente a cada carga e principais resultados (Tabela 17).

TABELA 17: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN2.

ENSAIO	pH	T (°C)	t (min)	CARGA (% <i>odp</i>)	ATIVIDADE U/g <i>odp</i>	RESULTADOS				
						pH RESIDUAL	BRANCURA ISO (%)	BRANCURA ISO (%) APÓS REVERSÃO	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED1	-	-	-	-	-	-	88,1	85,3	0,46	997
EN2_1	7	70		0,05	1,2	6,97	88,5	86,5	0,31	1007
EN2_2	7	70		0,05	1,2	6,9	88,4	86,5	0,29	1021
EN2_3	7	70		0,05	1,2	6,87	88,3	86,4	0,29	1001
EN2_4	6	60		0,01	0,2	6,17	87,9	85,8	0,34	1003
EN2_5	6	60		0,09	2,2	6,04	88,8	87,4	0,21	1005
EN2_6	6	80		0,01	0,2	6,36	87,9	86,2	0,28	1002
EN2_7	6	80		0,09	2,2	6,01	88,5	86,9	0,25	1017
EN2_8	8	80		0,01	0,2	7,50	87,4	85,6	0,31	1014
EN2_9	8	60	60	0,01	0,2	8,03	87,5	85,9	0,26	1002
EN2_10	8	60		0,09	2,2	7,9	88,2	86,5	0,27	989
EN2_11	8	80		0,09	2,2	7,60	88,1	86,3	0,28	993
EN2_12	6	70		0,09	2,2	5,92	89,6	87,5	0,29	1010
EN2_13	7	60		0,09	2,2	7	89,1	87,0	0,30	1024
EN2_14	7	70		0,09	2,2	6,94	89,2	87,5	0,23	1012
DED2	-	-		-	-	-	86,6	84,2	0,45	1021
EN2_15	6	70		0,08	2,0	5,83	87,7	84,7	0,51	1049
EN2_16	7	70		0,08	2,0	6,46	87,4	85,0	0,42	1024

C.2 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO E RESULTADOS DOS BRANQUEAMENTOS COM A SOLUÇÃO ENZIMÁTICA EN3

Condições dos ensaios realizados com a solução enzimática EN3, tendo em conta o planeamento experimental, atividade correspondente a cada carga e principais resultados (Tabela 18).

TABELA 18: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN3.

ENSAIO	pH	T (°C)	t (min)	CARGA (% <i>odp</i>)	ATIVIDADE U/g <i>odp</i>	RESULTADOS				
						pH RESIDUAL	BRANCURA ISO (%)	BRANCURA ISO (%) APÓS REVERSÃO	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED1	-	-	-	-	-	-	88,1	85,3	0,46	997
EN3_1	7	70		0,05	1,2	6,91	88,5	87,0	0,22	997
EN3_2	7	70		0,05	1,2	7,00	88,3	86,9	0,22	1020
EN3_3	7	70		0,05	1,2	6,97	88,6	86,8	0,27	1013
EN3_4	6	60		0,01	0,2	6,53	88,1	85,9	0,34	1004
EN3_5	6	60		0,09	2,1	6,55	88,9	86,9	0,30	1001
EN3_6	6	80		0,01	0,2	6,23	87,8	86,1	0,29	1005
EN3_7	6	80		0,09	2,1	5,95	88,7	87,3	0,20	1015
EN3_8	8	60		0,01	0,2	7,90	87,7	85,5	0,36	994
EN3_9	8	60		0,09	2,1	7,74	88,2	86,3	0,30	988
EN3_10	8	80	60	0,01	0,2	7,67	87,0	85,0	0,36	996
EN3_11	8	80		0,09	2,1	7,55	87,5	85,7	0,29	995
EN3_12	6	70		0,09	2,1	5,97	89,0	86,5	0,38	1020
EN3_13	7	70		0,09	2,1	7,01	88,8	86,8	0,30	970
EN3_14	6	70		0,05	1,2	6,06	88,6	86,5	0,31	1023
EN3_15	6	60		0,05	1,2	5,86	88,5	86,3	0,34	1009
EN3_16	7	60		0,05	1,2	7,09	88,8	86,9	0,29	1015
DED2	-	-		-	-	-	86,6	84,2	0,45	1021
EN3_17	7	70		0,085	2,0	6,22	87,7	85,2	0,42	1082
EN3_18	6	80		0,085	2,0	5,77	87,4	84,6	0,49	1076

C.3 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO E RESULTADOS DOS BRANQUEAMENTOS COM A SOLUÇÃO ENZIMÁTICA EN4

Condições dos ensaios realizados para a solução enzimática EN4, atividade correspondente a cada carga e principais resultados (Tabela 19).

TABELA 19: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN4.

ENSAIO	pH	T (°C)	t (min)	CARGA DE EN5 (% <i>odp</i>)	ATIVIDADE U/g <i>odp</i>	RESULTADOS				
						pH RESIDUAL	BRANCURA ISO (%)	BRANCURA ISO (%) APÓS REVERSÃO	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED1	-	-	-	-	-	-	88,1	85,3	0,46	997
EN4_1	7	70	240	0,05	1,5	7,15	86,9	85,7	0,21	1029
EN4_2	7	70	120	0,05	1,5	7,34	87,3	85,2	0,36	998
EN4_3	7	70	60	0,005	0,2	6,97	87,4	85,1	0,39	993
EN4_4	7	70	30	0,05	1,5	7,09	87,4	85,3	0,36	1006
EN4_5	7	70	60	0,01	0,3	7,04	87,7	85,5	0,37	1018
EN4_6	7	70	60	0,05	1,5	7,05	87,7	85,5	0,37	1014
EN4_7	7	70	60	0,15	4,5	7,00	87,9	86,7	0,18	1005
EN4_8	8	80	60	0,30	9,0	8,08	87,5	86,0	0,24	1029
EN4_9	8	80	60	0,50	15,0	7,60	87,4	85,2	0,37	1008
EN4_10	8	80	240	0,30	9,0	7,72	87,2	85,5	0,30	967
EN4_11	8	80	240	0,50	15,0	7,88	86,9	85,1	0,31	1004
EN4_12	8	80	60	0,15	4,5	7,73	87,2	85,7	0,26	994
EN4_13	7	70	60	0,30	9,0	7,09	87,7	85,6	0,34	1023
EN4_14	7	70	60	0,50	15,0	7,01	87,7	85,6	0,34	1001
EN4_15	5	50	60	0,15	4,5	4,67	88,1	85,8	0,36	1019
DED2	-	-	-	-	-	-	86,6	84,2	0,45	1021
EN4_16	5	50	60	0,15	4,5	4,43	87,8	85,0	0,47	1052
EN4_17	5	60	60	0,05	1,5	5,13	87,2	84,2	0,54	1046
EN4_18	5	60	60	0,15	4,5	4,34	87,7	85,0	0,46	1081
EN4_19	5	50	60	0,05	1,5	4,7	87,1	84,1	0,55	1034
EN4_20	6	50	60	0,05	1,5	6,21	86,4	83,7	0,52	1067
EN4_21	6	50	60	0,15	4,5	6,14	86,4	83,1	0,65	1034
EN4_22	6	60	60	0,05	1,5	6,27	86,3	82,8	0,70	1049
EN4_23	6	60	60	0,15	4,5	6,24	86,4	83,0	0,68	1059
EN4_24	4	50	60	0,15	4,5	4,18	87,8	85,1	0,47	1079
EN4_25	4	60	60	0,15	4,5	4,15	87,7	85,2	0,44	1079
EN4_26	4	60	60	0,05	1,5	4,58	87,0	84,5	0,46	1083

C.4 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO E RESULTADOS DOS BRANQUEAMENTOS COM A SOLUÇÃO ENZIMÁTICA EN5

Condições dos ensaios realizados para a solução enzimática EN5, atividade correspondente a cada carga e principais resultados (Tabela 20).

TABELA 20: Condições operatórias e resultados do branqueamento com EN5.

ENSAIO	pH	T (°C)	t (min)	CARGA (% <i>odp</i>)	ATIVIDADE U/g <i>odp</i>	RESULTADOS				
						pH RESIDUAL	BRANCURA ISO (%)	BRANCURA ISO (%) APÓS REVERSÃO	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED1	-	-	-	-	-	-	88,1	85,3	0,46	997
EN5_1	7	70	30	0,05	4,9	7,33	88,9	86,9	0,31	1029
EN5_2	7	70	60	0,005	0,5	7,35	88,2	86,3	0,31	1020
EN5_3	7	70	240	0,05	4,9	7,33	88,5	87,0	0,23	1028
EN5_4	7	70	60	0,01	1,0	7,30	88,4	86,4	0,30	1015
EN5_5	7	70	120	0,05	4,9	7,29	88,9	87,0	0,28	1012
EN5_6	7	70	60	0,05	4,9	7,25	89,0	87,5	0,22	1018
EN5_7	7	70	60	0,15	14,8	7,08	89,2	87,9	0,18	1007
EN5_8	7	80	60	0,05	4,9	7,73	87,8	85,9	0,31	989
EN5_9	8	70	60	0,05	4,9	6,95	88,2	86,4	0,29	988
EN5_10	8	80	60	0,05	4,9	7,48	88,0	86,4	0,26	1013
EN5_11	8,5	85	60	0,05	4,9	7,72	87,6	86,2	0,22	992
EN5_12	7	70	60	0,025	2,5	7,11	88,8	87,1	0,24	1046
EN5_13	6	70	60	0,05	4,9	5,99	89,0	86,9	0,31	1021
EN5_14	7	60	60	0,05	4,9	7,47	89,1	86,8	0,34	1032
DED2	-	-	-	-	-	-	86,6	84,2	0,45	1021
EN5_15	7	70	60	0,05	4,9	7,00	87,9	85,3	0,43	1084

C.5 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO E RESULTADOS DOS BRANQUEAMENTOS COM PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO (DEDP) E DIÓXIDO DE CLORO (DEDD)

COMPARAÇÃO DEDD E DEDP

Nesta secção apresentam-se as condições de operação para os estágios de dióxido de cloro e peróxido de hidrogénio aplicados à pasta DED2, bem como os respetivos resultados mais relevantes (Tabela 21 e 22).

TABELA 21: Condições operatórias e resultados do branqueamento com dióxido de cloro (DEDD).

ENSAIO	Cl ₂ ATIVO (% <i>odp</i>)	RESULTADOS			
		pH RESIDUAL	BRANCURA ISO (%)	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED2	-	-	86,6	0,45	1021
(DED)D1	0,1	6,73	88,9	0,59	1039
(DED)D2	0,2	6,30	90,1	0,61	1040
(DED)D3	0,3	6,00	90,7	0,56	1032
(DED)D4	0,4	5,77	90,8	0,45	1070
(DED)D5	0,6	5,22	90,9	0,37	1024

NOTA: Os ensaios foram realizados a uma temperatura de 70°C por 150 minutos.

TABELA 22: Condições operatórias e resultados do branqueamento com peróxido de hidrogénio (DEDP).

ENSAIO	H ₂ O ₂ (% <i>odp</i>)	NaOH (% <i>odp</i>)	MgSO ₄ · 7H ₂ O (% <i>odp</i>)	RESULTADOS					
				pH RESIDUAL	CONSUMO RELATIVO H ₂ O ₂ (%)	CONSUMO RELATIVO NaOH (%)	BRANCURA ISO (%)	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED2	-	-	-	-	-	-	86,6	0,45	1021
(DED)P1	0,3	0,55	0,2	11,97	96,30	78,94	88,4	0,33	964
(DED)P2	0,5	0,55	0,2	12,01	97,55	73,36	88,6	0,31	973
(DED)P3	0,7	0,55	0,2	12,12	98,69	68,79	88,9	0,49	910
(DED)P4	0,9	0,55	0,2	11,95	98,68	55,89	89,3	0,30	875
(DED)P5	1,2	0,55	0,2	11,91	99,20	69,45	89,7	0,26	847

NOTA: Os ensaios foram realizados a uma temperatura de 70°C por 60 minutos.

C.6 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO E RESULTADOS DO BRANQUEAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NAS SEQUÊNCIAS DEDP E DEDXP

Condições dos ensaios de branqueamento com peróxido de hidrogênio e principais resultados das sequências DEDP e DEDXP (Tabela 23).

TABELA 23: Condições operatórias e resultados do branqueamento com peróxido de hidrogênio (DEDP e DEDXP).

ENSAIO	CARGA de H ₂ O ₂ (% <i>odp</i>)	CARGA de NaOH (% <i>odp</i>)	CARGA de MgSO ₄ .7H ₂ O (% <i>odp</i>)	T (°C)	t (min)	RESULTADOS			
						BRANCURA ISO (%)	BRANCURA ISO (%) APÓS REVERSÃO	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED2	-	-	-	-	-	86,6	84,2	0,45	997
(DED)P1	0,3					88,4	86,3	0,33	964
(DED)P2	0,5					88,6	86,6	0,31	973
(DED)P3	0,7					88,9	86,6	0,35	884
(DED)P4	0,9	0,55	0,20	70	60	89,3	87,2	0,30	875
(DED)P5	1,2					89,7	87,7	0,26	847
EN2_15P	0,5					89,2	87,3	0,27	899
EN5_15P	0,5					90,4	88,2	0,28	975

C.7 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO E RESULTADOS DO BRANQUEAMENTO COM DIÓXIDO DE CLORO NAS SEQUÊNCIAS DEDD E DEDXD

Condições dos ensaios de branqueamento com dióxido de cloro e principais resultados das sequências DEDD e DEDXD (Tabela 24).

TABELA 24: Condições operatórias e resultados do branqueamento com dióxido de cloro (DEDD e DEDXD).

ENSAIO	CARGA de Cl ₂ ativo (% <i>odp</i>)	T (°C)	t (min)	RESULTADOS			
				BRANCURA ISO (%)	BRANCURA ISO (%) APÓS REVERSÃO	PC NUMBER	VISCOSIDADE (mL/g)
DED2	0			86,6	84,2	0,45	997
(DED)D1	0,1			89,0	85,3	0,59	1039
(DED)D2	0,2			90,2	86,0	0,61	1040
(DED)D3	0,3			90,7	86,6	0,56	1032
(DED)D4	0,4			90,8	87,3	0,45	1070
(DED)D5	0,6			90,9	88,0	0,37	1024
EN2_15D	0,2	70	150	90,3	86,4	0,5	969
EN4_16D1	0,1			90,1	86,4	0,52	982
EN4_16D2	0,15			90,6	87,0	0,48	1022
EN4_16D3	0,3			91,1	88,1	0,37	1078
EN5_15D1	0,1			89,8	86,1	0,54	1020
EN5_15D2	0,15			90,5	87,0	0,47	1039
EN5_15D3	0,3			90,9	87,8	0,39	1059

ANEXO D

AUTORIZAÇÕES

D.1 Autorização para Divulgação de Informação da Celpa

D.2 Autorização para Divulgação de Informação do Grupo Portucel Soporcel

D.1 AUTORIZAÇÃO PARA DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÃO DA CELPA

O pedido para divulgação de informação foi realizado via correio eletrónico no dia 27 de fevereiro de 2013:

Boa noite,

Sou aluna do Mestrado Integrado em Engenharia Química da Universidade de Coimbra e encontro-me, neste momento, a elaborar a minha tese de Mestrado na área da pasta e do papel. Gostaria de solicitar a vossa permissão para incluir gráficos e outro tipo de informação (mencionando a fonte) por vós divulgada em boletins estatísticos, nomeadamente em "Boletim Estatístico da Celpa de 2011". Acredito que a inclusão de informação vossa seria uma mais-valia no que respeita ao enriquecimento científico da minha tese.

Sem mais de momento, agradeço desde já a disponibilidade e o tempo despendido com este assunto, aguardando resposta o mais breve possível.

Os melhores cumprimentos,
Joana Gaspar Ramos Ferraz

Resposta a 4 de março de 2013:

boa tarde

Pode utilizar a informação nos moldes que referiu. Gostaríamos de receber uma cópia da tese depois de concluída.

Cumprimentos

Cristina

D.2 AUTORIZAÇÃO PARA DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÃO DO GRUPO PORTUCEL SOPORCEL

O pedido para divulgação de informação foi realizado via correio eletrónico no dia 7 de março de 2013:

Boa noite,

Sou aluna do Mestrado Integrado em Engenharia Química da Universidade de Coimbra e encontro-me, neste momento, a elaborar a minha tese de Mestrado na área da pasta e do papel. Gostaria de solicitar a vossa permissão para incluir o gráfico a seguir apresentado. Acredito que a sua inclusão seria uma mais-valia no que respeita ao enriquecimento científico da minha tese.

Foi-me dado a conhecer na disciplina de Ciência e Tecnologia da Pasta e do Papel, pelo que, se for aceite o meu pedido, gostaria que me indicasse qual a melhor forma de mencionar a sua fonte.

Sem mais de momento, agradeço desde já a disponibilidade e o tempo despendido com este assunto.

Os melhores cumprimentos,

Joana Gaspar Ramos Ferraz



Resposta a 8 de março de 2013:

Joana,

Tem todo o nosso acordo para incluir no seu trabalho, para o qual desejamos o maior sucesso, o gráfico que refere. A Fonte está lá referida: o RAIZ, do grupo Portucel Soporcel. Não é necessário mais nada.

Cumprimentos

Carlos Vieira

Director Fabril

gPS Grupo Portucel Soporcel / Complexo Industrial da Figueira da Foz