ROBERTO PUBLIO

APLICAÇÃO DE CELULASES NO REFINO DE FIBRAS CELULÓSICAS
KRAFT BRANQUEADAS DE EUCALIPTO

São Paulo
2012

ROBERTO PUBLIO

APLICAÇÃO DE CELULASES NO REFINO DE FIBRAS CELULÓSICAS
KRAFT BRANQUEADAS DE EUCALIPTO

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Engenharia

Área de Concentração:
Engenharia Química

Orientador:
Prof. Dr. Song Won Park

São Paulo
2012

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, de agosto de 2012.

Assinatura do autor _____

Assinatura do orientador _____

FICHA CATALOGRÁFICA

Publio, Roberto

Aplicação de celuloses no refino de fibras celulósicas Kraft branqueadas de eucalipto / R. Publio. -- ed.rev. --São Paulo, 2012.

105 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1. Celulose 2. Refino 3. Enzimas 4. Consumo de energia 5. Hormification I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II. t.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof Dr Song Won Park, por ter me incentivado a perseverar nos momentos mais difíceis e por ter tornado este trabalho possível.

À minha família, especialmente minha esposa Aline, minha mãe Denise e meu irmão Rodrigo que foram e são meu alicerce para que eu possa superar todos os obstáculos e desafios em minha vida.

Ao time da Suzano Papel e Celulose – Unidade Embu, que souberam compreender meus momentos de ausência e cansaço devido ao acúmulo de atividades de estudo e trabalho e nunca negaram apoio e auxílio quando necessário.

Aos meus gestores Daniel Couto (*in memoriam*), Claudio Nunes Aguiar, Erico de Castro Ebeling e Alexandre Primoline que disponibilizaram o tempo necessário e deram apoio em todos os momentos para que eu pudesse completar este projeto.

Aos colegas de Pesquisa e Desenvolvimento da Suzano Papel e Celulose, em especial aos gestores Fábio Figliolino, Fabiano Rosso e analistas Paulo Sérgio Martins, Mario Alves da Silva, Sérgio de Oliveira e Antônio Aparecido Rodrigues que disponibilizaram tempo, laboratórios, equipamentos, mão-de-obra, muita energia e interesse para que este trabalho fosse realizado. Agradeço também a Fernando Saiz e Flavio Moraes pelo apoio nas análises laboratoriais de folhas e fibras.

A Patrícia Kaji Yasumura e colegas do IPT, por ter tornado possível a realização das análises de MEV e classificação de fibras, além do apoio técnico na elaboração da dissertação. Agradeço também a Jaqueline Maeda pela grande ajuda na classificação de fibras.

A *Buckman* pelas enzimas fornecidas para realização dos experimentos e disponibilização de visita técnica para conhecimento do processo.

“Se a gente pode e a gente quer, a gente deve”

Mario Sergio Cortella

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de celulases comerciais na superfície de fibras celulósicas branqueadas de eucalipto, bem como o impacto destes efeitos durante o refino. Após tratamento enzimático realizado em laboratório sob condições controladas, as polpas de fibra seca foram submetidas a refino em moinho PFI em vários níveis de energia e os resultados foram avaliados por meio dos ensaios físico-mecânicos realizados em folhas manuais formadas em laboratório e ensaios de morfologia de fibra, que tinham como objetivo evidenciar alguns efeitos provocados pelas enzimas utilizadas como auxiliar de refino. As análises dos dados obtidos mostraram que para a fibra seca tratada com produto denominado Maxymize 2530, foi possível obter valores 31% maiores de resistência à tração e 21% maiores de resistência interna (Scott Bond), valores estes sem refino mecânico. Estes valores foram similares aos encontrados para a fibra nunca seca, o que mostrou que a enzima pôde compensar o efeito "Hornification" causado pelo processo de secagem da fibra. Para a fibra seca pré-tratada com celulase e refinada em moinho PFI, foi possível obter um valor de Scott Bond de 100 lb.ft/in² com um consumo específico de energia 36% menor quando comparado com a fibra seca refinada em moinho PFI sem pré-tratamento enzimático. O mesmo aconteceu para os valores de resistência a tração, onde se obteve um valor de 70 kNm/kg com consumo específico de energia 57% menor. O planejamento experimental realizado contribuiu para a otimização de dosagem e variáveis do pré-tratamento enzimático, e com isso tornou possível a viabilização financeira da aplicação de celulases como auxiliar de refino. Todos os resultados foram ilustrados por imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), que evidenciou o aumento do nível de fibrilação externa das fibras tratadas com enzimas.

Palavras-chave: Celulose, Refino, Enzimas, Consumo de Energia, Propriedades Físicas.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of commercial cellulases on the surface of bleached eucalyptus fibers, as well as the impact of these effects during refining. After enzymatic treatment performed in the laboratory under controlled conditions, the dried pulps were subjected to refining in PFI mill at various energy levels and the results were evaluated by physical-mechanical tests performed on handsheets formed in laboratory and morphology fiber tests, which were intended to show some effects caused by the enzymes used as an aid to refining. The data analysis showed that for the dry fiber treated with compound Maxymize 2530, it was possible to obtain values 31% higher tensile strength and 21% higher Scott Bond test, these values without mechanical refining. These values are similar to those found for the never dried fiber, which showed that the enzyme could compensate the "Hornification" caused by the drying process of the fiber. To the dried fiber pre-treated with cellulase and refined in a PFI mill, it was possible to obtain a value of Scott Bond 100 lb.ft / in² with a specific energy consumption was 36% lower when compared to the dried fiber refined in a PFI mill without pre -enzymatic treatment. The same happened to the values of tensile strength, which presented a value of 70 kNm/kg with a specific energy consumption with 57% lower. The experimental design carried out contributed to the optimization of dosage and variables of enzymatic pre-treatment, and thereby made possible the financial feasibility of the application of cellulases as an aid to refining. All results are illustrated by images of scanning electron microscopy (SEM), which showed an increase in the level of external fibrillation of fibers treated with enzymes.

Keywords: Cellulose, Refining, Enzymes, Energy Consumption, Physical Properties.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Exemplo de Desagregador	18
Figura 2	Esquema de refinador de disco duplo	19
Figura 3	Vista lateral Máquina de Papel Fourdrinier – Máquina de Papelcartão com as etapas de Formação (Mesas planas), Prensagem, Secagem, Aplicação de tinta (revestimento) e Enroladeira	21
Figura 4	Estrutura básica de célula vegetal.	28
Figura 5	Efeito de inchaço da parede celular durante o refino e o fechamento semi-parcial dos poros da parede celular após a secagem da fibra	32
Figura 6	Índice de tração versus revoluções em moinho PFI	35
Figura 7	Microfotografias das fibras refinadas a 6000 revoluções sem tratamento enzimático (à esquerda) e com tratamento enzimático	35
Figura 8	MEV das fibras refinadas em moinho PFI a 1500 sem tratamento enzimático (a) e com tratamento enzimático (b)	36
Figura 9	Exemplo de imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de fibras não tratadas (a) e fibras tratadas com enzimas (b) (Dienes et al., 2004). Esta amostra de folha manual foi seca ao ar e recoberta com platina antes de entrar no microscópio.	38
Figura 10	Mecanismo de hidrólise de celulose por celulasas	42
Figura 11	Representação de uma endoglucanase. A Região em roxo representa os aminoácidos aromáticos que	43

adsorvem o substrato ao domínio de ligação.

Figura 12	Enzimas envolvidas na degradação da hemicelulose	44
Figura 13	Mecanismo de atuação de uma Manganês Peroxidase	45
Figura 14	Formação da parede celular a partir da molécula de celulose	46
Figura 15	Mecanismo de degradação de fibrilas de celulose	47
Figura 16	Principais tipos de ligações na molécula de lignina	50
Figura 17	Separador de fibras Bauer	51
Figura 18	Moinho PFI	52
Figura 19	Elemento principal do moinho PFI	53
Figura 20	Esquema da seção vertical do moinho PFI	53
Figura 21	Fluxo experimental Etapas I e II – Refino de fibras não-classificadas com e sem tratamento enzimático	56
Figura 22	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca sem refino e sem tratamento enzimático	59
Figura 23	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca sem refino e tratada com Maxymize 2530	60
Figura 24	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca sem refino e tratada com Buzyme 2545	60
Figura 25	Comparativo de propriedades no ponto “Zero” (s/ refino) entre fibra seca, fibra nunca seca, fibra seca	62

com Maxymize 2530 e fibra seca com Buzyme 2545.

Figura 26	Comparativo de Permeância ao ar e percentual de finos no ponto “Zero” (s/ refino) entre fibra seca, fibra nunca seca, fibra seca com Maxymize 2530 e fibra seca com Buzyme 2545.	62
Figura 27	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca refinada a 133 kWh/t sem tratamento enzimático	65
Figura 28	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca refinada a 133 kWh/t com pré-tratamento enzimático (Maxymize 2530)	65
Figura 29	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca refinada a 133 kWh/t com pré-tratamento enzimático (Buzyme 2545)	66
Figura 30	Curvas de refino – evolução do °Shopper-Riegler com o aumento de energia específica aplicada no refino; redução de 40% no consumo para um mesmo °SR.	66
Figura 31	Curvas de refino – evolução do Scott bond com o aumento de energia específica aplicada no refino; redução de 36% no consumo para um mesmo valor de Scott Bond.	67
Figura 32	Curvas de refino – evolução da Tração com o aumento de energia específica aplicada no refino; redução de 57% no consumo para um mesmo valor de Tração.	67
Figura 33	Curvas de refino – evolução do Teor de Finos com o aumento de energia específica aplicada no refino.	69
Figura 34	Curvas de refino – evolução do WRV – <i>Water Value Retention</i> - com o aumento de energia específica	69

aplicada no refino.

Figura 35	Curvas de refino – evolução do ensaio de Permeância ao ar com o aumento de energia específica aplicada no refino.	70
Figura 36	Aumento da tração com o aumento dos valores de WRV	71
Figura 37	Aumento do Scott Bond com o aumento dos valores de WRV	72
Figura 38	Aumento dos valores de Permeância ao ar com o aumento dos valores de WRV	72
Figura 39	Evolução do Shopper-Riegler da fibra seca classificada e não classificada	73
Figura 40	Evolução do teor de finos da fibra seca classificada e não classificada	74
Figura 41	Evolução dos valores de Permeância ao ar da fibra seca classificada e não classificada	74
Figura 42	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca classificada sem refino e sem tratamento enzimático – Maior uniformidade de tamanho de fibras	75
Figura 43	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca não classificada sem refino e sem tratamento enzimático – Menor uniformidade de tamanho de fibras	75
Figura 44	Superfície de Resposta Scott Bond <i>versus</i> Temperatura e Concentração	78
Figura 45	Superfície de Resposta °SR <i>versus</i> Temperatura e	78

Tempo

Figura 46	Superfície de Resposta Teor de finos <i>versus</i> Concentração e Tempo	79
Figura 47	Superfície de Resposta Tração <i>versus</i> Temperatura e Tempo	79
Figura 48	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra do experimento 14 do DOE – Maior valor encontrado de Scott Bond	81
Figura 49	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra do experimento 03 do DOE – Menor valor encontrado de Scott Bond	81

LISTA DE TABELAS

Tabela I	Componentes utilizados mundialmente na produção de papel e papelcartão	26
Tabela II	Composição química média de coníferas e folhosas	27
Tabela III	Comparativo entre os diferentes processos de polpação	27
Tabela IV	Planejamento Experimental realizado com fibra seca classificada, com energia aplicada fixa de 133,3 kWh/t.	57
Tabela V	Comparativo de propriedades no ponto “Zero” (s/ refino)	62
Tabela VI	Propriedades físico-mecânicas nas curvas de refino com e sem a utilização de tratamento enzimático	63
Tabela VII	Planejamento experimental DOE	77
Tabela VIII	Viabilidade econômica da utilização de enzimas para auxiliar de refino	82

LISTA DE ABREVIATURAS

°SR	<i>Grau Shopper-Riegler</i>
AKD	<i>Alkylketene Dimer</i>
ASA	<i>Anhydride Succinic Alkenyl</i>
CMP	<i>Chemimechanical Pulp</i>
CTMP	<i>Chemithermomechanical Pulp</i>
DOE	<i>Design of experiments</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
MEV	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura</i>
SEC	<i>Specific Energy Consumption</i>
SGW	<i>Stone Groundwood Pulp</i>
TAPPI	<i>Technical Association of the Pulp and Paper Industry</i>
TMP	<i>Thermomechanical Pulp</i>
TOF-SIMS	<i>Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry</i>
WRV	<i>Water Retention Value</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Fabricação de papel e a tecnologia do refino de fibras celulósicas ...	17
1.2	Objetivos do trabalho.....	23
1.3	Estrutura da dissertação.....	23
2	REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1	Introdução.....	25
2.2	Refino mecânico de fibras	29
2.3	Ação enzimática nas superfícies de fibras.....	32
2.4	Enzimas no processo de refino de fibras.....	34
2.5	Caracterização de superfície de fibras celulósicas e de produtos de refino.....	37
3	APLICAÇÃO DE ENZIMAS PARA CELULOSE E PAPEL	41
3.1	Introdução.....	41
3.2	Caracterização de enzimas	41
3.2.1	Celulases.....	41
3.2.2	Hemicelulases	43
3.2.3	Lacases e outras enzimas voltadas a degradação de ligninas.....	44
3.3	Caracterização de substratos celulósicos.....	45
3.3.1	Celulose como substrato enzimático	45
3.3.2	Hemicelulose como substrato enzimático.....	47
3.3.3	Lignina como substrato enzimático.....	48
4	MATERIAIS E MÉTODOS	50
4.1	Materiais	50
4.1.1	Fibras.....	50
4.1.2	Enzimas.....	50
4.2	Experimentos.....	50
4.2.1	Classificação de fibras.....	50
4.2.2	Tratamento enzimático	51
4.2.3	Refino em moinho PFI.....	52
4.2.4	Formação de folhas manuais	54

4.2.5	Análise de drenabilidade	54
4.2.6	Ensaio Físico-Mecânicos	54
4.2.7	Ensaio de Water Retention Value (WRV)	54
4.2.8	Ensaio de Viscosidade de polpa.....	55
4.2.9	Análise de morfologia de fibra	55
4.2.10	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	55
4.2.11	Fluxo experimental	56
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1	Efeito das Celulases na superfície da fibra seca sem refino e <i>Hornification</i>	58
5.2	Efeito do pré-tratamento enzimático no refino	64
5.3	Correlações entre as variáveis	71
5.4	Efeito da classificação de fibras	73
5.5	Planejamento experimental <i>DOE</i> – Superfícies de resposta	76
5.6	Análise de viabilidade econômica preliminar para utilização de enzimas na produção de papel.....	82
6	CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS	84
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fabricação de papel e a tecnologia do refino de fibras celulósicas

A fabricação do papel é um processo muito mais complexo do que se imagina quando se observa uma simples folha sobre uma mesa. Por trás deste pedaço de papel, existe uma grande estrutura fabril e uma série de processos que possibilitam a esta folha obter as propriedades necessárias para sua aplicação final. Estes processos e equipamentos utilizados durante a fabricação de papel podem variar de acordo com o uso final deste material (papel de imprimir e escrever, papelcartão, papelão ondulado, papel couché, entre outros), porém é possível descrever etapas básicas e comuns a grande maioria destes tipos de papéis.

A fabricação do papel inicia-se com o recebimento da fibra celulósica que será utilizada na produção. Este recebimento pode ocorrer via bombeamento e tancagem no caso das fábricas integradas (entre a fabricação de celulose e as máquinas de papel) ou via fardos de celulose, que podem vir com teor de umidade entre 10 e 60% base úmida. Neste último caso, inicia-se um processo de desagregação de fibras. Por meio de forte agitação, este processo tem como objetivo principal separar as fibras e criar uma suspensão celulósica homogênea para que seja possível de ser bombeada para a próxima etapa. Esta energia transferida deve ser maior que a energia de ligação entre as fibras celulósicas para que seja possível o rompimento dos agregados e a massa de material deve ser bem controlada na alimentação para que se possa obter uma consistência da suspensão constante e conhecida ao enviar para a próxima etapa, que é o refino de fibras. A figura 1 ilustra o tanque de desagregação.

Figura 1 – Exemplo de Desagregador. Ref: Holik (2006).

A refinação é um importante processo mecânico onde são desenvolvidas as principais características físicas do papel. O refino tem como objetivo principal realizar um tratamento superficial nas fibras celulósicas para obter características de boa resistência mecânica nas folhas. Este processo será o objeto de estudo do presente trabalho e será tratado com detalhes posteriormente. A figura 2 ilustra o esquema de um refinador de disco duplo atualmente utilizado.

Figura 2 – Esquema de refinador de disco duplo.

Após o processo de refino, a polpa celulósica é bombeada para um tanque com agitação, onde algumas latências são removidas relaxando e endireitando as fibras, podendo se adicionar produtos químicos para melhorar as propriedades físicas, mecânicas e ópticas do papel. Dentre estes aditivos estão: amidos, colas (breu, AKD ou ASA), alvejantes ópticos e matizantes, auxiliares de retenção e drenagem, controladores de demanda iônica e pH, entre outros. De acordo com as otimizações de processo e aplicações, alguns destes aditivos podem ser dosados em outros pontos do processo de fabricação. A ligação entre o sistema de tratamento de massa, do qual o refino faz parte, e a máquina de papel, é feita pelo circuito de aproximação (*Approach flow*), onde a suspensão de fibras pode receber mais alguns aditivos químicos, têm sua consistência controlada e é diluída a aproximadamente 0,5% até chegar à caixa de entrada e seção de formação da folha.

Finalmente, a suspensão chega à máquina de papel. O objetivo final a partir desta etapa é consolidar a formação da folha, retirar a água da suspensão fibrosa possibilitando uma boa distribuição de fibras e obter características superficiais que atendam ao cliente final. Para isso a suspensão entra na seção de formação, onde passa por uma unidade chamada “Caixa de entrada” que distribui uniformemente e

com pressão controlada as fibras sobre uma tela formadora, cuja função é drenar o máximo de água possível e proporcionar ao papel uma boa distribuição das fibras antes que a folha entre na seção de prensagem. Após este processo, a folha passa entre rolos com pressão e a água é retirada com a ajuda de feltros na seção de prensas.

Ao sair das prensas, o papel já com aproximadamente 55% de teor seco, chega à seção de secagem. Nesta etapa, a folha passa por cilindros aquecidos por vapor na faixa de 120°C, alternando o circuito para secar ambos os lados do papel. Ao final do circuito, o papel chega com umidade que varia de 4 a 10% dependendo da aplicação final e do tipo de papel. Alguns destes tipos de papel como papelcartão, papel de imprimir e escrever, por exemplo, recebem uma aplicação de amido superficial durante a passagem pelos cilindros aquecidos, com o objetivo de reduzir a absorção de água pela folha, reter as fibras no papel e uniformizar a superfície. Alguns ainda passam pela calandragem, etapa em que a folha passa por dois rolos de aço pressionados para se obter uma maior lisura e maior brilho na superfície. A figura 3 mostra uma visão lateral de uma máquina de papelcartão, com seus respectivos sub-processos.

Figura 3 – Vista lateral Máquina de Papel Fourdrinier – Máquina de Papelcartão com as etapas de Formação (Mesas planas), Prensagem, Secagem, Aplicação de tinta (revestimento) e Enroladeira.

Desde a criação do papel na forma em que o conhecemos hoje no ano de 105 DC pelo Chinês Tsai Lung, o refino sempre esteve presente. Neste primeiro momento, os chineses maceravam cascas de árvores, trapos e cordas utilizando pilões de pedras manualmente, “simulando” o mesmo trabalho mecânico realizado pelos refinadores utilizados atualmente. Já os árabes por volta de 750 DC realizavam um trabalho parecido nesta etapa do processo dentro das fábricas de papel da época. Eles utilizavam martelos de couro para “bater” em uma mistura de linhos e trapos, antes que esta massa formada fosse secada e beneficiada com pastas de amido de arroz. Ambos os mecanismos, tanto de chineses como de Árabes, eram lentos e limitavam a produção de papel em larga escala e já não atendiam mais a demanda da época.

O primeiro equipamento de refino de fibras escala industrial foi a “Holandesa”, que foi introduzida nas fábricas no século XVII. Tratava-se de um batedor de fibras rotativo com barras que era instalada dentro de um tanque por onde circulava o material fibroso. Este processo era feito em bateladas. A Holandesa era um equipamento muito mais eficiente do que os processos de “refino” que se conheciam até aquele momento e possibilitou um grande aumento na produção de papel no século XVII, vindo a atender fortes demandas do século XVIII após a invenção das impressoras. Também foi um fator decisivo para se repensar o processo de colagem do papel, visto que a Holandesa aumentava a penetração de alúmen nas fibras (Sulfato de alumínio e potássio utilizado para colagem no século XVII) aumentando assim a deterioração ácida do papel.

Kingsland introduziu em 1856 o conceito de refinadores de discos, compostos por dois discos fixos e um disco rotativo, todos os três discos de superfícies irregulares. Após este desenvolvimento, surgiram os refinadores cônicos (1858) criados por Joseph Jordan e Thomas Eustice, onde o material fibroso fluía entre a carcaça do refinador e um cone central rotativo dotado de barras de metal. Este tipo de refinador foi utilizado até 1950, onde começou a ser utilizado o refinador de disco duplo, utilizado nas fábricas de papel atualmente.

A história do refino se confunde com a história do papel, pois foi a partir do desenvolvimento das técnicas de refino que foram desenvolvidas as técnicas de

fabricação de papel como uso de madeira, colagem, entre outras, além de possibilitar a produção a larga escala e atender as demandas de diversos segmentos e tipos de papéis.

O grande desafio atual das tecnologias do refino é conseguir proporcionar ganho de propriedades das fibras gastando a menor quantidade de energia possível nos equipamentos. Estudos buscam otimizar condições de discos, tipos de fibras, condições do processo (pH, consistência, temperatura) e também utilizar auxiliares químicos e biológicos de refino. Diante deste cenário, o presente trabalho se concentra neste complexo processo, a etapa mais importante da fabricação de papel, detalhando esta tecnologia e discutindo alguns efeitos da utilização de agentes biológicos (enzimas) como auxiliares de refino.

1.2 Objetivos do trabalho

O objetivo geral do presente trabalho é avaliar as alterações provocadas por enzimas, mais especificamente celulasas na superfície de fibras celulósicas branqueadas de eucalipto e os impactos destas alterações no processo de refino e nas propriedades do papel formado.

Dentre estes impactos, serão avaliados como objetivos específicos principalmente a possível redução no consumo de energia no processo de refino após o pré-tratamento enzimático das fibras e a recuperação parcial das propriedades físico-mecânicas de fibras secas quando comparadas com a fibra nunca seca.

1.3 Estrutura da dissertação

A Dissertação foi desenvolvida de acordo com a estrutura indicada a seguir:

Capítulo 1: Introdução ao processo produtivo de fabricação de papel.

Capítulo 2: Revisão da literatura, que exibirá trabalhos realizados com refino mecânico, enzimas como auxiliar de refino e outras aplicações de enzimas em fibras celulósicas. Este capítulo mostra também os trabalhos realizados sobre técnicas de caracterização de superfícies fibrosas e de subprodutos do refino mecânico e enzimático.

Capítulo 3: Este capítulo será dedicado a descrever de forma detalhada a utilização de enzimas na fabricação de papel. Histórico, principais aplicações, detalhamento estrutural das enzimas utilizadas e como são produzidas e detalhamento de como ocorre a reação destas proteínas com seus substratos fibrosos.

Capítulo 4: Materiais e Métodos, relatando como foram realizados os experimentos, equipamentos utilizados, condições dos testes, entre outros.

Capítulo 5: Discussão dos resultados obtidos.

Capítulo 6: Conclusões sobre o trabalho realizado e trabalhos futuros.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Introdução

O papel é um material composto por matérias primas fibrosas e não fibrosas. Em média 88% da composição mássica deste produto são constituídas por materiais fibrosos (polpas químicas, polpas mecânicas ou polpas recicladas) e 12% por materiais não fibrosos (pigmentos, cargas minerais e aditivos químicos), conforme ilustrado na tabela I, Holik (2006). Os aditivos químicos de maneira geral possuem dois objetivos: aumentar a produtividade em máquina e melhorar alguma propriedade do papel específica para uma determinada aplicação final. Os aditivos de retenção, por exemplo, auxiliam na retenção de finos fibrosos e demais aditivos que se encontram na suspensão, fazendo com que haja o maior aproveitamento possível dos insumos dentro da folha de papel. Em complemento, os agentes de drenagem auxiliam na formação de cadeias celulósicas menores e de melhor drenabilidade na seção de formação da folha, aumento a produtividade da máquina de papel. Já os amidos são responsáveis por aumentar a quantidade de pontes de hidrogênio na rede fibrosa, visto que é uma molécula muito parecida e com grande afinidade pela celulose. Este fato contribui fortemente com as características físico-mecânicas da folha de papel.

Porém como a participação fibrosa é de 88% no papel, não restam dúvidas que este insumo é detentor das principais características do produto final e qualquer tipo de alteração nas fibras durante a fabricação influe diretamente nas propriedades da folha: Resistência ao rasgo, resistência a tração, resistência ao estouro, rigidez, resistência a delaminação, formação, qualidade superficial, espessura, entre outras.

Tabela I – Componentes utilizados mundialmente na produção de papel e papelcartão.

Matéria Prima	Razão Mássica
Fibras Recicladas	40%
Polpas Químicas	38%
Polpa Mecânica	10%
Cargas e Pigmentos	9%
Aditivos químicos	3%

Dentre os materiais fibrosos, mais da metade se trata de fibras virgens de madeira que podem ser separadas basicamente em dois grandes grupos: fibras longas, provenientes principalmente de coníferas ou *softwoods* (pinheiros, araucária, entre outras) com comprimento de fibra que varia entre 2 a 4 mm e fibras curtas, provenientes de folhosas ou *hardwoods* (principalmente Eucaliptos) com comprimento de fibra que varia entre 0,6 a 2 mm. A composição química destes dois grandes grupos de árvores também é diferente. O grupo dos eucaliptos possui um menor teor de lignina e um maior teor de celulose e hemicelulose quando comparado com o grupo das coníferas (Bajpai, 2005), conforme ilustrado na tabela II.

Tabela II – Composição química média de coníferas e folhosas

	Coníferas	Folhosas
Celulose	42 ± 2%	45 ± 2%
Hemicelulose	27 ± 2%	30 ± 5%
Extrativos	3 ± 2%	5 ± 3%

Tanto as polpas de folhosas quanto as polpas de coníferas podem ser obtidas a partir de processos mecânicos ou processos químicos de polpação. A tabela III exhibe as principais diferenças entre os dois processos quanto às propriedades finais das fibras.

Tabela III – Comparativo entre os diferentes processos de polpação. Ref: Holik (2006).

	Unidade	SGW	TMP	CTMP	CMP	Pasta Semi Química	Pasta Química
Rendimento	%	97	95	90	80	60	40
Demanda Bioquímica de Oxigênio	kg/t	10	20	50	50	100	200
Energia de Refino	kWh/t	1200	2200	2500	100	200	100
CSF (Freeness)	ml	100	120	200	400	600	800
Índice de Tração	Nm/g	30	40	50	70	80	100

A estrutura de uma dada célula vegetal é representada na figura 4. A parede celular é composta por um revestimento externo chamado parede primária, uma camada relativamente fina (0,03 a 0,1 mm) formada por deposição aleatória de fibrilas sobre a lamela média, camada externa rica em lignina. A parede secundária é subdividida em três camadas (S1, S2 e S3) que possuem características distintas. A camada S1 também é relativamente fina e com características parecidas com a parede primária, composta por fibrilas depositas de maneira aleatória sobre a camada interna da parede primária e com grande quantidade de hemicelulose. Já a

camada S2 é rica em fibrilas celulósicas com orientação bem definida e fortemente ligadas umas as outras. Essa região é a principal responsável pela resistência intrínseca das fibras e por este motivo é o principal alvo de ação do processo de refino. Na camada S3 ocorre novamente a deposição aleatória de fibrilas delimitando a cavidade central denominado lúmen, por onde fluem as seivas ou funcionam como espaços de reserva. Ver Fengel e Wegener (1989) ou Carvalho (2009).

Figura 4 – Estrutura básica de célula vegetal. Ref: Fengel e Wegener (1989)

Em média a composição de uma folhosa, por exemplo, é de 45% de celulose, 30% de hemicelulose, 20% de lignina e 5% de extrativos. Após o processo Kraft de polpação e branqueamento, os teores de lignina e extrativos praticamente vão à zero, e o teor de hemicelulose também reduz drasticamente. Devido a este processo, utiliza-se o termo “pastas de baixo rendimento” para este tipo de processo, pois a cada tonelada de cavacos de madeira que entram no processo, saem aproximadamente de 400 a 470 quilos de polpa branqueada.

O processo de refino se baseia na aplicação de forças sobre a superfície da fibra, visando fornecer a energia necessária para provocar modificações nesta superfície. Nesta revisão bibliográfica, serão contempladas por meio de trabalhos

acadêmicos as formas de tratamento no processo de refino (mecânico e enzimático), que tipo de mudanças são realizadas na superfície da fibra durante estes processos, bem como a caracterização e evidências destas alterações e seus impactos nas propriedades finais da folha de papel.

2.2 Refino mecânico de fibras

As modificações provocadas pelo refino mecânico na superfície das fibras dependem de algumas variáveis fundamentais neste processo. Quando se avaliar os benefícios do refino na qualidade da formação da folha de papel, observa-se uma grande influência do tipo de refinador e da consistência de refino no resultado final. Stoere et al. (2001) utilizou dois tipos de refino em duas consistências diferentes para observar alterações na formação das folhas. O refino em moinho PFI não mostrou alterações significativas na propriedade final avaliada, porém, ao utilizar o refinador cônico Escher Wyss em consistência de 0,4% (próximo a consistência de uma caixa de entrada) observou-se uma melhora significativa na formação da folha avaliada pelo equipamento denominado “Ambertec Formation Tester”. Este resultado é explicado devido a atuação do refinador cônico sobre a superfície da fibra. Houve redução do comprimento da fibra de 2,7 para 1,8 mm provocado pela grande fibrilação externa observada nas micrografias realizadas nas amostras, características deste tipo de refinador. O mesmo efeito não foi observado no refino em moinho PFI, pois o efeito provocado é de fibrilação interna sem redução do comprimento de fibra com o aumento de energia de refino. Em baixas consistências (0,02%) não foram observadas melhorias na formação, pois a tendência à floculação das fibras nesta suspensão é bem menor quando comparado a uma consistência de 0,4%.

Yassumura et al. (2008) apresenta em seu trabalho a diferença de atuação sobre a fibra dos refinadores industriais de disco e moinho PFI de laboratório. Os refinadores de disco provocam maior efeito de fibrilação externa nas fibras, enquanto o moinho PFI provoca maior efeito de fibrilação interna gerando maior flexibilidade às fibras. Por este motivo, os valores de resistência interna, tração e permeância ao

ar Gurley encontrados nas folhas formadas com fibras refinadas em PFI foram maiores do que os valores de resistência das folhas formadas por fibras refinadas em refinador de disco. Por outro lado, o *Bulk* foi maior para as amostras refinadas em refinadores de disco. Isto se deve a baixa intensidade de refino do moinho PFI, que é cerca de um décimo da intensidade de refino de um refinador industrial de disco (Kerekes, 2002).

Hyoung-Jin Kim e Byoung-Muk Jo (2000) mostram em seu trabalho a evolução das propriedades físicas do papel com o aumento da energia de refino no moinho PFI. Utilizando fibras não branqueadas com polpação kraft feita em laboratório, evidenciaram as alterações na estrutura da parede celular das fibras por meio do teste de WRV (Water Retention Value). Os valores de WRV aumentaram conforme foi aumentado número de revoluções no PFI, caracterizando a hidratação da parede celular e maior número de pontos de ligação da celulose com as moléculas de água, efeitos estes característicos do refino. Neste mesmo trabalho, os autores demonstram um aumento do índice de tração com o aumento do refino, provocado pelo aumento de ligação fibra com fibra devido a maior exposição dos grupos hidroxila na superfície e maior número de pontes de hidrogênio entre eles. A parede celular da fibra sofre uma redução em sua espessura durante o refino consequência da fibrilação interna e externa provoca pelo tratamento. Além disso, há diminuição no comprimento de fibra devido aos cortes em sua superfície causados pelas placas do rotor do PFI. Todos estes fatos acarretam redução da resistência intrínseca da fibra, porém esta redução é compensada pelo aumento do potencial de ligação entre as fibras conforme citado anteriormente, aumentando a resistência a tração da folha formada com esta matriz.

Outra variável importante para este processo é a intensidade do refino, que é dada pela relação entre a potência de refino sobre o comprimento de corte das placas de refino. Seth (1999) consegue evidenciar em seu artigo a influência de diferentes intensidades de refino nas propriedades físico-mecânicas das fibras. Ao realizar experimentos utilizando refinador cônico e várias intensidades de refino e moinho PFI, comprovou que para uma dada energia de refino, a resistência à tração é maior para as fibras refinadas em moinho PFI, que possui uma intensidade de refino menor que o refinador cônico Escher-Wyss. Kerekes (2005) também mostra em seu trabalho o benefício do refino em baixa intensidade do moinho PFI quando

comparado com a alta intensidade do refinador cônico. A fibrilação interna provocada por este tipo de refino mais suave gera uma menor redução na resistência intrínseca da fibra devido à menor queda do comprimento das fibras.

Koskenhely et al. (2005) abordam um conjunto de variáveis extremamente importantes para este processo: o comprimento da fibra versus a intensidade de refino. Para entender o diferente comportamento de um refino em diferentes áreas superficiais de fibras, os autores realizaram o fracionamento das fibras e um refino seletivo. Ao variar a energia específica de refino e a intensidade de refino em diferentes frações de comprimento de fibras, notou-se que o aumento da intensidade para fibras mais curtas (2,0 mm) gera redução no comprimento de fibra conforme a energia específica é aumentada, enquanto que em intensidades menores isto não ocorre. O fato de não ter havido cortes na fibra em intensidades menores não significa que o refino não foi efetivo. O que ocorreu foi uma fibrilação interna mais intensa do que a fibrilação externa, gerando um inchaço da fibra e maior quantidade de água em sua parede celular. Estes pontos são fundamentais no desenvolvimento das propriedades mecânicas da fibra.

Outro importante efeito que deve ser levado em consideração no processo de refino é o “*Hornification*”, nome este dado ao fenômeno de redução da capacidade da fibra de reter água dentro de sua parede celular e o aumento da rigidez e da dificuldade de reidratação da parede celular após um processo de secagem ou outro tipo de estresse provocado na fibra (Hubbe e Heintmann, 2007).

Figura 5 – Efeito de inchaço da parede celular durante o refino e o fechamento semi-parcial dos poros da parede celular após a secagem da fibra.

Os poros da parece celular da fibra de fecham após a retirada das moléculas de água (secagem) e alguns destes poros não são capazes de reabrir após nova hidratação desta fibra, dificultando o refino e fazendo com que a fibra perca propriedades físico-mecânicas. Um dos tratamentos que vem sendo estudados para modificar a superfície da fibra e melhorar as condições do refino mecânico para fibras secas é o tratamento enzimático. Este conceito será abordado com mais detalhes nos próximos itens desta revisão bibliográfica.

2.3 Ação enzimática nas superfícies de fibras

Muitos trabalhos na literatura mostram interesse na aplicação de enzimas, evidenciando que é possível agregar valor aos produtos e futuramente construir processos ao redor das tecnologias envolvendo enzimas (Kenealy e Jeffries, 2003).

Pesquisas com atividades de celulase se iniciaram por volta dos anos 50 (Dienes et al., 2004). Na indústria de papel e celulose, a aplicação destas proteínas vem crescendo rapidamente desde os anos 80 (Garcia et al., 2002), porém desde 1970 enzimas são testadas para modificação de propriedades de fibras, destintamento e aumento de drenagem (Dienes et al., 2004). O interesse pela aplicação de enzimas neste segmento se deve aos benefícios trazidos em alguns processos da fabricação de papel e celulose, como por exemplo, branqueamento, refinação, purificação de celulose, controle de depósitos em máquinas de papel, entre outros (Wong et al., 2000).

Gubitz et al.(1997) mostram em seu trabalho que enzimas podem ser utilizadas para remoção de hemicelulose de polpas de dissolução que são vendidas para mercados específicos para fabricação de Rayon, embalagens de celofane, plásticos, entre outras. Xilanases e manases atuam de forma sinérgica na remoção da xilose e manose da superfície da fibra. Os resultados mostram que as enzimas chegam a remover 47% de xilanas e 51% de mananas de fibras longas não branqueadas. Este valor é menor quando são tratadas fibras branqueadas com as mesmas enzimas (28% e 30% respectivamente), devido à redução de acessibilidade da enzima à hemicelulose remanescente na fibra branqueada.

Além do processo de polpação, alguns trabalhos estudam a aplicação de enzimas como auxiliares de branqueamento de polpas (Bajpai, 1999; Jeffries e Viikari, 1994; Jeffries, 1996; Mansfield, 1999; Quinde, 1994). Xilanases vem sendo utilizada principalmente para tratamento anterior ao processo de branqueamento da celulose. Esta enzima permite melhorar a extração da lignina, alterando a associação entre carboidratos e lignina ou degradando a xilana redepositada na superfície da fibra (Jeffries e Viikari, 1994). A xilanase facilita o acesso dos reagentes à lignina, pois esta última está ligada covalentemente à hemicelulose na superfície da fibra. À medida que a enzima degrada a hemicelulose, a lignina se desprende com mais facilidade e a dosagem de reagentes pode ser reduzida em alguns casos, gerando redução de custos de fabricação (Quinde, 1994). As xilanases vêm sendo utilizadas em vários tipos de fibras como eucalipto, pinus, bagaço de cana, bambu e fibra de trigo com bons resultados como agente de pré-branqueamento devido aos seus benefícios de não trabalhar com pH alcalino e altas temperaturas como nos processos convencionais (Kenealy e Jeffries, 2003).

As enzimas que atacam diretamente a lignina presente na superfície de uma fibra não branqueada são chamadas enzimas oxidativas como, por exemplo, manganês peroxidase e lignina peroxidases. Logo, para sua atividade total, estas enzimas necessitam da presença de Mn^{2+} e peróxido de hidrogênio durante a reação. Porém, estas mesmas enzimas são sensíveis a altas dosagem de peróxido de hidrogênio e esta sensibilidade faz com que seja mais dificultosa sua utilização em processos de branqueamento (Paice e Reid, 1998). Além destas enzimas, as lacases também vêm sendo testadas em alguns trabalhos como auxiliar efetivo de branqueamento (Sealey e Ragaуска, 1998)

Um segmento menos explorado, mas não menos importante, é a utilização de enzimas para auxiliares de processos de destintamento. Papéis impressos que são utilizados como aparas podem prejudicar equipamentos, o processo e o produto final caso a tinta de impressão não seja removida antes que a polpa entre no *approach flow* e máquina de papel. Celulases têm sido testadas para este fim e exibindo resultados satisfatórios. Kenealy e Jeffries (2003) em sua revisão citam o trabalho de Park e Park (2001), que utilizaram celulases modificadas com copolímeros derivados de óxido de polietileno e anidrido maleico em seu experimento. Ao tratar as fibras

recicladas com esta enzima modificada, obtiveram resultados melhores na remoção de tinta de impressão quando comparado com celulase não modificada, além de elevar os valores das propriedades de tração e brancura da folha formada com estas fibras tratadas.

Grande parte dos trabalhos com enzimas para papel e celulose está na área de refino e modificação de superfícies. Por ser o tema central do presente trabalho, o refino enzimático será tratado com mais detalhes no próximo tópico.

2.4 Enzimas no processo de refino de fibras

Conforme citado anteriormente, o processo de secagem da fibra também influencia na refinação mecânica e enzimática. A retirada de água nos processos de secagem das fibras cria ligações de hidrogênio parcialmente ou totalmente irreversíveis em alguns pontos da superfície fibrosa, o que dificulta ou impede a hidratação destes pontos no processo de refinação. Este fenômeno é chamado de “Hornification” (Diniz et al., 2004). Tratamento de fibras curtas branqueadas de eucalipto *Globulus* com celulasas mostram diferença de comportamento de acordo com o processo de secagem do material. Garcia et al. (2002) mostram em seu trabalho a comparação do tratamento enzimático com celulasas de fibras secas ao ar em laboratório e fibras nunca secas. Tomando com exemplo a figura 6, observa-se que a ação enzimática anterior ao refino em moinho PFI foi capaz de recuperar na fibra seca os níveis de índice de tração da fibra nunca seca. A modificação na superfície da fibra provocada pelas enzimas é evidenciada na figura 7 (microscopia).

Figura 6 – Índice de tração versus revoluções em moinho PFI. Ref: Garcia (2002)

Wp – Wet Pulp; dp – Dry Pulp; ComC – Celulase comercial extraída de *Trichoderma longibrachiatum*; CelB – Celulase extraída em laboratório de *Paenibacillus* sp. strain BP-23.

Figura 7 – Microfotografias das fibras refinadas a 6000 revoluções sem tratamento enzimático (à esquerda) e com tratamento enzimático (à direita) Ref.:Garcia et al. (2002).

Garcia et al (2002) explicam que houve uma redução na permeabilidade da folha formada com a fibra tratada com enzima, decorrente do desprendimento de fibrilas da superfície da fibra, preenchendo os espaços vazios na rede fibrosa e reduzindo a passagem de ar no teste. Porém, este preenchimento de espaços vazios foi o responsável por aumentar a quantidade de ligações entre as fibras, aumentando o índice de tração.

Gil et al (2009) utilizaram um extrato de carboidratases (celulases, xilanases, beta-glucanases e arabinases) extraídas de *Aspergillus aculeatus* para tratar fibras kraft branqueada de eucalipto antes do tratamento mecânico convencional e observou a influência da concentração de enzimas na suspensão fibrosa. Gil observou que o tratamento com celulases provocou uma queda de 22,5% na viscosidade da polpa, porém sem redução significativa no comprimento da fibra. Isto ocorre devido ao mecanismo de ação das celulases, que são compostas por endoglucanases e exoglucanases. O primeiro é responsável por hidrolisar ligações aleatoriamente dentro das cadeias amorfas de celulose, produzindo mais extremidades e reduzindo o tamanho das cadeias celulósicas. Esta redução é evidenciada nos valores de viscosidade. Após tratamento houve aumento de 80% no grau Shopper-Riegler (°SR) e de 17% no índice de retenção de água (WRV). O aumento das propriedades é acentuado quando se aumenta a concentração de enzimas nas suspensões. Observando a figura 8, pode-se constatar na microscopia eletrônica de varredura uma grande fibrilação externa provocada pela celulase, explicando o fato do aumento significativo no grau Shopper-Riegler e um aumento menos significativo no teste de WRV, pois este último tem grande correlação com a fibrilação interna e a hidratação das paredes celulares (Kim e Jo, 2000).

Figura 8 – MEV das fibras refinadas: (a) em moinho PFI a 1500 sem tratamento enzimático e; (b) com tratamento enzimático. Ref.: Gil et al. (2009).

Plazl et al. (2009) detalha bem o quão importante é entender o ataque seletivo das enzimas na superfície das fibras. Ao reagir uma polpa de eucalipto *globulus* branqueada com uma mistura enzimática de celulase e endoxilanase estabilizada é

possível observar uma redução significativa no comprimento de fibra e na formação de finos, diferentemente de quando o autor utiliza somente xilanase na reação com as fibras de eucalipto. Ele explica que a quantidade de hemicelulose presente na superfície da fibra branqueada é muito baixa devido aos processos anteriores de polpação e branqueamento. Porém, a hemicelulose presente no interior da parede celular só fica acessível ao ataque da enzima após a celulase conseguir “abrir” a estrutura da parede, expondo as xilanas (hemicelulases) e possibilitando a reação da endoxilanase. Desta teoria surge o efeito de sinergia da mistura de enzimas durante o refino, que é apresentada e defendida por outros pesquisadores (Gil, 2009; Oksanen, 1997; Oksanen, 2000).

Conforme citado anteriormente, o tipo de equipamento é uma variável fundamental no refino. Ao realizar um pré-tratamento enzimático, esta teoria também é válida. Dickson et al. (2000) concluíram em seus testes com xilanase em polpas não branqueadas de coníferas que a enzima contribuiu para um aumento significativo na densidade aparente da folha formada, aumento este acentuado no refino com refinador cônico Escher-Wyss quando comparado ao moinho PFI. Este aumento de densidade aparente se deu pelo aumento na flexibilidade durante o refino provocada pela hidratação da parede celular, hidratação esta que é auxiliado pela ação da enzima anterior ao refino mecânico.

Alguns experimentos reportam a utilização de enzimas em escalas industriais, porém ainda são necessários alguns desenvolvimentos e otimização de parâmetros de processo para que haja maior interesse pelos produtores de papel. Pesquisadores mostram economia no consumo de energia elétrica durante o refino e desagregação entre 17 e 20% (Sigoillot et al., 2001; Bajpai, 2006; Dickson et al., 2000), o que poderia auxiliar na justificativa de utilização da biorefinação.

2.5 Caracterização de superfície de fibras celulósicas e de produtos de refino

Com o objetivo de caracterizar as alterações nas superfícies das fibras provocadas pelo processo de refino mecânico e enzimático, várias técnicas analíticas são utilizadas para medir física, mecânica e quimicamente os fenômenos,

além de técnicas visuais para que seja possível enxergar o efeito do refino em escalas micrométricas.

Uma das técnicas visuais mais utilizadas pelos autores é a microscopia. Na grande maioria dos trabalhos, a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é utilizada para evidenciar principalmente a fibrilação externa provocada pela ação enzimática como auxiliar de refino ou a própria ação mecânica sobre a fibra (Roncero et al., 2003; Gil et al., 2009; Suchy et al., 2009; Liu et al., 2009; Witayakran e Ragauskas, 2009; Sigoillot et al., 2001; Dienes et al., 2004; Mansfield et al., 1997). É possível de obter as imagens através das folhas formadas em laboratórios secas ao ar e com cobertura de ouro ou platina.

Figura 9 – Exemplo de imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). (a) fibras não tratadas, (b) fibras tratadas com enzimas. Ref.: Dienes et al., (2004). Obs: Esta amostra de folha manual foi seca ao ar e recoberta com platina antes de entrar no microscópio.

Alguns autores se utilizam de microfotografias em microscópio óptico. Obviamente a resolução não é a mesma do que quando comparada a análise por MEV, porém também é possível a visualização de fibrilações externas neste tipo de ensaio (Garcia et al., 2002; Plazl et al., 2009).

Para a caracterização físico-mecânica da superfície das fibras, todos os autores utilizam métodos clássicos seguindo as normas TAPPI ou SCAN para realização de ensaios após formação de folha manual em laboratório. Os testes mais utilizados são resistência à tração, resistência ao estouro, resistência ao rasgo, permeância ao ar, resistência à drenabilidade Shopper-Riegler (°SR) ou Canadian Standard Freeness (CSF) e WRV (Water Retention Value), sendo este último um importante teste para se observar a hidratação da parede celular provocada pela ação do refino. Os testes de resistência a tração e ao estouro estão relacionados a quantidade de ligações intrafibras (resistência intrínseca) e ligações interfibras (pontes de hidrogênio entre diferentes fibras).

A caracterização química da superfície das fibras pode ser considerada a mais complexa dentre os ensaios realizados em avaliações de efeito de refino. O ensaio mais utilizado é a dosagem de açúcares redutores na água após a ação do refino. Este teste consiste em coletar os filtrados dos tratamentos enzimáticos, evaporá-los até resíduo seco e hidrolisar com H_2SO_4 de modo a transformar os eventuais oligossacarídeos em açúcares redutores. A quantificação destes açúcares em alguns casos (Gil et al., 2009; Plazl et al., 2009; Bhardwaj et al., 1996) é efetuada por determinação espectrofotométrica usando ácido 3,5-dinitrossalicílico de acordo com o método descrito por Miller (1959); há também autores (Gulbitz et al., 1997;) que utilizam o método de *Bailey*, que consiste em adição de ácido 2-hidroxi-dinitrobenzóico, ferver por cinco minutos e realizar leitura de absorbância em espectrofotômetro em 540 nm. Oksanen (2000) realizou a análises dos monômeros hidrolisados por HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Gil et al. (2009) utiliza este mecanismo para concluir que a hidrólise de carboidratos após a ação enzimática não passou de 1,1%, menor que o índice aceitável citado por Pere et al. (2000) que é de 3,0%. Concluiu também que a hidrólise aumenta com o aumento da concentração enzimática no refino. Bhardwaj et al. (1996) citam que não há

liberação de açúcares da superfície da fibra na ação mecânica do refino, apenas quando há adição de enzima ocorre a hidrólise dos carboidratos.

Entre as técnicas instrumentais da análise química de superfície, pode-se citar o TOF-SIMS (Espectro de massa de íons secundários acoplado a analisar de tempo de voo) (Fardim, 1999; Matsushita et al., 2008). Esta técnica ainda é pouco utilizada para se avaliar os efeitos do refino na superfície das fibras. Pala et al.(2002) utilizam a técnica de DSC (Differential scanning calorimetry) e termogravimetria para medir a entalpia de ligação das moléculas de água com as moléculas de celulose na superfície da fibra. Com estes testes, se consegue retirar informações mais precisas do que o teste de WRV. Conseguiu-se comprovar que a celulose em sua forma amorfa possui mais grupos hidrofílicos expostos e uma maior entalpia de ligação entre superfície e moléculas de água (Pala et al., 2002).

Este presente trabalho utilizará técnicas tradicionais de ensaios físico-mecânicos juntamente com medições de viscosidade e comprimento de fibras e análises visuais em MEV para avaliar e discutir o efeito das enzimas na superfície das fibras.

3 APLICAÇÃO DE ENZIMAS PARA CELULOSE E PAPEL

3.1 Introdução

As pesquisas para uso de enzimas no setor de papel e celulose se iniciaram no final dos anos 50. Jeffries e Kirk (1996) em sua revisão relatam um breve histórico do desenvolvimento desta tecnologia. Inicialmente os estudos eram focados em celulasas e seus efeitos de fibrilação na superfície da fibra. Nos anos 80, iniciaram-se pesquisas com xilanases e seus benefícios nos processos de pré-branqueamento e remoção de hemicelulose para polpas de dissolução. Apenas nos anos 90, as pesquisas em torno de enzimas oxidativas como lacases e manganês peroxidases começaram a ser desenvolvida para se observar sua eficácia no ataque a lignina na superfície das fibras. Na última década, as pesquisas nas áreas de branqueamento e refino enzimático de intensificaram, visando buscar viabilidade econômica para sua aplicação industrial, visto que após 50 anos de pesquisas ainda se observam poucas aplicações desta tecnologia nas fábricas.

No capítulo de revisão da literatura, foram descrito os principais autores em cada uma das aplicações de enzimas e como elas atuam sobre a superfície das fibras. Para entender melhor estes mecanismos, é importante compreender a origem destas enzimas, suas diferentes estruturas e como atuam nos substratos fibrosos. Este será o escopo do presente capítulo.

3.2 Caracterização de enzimas

3.2.1 Celulasas

As celulasas são enzimas produzidas por vários grupos de seres vivos, sendo que os principais produtores são os fungos, bactérias aeróbias e anaeróbias.

Os componentes de um sistema de celulase são subdivididos de acordo com sua ação catalítica sobre o substrato. São três os maiores tipos de enzimas encontradas: endoglucanases ou 1,4- β -D-glucan-4-glucanohidrolases (EC 3.2.1.4), exoglucanases, que incluem 1,4- β -D-glucan glucanohidrolases (EC 3.2.1.74) e 1,4- β -D-glucan celobiohidrolases (celobiohidrolases) (EC 3.2.1.91), e β -glicosidases

(EC3.2.1.21). Todas estas enzimas juntas formam o chamado complexo celulolítico, responsável pela hidrólise da molécula de celulose (Lynd et al., 2002). Conforme representado na figura 10, as endoglucanases atuam de maneira aleatória nas regiões amorfas das cadeias de celulose, liberando extremidades nestas cadeias reduzindo seu grau de polimerização. As exoglucanases atuam nas regiões cristalinas, ou seja, nas extremidades das cadeias liberando moléculas de celobiose. As β -glicosidase por sua vez hidrolisam as moléculas de celobiose em moléculas de glicose, encerrando o ciclo de atuação sinérgica do complexo celulolítico sobre a celulose (Lynd et al., 2002).

Figura 10 – Mecanismo de hidrólise de celulose por celulasas (Lynd et al., 2002)

As endoglucanases possuem em sua estrutura um domínio de ligação catalítico (DC ou CD) e um domínio de ligação a celulose (DLC ou CBD). O DLC tem função de adsorver a molécula de substrato na superfície da enzima e de reconhecer este substrato (no caso, a molécula de celulose). O DC é responsável por romper as ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) intramoleculares da cadeia. A figura 11 ilustra um modelo de endoglucanase.

Figura 11 – Representação de uma endoglucanase. A Região em roxo representa os aminoácidos aromáticos que adsorvem o substrato ao domínio de ligação. (Boraston et al., 2004, citado por Santos 2009)

As exoglucanases também possuem em sua estrutura um domínio de ligação DLC e um domínio catalítico DC com funções semelhantes ao descrito para endoglucanases, porém agora atuando sobre as regiões cristalinas e extremidade da cadeia celulósica. Podem ser divididas em dois subgrupos: CBH I e CBH II (Celobiohidrolases I e II) de acordo com o tipo de carboidrato em que atua. A CBH I atua sobre as extremidades redutoras e a CBH II atua sobre as extremidades não redutoras da molécula de celulose (Zhang e Lynd, 2004).

As β -Glicosidades ou celobiasas atuam exclusivamente nos fragmentos solúveis de celulose e possuem um importante papel na degradação da celulose, pois de acordo com Zhang et al. (2006), estes fragmentos solúveis de celulose (celobioses) são fortes inibidores da ação de endoglucanases e exoglucanases.

3.2.2 Hemicelulases

Sendo a hemicelulose uma molécula mais complexa que a celulose, sua hidrólise necessita de um conjunto e de uma sinergia maior de enzimas quando comparada a celulose. Basicamente, as xilanases são compostas por pelo menos dois grupos de enzimas principais que degradam as cadeias centrais, endo 1,4- β -D-

xilanases (EC 3.2.1.8) e β -D-xilosidases (EC 3.2.1.37) e algumas enzimas auxiliares que degradam as extremidades das xilanas como, por exemplo, α -D-glucuronidases (EC 3.2.1.131) e acetil-xilana-esterases (Carvalho, 2009). A figura 12 mostra as pentoses e hexoses que compõem as xilanas e a posição de ataque das enzimas do complexo de xilanases.

Figura 12 – Enzimas envolvidas na degradação da hemicelulose. Ref: Aro et al. (2005)

Devido ao grande número de enzimas para a hidrólise efetiva da hemicelulose, o uso deste sistema requer uma otimização rigorosa de sua composição para que os resultados experimentais sejam satisfatórios em processos de branqueamento e refino, por exemplo.

3.2.3 Lacases e outras enzimas voltadas a degradação de ligninas

Diferentemente das celulasas e hemicelulasas, as enzimas voltadas para degradação da molécula de lignina não possuem alto grau de seletividade por seus substratos, pois possuem alto poder de redução e podem ser ativadas por mediadores, aumentando ainda mais sua capacidade catalítica.

Dentre as principais enzimas desta classe, podem-se citar as lacases e manganês peroxidases que, sem a presença de mediadores, são somente capazes de retirar elétrons de grupos fenólicos (Bourbonnais e Paice, 1990). A lignina peroxidase tem um potencial redutor maior do que as lacases e manganês peroxidases e não estão restringidas ao ataque de grupos fenólicos, podendo agir também em estruturas aromáticas não fenólicas (Kirk e Farrel, 1987).

A figura 13 exemplifica o mecanismo de atuação da manganês peroxidase obtida de cultura de fungos na presença de ácido orgânicos como mediadores para sua ativação e sua ação em diferentes substratos.

Figura 13 – Mecanismo de atuação de uma manganês peroxidase Ref: Hofrichter (2002).

3.3 Caracterização de substratos celulósicos

3.3.1 Celulose como substrato enzimático

A celulose é o polímero natural mais abundante do planeta e é encontrada quando que exclusivamente na parede celular de vegetais. É uma molécula composta única e exclusivamente por monômeros de D-Glicose e sua cadeia é linear. As moléculas de D-glicose são unidas entre si por ligações glicosídicas do

tipo β -(1 $\rightarrow$ 4). As ligações glicosídicas são resultantes da condensação entre as hidroxilas do carbono 1 (C1) e do carbono 4 (C4) das moléculas de D-glicose adjacentes, onde dessa reação há como produto uma molécula de água. Esta sua forma linear possibilita a formação de pontes de hidrogênio e interação de van der Waals dentro das cadeias e entre as cadeias de celulose. Estas interações são a origem da formação das fibrilas e das microfibrilas (Figura 14), que finalmente compõe a parede celular dos vegetais.

Figura 14 – Formação da parede celular a partir da molécula de celulose. Ref: Carvalho et al.(2009).

Conforme descrito no item 3.1.2 deste texto, são duas as posições de ataque iniciais do complexo celulolítico pelas celulasas: as endoglucanases hidrolisam a ligação β -(1 $\rightarrow$ 4) das cadeias centrais de regiões amorfas da fibrila enquanto as exoglucanases ou celobiohidrolases atuam sinergicamente na hidrolise dos grupos

terminais da molécula de celulose. Finalizando a hidrólise da molécula, a β -Glicosidases hidrolisa os fragmentos de celulose solúveis. A Figura 15 ilustra o mecanismo.

Figura 15 – Mecanismo de degradação de fibrilas de celulose. Ref.: Aro et al.(2005).

3.3.2 Hemicelulose como substrato enzimático

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo complexo composto por um conjunto de pentoses (D-Xilose e L-arabinose) e hexoses (D-glicose, D-galactose e D-manose), ácido D-glucurônico, ácido 4-O-metil-glucurônico e grupos acetilas. Possui uma cadeia ramificada e por este motivo é bem mais reativo do que a molécula linear de celulose.

Devido a esta complexidade e variedade de tipos de ligação, são necessárias várias enzimas para se degradar uma molécula de hemicelulose, cada uma hidrolisando uma ligação diferente e uma posição diferente dentro da cadeia. Conforme descrito no ítem 3.2.2, as endo 1,4- β -D-xilanases (EC 3.2.1.8) e β -D-xilosidases (EC 3.2.1.37) são as enzimas que atacam a região central das cadeias e atuam de maneira sinérgica com enzimas auxiliares como α -D-glucuronidases (EC 3.2.1.131) e acetil-xilana-esterases, degradando as extremidades da cadeia de xilana.

Como estão ligadas covalentemente às moléculas de lignina, a ação das enzimas do complexo de xilanases contribuem para facilitar o desprendimento da lignina da superfície da fibra, facilitando a etapa de branqueamento.

3.3.3 Lignina como substrato enzimático

A lignina é uma macromolécula sintetizada por via radicalar a partir de três álcoois p-hidróxi-cinâmicos precursores: p-cumarílico, coniferílico e sinapílico. Dependendo do grau de metoxilação do anel aromático, diz-se que a unidade básica é p-hidróxi-fenil (não metoxilada, derivada do álcool p-cumarílico), guaiacil (com uma metoxila, derivada do álcool coniferílico) ou siringil (com duas metoxilas, derivada do álcool sinapílico). Enquanto as ligninas de madeiras de coníferas são compostas quase que exclusivamente por unidades guaiacil, sendo denominadas de ligninas tipo G, as ligninas de madeiras de folhosas são mais ricas em unidades siringil, sendo denominadas de ligninas tipo GS (Carvalho et al., 2009).

Devido ao grande número de anéis aromáticos em sua estrutura, a lignina é basicamente degradada por enzimas redutoras como lipases e manganês peroxidases (que hidrolisam grupos fenólicos) e a lignina peroxidases que hidrolisam outros tipos de anéis aromáticos. Estas enzimas geralmente são ativadas por mediadores, o que possibilita a hidrólise de outros tipos de ligações ricas em elétrons, conforme descrito no item 3.2.3 deste texto.

Figura 16 – Principais tipos de ligações na molécula de lignina. Ref.: Carvalho et al.(2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Fibras

As fibras utilizadas nos experimentos são provenientes da empresa *Suzano Papel e Celulose SA*, produzida na unidade fabril localizada na cidade de Mucuri (BA). Foi utilizada celulose kraft branqueada de eucalipto da espécie *urograndis*. As fibras secas foram obtidas após secagem em máquina de secagem tipo *Fourdinier* e as fibras nunca secas coletadas no tanque de estocagem da linha de fibras após o branqueamento. As fibras foram submersas em água por 4 horas, secas em centrífuga e armazenadas em sacos plásticos a 4°C com consistência de 31,37% para realização dos experimentos.

4.1.2 Enzimas

As enzimas utilizadas foram cedidas pela empresa *Buckman*. Trata-se de duas enzimas comerciais de nome MAXIMYZE 2530 E BUZYME 2545, ambas específicas para aplicação em processos de refino de fibras. Os produtos MAXIMYZE 2530 e BUZYME 2545 são misturas de celulasas obtidas da cultura de fungos filamentosos e estabilizadas em processo patenteado pelo fornecedor.

4.2 Experimentos

4.2.1 Classificação de fibras

Parte das fibras foi classificada por faixa de comprimento em classificador Bauer McNett de acordo com a norma (modificada) TAPPI T233 cm-06 – Fiber length of pulp classification – Classification with the Bauer-McNett classifier, utilizando peneiras de 16#, 30#, 50# e 100#. A modificação se trata de diminuição do tempo de classificação para 10 minutos, pois buscava obter fibra mais uniforme e não uma classificação seguida pela norma.

Este separador consiste em quatro células com agitação e interligadas por tubulações por onde passa um fluxo contínuo de suspensão fibrosa (fluxo por gravidade). Em cada uma das saídas das células há uma peneira que retém as fibras de determinado comprimento de acordo com a malha utilizada (16, 30 ou 50#). A suspensão inicial é alimentada na primeira célula.

Figura 17 – Separador de fibras Bauer.

Foram realizadas curvas de refino e planejamento experimental (*DOE*) com fibras retidas no intervalo de 16# - 30#.

4.2.2 Tratamento enzimático

Para realização do tratamento enzimático, foram pesados 30,0 g de polpa seca. A consistência foi ajustada para 3,0% e levou-se a suspensão para desagregação durante 10 minutos (30000 rotações) em desagregador de laboratório REGMED DSG-2000. Após a desagregação, a suspensão foi filtrada a vácuo em funil de Büchner e novamente acertada a consistência em um béquer para o valor 3,0%. Foi ajustado o pH da solução utilizando hidróxido de sódio 1N (NaOH) e ácido clorídrico 1N (HCl) para o valor de 7,0.

Feito os preparativos, o béquer com suspensão fibrosa a 3,0% foi levado ao banho maria à 40°C e sob agitação constante. Enzima foi adicionada a uma concentração final na solução de 0,50 kg_{enzima}/tonelada_{fibra} e foi deixado por uma hora em contato com a fibra. Após este tempo de reação, adicionou-se NaOH até atingir pH 11,0, para que houvesse a desnaturação da enzima e a reação fosse interrompida. A solução foi filtrada a vácuo em funil de Büchner e lavada com água destiladaa até o pH da solução de lavagem atingisse o valor de 7,0.

Após o tratamento descrito, a polpa foi encaminhada ao processo de refino em moinho PFI, exceto no ponto “zero” da curva, onde as amostras foram encaminhadas diretamente para o processo de formação de folhas manuais. O mesmo procedimento foi adotado para ambas as enzimas (MAXIMYZE 2530 e BUZYME 2545). As amostras submetidas ao refino sem tratamento enzimático prévio passaram pelo mesmo procedimento, porém sem a adição de enzimas (branco).

4.2.3 Refino em moinho PFI

As amostras após o tratamento enzimático foram submetidas ao refino em moinho PFI FESTO a 1500, 3000 e 4500 revoluções em consistência de 10,0%, conforme norma ABNT NBR 14345.

O PFI consiste basicamente de um rotor, uma panela de refinação com tampa e um dispositivo para exercer uma pressão durante a refinação. O rotor e a panela giram sobre um eixo vertical (Yasumura, 2004).

Figura 18: Moinho PFI

Fig. 19: Elemento principal do moinho PFI. Ref.: Adaptação de Yasumura (2004)

Fig. 20: Esquema da seção vertical do moinho PFI. Ref.: Adaptação de Yasumura (2004)

4.2.4 Formação de folhas manuais

Após refino em PFI, as amostras foram homogeneizadas a 2,0% de consistência por 10 minutos antes de iniciar a formação de folhas. Foi retirada amostra do homegeinizador para medição de °Shopper-Riegler. As folhas foram formadas em equipamento Lorentzen & Wettre FI 101, com gramatura de aproximadamente 60 g/m², de acordo com norma TAPPI T205. Foram acondicionadas em ambiente climatizado com temperatura de 23 ± 1°C e umidade relativa do ar de 50 ± 2% para realização dos testes físico-mecânicos.

4.2.5 Análise de drenabilidade

Para análise de drenabilidade, foi utilizado como parâmetro o °Shopper-Riegler (°SR) e a medição realizada de acordo como norma TAPPI 227.

4.2.6 Ensaios Físico-Mecânicos

Após a formação das folhas manuais, as mesmas foram submetidas aos ensaios físico-mecânicos. Como referência aos testes foram utilizadas as seguintes normas:

- Índice de Tração (TAPPI T494);
- Internal Bond Tester (TAPPI T833);
- Permeância ao ar Gurley (TAPPI T460);
- Espessura (TAPPI T411);
- Gramatura (TAPPI T410);

Os procedimentos das normas TAPPI citados no texto estão brevemente descritos no anexo III deste presente trabalho.

4.2.7 Ensaio de Water Retention Value (WRV)

As amostras coletadas após o refino em moinho PFI foram submetidas ao teste de WRV conforme norma ISO 23718:2007. Este teste é importante para a

compreensão da ação do refino e das enzimas na superfície da fibra, pois está diretamente relacionada à hidratação da parede celular e às forças de ligação das moléculas de água com a superfície fibrosa (moléculas de celulose).

4.2.8 Ensaio de Viscosidade de polpa

A viscosidade da polpa foi medida pelo método de capilaridade, utilizando solução de 0,5% de celulose em Etilenodiamina Cúprica 0,5 M como solvente e viscosímetro de tubo capilar, de acordo com a norma TAPPI T230.

4.2.9 Análise de morfologia de fibra

As análises de comprimento de fibras, percentual de finos e *Coarseness* foram obtidas em analisador Kajaani FS200, de acordo com a norma TAPPI T271.

4.2.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para caracterizar a superfície das folhas manuais formadas após os ensaios. Para a análise das amostras no equipamento utilizado, é necessário um recobrimento das amostras com uma fina camada de ouro para evitar o acúmulo de cargas elétricas na superfície que poderiam afetar o sinal. O recobrimento foi realizado com o equipamento Sputter coater, marca Emitec, modelo SC7640.

O equipamento utilizado foi um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (MEV/FEG), marca FEI modelo QUANTA 400, com detector INCA PentaFETx3 do Laboratório de Corrosão e Proteção do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT).

Das folhas de cada amostra foram extraídos corpos de prova quadrados com cerca de 1cm². Os corpos de prova foram introduzidos na câmara do equipamento simultaneamente.

As imagens foram obtidas no modo de elétrons secundários (SE).

4.2.11 Fluxo experimental

Os experimentos foram divididos em duas etapas: a primeira etapa consiste em curvas de refinação utilizando fibra seca e nunca seca sem enzimas para auxiliar no refino; A segunda etapa consiste na realização de curvas de refino com celulose seca utilizando as enzimas MAXIMYZE 2530 E BUZYME 2545 como auxiliares de refino; Na terceira etapa, a fibra seca foi classificada em separador Bauer e utilizada para execução de nova curva de refino sem enzimas; Na quarta e última etapa, a fibra classificada foi submetida a planejamento experimental *DOE*, fixando a energia aplicada sobre a fibra no moinho PFI, variando as condições de hidrólise enzimática (temperatura, tempo e concentração de enzima) antes do refino, utilizando o Software MINITAB para compilação dos dados.

O fluxo experimental foi repetido para obtenção das duplicatas, assim como todos os pontos experimentais do *DOE*.

Fig. 21: Fluxo experimental Etapas I e II – Refino de fibras não classificadas com e sem tratamento enzimático

Tabela IV – Planejamento Experimental realizado com fibra seca classificada, com energia aplicada fixa de 133,3 kWh/t

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL						
StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	Concentração de enzima (kg/t)	Temperatura (°C)	Tempo (min)
10	1	-1	1	0,55	50,00	19,77
14	2	1	1	0,10	40,00	30,00
1	4	-1	1	0,55	33,18	45,00
16	5	0	1	0,55	50,00	45,00
15	6	0	1	0,55	50,00	45,00
8	7	0	1	0,55	50,00	45,00
6	8	0	1	0,55	50,00	45,00
9	9	-1	1	0,55	50,00	70,23
5	10	-1	1	0,55	66,82	45,00
4	11	1	1	1,00	60,00	30,00
7	13	-1	1	1,31	50,00	45,00
13	14	1	1	1,00	40,00	60,00
2	15	1	1	1,00	60,00	60,00
3	16	1	1	0,10	60,00	30,00
12	17	1	1	1,00	40,00	30,00
11	19	1	1	0,10	40,00	60,00

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeito das Celulases na superfície da fibra seca sem refino e *Hornification*

Pode-se observar através dos gráficos nas figura 25 e 26 o efeito das enzimas no deslocamento do ponto inicial da curva de refino de celulose seca. Neste ponto, onde as fibras ainda não passaram pelo moinho PFI, observa-se que para a fibra tratada com a enzima Maximize 2530 houve um aumento no grau de Shopper-Riegler (°SR) em 12%. Este parâmetro possui forte correlação com a fibrilação e consequentemente com as propriedades físico-mecânicas das fibras e do papel, além de ser uma medida bastante utilizada durante o processo de fabricação de papel por ser de fácil obtenção.

A mesma tendência de aumento ocorre com os valores de índice de tração (aumento de 21%), e Scott Bond (aumento de 31%) no pré-tratamento com a celulase comercial Maximize 2530. Avaliando os valores de WRV neste ponto inicial, não há aumento significativo dos valores obtidos para a fibra tratada com enzima com relação à fibra seca sem tratamento quando não refinada. Por outro lado há um leve aumento na geração de finos e consequente impacto na permeância ao ar.

Os valores de WRV têm grande correlação com a fibrilação interna e a retenção de água dentro da parede celular. Já a permeância ao ar possui uma relação com a geração de finos e fibrilação externa, visto que estes finos formados podem fechar os espaços vazios na rede de ligação entre as fibras e dificultar a passagem de ar no teste, gerando um valor maior na medição. Mais um fato relevante é a manutenção no valor de densidade da folha neste mesmo ponto conforme tabela VI, o que sugere uma ausência de colapsamento das fibras neste primeiro momento antes do refino.

Portanto, para este ponto inicial os resultados mostram uma tendência de fibrilação externa e geração de finos fibrilares provocados pela ação catalítica das celulases do composto 2530, o que possibilitou um aumento dos pontos de ligação

entre fibras e consequentemente um aumento nas propriedades físico-mecânicas, confirmando o que foi evidenciado em Garcia et al. (2002).

Estes resultados podem ser ilustrados pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura. Observando a figura 23, é possível comprovar a presença de fibrilação externa provocada pela ação enzimática da celulase comercial Maxymize 2530, o que não se observa na figura 22 na fibra sem tratamento prévio. Esta fibrilação externa é a responsável por aumentar os pontos de ligação entre fibras e aumentar as propriedades físico-mecânicas da folha formada.

Para a fibra tratada com Buzyme 2545 (figura 24), também não se observa grande alterações de superfície, fato este que ilustra os resultados não significativos de aumento de resistência apresentados para a fibra sem refino tratada com este composto. Esta fibrilação externa é a responsável por aumentar os pontos de ligação entre fibras e aumentar as propriedades físico-mecânicas da folha formada.

Fig. 22: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca sem refino e sem tratamento enzimático

Fig. 23: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca sem refino e tratada com Maxymize 2530

Fig. 24: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca sem refino e tratada com Buzyme 2545

Além disso, pode-se observar a recuperação das propriedades físico-mecânicas obtidas antes do processo de secagem da fibra. Comparando os resultados de propriedades da fibra nunca seca com os valores obtidos para fibra seca tratada com Maxymize 2530, há uma similaridade de valores nas propriedades analisadas. A enzima pôde compensar o efeito de “hornification” presente na fibra seca por meio de fibrilação externa e maior formação de finos, igualando as propriedades físico-mecânicas de uma fibra nunca seca.

Este resultado é similar ao apresentado por Garcia (2002), que mostrou por meio de micrografias e presença do desprendimento de fibrilas da superfície da fibra, o que proporcionou maior superfície de ligação entre fibras e conseqüente aumento das propriedades de tração e Scott Bond. Este aumento compensou a dificuldade de reidratação na fibra seca e possibilitou a recuperação das propriedades durante o refino (figura 6).

Tabela V – Comparativo de propriedades no ponto “Zero” (s/ refino)

	°SR	Scott Bond (ft.lb/in ²)	Tração (kNm/kg)	Finos (%)	Permeância ao ar (s/100ml)
Fibra Seca	22,5	21,60	22,86	6,26	1,75
Nunca Seca	24,0	30,50	26,37	6,18	1,85
Maxymize 2530	25,5	31,20	29,00	6,84	2,29
Buzyme 2545	23,5	22,20	25,15	6,36	1,17

Fig. 25: Comparativo de propriedades no ponto “Zero” (s/ refino) entre fibra seca, fibra nunca seca, fibra seca com Maxymize 2530 e fibra seca com Buzyme 2545.

Fig. 26: Comparativo de Permeância ao ar e percentual de finos no ponto “Zero” (s/ refino) entre fibra seca, fibra nunca seca, fibra seca com Maxymize 2530 e fibra seca com Buzyme 2545.

Tabela VI – Propriedades físico-mecânicas nas curvas de refino com e sem a utilização de tratamento enzimático

Condição	SEC (kWh/t)	revoluções PFI	°SR	WRV (g/g)	Índice de Tração (kNm/kg)	Permeância ao ar (s)	Scott Bond (lb.ft/in²)	Bulk (cm³/g)	Teor de Finos (%)
S/ Enzima - Fibra Seca	0	0	22,50	1,26	22,87	1,74	21,60	1,90	6,26
	66,7	1500	27,00	1,71	53,78	4,60	60,60	1,57	7,36
	133,4	3000	36,50	1,89	66,40	12,98	118,40	1,42	8,10
	200,1	4500	49,50	2,10	72,60	37,40	161,00	1,33	8,90
S/ Enzima - Fibra Nunca Seca	0	0	24,00	1,40	26,36	1,85	30,50	2,00	6,18
	66,7	1500	32,00	1,82	63,52	5,20	72,40	1,65	7,35
	133,4	3000	43,00	1,99	80,52	13,54	125,00	1,50	8,41
	200,1	4500	57,00	2,30	93,25	38,41	160,00	1,35	9,18
Maxymize 2530 + Fibra Seca	0	0	25,50	1,23	29,01	2,29	31,20	1,86	6,84
	66,7	1500	33,50	1,68	63,70	8,05	92,61	1,53	7,49
	133,4	3000	45,50	1,88	83,33	20,43	130,80	1,41	8,46
	200,1	4500	59,00	2,20	92,41	97,66	156,00	1,28	9,40
Buzyme 2545 + Fibra Seca	0	0	23,50	1,30	25,15	1,71	22,20	1,94	6,36
	66,7	1500	33,50	1,69	60,05	8,08	77,60	1,69	7,40
	133,4	3000	44,50	1,79	79,00	27,60	126,00	1,37	8,50
	200,1	4500	59,00	2,09	92,71	82,48	152,00	1,29	9,35

5.2 Efeito do pré-tratamento enzimático no refino

A atuação enzimática na superfície das fibras foi evidenciada durante o processo de refino mecânico em moinho PFI. Os dados da tabela VI mostram que para a fibra não tratada encontrou-se valores de °SR de 36,5 aplicando-se uma energia específica de refino de 133,3 kWh/t (3000 revoluções no PFI), enquanto que com a fibra tratada com ambas as enzimas pode-se obter o mesmo valor com um consumo de energia de refino em torno de 80 kWh/t, um consumo de energia 40% menor (figura 30).

Como °SR é uma medida indireta de resistência a drenagem e não de resistência mecânica, não se pode concluir se este aumento de Shopper-Riegler irá se refletir em propriedade físico-mecânica da folha. Por isso, é importante também se observar o comportamento das propriedades ao longo da curva de refino. Neste caso, observa-se nas figuras 31 e 32 que a mesma tendência de redução no consumo de energia foi constatada na obtenção dos parâmetros de resistência. Por exemplo, um valor de Scott Bond de 100 lb.ft/in² é obtido aplicando-se uma energia específica em torno de 125 kWh/t para a fibra não tratada, enquanto para a fibra tratada com Maxymize 2530 o consumo de energia cai para 80 kWh/t, um valor 36% de menor de energia para um mesmo valor de propriedade.

Para os valores de tração, a redução do consumo de energia de refino se repete. Para um valor de 70 kNm/kg é necessário aplicar uma energia de refino de 175 kWh/t sobre a fibra seca não tratada com enzimas, enquanto que para a fibra pré tratada com Maxymize 2530 o valor de energia é de 75 kWh/t para obter o mesmo valor de tração, um consumo 57% menor neste caso.

Logo, foi possível obter um papel com propriedades físico mecânicas semelhantes, porém com uma redução significativa na energia necessária no processo de refino, em linha com a conclusão de vários autores (Gil et al., 2009; Garcia et al., 2002; Lecourt et al., 2010). No caso da enzima comercial Buzyme 2545, não houve resultados significativos antes do refino como na enzima Maximize 2530, porém houve uma evolução significativa das propriedades durante o processo de refino.

As imagens de MEV mais uma vez ilustram os resultados. Com o mesmo consumo específico de energia de refino, é possível observar maior fibrilação externa na fibra pré-tratada com enzima (Maxymize 2530) quando comparada com a fibra refinada em pré-tratamento enzimático.

Fig. 27: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca refinada a 133 kWh/t sem tratamento enzimático

Fig. 28: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca refinada a 133 kWh/t com pré-tratamento enzimático (Maxymize 2530)

Fig. 29: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca refinada a 133 kWh/t com pré-tratamento enzimático (Buzyme 2545)

Fig. 30: Curvas de refino – evolução do °Shopper-Riegler com o aumento de energia específica aplicada no refino; redução de 40% no consumo para um mesmo °SR.

Fig. 31: Curvas de refino – evolução do Scott bond com o aumento de energia específica aplicada no refino; redução de 36% no consumo para um mesmo valor de Scott Bond.

Fig. 32: Curvas de refino – evolução da Tração com o aumento de energia específica aplicada no refino; redução de 57% no consumo para um mesmo valor de Tração.

Outro fenômeno também observado nestas curvas é a recuperação das propriedades físico-mecânicas de uma fibra nunca seca com o pré-tratamento enzimático. As propriedades da fibra nunca seca sem tratamento enzimático são similares às propriedades da fibra seca pré-tratada com celulases. Isto mostra que a enzima compensou o efeito de enrijecimento da fibra causado pelo processo de secagem (*hornification*), atuando sobre a fibra de modo a facilitar o processo de refino e aumentar a resistência da folha formada. Através de algumas análises secundárias, pode-se compreender como celulase atuou sobre a fibra para obter este ganho.

As figuras 33 e 34 mostram a evolução do teor de finos e do parâmetro de WRV (*Water Retention Value*) conforme o aumento de energia de refino. Ambos os parâmetros ilustram o fenômeno ocorrido durante o pré-tratamento e o refino PFI.

Fig. 33: Curvas de refino – evolução do Teor de Finos com o aumento de energia específica aplicada no refino.

Fig. 34: Curvas de refino – evolução do WRV – *Water Value Retention* - com o aumento de energia específica aplicada no refino.

Fig. 35: Curvas de refino – evolução do ensaio de Permeância ao ar com o aumento de energia específica aplicada no refino.

Observando atentamente a figura 34, verifica-se que não há alteração significativa nos valores de WRV com o pré-tratamento enzimático, assim como já discutido anteriormente no *item 5.1* para o ponto inicial sem refino. Porém, há um aumento no teor de finos ao longo da curva de refino comparando a curva da fibra seca sem enzima e com pré-tratamento enzimático. Este aumento no teor de finos reflete o aumento da permeância ao ar, ou seja, os espaços entre as fibras estão ocupados pelos finos e pelo maior colapsamento das fibras nos ensaios onde houve hidrólise enzimática. Preenchendo os espaços, há um aumento das interações inter-fibras, melhorando as propriedades de resistência.

A ação enzimática mostrou-se mais efetiva na superfície da fibra (fibrilação externa e formação de finos) do que na parte interna da parede celular (hidratação da parede, correlação com ensaio de WRV). Esta atuação foi suficiente para dar à fibra e à folha formada as propriedades de uma fibra nunca seca, mesmo que sem o mesmo nível de hidratação.

5.3 Correlações entre as variáveis

Entendendo a correlação entre as variáveis medidas após o tratamento enzimático e após o refino mecânico é possível compreender alguns fenômenos que ocorrem durante este importante processo.

Conforme dito anteriormente, o índice de retenção de água (WRV) é um importante fator para se avaliar a hidratação da parede celular da fibra. O refino possibilita este fenômeno e com isso provém também um aumento de flexibilidade das fibras e de suas propriedades mecânicas. Analisando a figura 36, observa-se que os valores de WRV aumentam igualmente para as fibras tratadas e não tratadas previamente com celulases, porém para um mesmo valor de WRV, tem-se um valor maior de resistência a tração, comprovando novamente o efeito sinérgico da hidratação das paredes da fibra provocadas pelo refino mecânico com a fibrilação externa e formação de finos intensificados pelo pré-tratamento enzimático.

Figura 36 – Aumento da tração com o aumento dos valores de WRV

O mesmo tipo de análise pode ser aplicada para Scott Bond, de acordo com a figura 37. A explicação para este fato é bem similar a já discutida anteriormente. Para uma mesma hidratação de parede celular provocada pelo refino, os vãos entre

as fibras estão mais fechados e ocupados por finos e fibras colapsadas nas curvas de refino de fibras secas pré-tratadas com celulases, aumentando os valores de permeância ao ar conforme exibido na figura 38. Esta maior ocupação proporciona maior interação entre as fibras e aumenta as propriedade de resistência e drenabilidade da folha formada.

Figura 37 – Aumento do Scott Bond com o aumento dos valores de WRV

Figura 38 – Aumento dos valores de Permeância ao ar com o aumento dos valores de WRV

5.4 Efeito da classificação de fibras

Para uma maior compreensão do fenômeno ocorrido no pré-tratamento enzimático e nas curvas de refino, as fibras secas foram separadas conforme descrito no *item 4.2.1*. Busca-se evidenciar que a atuação das enzimas ocorre sobre a superfície das fibras, e não sobre a superfície dos finos pré-existentes na suspensão.

Esta classificação deslocou a curva de refino e alterou as propriedades físico-mecânicas das folhas formadas, conforme mostra a figura 39. Este deslocamento da curva ocorreu principalmente pela retirada dos finos da suspensão fibrosa inicial, finos estes que ocupam os espaços vazios e ajudam na ligação entre as fibras. As figuras 40 e 41 evidenciam a redução do teor de finos e a redução da permeância ao ar na fibra classificada. O comprimento médio de fibras caiu de 0,78 mm para 0,72 mm.

Devido esta alteração, as análises de propriedades foram refeitas para este material a fim de se discutir estes resultados posteriormente no planejamento experimental.

Figura 39 – Evolução do Shopper-Riegler da fibra seca classificada e não classificada

Figura 40 – Evolução do teor de finos da fibra seca classificada e não classificada

Figura 41 – Evolução dos valores de Permeância ao ar da fibra seca classificada e não classificada

As imagens de MEV evidenciam a diferença entre as fibras classificadas e não classificadas. Há uma maior uniformidade no conjunto de fibras classificadas em relação ao conjunto de fibras não classificadas.

Fig. 42: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca classificada sem refino e sem tratamento enzimático – Maior uniformidade de tamanho de fibras

Fig. 43: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra de Fibra seca não classificada sem refino e sem tratamento enzimático – Menor uniformidade de tamanho de fibras

5.5 Planejamento experimental *DOE* – Superfícies de resposta

Para ampliar os ganhos da utilização de celulasas com auxiliar de refino e dar mais força para a viabilidade de sua utilização em escala industrial, foi realizado planejamento experimental a fim de otimizar alguns parâmetros de reação de hidrólise e maximizar os ganhos em propriedade e redução no consumo específico de energia.

A enzima escolhida foi a MAXIMYZE 2530 por ter demonstrado resultados levemente superiores nos parâmetros de resistência (Scott Bond e Tração) além de ter apresentado maior efetividade no ponto “Zero”, ou seja, somente com hidrólise enzimática e sem refino. Foi fixada também a quantidade de energia aplicada em 133,3 kWh/t (3000 revoluções no moinho PFI), valor este onde se obteve valores de Shopper-Riegler em torno de 27,5 que é o patamar médio utilizado em uma fabricação de papelcartão nas camadas externas compostas por celulose branqueada. A fibra utilizada foi a classificada conforme descrito no item 4.2.1, para aprimorar as conclusões sobre a atuação enzimática na superfície da fibra.

A tabela VII mostra o planejamento experimental e os resultados obtidos. Foi utilizado o planejamento do tipo 2^k , sendo $k=3$, utilizando as variáveis: Temperatura de hidrólise, tempo de hidrólise e concentração de enzima utilizada. Os demais parâmetros foram fixados.

As superfícies de resposta foram traçadas fixando a variável de menor correlação com a resposta analisada (maior valor de *p-value*) e correlacionando a interação de variáveis com menor valor de *p-value*, obtendo assim as curvas que seguem abaixo:

Tabela VII – Planejamento experimental DOE

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL																
StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	Concentração de enzima (kg/t)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Respostas - Refino a 3000 rev (133,3 kW.h/t) - Maximize 2530									
							°SR	Bulk cm³/g	Tração kNm/kg	Internal bond ft.lb/in2	Permeabilidade gurley s/100ml	Viscosidade cp	% Finos	Coarseness	Comprimento de Fibra mm	WRV g/g
10	1	-1	1	0,55	50,00	19,77	32,00	1,54	67	130,0	7,74	15,77	7,49	9,35	0,72	1,68
14	2	1	1	0,10	40,00	30,00	27,50	1,39	59,94	265	8,88	14,30	7,13	9,35	0,73	1,63
1	4	-1	1	0,55	33,18	45,00	28,00	1,45	62,34	195,0	7,87	15,80	7,68	9,5	0,72	1,77
16	5	0	1	0,55	50,00	45,00	28,50	1,43	73,53	145	9,68	14,95	7,29	7,6	0,72	1,67
15	6	0	1	0,55	50,00	45,00	27,25	1,42	68,54	145	10,4	15,23	7,55	7,8	0,71	1,67
8	7	0	1	0,55	50,00	45,00	28,00	1,47	77,9	140	11	15,39	7,46	8,9	0,71	1,73
6	8	0	1	0,55	50,00	45,00	28,00	1,5	83,51	140	10,6	14,71	7,53	8,7	0,71	1,73
9	9	-1	1	0,55	50,00	70,23	29,25	1,43	74,43	150	11,85	14,48	7,97	9,35	0,71	1,83
5	10	-1	1	0,55	66,82	45,00	29,75	1,51	69,62	142,5	7,51	15,10	7,47	8,35	0,72	1,69
4	11	1	1	1,00	60,00	30,00	31,00	1,49	67,02	120	5,22	16,84	7,06	9,6	0,73	1,72
7	13	-1	1	1,31	50,00	45,00	27,50	1,45	74,14	130	10,3	15,20	7,85	8,15	0,71	1,76
13	14	1	1	1,00	40,00	60,00	28,00	1,36	71,52	140	6,9	14,75	8,3	8,75	0,7	1,71
2	15	1	1	1,00	60,00	60,00	27,50	1,42	71,78	145	9,66	15,42	9,09	8,65	0,7	1,76
3	16	1	1	0,10	60,00	30,00	32,75	1,58	61,24	90	3,72	16,40	7,2	7,65	0,71	1,67
12	17	1	1	1,00	40,00	30,00	28,00	1,38	64,15	150	6,99	15,99	7,73	8,7	0,7	1,51
11	19	1	1	0,10	40,00	60,00	32,25	1,37	75,88	150	7,9	16,84	7,18	8,85	0,71	1,52

Figura 44 – Superfície de Resposta Scott Bond *versus* Temperatura e Concentração

Figura 45 – Superfície de Resposta °SR *versus* Temperatura e Tempo

Figura 46 – Superfície de Resposta Teor de finos *versus* Concentração e Tempo

Figura 47 – Superfície de Resposta Tração *versus* Temperatura e Tempo

Analisando as superfícies de resposta obtidas para as respostas Scott Bond e Finos, observam-se valores mais altos de resistência interna em condições mais amenas de tempo e concentração, ponto este onde há menor formação de finos e valores baixos de Shopper-Riegler. Esta condição é a mais ideal para a fabricação de papel, pois permite uma maior drenabilidade na máquina sem perda de resistência e com baixo teor de finos que podem causar entupimento de telas e feltros. A hidrólise neste ponto ocorre de maneira mais lenta (baixa temperatura) e com baixa disponibilidade de enzima (baixa concentração). Este cenário foi propício para a ação da enzima somente na superfície da fibra para formação da fibrilação externa e abrindo caminho para a hidratação da parede celular durante o processo do refino. Não houve perda de resistência intrínseca nem formação excessiva de finos, e o aumento de resistência deu somente pelos fatores que se busca realmente em um processo de refino: fibrilação interna e externa, sem ruptura e desprendimento das fibrilas da superfície.

Este fato é ilustrado nas imagens de MEV da figura 48. Observa-se um alto nível de fibrilação externa, porém sem que ocorra o desprendimento de fibrilas da superfície da fibra, o que reduziria a resistência intrínseca da mesma e ocasionaria uma redução de resistência interna da folha formada. Comparando com a figura 49, é possível verificar que o menor valor de Scott Bond encontrado na superfície de resposta possui baixo nível de fibrilação externa.

Já a tração está mais relacionada com a flexibilidade das fibras e a resistência do conjunto na direção horizontal. Logo, é influenciada pelo preenchimento dos espaços vazios entre as fibras e o colapsamento das mesmas. Por este motivo, para maiores valores do teste de permeabilidade ao ar, a tendência é obter valores de tração maiores. Comparando as curvas de tração e permeabilidade pode-se comprovar esta correlação.

Fig. 48: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra do experimento 14 do DOE –
Maior valor encontrado de Scott Bond

Fig. 49: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) amostra do experimento 03 do DOE –
Menor valor encontrado de Scott Bond

5.6 Análise de viabilidade econômica preliminar para utilização de enzimas na produção de papel

Utilizando os dados obtidos a partir dos experimentos realizados e otimizações, pôde-se calcular a viabilidade da utilização de enzimas para o processo de fabricação de papel. Utilizou-se como base para o cálculo uma planta industrial que produz 50.000 t/ano de papelcartão, sendo 10% desta produção de cartão SBS, composto por duas camadas externas de celulose branqueada e uma camada interna composta por 50% celulose branqueada e 50% refugo do processo.

Para obter a redução no consumo específico de energia, utilizou-se como premissa o valor de concentração ótimo obtido no DOE para Scott Bond 250 lb.ft/in² e o mesmo valor de Scott Bond obtido na curva de celulose seca branqueada e classificada (consumo de 200 kWh/t).

Tabela VIII – Viabilidade econômica da utilização de enzimas para auxiliar de refino

Fibra classificada s/ enzima (kWh/t)	200
Fibra classificada c/ Maxymize (kWh/t)	133
Redução no consumo específico de energia (%)	33,5%
Consumo de celulose (Camada interna - papelcartão SBS) (t/h)	1,32
Produção SBS (t/ano)	5.000,00
Economia (kWh/ano)	442.200,00
Preço kWh médio (R\$)	0,22
Economia anual (R\$)	97.284,00
Consumo de enzima (DOE) (kg/t)	0,1
Preço (R\$/kg)	21,00
Consumo de celulose (Camada interna - papel cartão SBS) t/h	1,32
Gastos com enzima (R\$/ano)	13.860,00
Ganho R\$/ano	83.424,00

Conforme dito anteriormente, as características de refino em moinho PFI são diferentes de refino em refinadores industriais de discos (Yasumura, 2004). Além disso, em uma unidade fabril não há classificação de fibras como a realizada nos experimentos deste presente trabalho. Entretanto, o uso de PFI e fibras classificadas foram essenciais para manter as condições controladas e se criar o conceito da ação enzimática na superfície das fibras. Adquirido o conceito, o uso em escala industrial requer ajustes de acordo com o tipo de fibra utilizada, as condições de refinador utilizado e o tipo de papel fabricado que podem ser avaliados em cada caso para otimização do uso em grande escala.

Os valores obtidos tanto no DOE quanto nos cálculos preliminares de viabilidade financeira podem ser usados como referências, porém vão depender dos ajustes a serem realizados em cada processo.

6 CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

Por meio das análises expostas no presente trabalho, conclui-se que o pré-tratamento enzimático é eficaz para reduzir o consumo específico de energia de refino sem perda de propriedades físico-mecânicas. Ou então, é possível obter ganho de propriedade mantendo o mesmo consumo específico de energia. Foi possível obter uma redução de 36% no consumo de energia com o pré-tratamento enzimático de fibras secas para obter o mesmo valor de Scott Bond na curva de refino e uma redução de 57% para obter o mesmo valor de tração. As imagens de MEV ilustraram durante todas as etapas do trabalho a eficácia na fibrilação externa do tratamento enzimático quando comparado com a fibra não tratada.

O composto Maxymize 2530 mostrou-se mais eficaz no tratamento de fibras secas com o objetivo de recuperar as propriedades de uma fibra nunca seca, compensando o efeito *Hornification* presente nas fibras que já passaram por um processo de secagem. Os valores de WRV não são alterados pelo tratamento, porém a resistência interna da folha é compensada pelo aumento da fibrilação externa.

Foi possível otimizar o consumo de celulases no pré-tratamento com o planejamento experimental (DOE) a fim de viabilizar economicamente o uso de enzimas para este fim. Com um baixo consumo (0,1 kg/t) foi possível obter o ponto de ótimo de Scott Bond com os parâmetros de temperatura e tempo possíveis de serem realizadas em escala industrial.

Expandindo os dados obtidos para uma planta industrial de fabricação de papelcartão, foi possível evidenciar o retorno financeiro e a viabilidade da aplicação de celulases comerciais como auxiliar de refino na produção de papel. Valores estes que são para referência comparativa entre a condição com enzima e sem enzima, e para cada caso industrial é necessário fazer novo DOE. Mas os métodos já foram aqui estabelecidos.

Para este trabalho, priorizou-se o uso de um material mais homogêneo como fibras branqueadas de eucalipto para manter as condições controladas e avaliar a ação enzimática. Nos trabalhos futuros serão realizados ensaios para fibras recicladas, que são mais facilmente encontradas nas unidades fabris e possuem composição mais complexa do que as fibras branqueadas virgens.

Além disso, serão aprofundados estudos estatísticos sobre os testes realizados, visto que este não era o principal objetivo do presente trabalho.

Serão realizadas análises de topoquímica de superfície de fibras com o objetivo de caracterizar quimicamente a atuação enzimática, já que neste trabalho caracterizaram-se apenas as propriedades físico-mecânicas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARO, N.; PAKULA, T.; PENTTILA, M. (2005) **Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi**, FEMS Microbiology Reviews, vol 29, pag 719–739, 2005
- BAJPAI, P. (1999) **Application of Enzymes in the Pulp and Paper Industry**. Biotechnol. Prog. 1999, 15, 147-157
- BAJPAI, P. (2006) **Use of enzymes for reduction in refining energy-: laboratory studies**. Tappi Journal. 2006. 5 (11)
- BHARDWAJ, N. K.; BAJPAI P.; BAJPAI P. K. (1996) **Use of enzymes in modification of fibres for improved beatability**. Journal of Biotechnology 51 (1996) 21-26
- BOURBONNAIS, R.; PAICE, M.G. (1990) **Oxidation of non-phenolic substrates. An expanded role for laccase in lignin biodegradation**. FEBS Letters. 267(1) 99–102 1990.
- CARVALHO, W.; CANILHA, L.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F. (2009) **UMA VISÃO SOBRE A ESTRUTURA, COMPOSIÇÃO E BIODEGRADAÇÃO DA MADEIRA**. Quim. Nova, Vol. 32, No. 8, 2191-2195, 2009
- DICKSON, A. R.; WONG, K. K. Y.; MASFIELD, S. D. (2000) **Response of xylanase-treated kraft pulp to Escher-Wyss and PFI refining**. TAPPI 83 (6) 1-11 2000
- DIENES, D.; EGYHÁZI, A.; RÉCZEI, K. (2004) **Treatment of recycled fiber with Trichoderma cellulases**. Industrial Crops and Products. 20 (2004) 11–21 2004.
- DINIZ, F. J. M. B.; GIL M. H.; CASTRO, J. A. A. M. (2004) **Hornification—its origin and interpretation in wood pulps**, Wood Sci Technol, vol 37, pag 489–494, 2004
- FARDIM, P. (1999) **Composição Química da Superfície da Polpa Kraft de Eucalyptus – Caracterização e influências nas propriedades físicas e físico-químicas das fibras**. 1999. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.
- FENGEL, D; G. WEGENER (1989). **Wood – Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. Walter de Gruyter, Berlin.
- GARCIA, O.; TORRES, A. L.; COLOM, J. F.; PASTOR, F. I. J.; DIAZ, P.; VIDAL, T. (2002) **Effect of cellulase-assisted refining on the properties of dried and never-dried eucalyptus pulp**. Cellulose 9: 115–125, 2002.
- GIL, N.; GIL, C.; AMARAL, M. E.; COSTA, A. P.; DUARTE, A. P. (2009) **Use of enzymes to improve the refining of a bleached Eucalyptus globules kraft pulp** . Biochemical Engineering Journal 46 (2009) 89–95

GULBITZ, G. M.; LISCHNIG, T.; STEBBING, D. SADDLER, J. N. (1997) **Enzymatic removal of hemicelluloses from dissolving pulps** Biotechnology Letters, 19 (5) 491–495. 1997.

HOFRICHTER, M. (2002) **Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP)**, Enzyme and Microbial Technology, 30 (2002) 454–466.

HOLIK, H. (2006) **Handbook of Paper and Paperboard**; Wiley-VCH, Maio 2006

HUBBE, M.; HEINTMANN (2007) **Review of factors affecting the release of water From cellulosic fibers during paper manufacture**. Bio Resources 2 (3) 500-533. 2007

JEFFRIES, T. W.; KIRK, T. K. (1996) **Roles for Microbial Enzymes in Pulp and Paper Processing**, American Chemical Society, 1996.

JEFFRIES, T. W.; VIIKARI, L. (1994) **Enzymes for pulp and paper processing**, American Chemical Society, 1994

KENEALY, W.; JEFFRIES, T. W. (2003) **Enzyme Processes for Pulp and Paper: A Review of Recent Developments**, American Chemical Society, 2003

KEREKES, R. J. (2005) **Characterizing refining action in PFI mills**, TAPPI . 4 (3) 1-8. 2005

KIM, J. H.; JO, B. M. (2000) **Influence of refining of pulp fibres on the structures of sheet formation**, Applied Chemistry, 4 (2000) 367-369.

KIRK, K.; JEFFRIES, W. T. (1996) **Roles for Microbial Enzymes in Pulp and Paper Processing**, American Chemical Society, 1996.

KOSKENHELY, K.; ÄMMALA A.; JOKINEN H.; PAULAPURO H. (2005) **Effect of refining intensity on pressure screen fractionated softwood kraft**. Nordic Pulp and Paper Research Journal, 20 (2) 169-175. 2005.

LECOURT, M.; SIGOILLOT, J. C.; PETIT-CONIL, M. (2010) **Cellulase-assisted refining of chemical pulps: Impact of enzymatic charge and refining intensity on energy consumption and pulp quality**, Process Biochemistry, 45 (2010)1274–1278.

LIU, N.; SHI, S.; GAO, Y.; QIN, M. (2009) **Fiber modification of kraft pulp with laccase in presence of methyl syringate** . Enzyme and Microbial Technology 44 (2009) 89–95

LYND, L.R.; WEIMER, P.J.; van ZYL, W.H.; PRETORIUS, I.S. (2002) **Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology** . MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS, 66 (3) 506-577 2002

MANDREDI, V.; VILELA, C. B.; CLAUDIO-DA-SILVA JR. E. (1986) **Efeito das variáveis operacionais de refino na evolução das propriedades da polpa refinada**. In: Congresso anual da ABTCP, São Paulo: 189, 1986

MANSFIELD, D. S.; JONG, E. D.; STEPHENS, R. S.; SADDLER, J. N. (1997) **Physical characterization of enzymatically modified kraft pulp fibers** . Journal of Biotechnology 57 (1997) 205-216

MATSUSHITA, Y.; SUZUKI, A.; SEKIGUCHI, T.; SAITO, K.; IMAI, T.; FUKUSHIMA, K. (2008) **Mapping of the cationic starch adsorbed on pulp fibers by ToF-SIMS**, Applied Surface Science, 255 (2008)1022–1024.

MILLER, G. L. (1959) **Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar**. ANALYTICAL CHEMISTRY. pp.426-428 1959.

OKSANEN, T. (1997) **The effect of Trichoderma reesei cellulases and hemicellulases on the paper technical properties of never-dried bleached kraft pulp** CELLULOSE (1997) 4, 329-339

OKSANEN, T. **Treatment of recycled kraft pulps with Trichoderma reesei hemicellulases and cellulases** . Journal of Biotechnology 78 (2000) 39–48

PAICE, M. G.; REID, I. D. (1998) **Effects of Manganese Peroxidase on Residual Lignin of Softwood Kraft Pulp**. Appl Environ Microbiol. 1998 June; 64(6):[2273–2274. 1998.

PALA, H.; MOTA, M.; GAMA, F. M. (2002) **Enzymatic Modification of Paper Fibres**. Biocatalysis and Biotransformation, 20 (5) 353–361. 2002.

PERE J, SIIKA-AHO M, VIKARI L. 2000. **Biomechanical pulping with enzymes: Response of coarse mechanical pulp to enzymatic modification and secondary refining**. Tappi J. 83 (5) 1-8. 2000.

PLAZL, N. P.; RUTAR, V.; RAVNJAK, D. (2009) **The Effect of Enzymatic Treatments of Pulps on Fiber and Paper Properties**, Chem. Biochem. Eng. Q., 23 (2009) 497–506.

QUINDE, A. (1994) **Enzymes in the pulp and paper industry: A Review**. <http://www.quindeconsulting.ca/documents/enzymes.pdf>
[Accessed March 01, 2012] 1994

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

SEALEY, J.; RAGAUSKA, A. J. (1998) **Residual lignin studies of laccase-delignified kraft pulps**. Enzyme and Microbial Technology. 23 (7-8), 422-426. 1998.

SETH, R.S. (1999) **Beating and refining response of some reinforcement pulps**. TAPPI J. 82 (3) 147-155. 1999.

SIGOILLOT, J. C.; PETIT-CONIL, M.; HERPOEL, I.; JOSELEAU, J. P.; RUEL, K.; KUREK, B.; CHOUDENS, C.; ASTHER, M. (2001) **Energy saving with fungal enzymatic treatment of industrial poplar alkaline peroxide pulps**. Enzyme and Microbial Technology 29 (2001) 160–165

STEVENS, W. V. (1992) - **Refining**, Pulp and Paper Manufacture – Volume 6 Ed. Hagemeyer, R.W, Manson, D.W e Kocurek, M.J. The Joint Textbook Committee of the paper industry, Atlanta/Montreal, 1992: 187-219

STOERE, P.; NAZHAD; KERESKES. (2001) **An experimental study of the effect of refining on paper formation**, Tappi J., 84 (7) 1-9. 2001.

SUCHY, M.; HAKALA, T.; KANGAS, H.; KONTTURI, E.; TAMMELIN, T.; PURSULA, T.; VUORINEN, T. (2009) **Effects of commercial cellobiohydrolase treatment on fiber strength and morphology of bleached hardwood pulp**. Holzforschung, 63 (2009) 731–736

TAPPI T233 cm-06 – **Fiber length of pulp classification – Classification with the Bauer-McNett classifier**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

TAPPI T494 - **Tensile Testing of Paper**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

TAPPI T833 - **Test for Interfiber Bond Using the Internal Bond Tester**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

TAPPI T460 - **Air resistance of paper (Gurley method)**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

TAPPI T411 - **Thickness of Paper and Paperboard (Soft Platen Method)**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

TAPPI T410 - **Grammage of Paper and Paperboard (Weight per Unit Area)**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

TAPPI T271 – **Fiber Length of Pulp by Classification**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

TAPPI T230 – **Viscosity of Pulp (Capillary Viscometer Method)**. The 2000-2001 TAPPI TEST METHODS. Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta, GA. Tappi Press. 2000.

WITAIKRAN, S.; RAGAUSKAS, A. J. (2009) **Modification of high-lignin softwood kraft pulp with laccase and amino acids**, Enzyme and Microbial Technology, 44 (2009) 176–181.

WONG, K. Y.; RICHARDSON J. D.; MANSFIELD, S. D. (2000) **Enzymatic Treatment of Mechanical Pulp Fibers for Improving Papermaking Properties**. Biotechnol. Prog., 16 (2000) 1025-1029.

Yasumura, P. K.; D’Almeida, M. L. O.; Park, S. W. (2012) **Multivariate Statistical Evaluation of Physical Properties of Pulps Refined in a PFI Mill**. O Papel 73 (3) x-x, 2012 (in print)

Yasumura, P. K.; D’Almeida, M. L. O.; Park, S. W. (2008) **Refining actions in PFI mill and industrial disc refiners**. O Papel, 69 (8) 63-72. 2008 .

ZHANG, Y. P.; HIMMEL, M. E.; MIELENS, J. R. (2006) **Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies** . Biotechnology Advances 24 (2006) 452–481

ZHANG, Y. P.; LYND, L. R. (2004) **Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems**. BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, 2004 88 (7).

ANEXOS

Anexo I – Dados de Análise das Superfícies de Resposta - Software MINITAB

Resposta: Scott Bond

Estimated Regression Coefficients for Scott Bond (ft.lb/in2)

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	992,729	218,587	4,542	0,004
Concentração	-356,233	128,657	-2,769	0,032
temperatura	-20,267	6,860	-2,955	0,025
Tempo	-7,854	3,908	-2,010	0,091
Concentração*Concentração	-8,151	43,976	-0,185	0,859
temperatura*temperatura	0,085	0,063	1,359	0,223
Tempo*Tempo	-0,007	0,028	-0,258	0,805
Concentração*temperatura	5,203	2,122	2,452	0,050
Concentração*Tempo	1,987	1,414	1,405	0,210
temperatura*Tempo	0,144	0,064	2,261	0,064

S = 21,8118 PRESS = 45330,4
R-Sq = 86,37% R-Sq(pred) = 0,00% R-Sq(adj) = 65,94%

Analysis of Variance for Scott Bond (ft.lb/in2)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	18095,1	18095,1	2010,57	4,23	0,047
Linear	3	7835,0	8402,9	2800,98	5,89	0,032
Concentração	1	1798,2	3647,4	3647,42	7,67	0,032
temperatura	1	6010,2	4153,0	4153,02	8,73	0,025
Tempo	1	26,7	1922,1	1922,08	4,04	0,091
Square	3	1088,3	1084,0	361,34	0,76	0,556
Concentração*Concentração	1	1,3	16,3	16,34	0,03	0,859
temperatura*temperatura	1	1062,9	879,1	879,09	1,85	0,223
Tempo*Tempo	1	24,1	31,6	31,55	0,07	0,805
Interaction	3	9171,7	9171,7	3057,25	6,43	0,027
Concentração*temperatura	1	4142,4	2861,4	2861,38	6,01	0,050
Concentração*Tempo	1	2597,1	939,1	939,13	1,97	0,210
temperatura*Tempo	1	2432,2	2432,2	2432,22	5,11	0,064
Residual Error	6	2854,5	2854,5	475,75		
Lack-of-Fit	3	2829,5	2829,5	943,17	113,18	0,001
Pure Error	3	25,0	25,0	8,33		
Total	15	20949,6				

Resposta: ° Shopper-Riegler

Estimated Regression Coefficients for SR

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	20,5935	8,65680	2,379	0,055
Concentração	2,1286	5,09525	0,418	0,691
temperatura	0,1682	0,27167	0,619	0,559
Tempo	0,1012	0,15475	0,654	0,537
Concentração*Concentração	2,0415	1,74159	1,172	0,286
temperatura*temperatura	0,0030	0,00249	1,222	0,268
Tempo*Tempo	0,0041	0,00111	3,707	0,010
Concentração*temperatura	-0,0317	0,08402	-0,378	0,719
Concentração*Tempo	-0,1174	0,05601	-2,097	0,081
temperatura*Tempo	-0,0086	0,00252	-3,424	0,014

S = 0,863821 PRESS = 57,1653

R-Sq = 91,69% R-Sq(pred) = 0,00% R-Sq(adj) = 79,22%

Analysis of Variance for SR

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	49,3979	49,3979	5,4887	7,36	0,012
Linear	3	19,3180	0,5915	0,1972	0,26	0,849
Concentração	1	11,3364	0,1302	0,1302	0,17	0,691
temperatura	1	6,1176	0,2862	0,2862	0,38	0,559
Tempo	1	1,8641	0,3193	0,3193	0,43	0,537
Square	3	11,6899	11,0137	3,6712	4,92	0,047
Concentração*Concentração	1	1,2246	1,0253	1,0253	1,37	0,286
temperatura*temperatura	1	0,0836	1,1136	1,1136	1,49	0,268
Tempo*Tempo	1	10,3817	10,2523	10,2523	13,74	0,010
Interaction	3	18,3899	18,3899	6,1300	8,22	0,015
Concentração*temperatura	1	0,4713	0,1064	0,1064	0,14	0,719
Concentração*Tempo	1	9,1688	3,2805	3,2805	4,40	0,081
temperatura*Tempo	1	8,7498	8,7498	8,7498	11,73	0,014
Residual Error	6	4,4771	4,4771	0,7462		
Lack-of-Fit	3	3,4303	3,4303	1,1434	3,28	0,178
Pure Error	3	1,0469	1,0469	0,3490		
Total	15	53,8750				

Resposta: Tração

Estimated Regression Coefficients for Tração (kNm/kg)

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	-72,4207	52,7066	-1,374	0,219
Concentração	17,1654	31,0223	0,553	0,600
temperatura	4,0248	1,6541	2,433	0,051
Tempo	1,5192	0,9422	1,612	0,158
Concentração*Concentração	-7,7059	10,6036	-0,727	0,495
temperatura*temperatura	-0,0374	0,0152	-2,470	0,048
Tempo*Tempo	-0,0092	0,0067	-1,366	0,221
Concentração*temperatura	0,1247	0,5116	0,244	0,815
Concentração*Tempo	-0,2924	0,3410	-0,857	0,424
temperatura*Tempo	-0,0055	0,0153	-0,357	0,733

S = 5,25935 PRESS = 985,630

R-Sq = 73,44% R-Sq(pred) = 0,00% R-Sq(adj) = 33,59%

Analysis of Variance for Tração (kNm/kg)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	458,837	458,837	50,982	1,84	0,235
Linear	3	219,430	186,023	62,008	2,24	0,184
Concentração	1	20,740	8,469	8,469	0,31	0,600
temperatura	1	6,822	163,779	163,779	5,92	0,051
Tempo	1	191,868	71,916	71,916	2,60	0,158
Square	3	200,899	194,245	64,748	2,34	0,173
Concentração*Concentração	1	13,920	14,608	14,608	0,53	0,495
temperatura*temperatura	1	134,875	168,775	168,775	6,10	0,048
Tempo*Tempo	1	52,104	51,597	51,597	1,87	0,221
Interaction	3	38,508	38,508	12,836	0,46	0,718
Concentração*temperatura	1	4,687	1,644	1,644	0,06	0,815
Concentração*Tempo	1	30,300	20,334	20,334	0,74	0,424
temperatura*Tempo	1	3,521	3,521	3,521	0,13	0,733
Residual Error	6	165,965	165,965	27,661		
Lack-of-Fit	3	44,270	44,270	14,757	0,36	0,786
Pure Error	3	121,695	121,695	40,565		
Total	15	624,801				

Resposta: Permeância ao ar

Estimated Regression Coefficients for Permeância ao ar Gurley (s/100ml)

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	-5,34160	13,3284	-0,401	0,702
Concentração	-0,96483	7,8449	-0,123	0,906
temperatura	0,75441	0,4183	1,804	0,121
Tempo	-0,18358	0,2383	-0,770	0,470
Concentração*Concentração	-3,57913	2,6814	-1,335	0,230
temperatura*temperatura	-0,01275	0,0038	-3,327	0,016
Tempo*Tempo	-0,00236	0,0017	-1,386	0,215
Concentração*temperatura	0,11740	0,1294	0,908	0,399
Concentração*Tempo	-0,01433	0,0862	-0,166	0,874
temperatura*Tempo	0,00968	0,0039	2,494	0,047

S = 1,32998 PRESS = 177,022

R-Sq = 85,34% R-Sq(pred) = 0,00% R-Sq(adj) = 63,34%

Analysis of Variance for Permeância ao ar Gurley (s/100ml)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	61,7603	61,7603	6,8623	3,88	0,056
Linear	3	19,0140	10,9610	3,6537	2,07	0,206
Concentração	1	0,8124	0,0268	0,0268	0,02	0,906
temperatura	1	1,6305	5,7541	5,7541	3,25	0,121
Tempo	1	16,5711	1,0501	1,0501	0,59	0,470
Square	3	25,2861	22,4434	7,4811	4,23	0,063
Concentração*Concentração	1	4,5757	3,1515	3,1515	1,78	0,230
temperatura*temperatura	1	17,1295	19,5798	19,5798	11,07	0,016
Tempo*Tempo	1	3,5808	3,3959	3,3959	1,92	0,215
Interaction	3	17,4603	17,4603	5,8201	3,29	0,100
Concentração*temperatura	1	5,4727	1,4568	1,4568	0,82	0,399
Concentração*Tempo	1	0,9874	0,0488	0,0488	0,03	0,874
temperatura*Tempo	1	11,0001	11,0001	11,0001	6,22	0,047
Residual Error	6	10,6130	10,6130	1,7688		
Lack-of-Fit	3	9,6962	9,6962	3,2321	10,58	0,042
Pure Error	3	0,9168	0,9168	0,3056		
Total	15	72,3734				

Resposta: Teor de Finos

Estimated Regression Coefficients for Finos (%)

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	12,7925	2,89290	4,422	0,004
Concentração	-0,5680	1,70271	-0,334	0,750
temperatura	-0,1234	0,09079	-1,359	0,223
Tempo	-0,1224	0,05171	-2,368	0,056
Concentração*Concentração	-0,1957	0,58200	-0,336	0,748
temperatura*temperatura	0,0007	0,00083	0,786	0,462
Tempo*Tempo	0,0005	0,00037	1,444	0,199
Concentração*temperatura	-0,0060	0,02808	-0,213	0,838
Concentração*Tempo	0,0427	0,01872	2,280	0,063
temperatura*Tempo	0,0014	0,00084	1,638	0,153

S = 0,288669 PRESS = 7,57188
R-Sq = 87,26% R-Sq(pred) = 0,00% R-Sq(adj) = 68,15%

Analysis of Variance for Finos (%)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	3,42480	3,42480	0,380533	4,57	0,039
Linear	3	2,21347	0,50806	0,169352	2,03	0,211
Concentração	1	1,25203	0,00927	0,009272	0,11	0,750
temperatura	1	0,00171	0,15396	0,153959	1,85	0,223
Tempo	1	0,95973	0,46714	0,467143	5,61	0,056
Square	3	0,20392	0,20576	0,068588	0,82	0,527
Concentração*Concentração	1	0,01067	0,00942	0,009418	0,11	0,748
temperatura*temperatura	1	0,01696	0,05142	0,051424	0,62	0,462
Tempo*Tempo	1	0,17629	0,17381	0,173806	2,09	0,199
Interaction	3	1,00741	1,00741	0,335803	4,03	0,069
Concentração*temperatura	1	0,01457	0,00379	0,003791	0,05	0,838
Concentração*Tempo	1	0,76929	0,43309	0,433088	5,20	0,063
temperatura*Tempo	1	0,22355	0,22355	0,223548	2,68	0,153
Residual Error	6	0,49998	0,49998	0,083330		
Lack-of-Fit	3	0,45810	0,45810	0,152701	10,94	0,040
Pure Error	3	0,04187	0,04187	0,013958		
Total	15	3,92478				

Anexo II – Fotos de MEV não incluídas no texto

Fig. XX: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Fibra seca não classificada refinada a 200 kWh/t sem tratamento enzimático

Fig. XX: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Fibra seca classificada refinada a 133 kWh/t sem tratamento enzimático

Fig. XX: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Fibra seca classificada refinada a 200 kWh/t sem tratamento enzimático

Fig. XX: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) experimento 9 DOE

Fig. XX: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) experimento 2 DOE

Anexo III – Descritivo das análises realizadas, baseado nas normas citadas no texto

1 - Scott Bond Test (Ref: TAPPI T833)

- a) Passar a fita adesiva dupla face sobre as peças de aço localizadas na plataforma de fixação de forma que fique uma parte para ser utilizada posteriormente sobre a amostra;
- b) Retirar a proteção superior da fita, possibilitando que uma das faces fique visível;
- c) Colar a amostra sobre a fita na plataforma;
- d) Colocar a trava localizada a direita da plataforma, sobre a fita;
- e) Passar a fita sobre a amostra fazendo com que a mesma fique no centro;
- f) Cortar o excesso de fita nas laterais das peças de aço;
- g) Colocar o suporte com as peças de alumínio sobre a amostra;
- h) Fixá-lo através dos parafusos laterais;
- i) Prensar com a alavanca localizada à direita durante 60 segundos, retornando-a em seguida;
- j) Soltar os parafusos laterais;
- k) Tirar o suporte;
- l) Cortar a fita entre as peças de alumínio de forma que os mesmos fiquem separadas;
- m) Colocar a peça sobre a plataforma superior do aparelho com a cavidade para a direita de forma que a cavidade fique no parafuso fixador;
- n) Fixar através do parafuso fixador;
- o) Soltar o pêndulo através da trava localizado sobre o pêndulo fazendo com que o mesmo atinja a peça e a mesma se desprenda, retornando o pêndulo em sua posição original;

2 – Permeância ao ar Gurley (TAPPI T460)

- a) Cortar um corpo de prova com no mínimo 50 x 50 mm;
- b) Levantar o cilindro interno e apoiá-lo no suporte do cilindro externo;
- c) Fixar o braço da alavanca colocando a manivela na posição vertical, liberando espaço para o corpo de prova;
- d) Colocar o corpo de prova entre os discos de fixação;
- e) Baixar a manivela da alavanca, levando-a para trás;
- f) Escolher o volume de ar desejado e alinhar a marca na borda superior do cilindro externo à marcação correspondente do volume escolhido;
- g) Ligar o cronômetro e zerá-lo;
- h) Soltar a trava do cilindro externo, segurando o cilindro interno e baixá-lo lentamente;
- i) Quando o cronômetro parar, retornar manivela do braço de alavanca para posição vertical;
- j) Levantar cilindro interno e apoiá-lo no suporte;
- k) Anotar tempo gasto.

3 – Ensaio WRV – *Water Retention Value* (ISO 23718:2007)

a) Execução da análise

Filtrar a amostra diretamente no copo de WRV, empregando vácuo. Recircular a primeira porção do filtrado, aproximadamente 200 mL.

Parar a sucção/filtração quando não houver mais água na superfície da pastilha de polpa. Ajustar a polpa no copo de WRV, empregando bastão de teflon, de forma a evitar a formação de canais preferenciais. O teor de massa seca deverá estar entre 5 e 15 %.

Para amostras provenientes de moagem em PFI, item 7.2.2 e refino na planta piloto, item 7.2.3, transferir amostra contida no béquero para o copo de WRV e com bastão de teflon ajustar a polpa de forma a evitar a formação de canais preferenciais. O teor de massa seca deverá estar entre 5 e 15 %.

Transferir o copo de WRV para a centrífuga, operando conforme manual de operação, programá-la para 3000 ± 50 g (força gravitacional) por 30 minutos $\pm$ 30 segundos.

Imediatamente após a parada da centrífuga, retirar o copo, transferir a pastilha usando uma pinça de aço inox, para um pesa filtro previamente tarado, em balança com aproximação de 1 mg. Anotar o peso da pastilha, como m1.

Colocar em estufa com temperatura entre 105 ± 2 °C, até peso constante.

Retirar da estufa, esfriar em dessecador e pesar. Anotar o peso seco da pastilha, como m2.

Após finalizar a análise, remover as telas dos copos de WRV, lavar retirando todo resíduo de polpa, cuidando para manter sempre o mesmo conjunto para garantir o balanceamento na centrífuga. Colocar para secar em estufa para evitar corrosão das telas. Retirar da estufa, remontar cada conjunto e guardar.

Realizar a análise o mais rapidamente possível. Caso não seja possível realizar a análise tão logo a amostra chegue no laboratório, este tempo deve ser relatado no laudo ou relatório de análise, pois este tempo de espera causa diferenças significativas nos resultados.

Os copos de WRV com as telas devem ter o mesmo peso, bem como, o conjunto copo WRV mais amostras, também devem possuir o mesmo peso, para evitar danos a centrífuga.

Nota: A temperatura de trabalho da centrífuga durante o teste pode influenciar nos resultados, por isto a mesma deve ser mantida entre 23 ± 3 °C. Caso a centrífuga não tenha esta condição e se houver varias amostras para serem centrifugadas, deve-se esperar um tempo entre uma centrifugação e outra para que haja o resfriamento da centrífuga.

b) Cálculos

Calcular o valor de WRV, em gramas por grama, usando a expressão:

$$WRV = \frac{m1}{m2} - 1$$

Onde:

m1 = Massa do ensaio centrifugado úmido, em gramas.

m2 = Massa do ensaio seca, em gramas.

4 – Resistência à Tração (TAPPI T494)

- a) A partir de uma amostra de papel ou cartão sem fichas, furos, dobras ou sujeira, cortar três corpos de prova de 15mm de largura e aproximadamente 150mm de comprimento de cada direção (longitudinal e transversal) do papel não revestido ou cartao, utilizando-se cortador Strip Punch, ou, guilhotina.
- b) Digitar o valor da gramatura nominal da amostra a ser ensaiada;
- c) Colocar o corpo de prova, preparado na posição horizontal, sob os dois sensores localizados na parte frontal do equipamento. O corpo de prova estará na posição correta quando duas luzes verdes localizadas nos sensores se acenderem;
- d) Quando o corpo de prova se rompe, aparecem os resultados no display. Se os valores estiverem corretos, teclar **“Yes”**, **PEI** anotar o resultado. Para desprezar a medida realizada, teclar **“No”**. (**Não**);

5 – Viscosidade da polpa celulósica (TAPPI T230)

5.1 - Preparação da Amostra:

- a) Lavar as amostras e retirar “palitos” (se necessário) da polpa e formar folha de acordo com a IT.01.00155 – Determinação de pintas e palitos, item 7.1 – Formação da folha;
- b) Determinar a consistência da amostra de acordo com a IT.01.00052 - Licor/Lama/Polpa/Papel/PM - Determinação de Consistência / Umidade;
- c) A partir da consistência obtida, determinar a **massa seca** a ser utilizada para o teste:

$$M = 0,250 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$$

- d) Transferir a amostra calculada para um frasco de dissolução e adicionar exatamente **25 ml** de água destilada, com o auxílio de uma pipeta volumétrica;
- e) Adicionar 10 peças de cobre, tampar o frasco e agitar a amostra durante 5 minutos, com o auxílio da mesa horizontal;
- f) Adicionar exatamente **25 ml** da solução de Etilenodiamina Cúprica **0,5 M**, com o auxílio de uma pipeta volumétrica ou dispensete;
- g) Expulsar o ar, tampar o frasco, e agitar a amostra durante **15** minutos, em uma oscilação não inferior a 270.

5.2 - Determinação da Viscosidade:

- a) Retirar uma alíquota de 10 ml da amostra do frasco de dissolução, com o auxílio de uma pipeta volumétrica e transferir para o bulbo de estocagem do viscosímetro;
- b) Imergir o viscosímetro em um banho a uma temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, com precisão de uma casa decimal, por um período mínimo de 5 minutos, para atingir o equilíbrio térmico;
- c) Succionar uma alíquota para o bulbo de leitura acima da marca superior e determinar o tempo de fluxo por escoamento do líquido necessário para o menisco passar entre as duas marcas.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Roberto Publio, nascido em Ribeirão Preto em 15 de outubro de 1985. Coursou Bacharelado em Química na Universidade de São Paulo, onde iniciou suas atividades com enzimas durante a iniciação científica.

Ingressou no programa de Estágio da Suzano Papel e Celulose em 2007, onde começou sua carreira no seguimento de papel e celulose. Após o término do curso de graduação e a contratação pela empresa onde estagiara, o autor enxergou uma oportunidade de agregar três temas de grande interesse em um só projeto: enzimas, fibras e sustentabilidade.

Iniciou o mestrado em Engenharia Química na Escola Politécnica da Universidade de São Paulo em 2009, aplicando celulases no refino de fibras para reduzir o consumo de energia neste processo. No mesmo período, cursou Especialização em Gestão de Negócios pela Fundação Dom Cabral, com o objetivo de aprimorar seu desempenho no cargo de gestão que acabara de assumir na empresa.

Hoje, atua como Supervisor de Produção na Suzano Papel e Celulose, é responsável pela produção de papelcartão de uma das unidades fabris e busca aplicar os conceitos técnicos, metodológicos e de gestão absorvidos durante estes anos de estudo para prosperar dentro do seguimento e contribuir com o desenvolvimento das pessoas ao seu redor.