

INTRODUCCION:

La fabricación de pasta, papel y derivados del papel alcanza cifras que sitúan esta industria entre las mas grandes del mundo.

La principal fuente de fibra para la producción de pasta en este siglo a sido la madera procedente de los bosques de coníferas, aunque mas recientemente ha aumentado la utilización de bosque tropicales y boreales

La composición química de la madera es muy variable. Se compone principalmente de celulosa, lignina, hemicelulosa, y de un 5% a un 10% de otros materiales .

La lignina representa entre un 16 % hasta un 33% del peso según el tipo de madera.

La lignina es un complejo polímero aromático asociado a los polisacáridos de la pared celular vegetal, su estructura estereo-irregular y amorfa hacen de ella una molécula muy particular y difícil de degradar

Industrialmente es necesario quitar la lignina de la madera para hacer el papel u otros productos derivados.

En la práctica comercial un porcentaje grande de la lignina quitada de la madera durante operaciones para reducir la pulpa es un subproducto molesto.

En la naturaleza existen diferentes microorganismos asociados a la descomposición de la madera, pero hasta ahora los únicos que son capaces de degradar la lignina en forma eficiente son los hongos basidiomycetes llamados de pudrición blanca.

Parte del proceso básico para hacer celulosa y papel consiste en la eliminación de la lignina. Este compuesto, constituyente de la madera y que actúa como cemento en su estructura, es el principal obstáculo para poder obtener celulosa y papel de buena calidad.

Industrialmente la pulpa de celulosa blanqueada se obtiene a través de un proceso de dos etapas: el pulpaje y el blanqueo.

PULPAJE:

El objetivo del pulpaje es remover la lignina para liberar la fibra de celulosa, separando la celulosa contenida en la madera, de los otros componentes.

Este proceso puede ser de dos tipos: mecánico o químico.

- Reducción mecánica: En la reducción mecánica a pulpa, la fibras se separan triturando la madera. Aunque el proceso es muy eficaz, el papel obtenido a partir de el tratamiento mecánico de la fibra para obtención de pulpa, tiende a ser débil, y a decolorarse fácilmente cuando se expone a la luz. Ello se debe a la presencia de residuos de lignina, componente de la madera, que mantiene juntas las fibras de celulosa.
- Reducción química: En la pulpa obtenida por métodos químicos, los trozos de madera o de papel reciclado se combinan con agua y productos químicos y se calientan hasta que se separan las fibras de celulosa, dicho de otro modo Se somete la madera a una cocción con hidróxido de sodio (NaOH) y sulfuro de sodio (Na₂S), solución denominada licor blanco, a alta temperatura y alta presión. La pulpa producida se lava con agua, se clasifica para eliminar las impurezas y sustancias químicas residuales

de la cocción y se envía a la etapa de blanqueo.

En la etapa de pulpaje se produce emisión de gases sulfurados, tales como ácido sulfídrico, metil mercaptano, sulfuro de dimetilo y disulfuro de dimetilo. El contenido de tales compuestos se expresa como azufre total reducido (TRS). También se prevee la generación de óxidos de azufre (SOx). El efluente líquido está compuesto principalmente por sólidos suspendidos (fibras) y productos de degradación de la lignina. Los residuos sólidos corresponden a rechazos de pulpa y nudos de la madera.

El proceso de pulpaje más utilizado en Chile y en el mundo es el Kraft,

pulpaje Kraft

Entre los productos químicos utilizados en el pulpaje Kraft, la soda y el sulfuro de sodio, son parte de la primera etapa de tratamiento de la madera que se destina finalmente a la confección de papel.

Posteriormente la celulosa cruda se blanquea con productos clorados, cloro propiamente tal, y dióxido de cloro, productores directos de dioxinas. Este proceso tiene todas las características de una práctica en vías de extinción: es caro, contamina el agua y el aire y produce papeles de regular calidad degradando el medio ambiente.

Con este tratamiento se obtienen celulosas de dos tipos:

- Celulosa cruda o Kraft, materia prima de papeles resistentes.
- Celulosas blanqueadas; con las cuales se fabrican los papeles de impresión–escritura, en especial el papel periódico.

Proceso de producción celulosa Kraft blanqueada;

Las trozas de madera son descortezadas y luego reducidas a astillas en los astilladores. Dichas astillas son transportadas a través de correas a reactores, denominados digestores, donde se cuece con sosa cáustica, sulfato sódico y carbonato cálcico, a 200 grados centígrados y alta presión para reducir los trozos a una pulpa, en una solución de licor blanco compuesto por hidróxido de sodio y sulfuro de sodio. Esta operación permite disolver gran parte de la lignina que une a las fibras de madera, liberando así dichas fibras. Después de la cocción, se separan los gases sulfúricos para ser tratados (generalmente son incinerados), y el resto de la mezcla es filtrada por diferentes mecanismos para retirar los trozos que no se han degradado durante la cocción. El producto de la cocción se procesa en filtros lavadores. La pulpa es enjuagada con agua para arrastrar los líquidos de cocción y recuperar los compuestos químicos utilizados. La pasta es filtrada y espesada al quitarle agua., donde se separan las fibras y el licor residual (licor negro). La pulpa obtenida se clasifica, limpia, espesa y almacena.

Para el caso de celulosa blanqueada, la pulpa obtenida es enviada a una etapa de blanqueo en la que se utilizan diferentes combinaciones de compuestos oxidantes tales como cloro elemental (Cl₂), dióxido de cloro (ClO₂), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), oxígeno (O₂), u otros agentes, para finalmente almacenarse. Por otra parte, el licor negro se envía a un ciclo de recuperación de reactivos, donde se obtiene energía para el proceso y se recicla una fracción importante de los insumos químicos requeridos en el pulpaje.

PULPAJE QUÍMICO AL SULFITO

El proceso productivo es similar al pulpaje Kraft, excepto que como licor blanco utiliza bisulfito de sodio. Dichos reactivos no son recuperados, ni reciclados.

ALTERNATIVAS MENOS CONTAMINANTES EN FASES PREVIAS AL BLANQUEO

Ampliar las actividades para retirar la lignina antes de la fase de blanqueo:

" **Cocción Continuada Modificada (MCC).**

Este proceso consiste en alterar la fase de cocción, alternando vapor a alta y a baja presión e invirtiendo el sentido de la corriente de cocción a mitad de la fase. Los resultados son una menor concentración de lignina adherida a la celulosa y una mayor viscosidad que facilita la separación del resto de la lignina durante una fase de oxigenación. Existen otros sistemas que se basan en los mismos principios que pueden ser instalados directamente en los sistemas de cocción tradicionales, que ofrecen resultados muy positivos.

" **Oxigenación.**

En las tecnologías modernas se considera una etapa de deslignificación con oxígeno, que permite reducir la cantidad de agentes de blanqueo usados posteriormente. Este proceso de aplicación previo al **blanqueo** reduce significativamente la lignina. No obstante, este paso es delicado puesto que el oxígeno también ataca a la celulosa, por lo que es necesario encontrar un punto de equilibrio para que dicha operación sea rentable.

La deslignificación o pre-blanqueo con oxígeno debe su desarrollo, principalmente, al control ambiental. Al remover cerca del 50% de la lignina en una etapa usando oxígeno, hay una gran reducción de la carga de poluentes (DBO). Ese material orgánico disuelto puede ser enviado para la caldera de recuperación, donde se transforma en energía. Además del aspecto energético, el uso de oxígeno antes de la etapa de cloración proporciona una deslignificación equivalente a una reducción del 30 al 50% del número Kappa de pasta no blanqueada. Es evidente que las secuencias iniciadas con una etapa con oxígeno presentarán un consumo bastante inferior de compuestos clorados. El proceso puede ser efectuado de dos maneras: con oxígeno en torres presurizadas utilizando celulosa a consistencia media, o la deslignificación con oxígeno a consistencia media en un reactor atmosférico.

BLANQUEO:

La principal razón del blanqueo de la pulpa es la de eliminar el contenido de lignina residual evitando así causar daños en la calidad de la fibra. ya que la lignina produce una decoloración marrón en el papel final.

La eliminación de la lignina, que es un material químicamente complejo, produce una pulpa con un matiz más luminoso.

En esta etapa se le otorga a la pulpa la blancura que corresponda según los estándares establecidos para su comercialización.

El blanqueo corresponde a un tratamiento químico en etapas sucesivas y bajo condiciones de operación distintas. Los principales reactivos químicos utilizados son cloro elemental (Cl_2), dióxido de cloro (ClO_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Hidróxido de sodio ($NaOH$) se utiliza entre algunas etapas de blanqueo para regular el ph, de modo de facilitar la extracción del material disuelto.

- La pasta química es blanqueada con removedores de lignina.
- La pasta mecánica –que por definición contiene grandes cantidades de lignina– se aclara usualmente con peróxido de hidrógeno que cambia la estructura de la lignina y altera el color, pero no la elimina. En las tecnologías convencionales de blanqueo de la pasta química, la lignina se degrada y remueve con la ayuda de gas cloro (Cl_2). La pasta se blanquea luego en varias etapas que emplean dióxido de cloro (ClO_2) e hipoclorito de sodio (lavandina, $NaOCl$).

Para el blanqueo se requiere reactivos muy selectivos para remover la lignina. En este sentido, el Cloro es el

mejor para dicho objetivo, pero tiene problemas ambientales por la formación de compuestos organoclorados. Para ello, las industrias, han incorporado una etapa de deslignificación con oxígeno y han reemplazando total o parcialmente el cloro gas, por el dióxido de cloro, dando origen a los procesos libre de cloro elemental (procesos ECF) o blanqueando con reactivos no clorados (procesos TCF) como el ozono o el peróxido de hidrógeno.

Blanqueo convencional:

Utiliza Cl₂, ClO₂ y NaOH en diferentes secuencias y proporciones. Se generan riles con compuestos organoclorados, incluyendo dioxinas. Estas últimas no se generan cuando se utiliza ClO₂ en vez de Cl₂.

Blanqueo ECF (libre Cl₂):

No utiliza Cl₂, el que se reemplaza con ClO₂. También se puede incluir H₂O₂, O₂, O₃ y enzimas. Si se incluye una etapa de predeslignificación, el consumo de ClO₂ puede disminuir en un 40%. Los efluentes contienen AOX, pero no dioxinas.

Blanqueo TCF (libre de Cl total):

No utiliza cloro en ninguna forma. Las secuencias de blanqueo TCF incluyen combinaciones de algunos de los siguientes agentes de blanqueo H₂O₂, O₂, O₃ y enzimas. Los efluentes no contienen organoclorados, pero si otros compuestos fenólicos, y podrían ser recirculados al ciclo de recuperación de reactivos, descargando solamente aquellas líneas residuales de baja concentración orgánica.

Tratamiento con ozono

El blanqueo de celulosa con ozono en la producción de papel representa una nueva alternativa para eliminar totalmente la utilización de cloro, produciendo la llamada pulpa TCF (Total Chlorine Free). AGA es líder en el mundo en el desarrollo de esta aplicación. El ozono es un agente blanqueador eficaz, pero no muy estable, al tender a degradarse a oxígeno. Este sistema se basa en un circuito cerrado para recuperar el oxígeno y regenerar ozono.

Tratamiento con peróxido.

El peróxido de hidrógeno sirve únicamente para incrementar el brillo de la pulpa, y no para separar la lignina adicional. Esto representa un beneficio al mejorar la calidad de la pulpa y reducir los costes del **blanqueo**.

Una de las opciones más atractivas desde el punto de vista tecnológico, y parece

ser la más comercializada, es la combinación de una fase previa de deslignificación con

oxígeno seguida de diferentes fases de **blanqueo** con peróxido de hidrógeno y ozono.

Otros procesos

Existen variantes del proceso mecánico en las que se utiliza vapor de agua para reblandecer la madera, es el llamado **proceso termomecánico (TMP)**. Otra variante, el **proceso químico-termomecánico (CTMP)**, consiste en utilizar, además de vapor de agua, pequeñas cantidades de compuestos químicos. Este tratamiento químico da como resultado una pasta más resistente al extraer más cantidad de lignina y resina de la madera. El proceso CTMP puede utilizar maderas duras (eucalipto y frondosas como el arce, el abedul o el haya) que proporcionan fibras pequeñas con elevado porcentaje de celulosa y blandas (coníferas como el pino y el abeto) con fibras más largas que dan una pasta más resistente pero contienen más resinas. El proceso TMP sólo es

aplicable a maderas blandas.

El proceso de **Solvopulping** consiste en separar las fibras de lignina con alcohol. El alcohol se puede reciclar y la lignina se puede recuperar para otros usos industriales.

Las fibras resultantes son bastante puras y necesitan poco **blanqueo**. Este proceso, a pesar de ser económicamente viable también para cantidades de producción pequeñas (200 toneladas), sólo se puede utilizar para maderas duras y, además, la recuperación del alcohol puede ser un proceso muy explosivo. Existe un proyecto alemán que consiste en combinar **procesos electrolíticos** con el proceso Solvopulping, que permite aislar la lignina de forma muy pura, reciclando constantemente el metanol y la sosa cáustica. Una variación del proceso TMP es **el proceso de pasta explosivo**. Los trozos de madera se impregnan con productos químicos y luego se introducen en un reactor donde son expuestos a vapor de agua a gran presión y temperatura. El resultado es la separación de la madera en sus componentes más básicos y la fibra resultante es blanda, flexible y fácil de blanquear.

La foto catálisis heterogénea tiene especial relevancia, por su eficiencia en la remoción de color, toxicidad y a la rápida disminución de la masa molecular de la materia orgánica disuelta. Uno de los primeros trabajos publicados en el área se refiere a la foto catálisis de

lignina Kraft en presencia de TiO₂ y radiación UVA, que logra la transformación de la **lignina** en formaldehído, ácido oxálico, CO₂ y agua, luego de algunas horas de irradiación. Se postula que la **degradación** fotocatalizada se debe a la acción de los huecos foto generados y no de radicales hidroxilo. Ohnishi y colaboradores hicieron una comparación de diferentes semiconductores en la foto degradación de **lignina**. Se estudió la importancia del oxígeno como aceptor de electrones, concluyéndose que TiO₂ y ZnO presentan las actividades foto catalíticas más altas, tanto en soluciones neutras como alcalinas; la eficiencia aumenta si se impregna el foto catalizador con metales nobles. Se describió que el empleo de ZnO dopado con Pt y Ag es muy eficiente para degradar el color en un efluente kraft . Este hecho se explica por la estabilización de los electrones de la banda de conducción en la superficie del metal noble, reduciéndose el proceso de recombinación electrón–hueco.

Tratamiento con enzimas.

Se están investigando diferentes enzimas que ayudan a la descomposición de la madera. Las xilanasas tienden a degradar los enlaces químicos que unen la lignina a la madera. Esta opción biológica parece ser viable económicamente aunque su aplicación es limitada al perder la pulpa propiedades de resistencia cuando las enzimas se usan en exceso.

Uso de enzimas que remuevan directamente la lignina como las lacasas – enzimas producidas por hongos que degradan madera –, o que ayuden a su remoción como las xilanasas. Las lacasas son cuproenzimas y forman parte de un complejo enzimático utilizado por los hongos degradadores de madera para degradar la lignina. Las lacasas pueden ser producidas en grandes cantidades en bioreactores con relativa facilidad, a diferencia de otras enzimas ligninolíticas como la Lignina–peroxidasa y la Manganese–peroxidasa.

Para el uso industrial de las lacasas se ha propuesto un mediador enzimático, sistema lacasa/mediador, lo que permite una buena remoción de lignina pero con un mayor costo económico. El sistema lacasa/mediador, según los resultados obtenidos hasta el momento por la investigación de Rodríguez, se puede utilizar eficientemente en secuencias de blanqueo ECF de pulpas de eucalipto y pino, fase que permite una disminución en el N° kappa de un 22 % para pulpa Kraft de eucalipto y 55 % para pulpa Kraft de pino. Como consecuencia de la disminución del N° kappa, en la pulpa tratada con lacasa/mediador, se obtiene una disminución de la carga de dióxido de cloro necesaria para alcanzar una blancura comercial. Para eucalipto, la

carga disminuye en un 21 % y para pino este valor es aún mas alto, siendo del 50 %.

La aplicación de sistemas de bioblanqueo con el sistema lacasa/mediador podría no sólo tener ventajas ambientales y económicas, cuando se desarrolle un mediador mas eficiente y barato, debido a la alta disminución en el consumo de dióxido de cloro que se puede obtener.

LA MOLECULA DE LIGNINA

El interés de los investigadores se centra en buscar cómo y cuáles seres vivos realizan eficientemente la degradación de la lignina.

En particular, el objetivo es acceder al más importante recurso de la pared de la célula vegetal, la celulosa. La primera etapa, y sin duda la más importante, es penetrar una gran barrera constituida por dos estructuras, la lignina y la hemicelulosa, las cuales forman una matriz amorfa que "encadena", progresivamente, a las fibras de celulosa desde la diferenciación celular. Esto impide, justamente, poder llegar con facilidad hasta este principal recurso.

La celulosa es un polímero, es decir está formada sobre la base de unidades repetitivas de glucosa enlazadas por un tipo de unión covalente (fuerte).

La hemicelulosa también es un polímero, pero relativamente ramificado y compuesto por varios azúcares.

La estructura de la lignina –en cambio– es mucho más compleja (está formada por una unidad de base que comprende un anillo aromático –molécula cíclica– y una cadena lateral de tres carbonos). En función de la sustitución sobre el anillo resultan tres unidades monoméricas distintas. En contraste a los polisacáridos, la lignina presenta una amplia gama de enlaces, lo que la hace un polímero muy heterogéneo. Estos pueden darse entre ambos anillos o entre el anillo y uno de los carbonos de la cadena o entre una cadena y otra.

La lignina se caracteriza por poseer una estructura amorfa, un peso molecular elevado, además de ser insoluble en cualquier solvente orgánico; le entrega rigidez y flexibilidad a los vegetales, se encuentra en los tejidos que llevan la savia.

También es difícilmente atacable, por el hecho de que sus enlaces necesitan una alta energía de activación para la depolimerización en sus unidades. Esta última característica, junto a la notable diversidad de la lignina, son las dos razones que hacen que muy pocos microorganismos sean capaces de atravesarla.

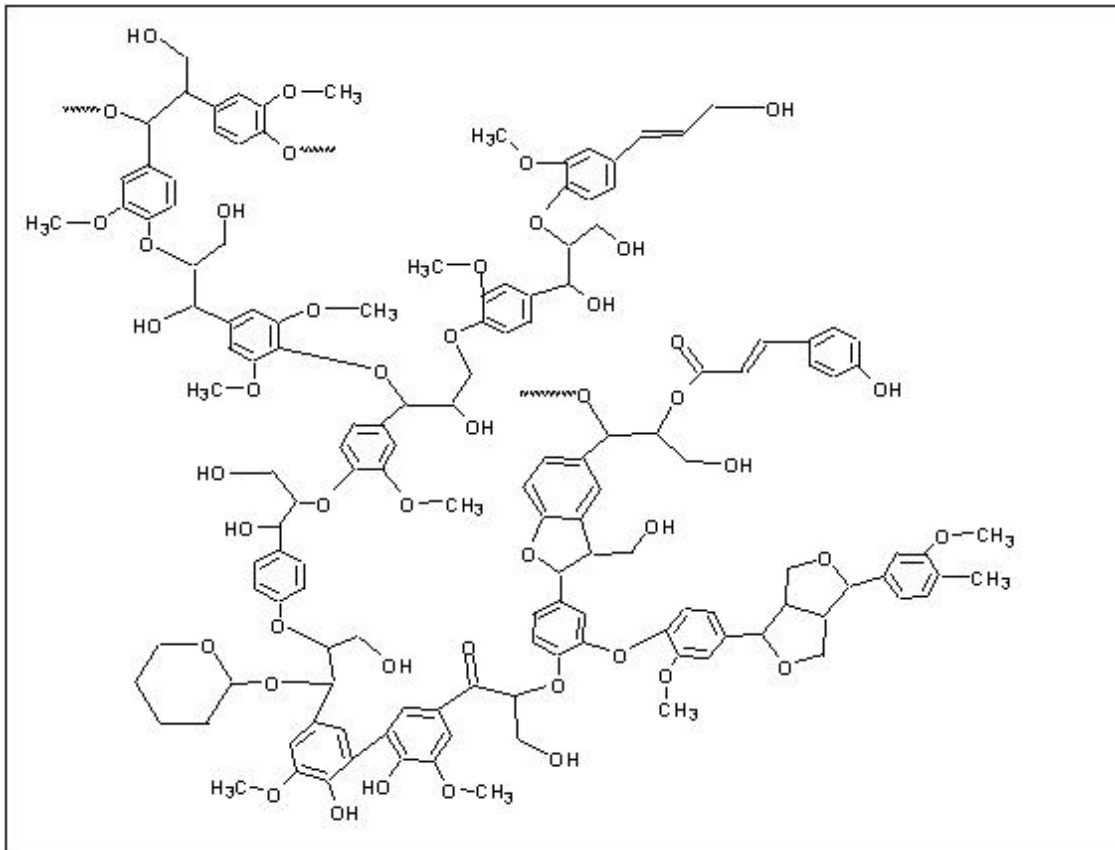
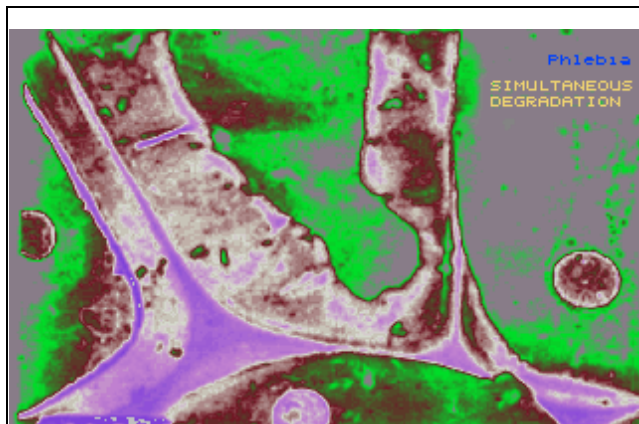


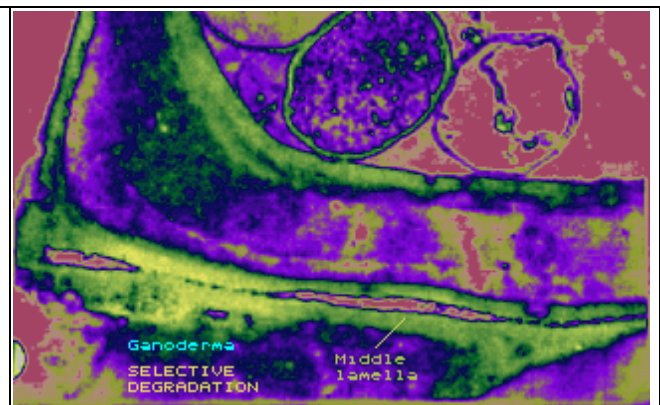
Figura1 : Estructura generalizada de la Lignina (reproducida con permiso de "Real-World Cases in Green Chemistry," copyright 2000 de la Sociedad Americana de Química)

DESLIGNIFICACION POR HONGOS DE PUDRICION BLANCA

Figura2



Degradación simultánea de las diferentes capas de la pared celular vegetal por los hongos (imagen de TEM obtenida por J.M. Barrasa).



Degradación selectiva de la lámina media que da lugar a la separación de las fibras de los tejidos ("biopulping") (imagen de TEM obtenida por J.M. Barrasa).

Hasta hoy día se conoce una sola clase de seres vivos capaces de degradar eficientemente lignina. Se trata de los hongos Basidiomicetes, denominados "pudrición blanca", ya que producen un blanqueamiento de la madera al degradar la lignina.

Entre éstos se encuentra uno particularmente estudiado, *Phanerochaete chrysosporium*, que exhibe características muy interesantes. Crece muy rápido, produce gran cantidad de esporas y se desarrolla a elevadas temperaturas, del orden de los 40° C.

Hasta aquí no se ha hecho referencia acerca de la sustancia química capaz de transformar la lignina. Hacia fines de año 1983 no había sido posible hallar ninguna enzima que pudiera realizar ese proceso. Mientras tanto, se creía posible que no participara un factor enzimático, dada la gran heterogeneidad de la lignina. Se pensó que, como a una enzima se la conoce por su especificidad, tal vez podrían ser más idóneos en el proceso los radicales derivados del oxígeno, los cuales poseen electrones desapareados y, por lo tanto, son altamente reactivos. Se demostró que uno de ellos, el radical superóxido, en alguna medida, estaba involucrado en la degradación.

Antes de finalizar 1983, Kirk y colaboradores, del Forest Products Laboratory, Forest Service, Madison, EE.UU., descubrieron la primera enzima extracelular degradadora de la lignina. La llamaron ligninasa. Este hallazgo causó gran impacto, porque como detrás de cada enzima hay un gen que la codifica, era dable optimizar el fenómeno responsable de la reacción a través de la ingeniería genética.

No obstante, los mecanismos de acción biológica también pueden convertirse en más eficientes una vez conocidas las condiciones fisiológicas más favorables para su expresión. En este sentido se demostró que las mismas condiciones se cumplían tanto en la actividad de la enzima aislada como en el sistema de cultivo completo, es decir, la lignina, el hongo y

la ligninasa. Por ejemplo, se probaron tres condiciones fundamentales y una de ellas fue que a una mayor presión parcial de oxígeno el rendimiento de degradación del hongo aumentaba de manera concomitante. De igual forma se observó que igual cosa sucedía con la ligninasa sola.

Por otro lado se determinó que la degradación de la lignina se desencadena, exclusivamente, cuando el hongo en su medio de cultivo carece de uno de los nutrientes esenciales para su crecimiento. Durante esta fase, denominada estacionaria, los organismos sintetizan la ligninasa, quizás con el fin de llegar a la celulosa o a algún nutriente, al cual la lignina les cierra el acceso.

Esto indicaba la existencia de "factores represores" de la actividad lignolítica cuando todos los nutrientes estaban en exceso. Así sucedió resultando ser el nitrógeno y el carbono las principales fuentes represoras y, en tal sentido, para iniciar las síntesis uno de esos elementos debe reducirse a un estadio basal o mínimo.

En cuanto a la tercera condición, se demostró que la degradación de la lignina no era inductible. En otras palabras, si se hace crecer al hongo en ausencia de lignina, siempre habrá síntesis de ligninasa durante el período estacionario. Sobre este particular aún hay discrepancias dado que la actividad enzimática sería inductible y constitutiva a la vez. O sea, si se adiciona lignina al medio de cultivo, la síntesis es mucho mayor.

Finalmente se demostró que estos hongos lignolíticos no son capaces de crecer sobre la lignina cuando ésta es la única fuente de carbono presente en el medio de cultivo. En efecto, los hongos necesitan, inicialmente, un co-substrato fácilmente degradable, como la glucosa o la celulosa. Sólo entonces estarían en condiciones de degradar a la lignina.

Investigadores franceses del Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional Agronómico de París, demostraron recientemente que esta clase de hongos también pueden emplear como fuente de carbono, para la producción de ligninasa, aquellos provenientes de los ácidos grasos. Se observó asimismo que en medios de cultivo con agitación no se producía la síntesis de lignina. Sin embargo Kirk y sus colaboradores demostraron que esto podía implementarse añadiendo detergentes como el Tween 80. Esto es importante si se considera que la agitación permite un medio homogenizado y aumenta la cantidad de oxígeno disuelto permitiendo así escalar rápidamente la producción de enzimas.

OTRAS HERRAMIENTAS

La ligninasa –como enzima extracelular– está facultada para transformar su sustrato hasta productos de más bajo peso molecular. Estos, posteriormente, son retornados por otras enzimas intracelulares del hongo que lo degradan y metabolizan hasta la última etapa (anhídrido carbónico). La originalidad de los hongos lignolíticos reside, precisamente, en el hecho de que son capaces de llevar a cabo esta primera etapa de degradación de la lignina, puesto que una vez depolimerizada, bacterias y otros hongos pueden continuar la tarea.

Cuando aún no se conocía la existencia de la ligninasa y se sostenía que los radicales libres jugaban un rol crucial en el mecanismo de degradación, en cierto sentido no se estaba tan lejos de la realidad. En efecto, la ligninasa es una hemoproteína que contiene un átomo de hierro en su sitio activo. Este es oxidado, en una primera etapa, por el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada), el cual es producido también en fase estacionaria por estos hongos. Para volver a su estado basal la ligninasa le "roba" un electrón a la lignina, creando radicales catiónicos sobre ésta. Estos son tremendamente reactivos y oxidantes y van a producir el corte de los enlaces más importantes entre las unidades de lignina y, a su vez, crearán nuevos radicales. De esta forma, estos últimos se propagan a través de la molécula y provocan su depolimerización. Con respecto al pH óptimo de acción de la enzima, es curioso constatar que fluctúa entre 2,5 y 3,0. En cambio el pH óptimo de la actividad del hongo es de 4,5.

Las cantidades secretadas de enzimas en el medio de cultivo son extremadamente bajas, lo que impide hasta el momento su producción en planta piloto o a mediana escala y, en consecuencia, su utilización a nivel industrial. Además, existe una segunda limitante, si se toma la enzima purificada lo que se obtendrá paradójicamente es una polimerización de la lignina. La explicación de esta circunstancia reveladora se sustenta en la presencia de otras enzimas o factores que serían imprescindibles para su degradación. (1986)

el biopulpaje

Los hongos llamados de pudrición blanca, además de deslignificar la madera, son amigables con el medio ambiente y una fuente de negocios y rentabilidad insospechada. Es por ello que, basados en un largo proceso de investigación que ya lleva más de diez años, Javier González junto a un numeroso grupo de científicos de las Universidades de Chile, Católica y Austral ha perfeccionado el uso de las especies que facilitan el proceso de pulpaje y ahora controla y domina su reproducción y ciclo biológico, junto con sus propiedades y aplicaciones en un sector que agradece esta innovación como una solución esperada para optimizar gradualmente el antiguo y poco ecológico proceso de pulpaje Kraft.

La tecnología desarrollada por este grupo de investigación puede utilizar un número no despreciable de hongos, llamados de pudrición blanca, que en su ciclo normal de desarrollo, consumen lignina haciendo un pulpaje natural de las maderas en las que se instalan a vivir. *Pleurotus*, *Coriolus (Polystictus)*, *Phlebia*, *Poria* y *Ceriporiopsis* son algunos de los integrantes de la familia fúngica deslignificadora.

El grupo de investigadores liderados por el Doctor González viene trabajando desde hace más de diez años con algunas de estas variedades de hongos, haciendo ensayos en coníferas o en latifoliadas y hoy se encuentra en un nivel de vanguardia en la optimización del proceso de biopulpaje de la madera de Pino radiata e iniciando las investigaciones que permitirán extender su uso al Eucalyptus.

La potencialidad de aplicación de esta tecnología va desde la VII a la X regiones, sin embargo para esta última deberán realizarse algunas experiencias previas. Las pruebas efectuadas hasta ahora han demostrado que las maderas tratadas con este proceso presentan mayores rendimientos de pulpaje, menores ligninas residuales, mayores tasas de blanqueo, menos contaminación y mejores propiedades de los papeles, al tiempo que economizan en los procesos de producción de los mismos.

Pero cómo ocurre este fenómeno es una interrogante que ha sido respondida a lo largo de años de investigación y cuya respuesta tiene el valor de la experiencia adquirida en el desarrollo de esta innovación.

El proceso desarrollado por los hongos es complejo y responde a interpretaciones físicas, físico químicas, químicas y bioquímicas. El hongo, al establecerse en la madera, sea en el estado de rollizo o astilla, desarrolla hifas que penetran las fibras, a través de las paredes, preferentemente por las punteaduras y lúmenes celulares, produciendo una transformación bioquímica con proyección física. Ello deriva en una menor tasa de lignina, una lignina que es modificada cualitativamente y una madera más porosa. Algunos estudiosos de los hongos de pudrición blanca interpretan su acción a través de la degradación de la lignina y la leve degradación que experimenta la fracción holocelulósica (conjunto de celulosa y hemicelulosa) de la madera.

El primer paso para deslignificar la madera con hongos de pudrición blanca consiste en la inoculación en rollizos de madera con uno o varios de los tipos de hongos descritos, produciendo su penetración desde la parte externa hacia el interior del trozo de madera.

En este proceso juegan un rol importante diversos factores tales como la temperatura ambiente, la humedad, el pH, los niveles de anhídrido carbónico y el tipo de madera, dependiendo de la especie forestal y la densidad de ésta. La combinación óptima de todos estos factores permite acelerar la penetración de los hongos de pudrición blanca y es una de las claves del éxito del biopulpage.

En la naturaleza la biodegradación de la lignina es un proceso lento, llevado a cabo principalmente por hongos filamentosos.

La lignina es fragmentada por radicales libres producidos por distintos tipos de fenol oxidasas y peroxidasas secretadas por hongos. Los intermediarios de degradación de bajo peso molecular son posteriormente mineralizados por los propios hongos y por bacterias.

Enzimas producidas por el hongo degradador de la lignina

Peroxidasas y Lacasas

Estas enzimas son capaces de oxidar sustratos fenolicos haciendo uso del oxígeno molecular (O₂)

La lacasa fúngica secretada por los hongos de pudrición blanca (*Phanerochaete*, *Coriolus*) es exclusivamente extracelular es decir, es secretada por el hongo al medio.

El pH óptimo de las lacasas muestran variaciones dependiendo del sustrato que se está oxidando y condiciones del medio, pH óptimo entre 4.0 y 7.5.

En los mecanismos de reacción catalizados por lacasas puede estar involucrado un radical libre.

La peroxidasa de lignina, extrae un electrón de las subestructuras de la lignina.

Las reacciones que dependen del peróxido de hidrógeno pueden consumir o asimilar el oxígeno con la adición de oxígeno molecular a los radicales intermediarios.

Otras enzimas implicadas en el catabolismo de la lignina por el *Phanerochaete Chrysosporium* son la oxidasa de glucosa y la oxidasa glioxal para la producción de peróxido de hidrógeno; y la oxidoreductasa de quinona celobiosa para la reducción de quinona.

La degradación de lignina realizada por este hongo ocurre solo durante el metabolismo secundario, y emplea el alcohol veratrílico, que es sintetizado nuevamente por el hongo como un mediador o como sustancia estimulante de la producción de enzimas.

Las lacasas obtenidas del hongo *C. Versicolor* pueden producir la polimerización y despolimerización de la lignina. En los modelos fenolitos de la lignina, la lacasa puede realizar la misma extracción de electrones y la descomposición de los enlaces que la peroxidasa de lignina. Sin embargo, es posible también que el radical fenolito se polimerice si no se extraen los intermediarios de la quinona

La biodegradación de la lignina puede ser dividida en dos procesos:

- La separación de las cadenas que están conectadas a las unidades monoméricas, resultando una despolimerización de la lignina.
- La ruptura de los anillos aromáticos del polímero de lignina.

Rol de la peroxidasa de lignina y la lacasa en la biosíntesis y degradación de la lignina

Biosíntesis:

- Peroxidasa de lignina / H₂O₂ _____ Radicales fenoxi de mognols
- Lacasa / O₂ _____ Radicales fenoxi de mognols

Biodegradación:

- Peroxidasa de lignina / H₂O₂ _____ Cation de u. no fenolicas.
- Lacasa / O₂ _____ radicales fenoxi de u. fenolicas.

Efectos del peróxido de hidrogeno (H₂O₂)

La madera y otros materiales lignocelulosicos pueden ser fácilmente deslignificados al usar peróxidos orgánicos tales como el ácido paracetico y ácidos performicos. Se han realizado pocas investigaciones sobre la deslignificación con peróxidos orgánicos no así con el peróxido de hidrogeno alcalino.

Gould descubrió que aproximadamente la mitad de la lignina presente en los residuos agrícolas, pueden ser solubilizados cuando el residuo era sometido a 25° C con una solución alcalina de peróxido de hidrogeno. La deslignificación era mas efectiva en un ph de 11,5. McDonough y col. Estudiaron la deslignificación de la pulpa de pino con peróxido de hidrogeno alcalino. Descubrieron que aproximadamente la mitad de la lignina presente en la pulpa podía ser extraída. En ambos casos, la deslignificación mas efectiva ocurrió bajo condiciones de reacción donde no esta presente ningún estabilizador y la velocidad de descomposición del peróxido era la máxima. El peróxido de hidrogeno acidico es un agente oxidante mas poderoso que el alcalino. En condiciones acidicas la macromolécula de lignina es degradada en forma extensiva y disuelta por el peróxido de hidrogeno.

En estudios se postula que la mayoría de las reacciones relacionadas con la biodegradación de la lignina pueden ser explicadas en base a la transferencia de un simple electrón desde el anillo aromático hacia un alto centro potencial de reducción, y que estas enzimas no necesitarían la presencia de H₂O₂ ni O₂.

En un trabajo realizado por Jeffrey K. y colaboradores, se descubrió la presencia de una enzima que requiere H₂O₂ en un medio extracelular en cultivos lignoliticos del hongo *Phanerochaete chrysosporium*. Esta enzima puede descomponer una gran variedad de compuestos de lignina, producir etilenos del ácido KTBA y depolimerizar la lignina, otra de las características señala que la enzima forma parte del sistema lignolitico de la lignina.

Los resultados del trabajo mencionado anteriormente señalan que la enzima extracelular en un cultivo adecuado de 6 días combinada con un sistema de producción de H₂O₂ pudo producir 0.2 umol de etileno a partir del KTBA en el periodo de una hora. Sin embargo sin el sistema de producción de H₂O₂ no se pudo

producir etileno. Cabe señalar que estos experimentos resultan óptimos en cultivos con baja concentración de nitrógeno que crecen con un 100% de O₂.

Por otra parte en un trabajo de P.J. Harvey y colaboradores descubrieron que la oxigenasa dependiente del H₂O₂ del hongo *Phanerochaete chrysosporium* degradada de lignina oxido el alcohol veratrílico sin la incorporación de oxígeno al sustrato. También catalizó el desdoblamiento de los enlaces – de un sustrato diarilpropano no fenólico sin la presencia de oxígeno.

En este experimento los autores proponen que la enzima degradada de lignina no funciona solo como peroxidasa, sino también como oxigenasa y que las reacciones de oxidación se producen por la transferencia de un electrón simple entre el anillo aromático y un centro altamente activado en la enzima. También se demuestra como la transferencia de un simple electrón puede producir reacciones similares a aquellas de las enzimas sin la presencia de H₂O₂ u O₂.

Los hongos de pudrición blanca remueven lignina y celulosa. Bjorkman y colaboración (1949) separaron el grupo de pudrición blanca en dos categorías: hongos de pudrición blanca que pueden remover los componentes de las paredes celulares simultáneamente, y otros que pueden remover lignina y hemicelulosa dejando la celulosa. El identifico ambas categorías como pudrición blanca y pudrición corrosiva respectivamente. Mas tarde Maier (1955) renombro las categorías de degradación de hongos de pudrición blanca como: pudrición simultanea (p. blanca para Bjorkman) y pudrición blanca (p. corrosiva).

Los diferentes usos para el termino pudrición blanca causaron confusión. La nomenclatura fue corregida cuando miembros de la comunidad científica europea aceptaron las definiciones de Meier.

Los primeros periodos de investigación de madera degradada fueron referidos a los aspectos macroscópicos para propósitos de identificación. Mas tarde se hicieron observaciones en terreno y detalles de evaluación microscópica conjuntamente con los análisis químicos de la madera degradada. Durante la mayor parte de los estudios para la caracterización de los tipos de degradación se usaron los mismos organismos. Así por ejemplo Cowling (1961) y Wilcox (1968) usaron el *Coriolus versicolor* para la caracterización de los aspectos microscópicos y químicos de la pudrición blanca.

Otras investigaciones asumieron que todos los hongos de pudrición blanca degradaban la madera de una manera similar y que estos solo degradaban lignina.

Trabajos realizados en Europa por Meier (1955) y Liese's (1970), indican que la degradación por el *C. versicolor* simboliza la pudrición simultanea y la degradación por el *Phellinus pini* representa la deslignificación selectiva.

Investigaciones de Blanchette y col. 1985, sugieren que los tipos de degradación causada por muchos hongos de pudrición blanca no encajan en las categorías clásicas establecidas para madera degradada.

Parece probable que los hongos de pudrición blanca difieren en su habilidad para degradar madera como resultados de diferencias en los tipos de enzimas producidas y como estas enzimas son capaces de actuar sobre la organización especifica de los componentes de la pared celular.

Así la deslignificación selectiva es capaz de ocurrir solo en localizadas áreas de la madera como por ejemplo en maderas nuevas o viejas. Hongos que causan una pudrición simultanea no dañan tanto la estructura de la pared celular puesto que este tipo de degradación ocurre usualmente en todos los tipos de células en un mismo madero.

Existen algunas excepciones en que no todos los hongos que deslignifican selectivamente la madera son restringidos por el tipo de células. Algunos de estos hongos son capaces de deslignificar selectivamente un

mayor tipo de células en el interior de la madera. El motivo de la deslignificación localizada causada por estos hongos pareciera ser restrictivo por la acumulación de productos polimerizados durante la descomposición.

Otros hongos como *Ischnoderma resinosum* puede causar una deslignificación selectiva y simultanea en el interior de un mismo tronco en descomposición. La causa para estos tipos de variación en la capacidad degradativa aparentemente incluye mas diferencias en la estructura de la pared celular.

Todos los componentes de la pared celular de madera degradada simultáneamente son removidos directamente alrededor de las hifas fúngicas. Los huecos que se forman en la madera por la remoción de los materiales de la pared celular son cargados con micelio.

Por otro lado en madera deslignificada selectivamente las hifas están muy espaciadas y la lignina y hemicelulosa son removidas selectivamente, quedando celulosa atrás en forma de macro fibrillas. Estos procesos de deslignificación selectiva ocurren sobre una cierta distancia desde la hifas fúngicas, indicando que se produce una difusividad de lignina en el sistema degradante.

El micelio en madera degradada por muchos hongos basidiomycetes de pudrición blanca se alinean en forma radial y circunferencial en la madera. Estas zonas interconectadas de micelio parecen actuar como un sistema de transporte sobre la superficie del tronco.

En suma los basidiomycetes de pudrición blanca muestran muchos cambios en su habilidad para causar diferentes modelos micro morfológicos de degradación. Se necesitan muchas investigaciones para reconocer que diferentes hongos de pudrición blanca tienen variadas capacidades de remover lignina, celulosa y hemicelulosa desde la madera.

Es necesario entonces, un conocimiento detallado de cómo estos hongos degradan diferentes células y los procesos responsables de la degradación, antes de darles una aplicación industrial.

PALO PODRIDO

El palo podrido es original de una pudrición blanca con degradación selectiva de lignina producida por *Ganoderma Aplanatum*.

El palo podrido es un genero especial de pudrición blanca principalmente con ataque a los troncos de *Eucryphia cordifolia* y *Nothofagus dombeyi*, en adición a estos basidiomycetes existen otros microorganismos (bacterias y levaduras).

El palo podrido es un estado intermedio de degradación con una máxima deslignificación y mínima degradación de celulosa.

En este caso la deslignificación ocurre en largas ares de la madera bajo condicione especificas del medio ambiente del sur de Chile (alta humedad y baja temperatura 8 a 13 °C) que permanecen constantes.

Secuencia de degradación;

- Estado inicial:

el hongo infecta los troncos de los árboles, crece y se expande a través de los conductos del transporte de nutrientes. En este estado empieza la degradación de la madera, principalmente lignina y xilano.

- Estado intermedio:

(palo podrido) la degradación selectiva de lignina ocurre en largas áreas de la madera bajo las únicas y privilegiadas condiciones ambientales del sur de Chile. En este estado la madera degradada se presenta como un material fibroso decolorizado mostrando avanzada degradación de lignina y xilano (alrededor del 75 %)

- Estado avanzado:

La madera muestra un alto grado de deslignificación, alrededor de un 97 % . la degradación es muy extensiva. Los polisacáridos también son degradados, pero la madera aun retiene algunas estructuras.

- Estado final:

Este estado es característico por la destrucción de la estructura celular de la madera. Por tanto se produce un material suave con una alta perdida de peso (85%) que presenta una alta degradación de lignina y xilano

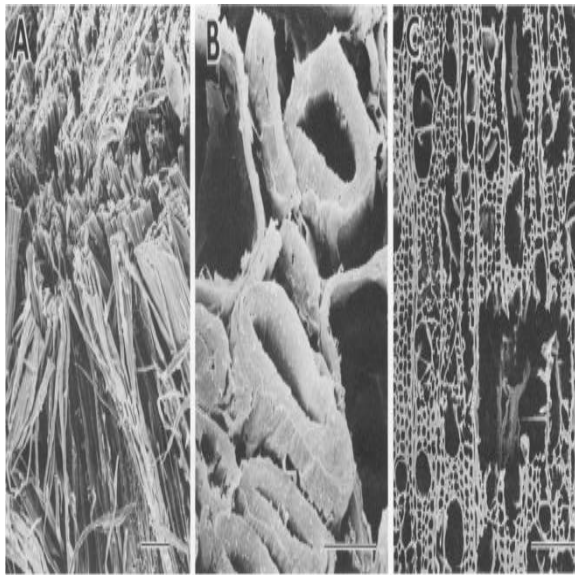


fig:3 A) muestra el estado intermedio del palo podrido, fibras individuales B)muestra el estado avanzado, la lamina media entre las células ah sido removida, C) estado final, la pared celular ha sido removida en su totalidad.

BIBLIOGRAFIA:

<http://www.biocienciaenlinea.cl/novedades/celulosa.htm>

<http://www.bio.puc.cl/profs/vicuna/>

<http://www.forestal.uchile.cl/dim/biopulp/resumen.html>

http://www.conama.cl/seia/capitulo1_celulosa.htm

<http://academic.uofs.edu/faculty/CANNM1/inorganic/inorganicmodulespan.html>

www.fagro.edu.uy/microbiologia/docs/Ciclo_carbono.pdf

EDUARDO AGOSIN , Noviembre 1986, LIGNINA, UN RECURSO QUE PROMETE

(Publicado en Revista Creces)

FUENTES VILLAGRAN, JOSE RENAN; año 1991; SIMULACION Y MODELO MATEMATICO DE LA DESLIGNIFICACION SELECTIVA DE LA MADERA POR HONGOS BLANCOS EN AMBIENTE NATURAL; Temuco Universidad de la Frontera