

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
PROGRAMA DE MAGÍSTER  
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**



**“Biopulpaje Kraft de *Drimys winteri* (Canelo) por *Ganoderma australe*”**



**HERIBERTO FRANCO ÁVILA**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE  
MAGÍSTER EN CIENCIAS FORESTALES  
QUÍMICA Y TECNOLOGÍA DE LA MADERA**

**CONCEPCIÓN-CHILE  
2005**

**Biopulpaje Kraft de *Drimys winteri* (Canelo) por *Ganoderma australe***

**Comisión Evaluadora:**

Juanita Freer Calderón  
Química, Dra.

---

Jaime P. Rodríguez Gutiérrez  
Químico, Dr.

---

Silvio Urizar Díaz  
Químico, Dr.



---

**Directora de Postgrado:**

Darcy Ríos Leal  
Bióloga, Dra.

---

**Decano Facultad de Ciencias Forestales:**

Miguel Espinosa B.  
Ingeniero Forestal, Dr.

---



## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia por enseñarme el valor del trabajo honesto y por su respaldo incondicional.

A la Dra. Juanita Freer y al Dr. Jaime Baeza, por su orientación, colaboración y apoyo desinteresado.

A la profesora Aracelly Vega R., directora del Laboratorio de Recursos Naturales de la Universidad Autónoma de Chiriquí, por sus consejos y ayuda recibida.

A los profesores Dr. Jaime Rodríguez, Dr. Regis Mendonça y al Dr. José Ruíz por su excelente disposición a ayudarme en el desarrollo de este trabajo.

A los profesores Dra. Darcy Ríos L. y Dr. Miguel Espinosa por su colaboración y orientación en asuntos de carácter académico y de mi estadía en Chile.

Al Programa Alfa de la Unión Europea, al Proyecto FONDECYT N° 1020161 y a la Escuela de Graduados por la beca otorgada, que hizo posible la realización de mis estudios en Chile.

A mis amigos en Panamá y Chile: Ritzela, Édil, Alexis, Elsie, Mario, Mariel, Renán, Alexander, Freddy, Leonel, Onel, Rodrigo, Angela, Francisca, por sus muestras de amistad sincera.

A todo el personal de asistencia técnica del laboratorio de Recursos Renovables y a la Sra. María Eugenia Etcheverry por su amabilidad y buena disposición.

A todos los compañeros del laboratorio, en especial a: Glenda, Pamela, Andrea, Juan Pedro, David, Rómulo y Marta, por su compañerismo, amabilidad y respaldo.

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>2. ANTECEDENTES GENERALES</b> .....	<b>4</b>
2.1 Composición química de la madera.....	4
2.1.1 Celulosa.....	5
2.1.2 Hemicelulosas.....	5
2.1.3 Lignina.....	6
2.2 Aptitud pulpable del <i>Drimys winteri</i> J.R. et G. Forster.....	7
2.3 Degradación de madera por hongos de pudrición blanca.....	10
2.3.1 Degradación de lignina por hongos de pudrición blanca.....	12
2.3.2 Aspectos generales de la utilización de los componentes de la madera por hongos de pudrición blanca.....	13
2.3.3 Biodegradación de madera por <i>G. australe</i> .....	15
2.4 Biopulpaje.....	17
2.4.1 Biopulpaje kraft.....	20
2.5 Espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier.....	23
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>26</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>26</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>26</b>
<b>3.0 METODOLOGÍA</b> .....	<b>27</b>
3.1 Astillas de madera.....	27
3.2 Hongo.....	27
3.2.1 Preparación del inculo.....	28
3.3 Caracterización de las muestras.....	28

3.3.1	Análisis químico de las muestras.....	29
3.3.1.1	Hidrólisis ácida.....	29
3.3.1.2	Lignina insoluble.....	30
3.3.1.3	Lignina soluble.....	30
3.3.1.4	Determinación de azúcares por HPLC.....	30
3.4	Análisis de las muestras por espectroscopía infrarrojo.....	31
3.4.1	Preparación y tratamiento de las muestras para IR.....	31
3.4.2	Registro y tratamiento de los espectros.....	31
3.4.3	Calibración y validación.....	32
3.4.4	Predicción.....	32
3.5	Microscopía electrónica de barrido.....	32
3.6	Pulpaje kraft.....	32
3.7	Número kappa.....	33
3.8	Ácidos hexenurónicos.....	33
3.9	Propiedades físicas-mecánicas y ópticas en pulpa.....	34
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>35</b>
4.1	Caracterización química de <i>D. winteri</i> .....	35
4.2	Biotratamiento.....	35
4.2.1	Pérdida de masa y de componentes.....	35
4.2.2	Microscopía electrónica de barrido de madera de <i>D. winteri</i> .....	38
4.3	Espectrometría infrarrojo en el análisis de madera de <i>D. winteri</i> .....	43
4.4	Pulpaje biokraft de <i>D. winteri</i> biodegradado por <i>G. australe</i> .....	46
4.4.1	Composición química de las muestras para pulpaje biokraft .....	46
4.4.2	Composición química de pulpa kraft.....	47
4.4.3	Rendimiento pulpable de <i>D. winteri</i> .....	49
4.4.4	Número kappa.....	52
4.4.5	Ácidos hexenurónicos.....	53
4.4.6	Propiedades físicas-mecánicas y ópticas de las pulpas.....	55
4.4.7	Drenabilidad.....	56
4.4.8	Índice de rasgado.....	57
4.4.9	Índice de tensión.....	58

4.4.10 Índice de explosión.....	60
4.4.11 Blancura (ISO).....	61
4.4.12 Comparación de las propiedades físicas-mecánicas de Pulpas kraft de <i>D. winteri</i> a diferentes °SR de drenabilidad.....	62
<b>5 CONCLUSIONES.....</b>	<b>64</b>
<b>6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>74</b>
<b>ANEXO II.....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO III.....</b>	<b>78</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Condiciones de pulpaje kraft e índice kappa para canelo.....	9
<b>Tabla 2.</b> Propiedades físicomecánicas a una drenabilidad de 30°SR de pulpa kraft de maderas chilenas.....	10
<b>Tabla 3.</b> Pérdida de masa y componentes de <i>P. radiata</i> degradadas por <i>G. australe</i> y <i>C. subvermispora</i> .....	17
<b>Tabla 4.</b> Costos totales de manufactura de pulpa convencional y biopulpa.....	19
<b>Tabla 5.</b> Propiedades de pulpa kraft de eucalyptus con disminución de 25% en el tiempo de cocción.....	22
<b>Tabla 6.</b> Propiedades físicomecánicas de la pulpas kraft de eucalipto.....	23
<b>Tabla 7.</b> Composición química de la madera de <i>D. winteri</i> , <i>P. radiata</i> y <i>E. globulus</i> .....	35
<b>Tabla 8.</b> Pérdida de masa y componentes de la madera de <i>D. winteri</i> biodegradada por <i>G. australe</i> .....	36
<b>Tabla 9.</b> Composición química de la madera de <i>D. winteri</i> para pulpaje kraft.....	46
<b>Tabla 10.</b> Composición química de pulpa kraft de <i>D. winteri</i> , biodegradada por <i>G. australe</i> .....	48
<b>Tabla 11.</b> Rendimiento total, rendimiento clasificado y rechazos de pulpa kraft de <i>D. winteri</i> .....	51
<b>Tabla 12.</b> Propiedades físicomecánicas y ópticas de pulpas kraft preparadas a un factor H de 585 h <sup>-1</sup> con astillas de <i>D winteri</i> sin degradar y biodegradadas.....	62
<b>Tabla 13.</b> Factor H de las muestras para pulpaje kraft.....	77
<b>Tabla 14.</b> Número kappa, ácidos hexenurónicos y rendimiento clasificado de pulpa kraft de <i>D. winteri</i> biodegradada por <i>G.australe</i> .....	77
<b>Tabla 15.</b> Propiedades físicomecánicas de pulpas kraft de <i>D. winteri</i> biodegradadas por <i>G. australe</i> .....	79
<b>Tabla 16.</b> Blancura (%) de las pulpas kraft.....	80



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema general de la composición química de la madera.....	4
<b>Figura 2.</b> Esquema general de análisis de química húmeda de las muestras de madera de <i>D. winteri</i> .....	29
<b>Figura 3.</b> Pérdida de lignina, glucano, poliosas y masa en madera de <i>D. winteri</i> biodegradada por <i>G. australe</i> .....	38
<b>Figura 4.</b> Microscopía electrónica de madera de <i>D. winteri</i> sin biodegradar.....	39
<b>Figura 5.</b> Microscopía electrónica de madera de <i>D. winteri</i> biodegradada 5 días por <i>G. australe</i> .....	39
<b>Figura 6.</b> Microscopía electrónica de madera de <i>D. winteri</i> biodegradada 15 días por <i>G. australe</i> .....	40
<b>Figura 7.</b> Plano transversal de madera de <i>D. winteri</i> degradada 15 días por <i>G. australe</i> .....	40
<b>Figura 8.</b> Microscopía electrónica de la sección transversal de madera degradada 30 días por <i>G. australe</i> .....	41
<b>Figura 9.</b> Microscopía electrónica de <i>D. winteri</i> degradada 45 Días por <i>G. australe</i> .....	41
<b>Figura 10.</b> Plano transversal de microscopía electrónica de madera de <i>D. winteri</i> biodegradada 45 días.....	42
<b>Figura 11.</b> Espectro DRIFT-NIR de muestra de <i>D. winteri</i> sin degradar y degradada 55 días por <i>G. australe</i> .....	43
<b>Figura 12.</b> Espectros NIR tratados con la segunda derivada de muestras de <i>D. winteri</i> sin degradar y biodegradada 55 días por <i>G. australe</i> .....	44
<b>Figura 13.</b> Gráfico de componentes principales 1 y 2 de los espectros de muestras de <i>D. winteri</i> sin biodegradación y biodegradadas por <i>G. australe</i> .....	45
<b>Figura 14.</b> Número kappa en función del factor-H para pulpas de madera de <i>D. winteri</i> biodegradada por <i>G. australe</i> y sin biodegradar.....	52
<b>Figura 15.</b> Relación entre el factor H y el número kappa para la pulpa de <i>D. winteri</i> sin biodegradar y degradada 15 días por <i>G. australe</i> .....	54
<b>Figura 16.</b> Drenabilidad en función del número de revoluciones PFI para las pulpas de <i>D. winteri</i> .....	56

<b>Figura 17.</b> Índice de rasgado en función de la drenabilidad para las pulpas de <i>D. winteri</i> .....	57
<b>Figura 18.</b> Índice de tensión en función de la drenabilidad para las pulpas.....	58
<b>Figura 19.</b> Índice de rasgado en función del índice de tensión para pulpas kraft de <i>D. winteri</i> .....	59
<b>Figura 20.</b> Índice de explosión en función de la drenabilidad para las pulpas de <i>D. winteri</i> .....	60
<b>Figura 21.</b> Blancura (%ISO) en función de la drenabilidad para las pulpas de <i>D. winteri</i> .....	61
<b>Figura 22.</b> Astillas de <i>D. winteri</i> : sin biodegradar.....	75
<b>Figura 23.</b> Astillas de <i>D. winteri</i> biodegradadas 15 días por <i>G. australe</i> .....	75
<b>Figura 23.</b> Astillas de <i>D. winteri</i> biodegradadas 45 días por <i>G. australe</i> .....	75



## RESUMEN

El canelo (*Drymis winteri*) es una especie nativa chilena, que desde el punto de vista anatómico se clasifica como una especie de transición entre angiosperma y gimnosperma. Su madera posee vasos, convirtiéndose en una excepción dentro de la clase de las dicotiledóneas. La longitud de sus fibras varía entre 1,50 a 4,3 mm, la densidad de su madera es bastante homogénea en todo el árbol y comprende valores entre 0,38 a 0,50 g/cm<sup>3</sup>, una productividad promedio de 14 m<sup>3</sup>/ha/año, la longitud de sus traqueidas es muy similar a la del *Pinus radiata*, por lo que se ha sugerido su utilización como madera apta para la obtención de pulpa. En esta investigación se propuso aplicar un pretratamiento a las astillas de *D. winteri* con el hongo de pudrición blanca *Ganoderma australe*, para la obtención de pulpa a través del proceso kraft, como una alternativa a la producción de pulpa de especies comerciales. Astillas biotratadas por *G. australe* en un proceso de pretratamiento y un control no biotratado fueron sometidos a pulpage kraft. Las astillas biodegradadas presentaron pérdida de masa de 2,94±0,04%, pérdidas de lignina (4,1±0,4), glucano (2±1), poliosas (0,7±0,4) y extraíbles (50±6%). El análisis por microscopía infrarrojo indica que no se presentan agrupaciones distintas de muestras, en el período de 0 a 55 días de biodegradación, por lo que no se presentó una buena correlación entre la variación espectral y los componentes de la madera en estudio. El rendimiento clasificado de pulpa kraft para todas las muestras presentaron valores similares que fluctúan entre 39 y 47%. El número kappa para las pulpas kraft de madera biodegradada 15 días, presentó una disminución de 19%, y para 30 y 45 días de biodegradación, la pulpa presentó una disminución de 25% con relación al número kappa (41,5) de la pulpa de la muestra sin biodegradar. El contenido de ácidos hexenurónicos en las pulpas de astillas biodegradadas y sin biodegradar fue de 50-60 μmol/g de pulpa. Las propiedades físico-mecánicas evaluadas: índice de tensión, índice de rasgado, índice de explosión y drenabilidad, no presentaron diferencias importantes entre la pulpa control y la pulpa de madera biodegradada. En conclusión, el biotratamiento aplicado a las astillas de *D. winteri*, produjo cambios en la estructura de la madera, en un corto período de tiempo (15 días), que favorecen la obtención de pulpa kraft con menor número kappa y con propiedades físico-mecánicas similares a la de la pulpa control.

## ABSTRACT

Canelo (*Drymis winteri*) is a Chilean native tree that as species anatomically is classified as a transition between angiospermae and gymnospermae. The wood possesses vessels, making it exception within the class of the dicotyledoneous. The fibers length is between 1.50 to 4.3 mm, the density of its wood is homogeneous in the whole tree and their values are between 0.38 to 0.50 g/cm<sup>3</sup>, productivity average of 14m<sup>3</sup>/ha/yr, it presents cells of the xileme and tracheids very similar to the *Pinus radiata*, indicating a potential use as a source for pulping. In this research it was proposed to apply a pretreatment of the wood chips of *D. winteri* with the white rot fungus *Ganoderma australe* to obtain pulp by the kraft process, like an alternative to the pulp production of commercial species. The biodegraded wood chips presented loses of mass (2.94±0.04), lignin (4.1±0.4), glucan (2±1), polyoses (0.7±0.4) and extractives (50±6%). The analysis for infrared microscopy indicates that are no different samples groupings in the period of 0 to 55 days of biodegradation, presenting a non good correlation between the spectral variation and the compounds of the wood in study. The classified yield of kraft pulp for all the samples presented similar values that fluctuates between 39 and 47%. The physical-mechanical properties evaluated: tensile index, tear index, burst index and drenability did not presented important differences between the control pulp and the pulp from biodegraded wood chips. The kappa number for the kraft pulps of chips biodegraded by 15 days present a decrease of 19%, for 30 and 45 days of biodegradation, the pulp presents a decrease of 25% in relation to the kappa number (41,5) of the pulp of the control sample. The content of hexenuronic acids in the pulps was of 50-60 mol/g of pulp. In conclusion, the biotreatment applied to the chips of *D. winteri*, produced changes in the structure of the wood, in a short period of time 15 days that favor the kraft pulping with less kappa number and with physical-mechanical properties similar to the control pulp.

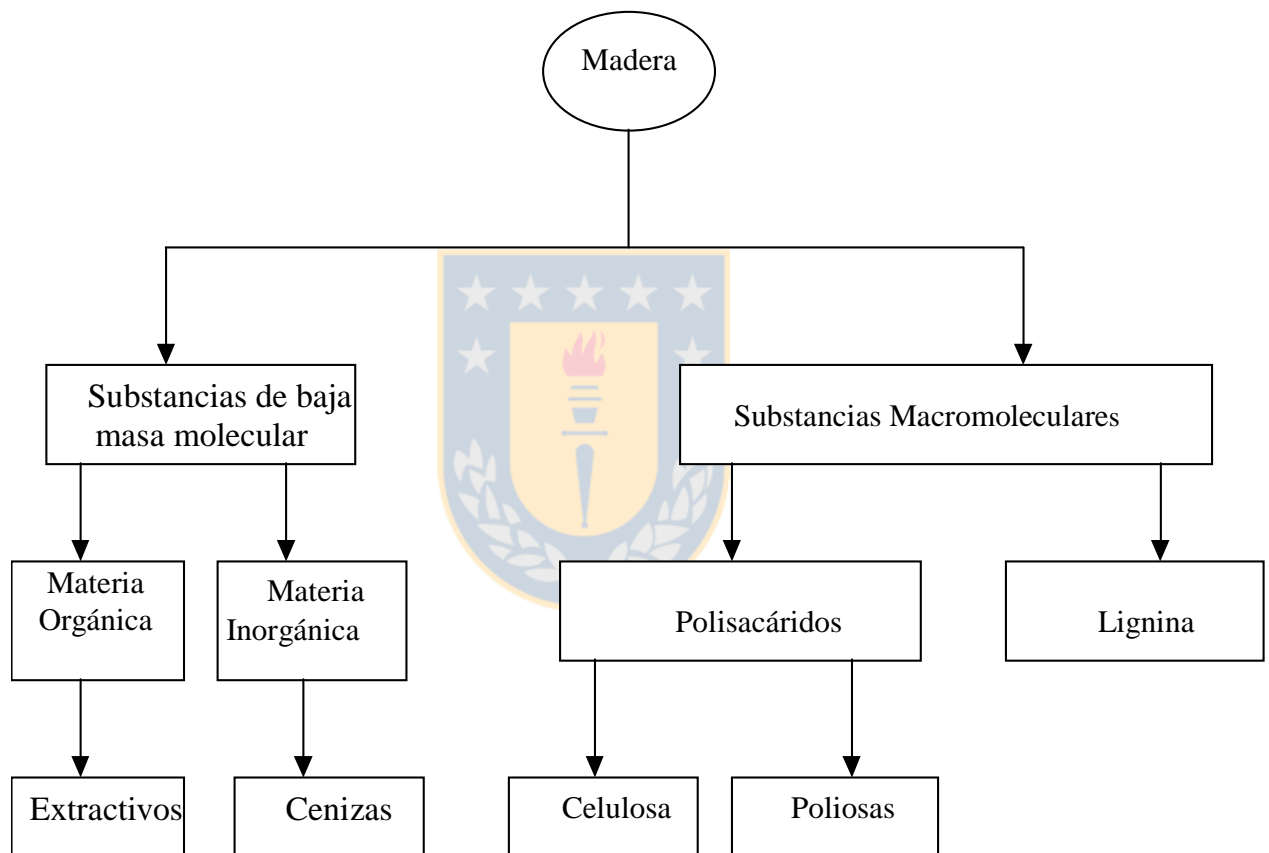
## 1. INTRODUCCIÓN

En Chile el canelo (*Drymis winteri* J.R. et G. Forster) es una de las especies nativas predominantes y de alto interés comercial. Se distribuye ampliamente en el territorio chileno, ocupando sus renovales una superficie de 266,303 ha; se concentra en la Región de Los Lagos y alcanza su mejor desarrollo en la zona de Chiloé (CONAF, 1997). La superficie de ocurrencia del canelo corresponde a 2,255,664 ha, según un mapa de la distribución de esta especie, hecho en base a los antecedentes de Donoso (1983), Rodríguez y col. (1983) y Millano (1984). Entre las características que lo convierten en una especie de interés para la industria de la madera, se destaca su amplia distribución geográfica, por lo que muestra variaciones significativas de sus características morfológicas y ecofisiológicas. En el norte se presenta como un arbusto de 3 a 5 m de altura, mientras que en la zona de Chiloé, alcanza hasta los 30 m de altura. Su área de distribución abarca seis climas principales: marino fresco, marino húmedo, patagónico, mediterráneo frío, mediterráneo marino y polar alpino tundra. El rango de tolerancia térmica es de  $-9.3^{\circ}$  a  $9.4^{\circ}\text{C}$ , para la mínima y la temperatura de tolerancia máxima es de  $31.3^{\circ}\text{C}$ . Otra ventaja del canelo es que los suelos en donde crece se caracterizan por ser generalmente poco profundos y con problemas de drenaje, con pH ácido, con elevados contenidos de materia orgánica y nitrógeno total (Experiencia Silvicultural del Bosque Nativo de Chile, 1998). Cuando el canelo se encuentra en estado de renoval, sus usos se deben orientar de preferencia a la obtención de productos tales como tableros de partículas, tableros de fibras, pulpa y producción de energía. Para el pulpaje kraft de canelo, los resultados obtenidos, en cuanto a la lignina residual, dado por el índice kappa, es bajo comparado con los obtenidos a partir de madera de *P. radiata* en condiciones similares. Las pulpas obtenidas a partir de canelo poseen buenas características de resistencia y éstas califican al canelo como una especie apta para ser usada en la fabricación de papeles (Rodríguez, 1998).

## 2 ANTECEDENTES GENERALES

### 2.1 Composición química de la madera

La madera está constituida por componentes macromoleculares: lignina, celulosa y poliosas, además de los componentes de baja masa molecular (extractivos y sustancias minerales), los cuales están generalmente relacionados en su tipo y contenido, de acuerdo a la especie de madera (Sjostrom, 1993). En la figura 1 se muestra un esquema de los componentes químicos de la madera.



**Figura 1.** Esquema general de la composición química de la madera.

### 2.1.1 Celulosa

La celulosa es el mayor componente de la madera, constituyendo aproximadamente el 50 % de la masa de las maderas duras y blandas. Se puede definir como un polímero lineal de alta masa molecular, constituido por unidades de  $\beta$ -D-glucopiranosas, unidas a través de enlaces 1 $\rightarrow$ 4 glicosídicos. Las moléculas de celulosa tienen fuerte tendencia a formar enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares. Grupos de moléculas de celulosa son ordenadas juntas en la forma de microfibrillas, en la cual existen regiones altamente ordenadas (cristalinas), alternadas con regiones menos ordenadas (amorfas). Como consecuencia de la estructura fibrosa y de los fuertes enlaces de hidrógeno, la celulosa tiene una alta fuerza de cohesión y es insoluble en muchos solventes. Los grupos OH de la cadena de celulosa tienen diferente reactividad, el hemiacetal cíclico de la glucosa se encuentra entre el C1 (grupo aldehído que tiene propiedades reductoras) y el grupo OH en el carbono 5 que no exhibe propiedades reductoras.

La masa molecular de la celulosa varía entre 50,000 y 2,5 millones, dependiendo del origen de la muestra. Como la celulosa es un polímero lineal con unidades homogéneas y tipo de enlace definido, el tamaño de la cadena de celulosa es usualmente especificado como grado de polimerización (DP):

DP= masa molecular de la celulosa/masa molecular de una unidad de anhidro glucosa

Un tratamiento químico intensivo como el pulpaje, blanqueo y transformaciones, decrece mucho el valor del DP.

### 2.1.2 Hemicelulosas

Las hemicelulosas son un grupo de polisacáridos heterogéneos, los cuales son formados a través de rutas biosintéticas, diferentes a las de la celulosa. Las hemicelulosas son relativamente fáciles de hidrolizar por ácidos a sus componentes monoméricos consistiendo de D-glucosa, D-manosa, D-galactosa, D-xilosa, L-arabinosa y pequeñas cantidades de L-ramnosa en adición a ácidos glucorónicos (ácido 4-O-metil D-glucorónico y ácido D-galacturónico). El grado de polimerización de las hemicelulosas es de aproximadamente 200. Las hemicelulosas se encuentran en la madera en cantidades usualmente entre 20 y 30 % en

base seca. Las maderas duras y las maderas blandas difieren en la composición y estructura de las hemicelulosas, en el caso de las hemicelulosas de maderas blandas, sus principales componentes son las galactoglucomananos (aprox. 20%), arabinoglucuronoxilanos (5-10%) y arabinogalactanos (1-3%). Las maderas duras, dentro de las cuales se incluye al canelo, están compuestas por los siguientes tipos de hemicelulosas:

- a- Glucuronoxilanos: el mayor componente de estas hemicelulosas es el O-acetil-4-O-metilglucurono- $\beta$ -D-xilano, la cadena principal consiste de unidades  $\beta$ -D-xilopiranosas, unidas por enlaces  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4. Dependiendo de la especie de madera dura, el contenido de xilanos varía entre 15 y 30 % de la masa seca de madera. Algunos de los residuos de xilosa contienen grupos acetilos en C-2 y C-3 de la unidad de xilosa. Adicionalmente la unidad de xilosa contiene residuos de ácido 4-O-metil- $\alpha$ -D-glucurónico, unidos por enlaces 1 $\rightarrow$ 2, siendo la razón de un ácido urónico por cada 10 residuos de xilosa. Los enlaces xilosídicos entre las unidades de xilosa son fácilmente hidrolizables, pero los enlaces entre la xilosa y los grupos de ácido urónico son muy resistentes.
- b- Glucomananos: el contenido de glucomananos en madera dura es aproximadamente entre 2-5%; son compuestas de unidades de  $\beta$ -D-manopiranosas y  $\beta$ -D-glucopiranosas, unidas por enlaces  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4. La razón glucosa: manosa en maderas duras varía entre 1:2 y 1:1, dependiendo de la especie de madera. Los enlaces manosídicos entre las unidades de manosa son más rápidamente hidrolizables por ácidos que los correspondientes enlaces glucosídicos, igualmente los glucomananos son fácilmente depolimerizados bajo condiciones ácidas.

### **2.1.3 Lignina**

La lignina (del latín “lignum”, leño) es después de la celulosa, el principal componente de la madera. Las ligninas son insolubles en agua, en ácidos minerales fuertes y en hidrocarburos. La solubilidad y reprecipitación de la lignina en ácido sulfúrico al 72% es la base de la determinación cuantitativa, denominada lignina klason o lignina insoluble en ácido. En la biosíntesis de la lignina de maderas, participan tres precursores: el alcohol coniferílico, alcohol sinapílico y alcohol p-cumarílico. Estos precursores son generados a partir de la D-glucosa a través de reacciones catalizadas por enzimas. Estos precursores contienen grupos hidroxilos



fenólicos, grupos metoxilos y grupos carbonilos. Basado en la información obtenida de los estudios de biosíntesis como también de los análisis de varios tipos de uniones y grupos funcionales, algunos modelos han sido contruidos. Se han reportado enlaces entre la lignina y los constituyentes de las hemicelulosas, estos enlaces son del tipo éster y éter. De acuerdo a los elementos estructurales la lignina puede ser clasificada en varias clases: lignina guaiacilo, que se encuentra principalmente en maderas blandas y que es un producto de la polimerización del alcohol coniferílico, la lignina guaiacilo/siringilo, que es común de las maderas duras, es un copolímero del alcohol coniferílico y alcohol sinapílico, la razón de estas unidades en la madera es de 1:2. Los términos lignina siringilo y lignina p-hidroxifenilo, son a veces utilizadas para denotar los respectivos elementos estructurales, incluso si las ligninas naturales no son exclusivamente compuestas por estas unidades. Como resultado de estudios para la identificación de productos de degradación de la lignina y de la síntesis de compuestos modelos, se ha llegado a la conclusión que las unidades fenilpropano de la lignina, están unidas por enlaces C-O-C (éter) y enlaces C-C, siendo predominantes los enlaces tipo éter. Las uniones más frecuentes encontradas en estos estudios estructurales de ligninas son:  $\beta$ -O-4,  $\alpha$ -O-4,  $\beta$ -5, 5-5, 4-O-5,  $\beta$ -1 y  $\beta$ - $\beta$ . Las unidades fenilpropano en ligninas de maderas blandas son del tipo guaiacilo, mientras que en lignina de maderas duras, adicionalmente contiene unidades siringilo (Sjostrom, 1993).

## 2.2 Aptitud pulpable del *Drimys winteri* J.R. et G. Forster

El canelo posee una estructura anatómica que lo coloca dentro del ciclo de la evolución vegetal, como una de las primeras especies de las angiospermas. Sus fibras son de una longitud comparable al de las mejores especies de coníferas empleadas para pulpa, características que hace a esta madera apta para la industria de celulosa y papel (INFORCONAF, 1997). Su condición de transición entre conífera y latifoliada se ratifica en los análisis químicos, porque su composición celular presenta características propias en algunos casos de latifoliadas (contenido de azúcares) y en otros de coníferas (contenido de lignina). Rojas y col., 1975, señalan que el contenido de lignina en madera de canelo (27,8%), celulosa (45,1%), pentosanos (17,4%) y extraíbles (1,3%), son comparables a los valores obtenidos en *P. radiata*, por lo tanto concluyen que los requerimientos y condiciones para la cocción,

consumo de reactivos y blanqueo del canelo en la fabricación de pulpas serán similares a los de *P. radiata*; en lo que respecta a la densidad de la madera de canelo, indican que no es necesario hacer una selección del material para el pulpaje de acuerdo a su ubicación en el árbol, porque la densidad de la madera es bastante homogénea a lo largo del árbol. Una característica no favorable para el pulpaje de canelo es su baja densidad (0,38-0,50 g/cm<sup>3</sup>) en comparación con la de *P. radiata* que es de 1,53 g/cm<sup>3</sup> (Barrios, 2004), por lo que no se puede aprovechar al máximo la capacidad volumétrica de los digestores, pero al mismo tiempo la velocidad de difusión de los licores de pulpaje es favorecida por esta característica, y por lo tanto el canelo tiene una excelente penetrabilidad. Los mismos autores señalan que no existen diferencias significativas en las propiedades básicas de esta madera, entre muestras de diferente procedencia (trozo superior o inferior de árboles maduros y de renovales), entonces no es necesaria una preselección del material para la obtención de pulpa aceptable y uniforme. Melo y col., (1976) realizaron pulpaje de maderas nativas de fibra larga y fibra corta, incluida la madera de canelo dentro del grupo de las maderas de fibra larga (2,9 mm), las condiciones del proceso de pulpaje fueron similares a las utilizadas para pulpaje de madera de *P. radiata*: 19% de álcali activo, 28 % de sulfidez, temperatura máxima de 172 °C, 90 minutos de tiempo hasta temperatura máxima, 45 minutos a temperatura máxima y una razón licor/madera de 4/1, obteniendo un rendimiento total de 45,5%, índice kappa de 12,7 y álcali residual de 7,7%, todos estos parámetros expresados en base a la masa seca; la madera de canelo presentó un buen rendimiento y un índice kappa más bajo que el resto de las maderas estudiadas. Rodríguez y col., 1991, realizaron pulpaje de canelo bajo las siguientes condiciones: 18% de álcali activo, 16% de sulfidez, relación licor/madera de 4/1, temperatura de 170°C, tiempo hasta temperatura máxima de 60 minutos, tiempo a temperatura de 60 minutos; obteniendo rendimiento total de 46,5% y 43,2%, índice kappa de 14,6 y 11,2, concentración de álcali residual (g/cm<sup>3</sup>) de 10,3% y 10,7%, para madera secada al aire y para madera saturada en agua durante 5 meses, respectivamente; en relación a las pulpas crudas de canelo estudiadas, ellos señalan que satisfacen los requerimientos exigidos para la fabricación de papeles de impresión, ya que superan los 5,0 Km de longitud de ruptura y 8,83 mNm<sup>2</sup>/g de índice de rasgado. El contenido de lignina tipo Guaiacilo (G) en madera de canelo, reporta valores de 150 y para Siringilo (S) de 374, estos valores se expresan como micromoles de productos recuperados de la tioacidólisis por gramo de madera; la razón S/G para la madera de canelo es

de 2.5, la sumatoria de S+G es de 2,120, expresado como micromoles de productos recuperados de tioacidólisis por gramo de lignina (Agosin y col., 1990). En la Tabla 1 se presentan una recopilación de las condiciones de pulpaje kraft para canelo y el índice kappa obtenido bajo estas condiciones, utilizadas en algunas investigaciones realizadas (Rodríguez, 1998).

**Tabla 1. Condiciones de pulpaje kraft e índice kappa para canelo (Rodríguez, 1998).**

Autor	Sulfidez (% bms)	Álcali (% bms)	Tiempo a T <sub>máx.</sub> (min.)	Tiempo hasta T <sub>máx.</sub> (min)	T <sub>máx.</sub> °C	Razón L/M	Índice Kappa
Sepúlveda	25	17	75	60	160	6/1	20.3
Melo et al.	28	19	45	90	172	4/1	12.7
Urzúa et al.	20	17	45	90	172	6.3/1	15.2
Paz y Melo	25	19	90	60	165	6/1	14.0
Luengo	s.a.	22	50	s.a.	165	s.a.	10.0

Los resultados obtenidos en el proceso de pulpaje kraft de canelo, indican que el índice kappa es bajo comparado con los obtenidos a partir de *P. radiata* en condiciones similares. Los antecedentes mostrados ratifican el potencial del canelo para ser usado en la producción de pulpa kraft, pero se sabe que el canelo posee una fracción de extraíbles insaponificables que pueden causar problemas en el procesamiento químico de la madera, pero este problema no es detectado a escala de laboratorio debido a que la mayoría de los problemas de pitch, causados por este tipo de sustancias químicas, son detectadas durante la evaporación del licor negro o durante la fabricación del papel (Rodríguez, 1998).

En relación a las propiedades físico-mecánicas en la Tabla 2 se presentan los valores obtenidos para pulpa kraft de Canelo (*D. winteri*), Pino radiata (*P. radiata*), Ciprés (*Cupressus torulosa*), Encino (*Quercus palustris*) y Castaño (*Castanea sativa*) y Mañío (*Saxegothaea conspicua*).

**Tabla 2. Propiedades físico-mecánicas a una drenabilidad de 30°SR de pulpa kraft de maderas** (Melo y col\*., 1976; Juacida y col.\*\*., 2002)

Madera	Índice de rasgado (Nm <sup>2</sup> /Kg)	Índice de explosión (mN/Kg)
Canelo*	5,5	9,1
Mañío*	7,5	9,3
Ciprés**	9,3	8,0
Encino**	5,5	9,6
Castaño**	7,0	8,3
Pino radiata*	16	6,8

En comparación con pulpa de maderas introducidas en Chile, el canelo presenta la menor resistencia al rasgado, similar al del encino, pero tiene una resistencia a la explosión mayor que el *P. radiata* y muy similar al de las otras pulpas de maderas introducidas. Una ventaja del canelo es que su pulpa kraft es más fácil de refinar que las maderas de coníferas (Melo y col., 1976).

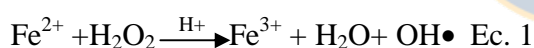
### 2.3 Degradación de madera por hongos de pudrición blanca

Los basidiomicetos son hongos que tienen la capacidad de degradar todos los componentes celulares de la madera, pero degradan la lignina, celulosa y hemicelulosas en distintas proporciones; dependiendo de sí la degradación es selectiva o no selectiva, en diferentes áreas morfológicas de la madera. También la especie de hongo es determinante en la variabilidad de la degradación (Zabel y col., 1992).

La degradación se inicia cuando el hongo coloniza células parenquimáticas radiales, que contienen azúcares libres y otros nutrientes, este arreglo radial facilita el acceso dentro de la

madera y permite la colonización del hongo en el sustrato. El crecimiento de las hifas de los hongos en la madera, en la etapa de colonización, se da longitudinalmente a lo largo de la superficie del lumen. El acceso a las células adyacentes ocurre vía apertura de las punteaduras o por penetración directa a través de la pared celular. En las maderas duras los hongos de pudrición blanca, crecen inicialmente en los vasos y rayos de la madera, en coníferas los rayos de la madera y el parénquima longitudinal, son colonizados primero. Las hifas son más abundantes en las células dañadas por hongos de pudrición blanca que en las dañadas por hongos degradadores de pudrición parda. La degradación progresa a través de la capa secundaria y lamella media, y se llegan a observar huecos entre las paredes celulares adyacentes. Las hifas en las células del lumen degradan progresivamente la lignina del borde del lumen de la pared secundaria hasta la lamella media. Investigaciones usando madera marcada con bromo y microanálisis de rayos X indican que los hongos de pudrición blanca remueven la lignina de la capa secundaria antes que la de la lamella media situada entre las dos células degradadas. La celulosa remanente de la capa secundaria permanece relativamente inalterada. Esta degradación es extensiva a todas las capas celulares, en la cual sólo uno o dos filamentos de las hifas se encuentran en cada célula del lumen (Zabel y col., 1992). Los hongos de pudrición blanca son aptos para fragmentar los componentes poliméricos de la madera y posteriormente metabolizarlos. Son relacionados con una alta degradación y por su naturaleza son los mayores agentes recicladores del carbón de tejidos lignificados, ningún otro organismo ha sido descrito, hasta el momento, que pueda tener la capacidad de mineralizar fácilmente los tejidos lignificados. Estos hongos son aeróbicos y se alimentan de la combustión biológica de la madera y productos similares, usando  $O_2$ , como aceptor terminal de electrones (Zabel y col., 1992). Para realizar la degradación de madera, los hongos utilizan un grupo de enzimas. El sistema enzimático de degradación sin embargo no explica como enzimas como las LiPs, MnPs y lacasas, que son enzimas lignolíticas con tamaños que van desde 40-60 kDa, 50-60 kDa y 60-80 kDa respectivamente (Kirk, y col., 1998), pueden penetrar la pared celular de la madera, cuyos poros no permiten el paso de compuestos mayores que 5700 Da y de ser responsables de algunos modelos de degradación observados, por lo tanto se ha propuesto un sistema enzima-mediador para los hongos pudrición blanca y un sistema no enzimático para los hongos de pudrición parda. El oxalato ( $C_2O_4$ )<sup>2-</sup> ha sido implicado en muchas facetas de los procesos de degradación, incluyendo la solubilización y

subsecuente reducción cíclica del hierro, mediante una reacción dependiente de la lignina. Además es un factor involucrado en el desarrollo de gradientes de pH por los hongos. Este compuesto de baja masa molecular es producido por los hongos de pudrición blanca y parda y en microscopía electrónica se han observado cristales de oxalato de calcio, y se ha sugerido que la gran formación/acumulación de este compuesto ocurre en los estados primarios de degradación de la madera por hongos de pudrición parda. La disolución de los cristales a medida que avanza la degradación, puede permitir al hongo el control del pH y el secuestro de metales (Goodell y col., 1997). El mecanismo no enzimático postulado para la degradación por los hongos de pudrición parda consiste en la formación de la especie radical hidroxilo OH•. Estos hongos utilizan el mecanismo de la reacción de Fenton para la producción de iones hidroxilos altamente oxidantes y poco selectivos, degradan principalmente celulosa y hemicelulosa (Jensen y col., 2001). El hongo para realizar esta reacción necesita la presencia de peróxido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y Fe<sup>2+</sup>, el cual deriva de Fe<sup>3+</sup> (forma más estable) y varios compuestos tienen la propiedad de formarlos como dihidroxibencenos (Ferraz y col., 2001), glicopéptidos (Enoki y col., 1997) y la enzima celobiosa dehidrogenasa (Henriksson y col., 2000). El peróxido y los compuestos reductores de Fe<sup>3+</sup> son producidos por el hongo y secretados al medio externo (Jensen y col., 2001). Luego este peróxido en presencia de Fe<sup>2+</sup> produce OH• (Ec. 1).



Se ha encontrado que los hongos pueden producir Fenton no solo con iones de hierro, sino también con iones de Cobre y Manganeso (Baldrian, 2003). El manganeso puede producir estas especies radicales con sustratos de bajo peso molecular, como por ejemplo los ácidos grasos insaturados (Hofrichter y col., 2002).

### **2.3.1 Degradación de lignina por hongos de pudrición blanca**

La degradación de la lignina por hongos de pudrición blanca procede por reacciones de oxidación de sus grupos funcionales, rompimiento de cadenas, anillos aromáticos y enlaces carbono-carbono. El análisis de lignina residual en diferentes estados de degradación por hongos de pudrición blanca indican pérdida de grupos metoxilos e incremento en el contenido

de oxígeno e hidroxilo. Los mayores cambios estructurales sugeridos por Kirk (1975) incluyen las siguientes reacciones: demetoxilación, oxidación del carbono alfa, rompimiento de enlaces en la cadena alifática, rompimiento de enlaces éter-arilglicerol, hidroxilación y dioxigenación del anillo aromático. Las principales enzimas involucradas en este proceso de degradación de la lignina son la lignina-peroxidasa (LiP) y la manganeso- peroxidasa (MnP), y otras enzimas oxidativas de grupos fenólicos como la lacasa. Estas enzimas causan la substracción de un electrón del anillo aromático de la lignina, resultando en la formación de un catión radical, el que es susceptible a futuras reacciones de oxidación en presencia de oxígeno. El sistema lignolítico de los hongos de pudrición blanca, tiene un componente esencial, que es una fuente de  $H_2O_2$ . Dos enzimas han sido propuestas para llevar a cabo esta tarea: la MnP, la cual puede formar  $H_2O_2$  en presencia de oxígeno, cuando el NADH y NADPH o glutatona están presentes; y la glioxal oxidasa, una enzima producida durante el metabolismo secundario del *Phanerochaete chrysosporium* y activada por LiP, además de alcohol veratrílico (Kersten, 1990). En resumen las principales enzimas involucradas en la degradación de lignina por hongos de pudrición blanca, cumplen las siguientes funciones:

**LiP:** a) rompe enlaces  $C_\alpha-C_\beta$ , entre los carbonos de las unidades de fenilpropano de la lignina; b) oxida las unidades fenólicas de la lignina al catión radical arilo, con rompimiento de enlaces C-C, C-O; c) produce la oxidación no específica de un núcleo aromático.

**MnP:** a) oxida las unidades siringilo de la lignina, preferentemente sobre las unidades guaiacilo (Akhtar, 1997).

**Lacasa:** a) oxidación de  $C_\alpha$ , demetoxilación, rompimiento de grupos fenólicos y enlaces  $C_\alpha-C_\beta$  en la estructura del siringilo (Akhtar, 1997); b) previene la rápida repolimerización de los radicales fenoxilo a lignina.

### **2.3.2 Aspectos generales de la utilización de los componentes de la madera por hongos de pudrición blanca.**

Algunos aspectos generales de la utilización de los componentes de la madera, por este tipo de hongo degradador son (Zabel y col., 1992):

- a) Todos los componentes de la pared celular son consumidos.
- b) Existe diferencia considerable en la secuencia y tiempo de utilización por especies y variedades de los hongos entre especies. En muchos casos la hemicelulosa es utilizada preferiblemente en las primeras etapas de degradación. La pérdida de masa puede ser aproximadamente de 95 a 97% del material original, cuando la exposición es prolongada, bajo condiciones óptimas de degradación.
- c) En todos los estados de degradación la madera residual, tiene una baja solubilidad en NaOH al 1% (solución acuosa), sugiriendo este hecho que los productos de la degradación son utilizados por el hongo tan rápidamente como ellos son liberados.
- d) La celulosa, hemicelulosa y lignina remanente en la porción no degradada de la madera, aparece esencialmente inalterada, sugiriendo que el hongo de pudrición blanca concentra el ataque en la superficie expuesta de la pared celular.

El análisis de madera degradada por hongos de pudrición blanca, revela que la hemicelulosa es removida antes o al mismo tiempo que la lignina (Blanchette y col., 1989). La utilización de la hemicelulosa ha sido propuesta como un importante primer paso en la degradación de lignina. Este hecho indica que la secuencia para la degradación de hongos de pudrición blanca puede ser hemicelulosa→ lignina→celulosa. Algunas investigaciones, señalan que la degradación extensiva de la pared celular, ocurre siempre en la vecindad del crecimiento del hongo. La entrada de las enzimas de los hongos en la madera para atacar la lignina, celulosa y hemicelulosa, puede ser difícil, para la difusión dentro de la madera. Por esto se ha sugerido (Srebotnik, y col. 1988), que un mecanismo no-enzimático es el iniciador de la descomposición de la madera. Una vez que la estructura de la madera es modificada y accesible, las enzimas del hongo pueden interaccionar directamente con varios componentes de la pared celular. Las especies de hongos capaces de degradar celulosa en estado nativo se les conoce como hongos celulolíticos. Las enzimas responsables de este ataque se conocen como celulasas, las que se consideran un sistema multienzimático, formado de al menos tres componentes enzimáticos que convierten la celulosa en glucosa. Las celulasas  $C_1$  son las que tienen la capacidad de separar moléculas de celulosa en las regiones cristalinas y las celulasas  $C_x$  que depolimerizan las regiones amorfas y los extremos de las cadenas de celulosa en glucosa, celobiosa y oligosacáridos. La función  $C_1$ , requiere la presencia de componentes



enzimáticos  $C_x$ , que consisten de dos tipos de  $\beta$  -1-4 glucanasas. La exo- $\beta$  -1-4 glucanasa, remueve sucesivamente unidades de celobiosa o glucosa del extremo no reductor de la cadena de celulosa, mientras que la endo  $\beta$ -1-4 glucanasa, actúa en las regiones amorfas a lo largo de la cadena de celulosa. Las  $\beta$ -Glucosidasas se unen a la pared hifal y posteriormente descomponen los fragmentos de celulosa por hidrólisis de varios oligómeros, incluyendo celobiosa, la cual es convertida a dos moléculas de glucosa. Las  $\beta$ -Glucosidasas hidrolizan los pequeños fragmentos de celulosa, mientras que las exoglucanasas, los fragmentos grandes. La degradación de hemicelulosa procede de una manera análoga a la degradación de celulosa. Las cadenas de hemicelulosa son atacadas primero por endo-enzimas (manasas y xilanasas) que producen rompimiento progresivo de la cadena de hemicelulosa, los fragmentos generados son hidrolizados a azúcares simples por glicosidasas (manosidasas, xilosidasas y glucosidasas). Las azúcares simples inhiben la producción de enzimas degradadoras de hemicelulosas por hongos de pudrición blanca y la fuente de carbono necesaria para inducir la formación de estas enzimas es la que proviene de la degradación de la celulosa (Zabel y col., 1992).

### 2.3.3 Biodegradación de madera por *G. australe*

*G. australe*, es un basidiomicete, clasificado como un hongo de pudrición blanca, que produce un fenómeno natural único de delignificación selectiva y extensiva de la madera conocido como palo podrido, el cual ocurre en el bosque de Chile situado entre los paralelos 40° y 44° sur. Crece en el bosque lluvioso de Valdivia en el sur de Chile, en donde las precipitaciones promedio anuales son de 1200 a 2350 mm/año, aunque también se ha encontrado en el área andina en sectores donde las precipitaciones son de 5000 mm/año. Ataca preferentemente especies de madera dura como *Eucryphia cordifolia*, *Nohofagus dombeyi*, *D. winteri*, *Laurelia sempervirens*, *Gevuina avellana*, *Weinmannia trichosperma* y *Myrceugenia planipes* (Agosin y col., 1990). El término palo podrido se refiere a varias formas de degradación de pudrición blanca, pero es más descriptivo de la delignificación selectiva de la madera (Agosin y col., 1990). La degradación selectiva de la lignina no puede ser obtenida bajo condiciones de laboratorio, salvo algunas excepciones. Investigaciones realizadas sobre madera de canelo degradada en forma natural, específicamente en los bosques del sur de Chile, con el hongo *G. applanatum*, indican valores de contenido de lignina total entre 12,6 y 1,9 %, dependiendo del

contenido de humedad de las muestras, en comparación con el contenido de lignina total de la madera de canelo sin degradar que fue de 30,0% (Dill y col., 1986). El contenido de lignina ácida insoluble para muestras con distintos grados de biodegradación, estuvo en el rango entre 11,0-0,4%, siendo el contenido de lignina ácida soluble de la madera sin degradar entre 25,5 y 26,8%. El contenido de lignina ácida soluble experimenta variaciones de 1,5-2,3%, siendo el contenido de lignina ácida soluble para madera sin degradar de 3,2-3,9%. Los extractivos y hemicelulosas pueden ser los componentes de la madera que son más fácilmente removidos por la degradación de palo podrido (Dill and Kraepelin, 1986). El contenido de lignina, y particularmente la composición monomérica de la lignina, parece ser un factor que tiene influencia en la delignificación selectiva. Para madera de *N. dombeyi* y *E. cordifolia*, con bajo contenido de lignina, alta razón S/G y gran cantidad de enlaces  $\beta$ -aril éter, demuestra una extensiva delignificación de la madera, por acción de *G. applanatum*, bajo condiciones de campo, en el sur de Chile. En contraste la madera de *Laurelia phillipiana* con alto contenido de lignina, baja razón S/G (0.8) y pequeña cantidad de enlaces  $\beta$ -aril éter, se encuentra un proceso de delignificación no selectiva. Esto sugiere que un alto contenido de siringilo, puede no solamente influenciar la tasa de degradación, sino también el tipo de ataque de pudrición (Agosin y col., 1990).

Ferraz y col., 2000, caracterizaron por espectroscopía FTIR micro localizada y espectroscopía electrónica, zonas blancas producidas en astillas de *P. radiata*, biodegradadas por *G. australe* y *Ceriporiopsis. subvermispora*, encontrándose fibras relativamente intactas, en ausencia de la lámina media, lo que demuestra la remoción selectiva de la lignina. La pérdida de masa y componentes se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3. Pérdida de masa y componentes de *P. radiata* degradadas por *G. australe* y *C. subvermispota* (Ferraz y col., 2001).**

Hongo	Tiempo de biodegradación (días)	Pérdida de Masa y Componentes (%)			
		Masa	Lignina	Poliosas	Glucanos
<i>G. australe</i>	140	20±2	28±1	27±1	16±2
	360	31±4	35±4	31±4	26±4
<i>C. subvermispota</i>	90	17.2±0.8	31.1±0.7	22±0.8	0
	200	36±2	46±2	40±2	26±3

El análisis de las muestras por FTIR, señalan que las zonas blancas formadas en la madera biodegradada, presentan ausencia de la banda a 1505 cm<sup>-1</sup>, que es una banda relacionada a los grupos aromáticos presentes en la lignina, mientras que bandas características de la celulosa y poliosas (1200 y 1000 cm<sup>-1</sup>), permanecen presentes. Sin embargo un período de degradación prolongada produce un cambio de la biodegradación selectiva a una no selectiva en función del tiempo de cultivo del hongo.

Para períodos más cortos de biodegradación, se han reportado los siguientes resultados, para la degradación de canelo por *G. australe*: para 3,6 y 9 semanas de biodegradación la pérdida de masa (%) es de 2,4±0.2, 4±1, 5.2±1; pérdida de lignina(%): 2,4±0.2, 3±1, 7,3±0,2; pérdida de poliosas (%): 0,2±1, 2,4±0,2; pérdida de glucano (%): 2,2±0.2,2±1, 3,9±0,2, respectivamente (Elissetche y col. ,2001).

## 2. 4 Biopulpage

El biopulpage se define como el pretratamiento de astillas de madera con hongos y un proceso de fermentación en estado sólido, para la producción de pulpa mecánica o química (Akhtar y col., 1997). En 1980, Erikson y Vallander reportaron que el tratamiento de astillas de madera con hongos, por un tiempo de 10 días, produce una disminución del 30% en el consumo de

energía requerida para el pulpaje mecánico, además de incrementarse la resistencia del papel (Akhtar y col., 1998). Cuando la madera es degradada por hongos de pudrición blanca, ésta generalmente es más fácil de blanquear. Este efecto es producido por algunas especies de hongos y es causado por la degradación de lignina y hemicelulosa en la lamela media y en las otras regiones morfológicas de la pared celular de la madera. Estudios sobre el biopulpaje que se han realizado desde 1972 cuando Henningsson y col., describieron que *Phanerochaete chrysosporium* (basidiomicete termofílico), causaba la defibración de la madera. En 1975, Ander y Eriksson, en el Swedish Pulp and Paper Research Institute (STFI), en Estocolmo, Suecia, trabajaron en el pulpaje mecánico a partir de astillas pretratadas con *P. chrysosporium* y patentaron el primer biopulpaje en 1976 (Akhtar y col., 1998). En 1987, Adamski y col, demostraron que el pretratamiento de astillas de madera con el hongo de pudrición blanca *Phellinus pini* y *Stereum hirsutum*, resulta en un decrecimiento de la energía utilizada en el refinamiento en el pulpaje kraft. (Messner y col., 1998). Una revisión sistemática de la degradación selectiva de lignina por hongos fue hecha por Otjen y col. (1987) y Blanchette y col. (1988), quienes analizaron lo relativo a la cantidad de componentes estructurales de bloques de madera después de tres meses de cultivo. El biopulpaje ha sido establecido, basado en los resultados obtenidos al incubar astillas de madera con *C. subvermispora* y otros hongos delignificadores selectivos, después de un período corto de incubación de dos semanas y una pérdida de peso de 2%, con un ataque no visible a las paredes celulares de la madera, una disminución considerable del número kappa, correspondiendo a un bajo contenido de lignina, pueden ser obtenidos después de la cocción con sulfito (Messner y col. 1993; Messner y Srebotnik, 1994). Lo mismo también se aplica al refinamiento del pulpaje mecánico, donde se ahorra consumo de energía, después de las dos semanas de incubación (Kirk y col. 1993). En el proceso de biopulpaje se requiere optimizar los siguientes parámetros: nutriente adecuado, cantidad y tipo de inóculo y aireación. En el proceso de pulpaje mecánico se emplean dos fases de refinación: la fibrilación de las astillas de madera y la refinación de la fibra; durante el biopulpaje mecánico, se estima un ahorro de energía de 2/3 de la energía requerida para el proceso de fibrilación, aunque se ha encontrado ahorro significativo de energía en ambos procesos de refinación, en el biopulpaje de pino y álamo con *C. subvermispora*. En relación a las etapa de blanqueo de biopulpa mecánica se ha reportado que el biotratamiento disminuye la blancura de la pulpa resultante, sin embargo al

final del proceso de blanqueo la pulpa biotratada adquiere un mayor porcentaje de blancura que la no tratada, bajo las mismas condiciones de blanqueo (Akhtar y col., 1998). Biopulpaje mecánico de abeto con *C. subvermispora* presentó valores de blancura ISO menores que en la pulpa de astillas no biotratadas, con una opacidad de 98%, pero el consumo de energía medido como una función del tiempo de refinación disminuyó 20% en comparación con las astillas no tratadas (Hatakka y col., 2002)

Los costos asociados al proceso de biopulpaje a escala semicomercial incluyen el costo del inóculo y nutrientes, vapor para la descontaminación y ventilación, energía para la ventilación y otros equipos, pérdida del rendimiento de la madera (< 2%) y costos de las labores de mantenimiento de la unidad de biopulpaje (Swaney y col., 2003). En la Tabla 4 se presenta una comparación entre los costos del pulpaje convencional y el biopulpaje mecánico, utilizado para producir 800 toneladas diarias de papel de un peso definido y recubrimiento especial, conocido como light weight coated (LWC).

**Tabla 4. Costos totales de manufactura de pulpa convencional y biopulpa** (Swaney y col.\*, 2003)

Tipo de Pulpa	Convencional			Biopulpaje		
	ton/día	\$/ton	\$ 10 <sup>6</sup> /año	ton/día	\$/ton	\$ 10 <sup>6</sup> /año
Termomecánica	220	275	21,2	242	258	21,9
Kraft	400	500	70,0	360	500	63,0
Mecánica						
Presurizada	180	233	14,7	198	233	16,1
Total	800		105,9	800		101,0

El pretratamiento de astillas con hongos, también ha sido utilizado en otros tipos de pulpaje como el organosolv, en el cual *P. radiata* degradado por *Chrysonilia sitohila* fue aplicada una cocción en ácido acético al 80% (0,3% de HCl como catalizador) y un aumento de 4% en el rendimiento de pulpa fue observado. Pretratamiento de astillas de *Eucalyptus grandis* por períodos de 1 a 4 meses con *Trametes versicolor* y *P. chrysosorium*, para pulpaje organosolv en una mezcla metanol/agua a 200 °C reportó un incremento significativo en la tasa de delignificación para las muestras tratadas con *T. versicolor*, cocidas a 180 °C. para las pulpas

cocidas a 200 °C la composición química es similar tanto para las muestras tratadas y no tratadas (Ferraz y col., 1998). Pulpaje realizado por el método al sulfito alcalino/antraquinona de astillas de pino biotratadas 30 días con *C. subvermispora*, reportó en relación con la pulpa control: disminución del número kappa de 12 unidades para la biopulpa, menor tiempo de refinación, para una drenabilidad de 20 °SR, los índices de tensión y explosión son similares para ambas pulpas y el índice de rasgado disminuyó significativamente en la biopulpa (Mendonça y col., 2004).

#### **2.4.1 Biopulpaje kraft**

Por medio del pulpaje kraft se obtiene pulpa de alta resistencia y es utilizado para cualquier especie, incluidas las de alto contenido de resinas. El pretratamiento con hongos de pudrición blanca, hace decrecer el contenido de lignina después de la cocción y facilita el proceso de blanqueo químico (Messner y col., 1998). La combinación del pulpaje kraft y tratamiento con este tipo de hongos puede ser utilizado como una combinación ideal de métodos. En experimentos utilizando *P. chrysosporium*. con astillas de álamo y acacia roja, para 20 y 30 días, respectivamente, disminuyen de 3 a 9 % el número kappa comparada con las no tratadas. Para astillas tratadas con hongos de pudrición blanca, se ha obtenido pulpa con número kappa similar y un alto rendimiento, utilizando 1/3 menos del tiempo a temperatura de cocción. La pulpa presenta una mejor respuesta al refinado, es más hidrofílica y se incrementa el índice de tensión y el índice de explosión, pero el índice de rasgado disminuye (Messner, 1998). Para biopulpaje químico se ha reportado un incremento en la fuerza de rasgado, en combinación con un pequeño cambio en la fuerza de tensión y explosión de la pulpa. La blancura de hojas de pulpa no blanqueada presenta una disminución, que se incrementa con períodos largos de biotratamiento (Akhtar y col., 1997). Un tratamiento de dos semanas en condiciones no estériles de maderas blandas del norte de Estados Unidos de América con *Ophiostoma piliferum*, resultó en una disminución de 9% en el número kappa, con una mejora en el blanqueo y con menos cambios en el rendimiento y viscosidad; las propiedades físico-mecánicas fueron mantenidas y las pulpas tuvieron una mejor respuesta a la refinación (Messner y col., 1998). El tiempo de cocción necesario para preparar pulpas de un número definido de valores kappa son significativamente disminuidos por el biotratamiento con

hongos de pudrición blanca, por ejemplo se ha obtenido el mismo índice kappa para muestras no degradadas, pero con una carga de álcali activo de 20,8%, y para muestras biotratadas por 15 días, pero con una carga de álcali activo de 15%. Un tiempo de biodegradación prolongado produce un incremento en el ahorro de carga de álcali, pero en menor escala, que períodos de biodegradación cortos (Ferraz y col., 2000). Para hongos de pudrición blanca, es necesario identificar cuales causan una disminución en el número kappa, facilitan la refinación, mejoran las propiedades físico-mecánicas de las pulpas, y los que causan efectos adversos en el rendimiento, blancura y consumo de álcali activo (Akhatr y col., 1996). La optimización de las condiciones de incubación de las astillas y del pulpaje ayudan a mejorar los beneficios que se obtienen del tratamiento con hongos. Si las condiciones de cocción de las astillas son cambiadas, para alcanzar un número kappa equivalente al de las pulpas de astillas no biotratadas, los tiempos de cocción y o consumo de álcali activo pueden ser disminuidos. Para el biopulpaje kraft, realizado con basidiomicetos, el mecanismo que se ha sugerido incluye la modificación de la pared celular más fácilmente por un agente de difusión, además de la penetración y difusión de agentes químicos causado por la acción del hongo en la madera (Oriaran y col., 1990). La difusión de compuestos de baja masa molecular en conexión con el sistema enzimático de degradación de lignina son los responsables de los cambios en la pared celular. Sin embargo los principales componentes de la madera no son químicamente modificados (Messner y col., 1998). En el biotratamiento de astillas de *E. teretecornis* con *C. subvermispora* para la obtención de pulpa kraft, se reportaron valores para las propiedades físicomecánicas de las pulpas mayores en comparación con la pulpa control, para una misma carga de álcali activo. Para biopulpas no blanqueadas, obtenidas con una carga de 14% de álcali activo, la blancura fue de 28,3% (ISO) y la de la pulpa control, obtenida con 17% de carga de álcali activo, la blancura fue 27,3% (ISO). El número de permanganato para la pulpa control fue de 16,3 y para la biopulpa obtenida en similares condiciones fue de 15,9. Debido a que la pulpa control obtenida con una carga de álcali activo de 14%, tiene un número de permanganato mayor, que la obtenida con 17% de álcali activo, se requiere una cantidad adicional de cloro de 8,6 Kg/ton de pulpa para obtener un mismo porcentaje de blancura. Para experimentos en los cuales el tiempo de cocción de la pulpa es disminuido 16,6, 25 y 33%, la blancura y las propiedades mecánicas de las biopulpas no blanqueadas, son mejores que las de las pulpas control. Para las biopulpas la blancura final después de la secuencia de blanqueo, es

mayor que la de las pulpas control. Las biopulpas blanqueadas son más fáciles de refinar que las pulpas control, el tiempo de batido es reducido en un rango de 16 a 18% (Bajai y col., 2001). En las Tablas 5 y 6, se presentan los valores de propiedades estudiadas para pulpas con 25% menos de tiempo a temperatura de cocción. El tratamiento de las astillas de eucalipto con *C. subvermispora* fue realizado por 2 semanas, la cantidad de inóculo utilizada fue de 5 g/tonelada de madera en base seca. Las condiciones del pulpaje fueron las siguientes: carga de álcali activo 17%, tiempo hasta temperatura de cocción de 90 minutos y el tiempo a temperatura de cocción fue disminuida de 180 minutos a 135 minutos, sulfidez de 22,9%, relación licor/madera de 3:1 y temperatura de cocción de 165 °C. No se obtuvo pulpa de la muestra control a 135 min, sólo una cocción parcial de las astillas.

**Tabla 5. Propiedades de pulpa kraft de eucalipto con disminución de 25% en el tiempo de cocción** (Bajpai y col., 2001)

Propiedades de las pulpas	Control 180 min.	Tratada 135 min.
Número de Permanganato	14.7	16.5
Blancura de la pulpa no blanqueada (% ISO)	28.0	30.5
Rendimiento de pulpa no blanqueada (%)	45.9	44.9
Consumo de reactivos químicos para blanqueo (Kg/t pulpa):		
-Cl <sub>2</sub>	40.9	47.7
- NaOH	19.2	19.7
- NaOCl	19.5	21.4
- ClO <sub>2</sub>	5.0	5.0
Blancura final después de etapa de blanqueo (% ISO)	88.6	90.5



**Tabla 6. Propiedades físico-mecánicas de las pulpas kraft de eucalipto (Bajpai y col., 2001).**

Parámetro	Pulpa no blanqueada		Pulpa blanqueada	
	Control 180 min.	Tratada 135 min.	Control 135 min.	Tratada 135 min.
Drenabilidad (°SR)	17,0	18,0	35,0	35,0
Tiempo de batido	-	-	25,0	21,0
Índice de Tensión (Nm/g)	32,2	39,9	63,1	67,9
Longitud de ruptura (m)	3290	3990	6440	6930
Índice de explosión (kN/g)	1,42	1,91	4,05	4,20
Índice de rasgado (mNm <sup>2</sup> /g)	5,79	5,91	7,76	7,50

Pulpaje kraft de *E. nitens* biotratado con *C. subvermispora*, presentó un aumento de 2,1 % en rendimiento clasificado y 1,9% en la blancura, con un número kappa de 16, requiriendo 1,3% menos de carga de álcali para obtener ese número kappa con relación al control. Las propiedades físico-mecánicas de las pulpas biotratadas: índice de explosión, índice de tensión e índice de rasgado, presento valores mayores que las de pulpa de madera no biotratada. Con relación a la energía de refinación, las pulpas de astillas biotratadas requieren menor energía de refinación ara alcanzar valores de drenabilidad altos (Mardones, 2003).

## 2.5 Espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier

La región infrarroja del espectro incluye la radiación con número de onda comprendidas entre 12800 y 10 cm<sup>-1</sup> lo que corresponde a longitudes de onda de 0,78 a 1000 μm, divididas en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano. En la espectroscopía FTIR, la luz procedente de una fuente luminosa es transformada con un interferómetro (el más común es el de Michelson), en un en un interferograma (función del tiempo, no de la frecuencia) que después de atravesar la muestra se convierte en un espectro (dominio de frecuencia, no de tiempo) mediante una operación matemática denominada Transformada de Fourier. Las

principales ventajas de la espectroscopía FTIR son: a) genera una señal libre de ruido, en donde todos los elementos del espectro (longitudes de onda) son observados simultáneamente durante el tiempo en que se toma el espectro, esto se debe a la alta resolución óptica del espectrofotómetro de FTIR, es 200 veces más alta que en otros instrumentos de IR dispersivo, b) requiere cantidades mínimas de muestra, c) tiempos cortos de análisis, d) combinada con la utilización de software de manipulación de datos espectrales, permite la aplicación de técnicas de resolución matemáticas como primera y segunda derivada, análisis estadísticos por mínimos cuadrados parciales, análisis de componentes principales y otros métodos que son muy usados como herramientas para análisis cuantitativo o semi- cuantitativo de componentes múltiples. En el estudio de la madera por espectroscopía infrarroja, se encuentran bandas intensas a 1505, 1425 y 1270  $\text{cm}^{-1}$  para las maderas blandas; para las maderas duras se encuentran bandas intensas a 1465, 1320 y 1220  $\text{cm}^{-1}$ , variaciones que son atribuibles a la diferencia en el contenido de lignina y holocelulosa presentes en maderas duras y maderas blandas (Pandey, 1999). La intensidad de la absorción de los grupos carbonilos de maderas en la banda a 1740  $\text{cm}^{-1}$  duras, es alta. La diferencia entre maderas duras y maderas blandas es más distinguible cuando se analiza la banda de 1505  $\text{cm}^{-1}$ , dado que esta banda presenta en forma pura las vibraciones del esqueleto aromático de la lignina, mientras que la banda a 1600  $\text{cm}^{-1}$  tiene contribuciones del grupo C=O conjugado. El contenido de lignina puede ser estimado del área relativa de la banda a 1505  $\text{cm}^{-1}$  a partir de una relación lineal establecida entre esta área y el contenido de lignina. Otras características distinguibles en el espectro de ligninas de maderas duras es la presencia de las unidades siringilo, demostrada por la alta intensidad de la banda a 1462  $\text{cm}^{-1}$  y 1315  $\text{cm}^{-1}$  (Stephen y Carlton, 1992).

En el análisis de espectroscopía infrarrojo de muestras de madera biodegradada por hongos, usualmente se pueden visualizar diferencias significativas en sus espectros, solamente si la madera ha sido extensivamente degradada (Ferraz y col., 2000). Calibración multivariada de la información espectral y concentración de los componentes de madera de *P. radiata* biodegradada por hongos de pudrición blanca y parda, confirmaron que los errores en la predicción de la concentración de los componentes de la madera son bajos y que la utilización de modelos Partial Least Square (PLS) para la predicción de estos, dan una buena aproximación. Sin embargo la desviación experimental observada para los datos del análisis de química húmeda de la determinación de poliosas, fue menor (0,6%) que el obtenido por predicción con el modelo PLS

(1,2%). Para madera de *E. globulus* biodegradada a distintos tiempos de biodegradación, se obtiene un modelo de PLS de baja calidad, que puede ser explicado por el pequeño rango de diferencia de las concentraciones de componentes, en comparación con los obtenidos para muestras de *P. radiata*. Al mismo tiempo existen diferencias estructurales en la lignina y poliosas de las maderas, además de la diferencia en la concentración de extractivos que es más alta en *E. globulus* (el rango en las muestra fue entre 1,5 y 4,6%), mientras que el contenido de extractivos en *P. radiata* no fue mayor a 1%. Los extractivos contienen una compleja mezcla de ceras y compuestos fenólicos, los cuales pueden absorber en la región IR y sobreponerse a las señales de los componentes mayores de la madera; probablemente estas señalas sobrepuestas pueden haber afectado los modelos PLS (Ferraz y col., 2000).



## **HIPÓTESIS**

“Las transformaciones químicas que experimenta la madera de *Drymis winteri* por biodegradación con *Ganoderma australe* favorecen el proceso de pulpaje kraft”.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Analizar los cambios producidos en madera de canelo (*D. winteri*), por efecto de la degradación por el hongo *G. australe* y su efecto en el proceso Kraft.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- (a) Cuantificar los compuestos macromoleculares de la madera de canelo sin biodegradar y biodegradada, para evaluar la pérdida de estos por la acción del *G. australe*.
- (b) Evaluar mediante espectroscopía infrarrojo, los cambios producidos en la composición de la madera de canelo, sometida a diferentes períodos de biodegradación.
- (c) Realizar pulpaje kraft de astillas de canelo para analizar el efecto de la biodegradación en las propiedades físico-mecánicas y ópticas de la pulpa.
- (d) Cuantificar el contenido de ácidos hexenurónicos en pulpa kraft de canelo y evaluar su comportamiento con relación al factor H y número kappa.

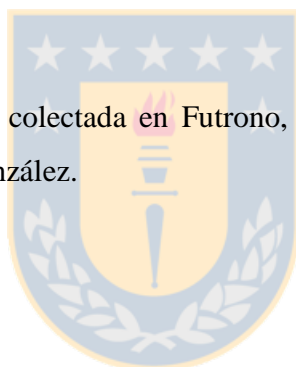
### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 Astillas de madera

Los ejemplares de *D. winteri* (2) de aproximadamente 20 años, provinieron del sector de Santa Bárbara, VIII Región de Chile. Los troncos fueron descortezados astillados, tamizados y las astillas fueron secadas al aire durante 15 días. Antes de la incubación con *G. australe*, las astillas fueron sumergidas en un recipiente con agua por 24 horas, luego de drenar el agua, la humedad de las astillas fue de 60%, posteriormente se pesaron 100 gramos de astillas en base peso seco, se dispusieron en envases de plástico y fueron esterilizadas a 120° por 15 min. Después de enfriadas las astillas y antes de inocularlas se les determinó el porcentaje de humedad.

#### 3.2 Hongo

La cepa de *G. australe* 464 fue colectada en Futrono, Osorno, X región de Chile, cedidas amablemente por el Dr. Aldo González.



##### 3.2.1 Preparación del inóculo

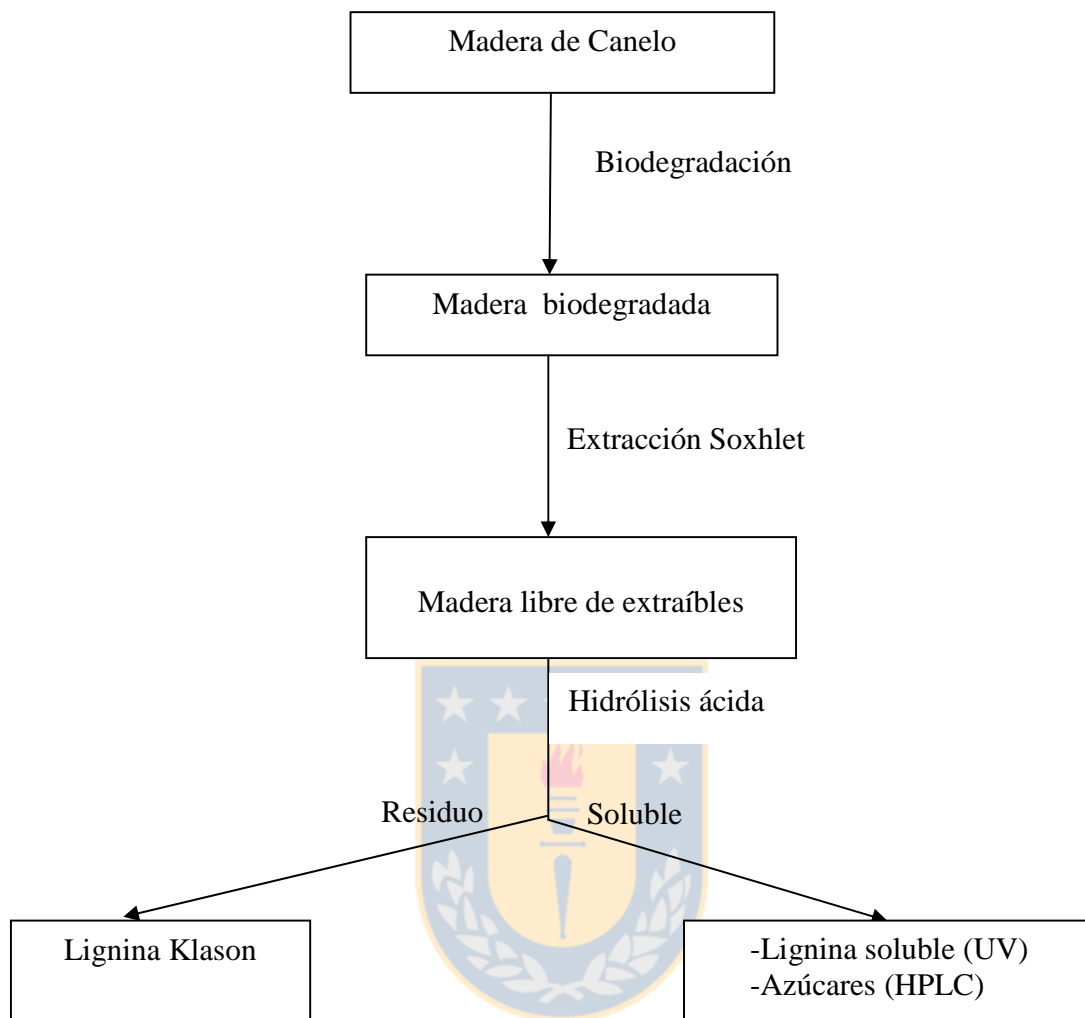
Se replicó la cepa original desde placas en pleno crecimiento en el Laboratorio de Recursos Renovables de la Universidad de Concepción, mediante el corte de pequeños trozos de micelio y se incubaron en placas Petri, previamente esterilizadas en autoclave a una temperatura de 120°C por 15 minutos. El cultivo fue preparado con 2% de extracto de malta, 0,5% de peptona de soya y 1,5% de agar-agar. El replicado se realizó bajo una campana de flujo laminar esterilizada con etanol y rayos UV (20 minutos). Después de replicar la cepa, las placas Petri fueron selladas con papel parafilm y se colocaron en una estufa a 25°C para lograr el crecimiento del hongo.

El medio líquido fue preparado con 2% de extracto de malta y 0.5% de peptona de soya y esterilizado en autoclave. Se prepararon 2,4 L de medio líquido, que se distribuyeron en 12 matraces erlenmeyer, cada uno con 200 mL, a cada uno de ellos se le adicionó 10 trozos pequeños de micelio de 7 días de crecimiento en placas Petri,. Los matraces se incubaron en

un agitador orbitel, a una temperatura de 25°C por 10 días. Después del crecimiento del hongo en el medio líquido se homogenizó el mismo, mediante un batido del medio líquido en una juguera por un corto período de tiempo. Las astillas fueron inoculadas con el medio líquido, la humedad de las astillas después de inoculadas fue de 80 %. Las astillas se mantuvieron en condiciones estacionarias a 25°C por períodos de tiempo entre 15 y 55 días. El crecimiento del hongo se interrumpió en tiempos definidos, se procedió a lavar todo el micelio de la superficie de las astillas y se secó al aire por una semana, posteriormente se pesó y se determinó su humedad. Mediante los pesos secos finales e iniciales de las astillas, se determinó la pérdida de masa seca de las muestras degradadas. Como control se utilizó astillas de madera esterilizadas, pero sin inocular. Los experimentos se realizaron por triplicado.

### **3.3 Caracterización de las muestras**

Las astillas de madera de canelo degradada fueron molidas y pasadas por un tamiz de 40 mesh. Las muestras fueron subdivididas en dos submuestras, una para análisis químico (duplicado) y otra para análisis de IR. Después de molidas, las muestras fueron extraídas en un extractor Soxhlet con una secuencia de solventes: mezcla 1:2 de etanol:tolueno por 6 horas, posteriormente se reemplaza el solvente por etanol (95%), por 6 horas y con un promedio de 5 sifoneos/hora. Las muestras fueron hidrolizadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. En la figura 2 se presenta un esquema del procedimiento de los análisis de las muestras.



**Figura 2.** Esquema general de análisis de química húmeda de las muestras de madera de *D. winteri*.

### 3.3.1 Hidrólisis ácida.

Se pesaron  $0,30 \pm 0,01$  g de muestra de madera molida secada al aire, en duplicado, en tubos de ensayo. Se adicionaron 3 mL de  $H_2SO_4$  72%, 25 mg de m-eritritol como estándar interno, se colocaron las muestras en un baño de agua a  $30^\circ C$  por 1 hora y se agitaron cada 10 minutos. Posteriormente se diluyó el ácido sulfúrico agregando a cada tubo 79 mL de agua destilada, se transfirió a un matraz Erlenmeyer sellado y se autoclavó durante una hora a  $121^\circ C$ . La hidrólisis primaria ácida se realizó con el objetivo de hidrolizar la estructura polimérica de los

azúcares, la hidrólisis secundaria se realiza con el objetivo de obtener las unidades básicas que constituyen los azúcares de la madera.

### **3.3.2 Lignina insoluble**

Para determinar el contenido de lignina insoluble, el contenido de los matraces autoclavados, se filtraron en crisoles Gooch, previamente tarados, colocados en un sistema de vacío. El filtrado se recogió en un kitasato y se llevó a aforo a 100 mL. La lignina insoluble quedó retenida en los crisoles Gooch, los cuales se colocaron en una estufa a 105°C por una hora, después se colocaron en un desecador por 30 minutos y se pesaron. El procedimiento se repitió hasta obtener una masa constante. El filtrado se utilizó para determinar azúcares y lignina soluble.

### **3.3.3 Lignina soluble**

El porcentaje de lignina soluble contenida en las muestras, fue determinado por espectroscopía UV medida a una absorción de 205 nm. Se utilizó un blanco de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 3 %. Para las muestras con lectura de absorbancia mayor de 0,7 se realizó dilución con agua destilada. El contenido de lignina soluble se calculó con la siguiente fórmula:

Lignina(g/L):

$B=(A/110)*D$ , donde D es el factor de dilución de las muestras y  $110 \text{ mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$  la absorptividad.

$\%Lignin= B*V*100/1000*W$ , donde W es la masa seca de la muestra y V el volumen total de la muestra(100 mL).

### **3.3.4 Determinación de azúcares por HPLC**

Para la determinación de los diferentes azúcares, se utilizó un cromatógrafo Merck-Hitachi, modelo D-7000, equipado con una columna BIO RAD HPX-87 H, es un detector de índice de refracción. Antes de inyectar las muestras a la columna, se filtraron por un cartucho OSD-C18, para eliminar posibles restos de lignina que hubiesen quedado. La fase móvil que se utilizó fue



H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mM a un flujo de 0,6 mL/min y temperatura de 45°C. La curva de calibración se construyó con patrones que contienen las siguientes azúcares: glucosa, xilosa, celobiosa, manosa, galactosa, arabinosa, además de ácido acético y m-eritritol.

### **3.4 Análisis de las muestras por espectroscopía infrarrojo**

Para el análisis de infrarrojo se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo cercano con transformada de Fourier, marca Perkin-Elmer modelo Spectrum IdentiCheck FT-NIR System, con accesorio de reflectancia marca Perkin-Elmer, fuente NIR, con detector de PbS, beamsplitter de CaF<sub>2</sub>, PC y software Perkin-Elmer Spectrum IdentiCheck versión 2.00, software Perkin-Elmer Spectrum Quant+ versión 4.10.

#### **3.4.1 Preparación y tratamiento de las muestras para IR**

Las astillas secas fueron molidas en molino de cuchillos giratorios, con malla de 0,750 mm, se tamizaron las muestras a través de una malla de 0,350 mm. Previo al análisis IR, fueron secadas a 50°C por 24 h. Las muestras se dejaron en estabilización de humedad ambiental previo a registrar sus espectros.

#### **3.4.2 Registro y tratamiento de los espectros**

Se registraron los espectros en un espectrofotómetro de infrarrojo cercano con transformada de Fourier, en un rango espectral de 1000-2500 nm, los espectros fueron colectados directamente sin dilución en KBr, en modo transmitancia versus números de onda (cm<sup>-1</sup>). Para ello se utilizó alrededor de 0,1 g de muestra. Los espectros fueron sujetos a las siguientes modificaciones: smooth, cambio de unidades en eje de abscisa (cm<sup>-1</sup> a nm), cambio de unidades en eje de ordenadas (%T a unidades de reflectancia, Kubelka-Munk), corrección de línea base y aplicación de derivada de segundo orden. Los espectros resultantes de las modificaciones mencionadas, en conjunto con los valores de propiedades de las muestras, se ingresaron al software Quant+, para realizar la modelación.

### **3.4.3 Calibración y validación**

Una vez elegidos los parámetros de calibración, se realizó la modelación en software Perkin-Elmer Quant+. Se eligió el algoritmo de regresión por componentes principales. La validación utilizada fue la de cruzamiento total, es decir, por cada  $n$  muestras se realizan  $n$  calibraciones, excluyendo en cada una de ellas al  $n$ -ésimo estándar.

### **3.4.4 Predicción**

Se eligieron tres muestras del set de calibración y se sometieron a la predicción de sus valores de propiedades.

### **3.5 Microscopía electrónica de barrido de astillas biodegradadas por *G. australe***

Trozos pequeños de madera biodegradada y sin biodegradar fueron pegados al porta muestra del microscopio con pegamento conductor grafito coloidal. Se realizó el recubrimiento de la muestra con una capa de oro de un espesor de 500 Å en un metalizador Edwards S150 Sputter Coater. Posteriormente se realizó la observación de las muestras en un microscopio electrónico de barrido modelo ETEC Auto Scan.

### **3.6 Pulpaje kraft**

Las muestras biodegradadas y sus controles fueron sometidas a un proceso de pulpaje kraft, en un reactor Parr de 1 L con varilla de agitación. Los parámetros que fueron utilizados para este proceso son los siguientes:

Álcali Activo= 15% expresado como  $\text{Na}_2\text{O}$

Sulfidez= 25% expresado como  $\text{Na}_2\text{O}$

Temperatura de cocción= 170°C

Tiempo hasta temperatura de cocción= 90 minutos

Tiempo a temperatura de cocción= 30, 60, 90, 120 y 180 minutos.

Después del pulpaje, las muestras se sometieron a hidrólisis ácida para determinar lignina y azúcares, por los métodos antes descrito; además se evaluó el contenido de ácidos hexenurónicos, número kappa y rendimiento clasificado.

El pulpaje de las muestras destinadas al análisis de las propiedades físico-mecánicas de las pulpas, fueron obtenidas en un reactor Parr modelo 4843 de 3,78 L, con las mismas condiciones de pulpaje descritas anteriormente, pero con 30 min a temperatura de cocción

### **3.7 Número kappa**

El número kappa de las muestras de pulpa fue realizado de acuerdo al método micro kappa (Berzins, 1966). Un gramo de pulpa en base seca se colocó en un matraz Erlenmeyer de 2000 mL, al cual se le adicionó 400 mL de agua destilada y agitó para disgregar la fibra. La temperatura de la muestra fue de  $25 \pm 0,2$  °C. Se adicionaron 50 mL de  $H_2SO_4$  4 N y 50 mL de  $KMnO_4$  0,1 N. Exactamente a los 10 minutos de reacción, se adicionaron 10 mL de KI 1,0 N. La muestra fue titulada con una solución 0,1 N de  $Na_2S_2O_3$ , adicionando algunas gotas de almidón para detectar el cambio de color de la solución de azul a blanco (punto final). El mismo procedimiento se aplica a la determinación de un blanco, pero omitiendo la pulpa. El número kappa fue calculado de acuerdo al procedimiento descrito en el método TAPPI T- 236 om-99.

### **3.8 Ácidos hexenurónicos**

Los ácidos hexenurónicos fueron analizados por el método de espectroscopía UV a dos longitudes de onda: 260 y 290 nm (Chai y col., 2001). Se pesaron aproximadamente 0,05 g de pulpa y se colocaron en un tubo de ensayo al cual se le añadió 10 mL de una solución de hidrólisis formada por  $HgCl_2$  (0,6%) y  $CH_3COONa \cdot 3H_2O$  (0,7%). La mezcla fue agitada manualmente y puesta en un baño a 60-70 °C por un período de 30 minutos. Posteriormente se enfrió el hidrolizado a temperatura ambiente, se extrajo con una jeringa plástica de 10 mL y se paso por un filtro de éster de celulosa de 25 mm de poro y 0,2  $\mu m$ . La solución hidrolizada fue leída en celdas de cuarzo de un recorrido óptico de 1cm y se realizaron lecturas de absorbancia a 260 nm y 290 nm. Como blanco se utilizó la solución de hidrólisis. El contenido de ácidos

hexenurónicos fue determinado mediante la siguiente ecuación:  $C_{\text{HexA}} = 0,287 \cdot (A_{260} - 1,2A_{290})V / m$ ; en donde 0,287 es el factor de calibración para el método de la doble longitud de onda, m es la masa en base seca de la muestra de pulpa y V es el volumen de la solución de hidrólisis (10 mL).

### 3.9 Propiedades físicas-mecánicas y ópticas de las pulpas

Las pulpas Kraft de astillas de *D. winteri* del control y biodegradadas por 15 y 45 días, fueron refinadas en molino PFI según norma Tappi T 248 om-85. Con las pulpas refinadas se confeccionaron hojas de ensayo (Tappi T 205 om-88) a las que se le determinaron las siguientes propiedades:

Índice de Tensión: Norma Tappi T 494 om-96, realizado en Tensilómetro Alwetron TH<sub>1</sub>

Índice de Rasgado: Norma Tappi T 414 om-98, realizado en medidor de rasgado Elmendoorf modelo 60-64.

Índice de Explosión: Norma Tappi T 403 om-97, realizado en medidor de explosión Mullen modelo AH.

Se evaluó la blancura de acuerdo a la norma Tappi T 452 om-98, en medidor de reflectancia PHOTOVOLT 577. Las medidas fueron hechas a una reflectancia direccional de 457 nm y por triplicado.

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Caracterización química de *D. winteri*

Los resultados de la composición química de la madera de *D. winteri* se encuentran en la Tabla 7. Los resultados del contenido de lignina total indican que el *D. winteri* presenta un mayor contenido de este componente que la especie de *P. radiata* y *E. globulus*. Este valor obtenido está levemente por encima de los rangos reportados por otros autores para madera de canelo que es de 30,5- 28,8 (Rodríguez, 1998).

El contenido de azúcares para *D. winteri* es similar al encontrado para la madera de *P. radiata*, por lo que se esperaría un rendimiento de pulpa kraft similar al obtenido bajo condiciones de cocción similares a la de madera de *P. radiata*. Los resultados del contenido de extraíbles de la madera de canelo presentan un valor más alto que los obtenidos para *E. globulus* y *P. radiata*. En el proceso de pulpaje los extraíbles consumen reactivos químicos, afectando el rendimiento de pulpa (Gutiérrez y col., 2001).

**Tabla 7. Composición química de la madera de *D. winteri*, *P. radiata* y *E. globulus* (Sjostrom\*,1993)**

Muestra	Extraíbles (%)	Lignina Total (%)	Glucano (%)	Poliosas (%)
<i>D. winteri</i>	2,5 $\pm$ 0,1	31,1 $\pm$ 0,4	39,9 $\pm$ 0,3	20,9 $\pm$ 0,6
<i>P. radiata</i> *	1,8	27,2	37,4	28,9
<i>E. globulus</i> *	1,3	21,9	51,3	21,3

### 4.2 Biotratamiento

#### 4.2.1 Pérdida de masa y de componentes

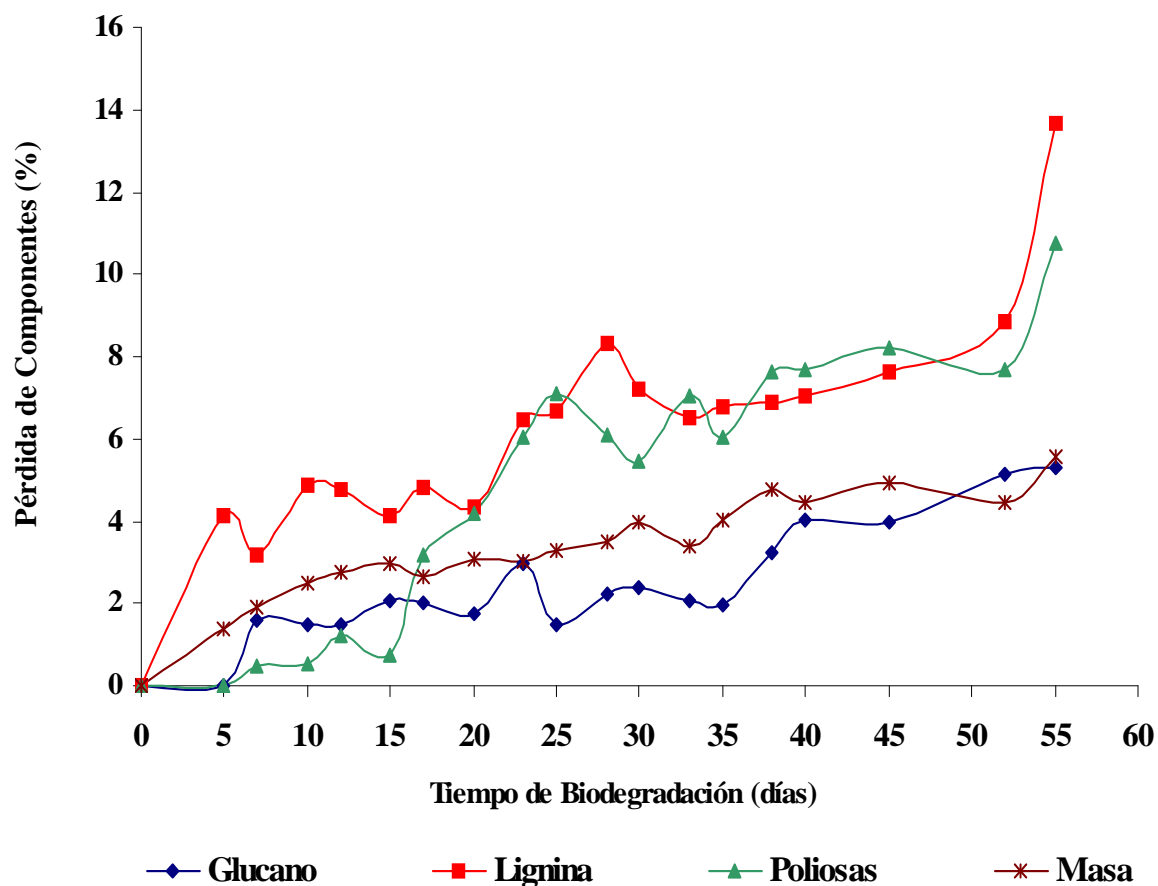
En la Tabla 8 se presentan los resultados obtenidos para los diferentes tiempos de biodegradación de la madera de *D. winteri*. Se observa pérdidas de masa de 1,36 % y 5,6 % a los 5 y 55 días de biodegradación; resultados similares de 2,4 y 5,2 % para 21 y 45 días de biotratamiento fueron informados por Elissetche (2001).

**Tabla 8. Pérdida de masa y componentes de la madera de *D. winteri* biodegradada por *G. australe***

Tiempo de Biodegradación (Días)	Pérdida de Masa (%)	Pérdida de Extraíbles (%)	Pérdida de Glucanos (%)	Pérdida de Poliosas (%)	Pérdida de Lignina (%)
0	0	0	0	0	0
5	1,37 ± 0,04	23 ± 3	0	0	4 ± 2
7	1,9 ± 0,4	39 ± 4	1,6 ± 0,8	0,5 ± 0,4	3, ± 1
10	2,5 ± 1	52 ± 3	1,5 ± 0,7	0,5 ± 0,3	4,8 ± 1,1
12	2,8 ± 0,5	52 ± 9	1,5 ± 0,7	1,2 ± 0,8	4,8 ± 0,7
15	2,94 ± 0,04	50 ± 6	2 ± 1	0,7 ± 0,4	4,1 ± 0,4
17	2,6 ± 0,2	53 ± 8	2 ± 1	3,2 ± 1,6	4,8 ± 1,4
20	3,10 ± 0,1	62 ± 2	1,7 ± 0,9	4 ± 2,0	4,4 ± 1,2
23	3,03 ± 0,03	61 ± 2	3,0 ± 0,2	6,04 ± 0,01	6,48 ± 0,03
25	3,3 ± 0,1	56 ± 7	1,5 ± 0,10	7 ± 3	6,7 ± 4,8
28	3,52 ± 0,02	52 ± 10	2,3 ± 1,8	6 ± 4	8,31 ± 0,02
30	4,0 ± 0,4	62,1 ± 0,4	2,4 ± 2,8	5,4 ± 4,2	7,2 ± 0,4
33	3,38 ± 0,03	44 ± 5	2 ± 2	7 ± 4	7 ± 2
35	4,0 ± 0,5	57 ± 7	2 ± 1	6 ± 3	7 ± 3
38	4,8 ± 1,4	53,5 ± 0,4	3,2 ± 0,9	8 ± 1	7 ± 1
40	4,5 ± 0,7	46 ± 3	4,0 ± 2,0	8 ± 1	7 ± 1
45	4,9 ± 0,6	47 ± 12	4,0 ± 0,9	8,2 ± 0,5	8 ± 2
52	4,5 ± 0,2	56 ± 2	5,1 ± 1,1	7,7 ± 1,2	9 ± 1
55	5,6 ± 0,2	32 ± 9	5,3 ± 3,1	11 ± 2	14 ± 5

En la Figura 3 se observa la selectividad del *G. australe* en degradar la lignina y poliosas, preferentemente a la glucosa. Esta selectividad se hace menos efectiva a medida que aumenta el tiempo de biodegradación; para las poliosas, se aprecia una preferencia del hongo en remover lignina hasta los 15 días de biodegradación, pero a partir de este tiempo la degradación de poliosas y lignina es de la misma magnitud. Se observa una disminución de 50% en el contenido de extraíbles a los 15 días de biodegradación, reducción que es significativamente mayor a las reportadas para madera biodegradada por 15 días de *E. nitens* y *P. taeda* con *C. subvermispora*: 13,3% (Mardones, 2003) y 28% (Mendonca, 2002), respectivamente.



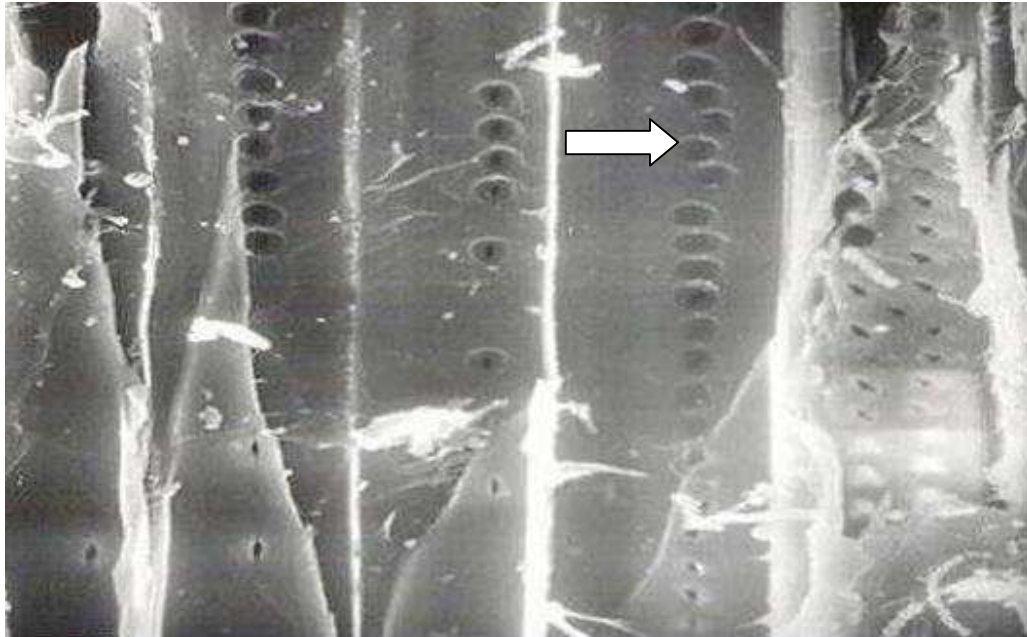


**Figura 3.** Pérdida de lignina, glucano, poliosas y masa en madera de *D. winteri* biodegradada por *G. australe*.

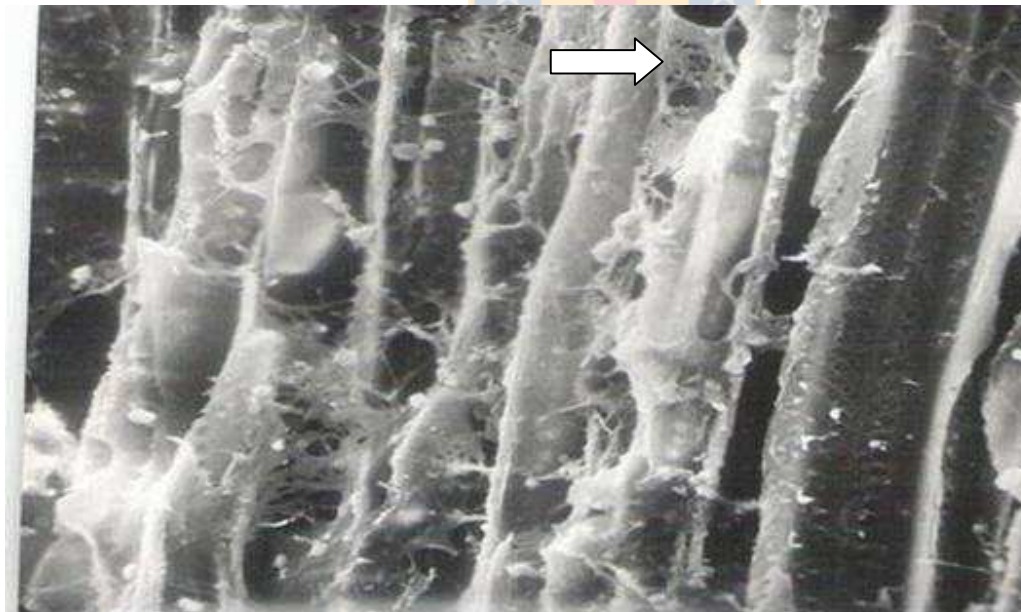
#### 4.2.2 Microscopía electrónica de barrido de madera de *D. winteri*

El uso de la microscopía electrónica ha sido utilizada para el estudio de la degradación de maderas por hongos. Estados de degradación avanzados de maderas degradadas en el Parque Nacional del Alerce Andino y en la Isla de Chiloé en el sur de Chile, conocido como palo blanco fue estudiado mediante la técnica de microscopía electrónica, encontrándose una delignificación extensiva de las fibras y los vasos. Para madera de *N. dombeyi* en estados iniciales de degradación se encontró parte de la pared secundaria delignificada, se observó la remoción de la lignina del lumen hacia la lamella media (Agosin y col., 1990). En las Figuras 4 a 10 se presentan imágenes de microscopía electrónica de barrido de astillas de *D. winteri* con diferentes tiempos de biodegradación.

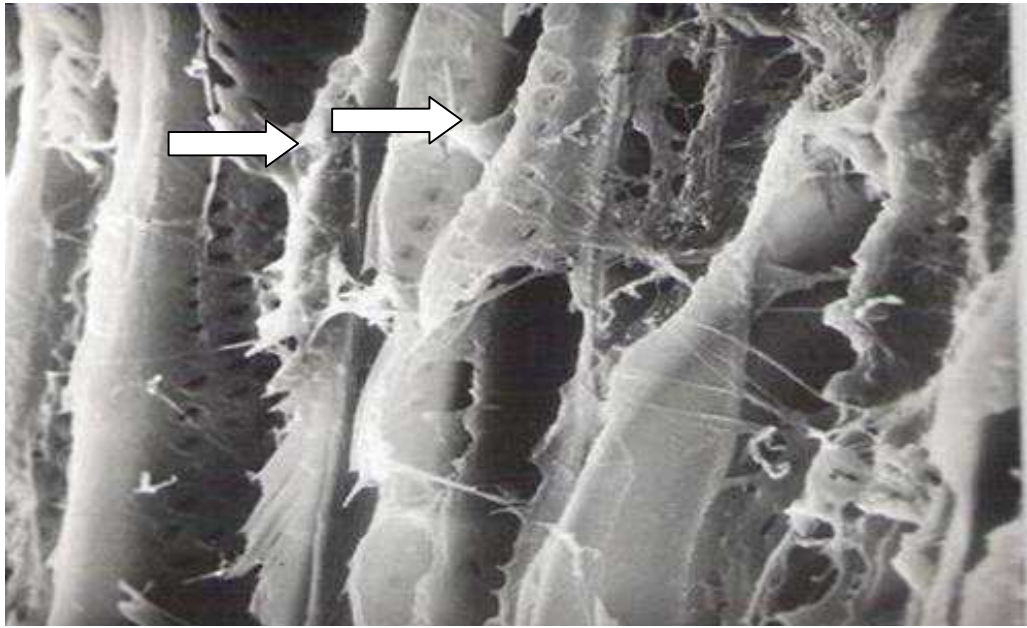




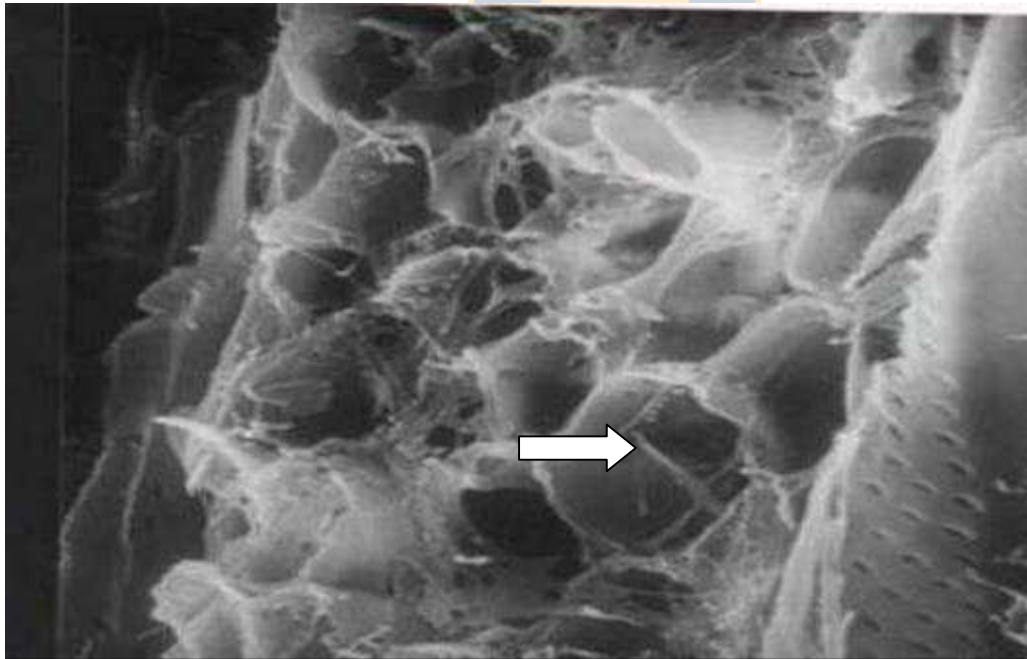
**Figura 4.** Microscopía electrónica de madera de *D. winteri* sin biodegradar. Se aprecia claramente las punteaduras a lo largo de las fibras. Aumento 400 x.



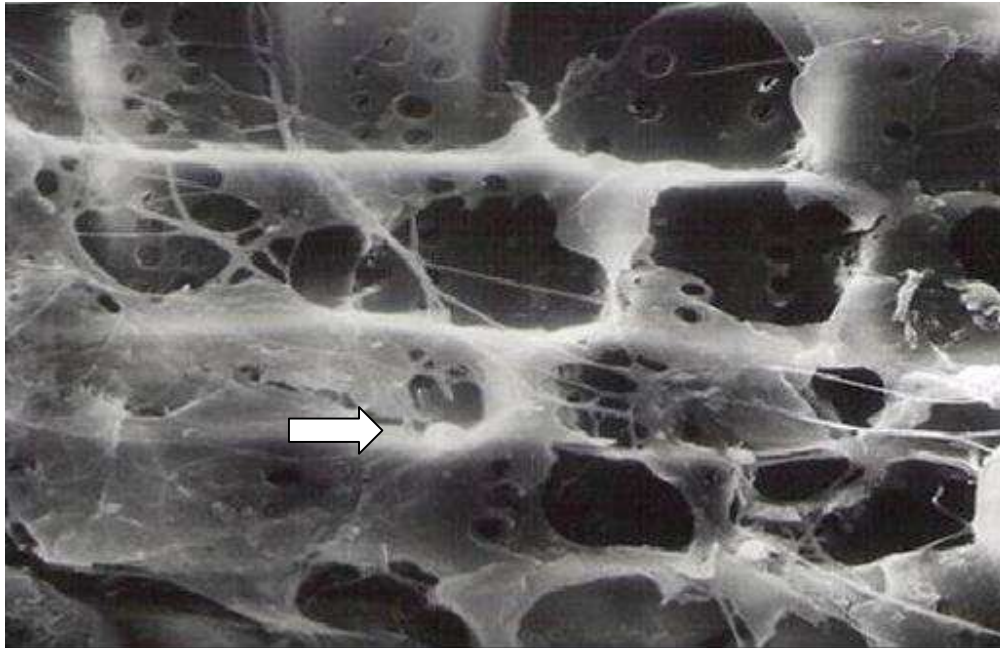
**Figura 5.** Microscopía electrónica de madera de *D. winteri* biodegradada 5 días por *G. australe*. Se observa las fibras colonizadas por el hongo. Aumento 400x.



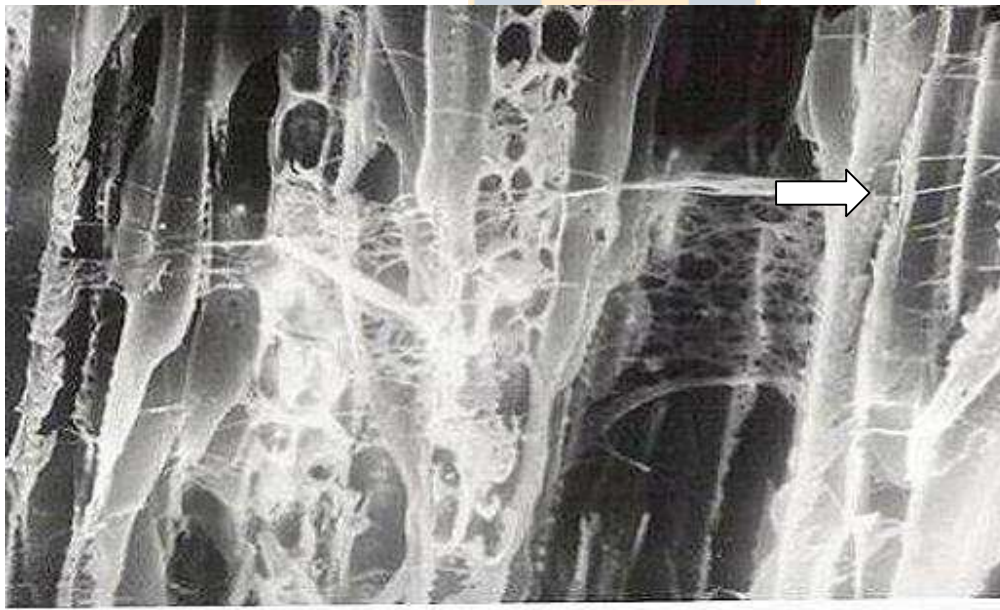
**Figura 6.** Microscopía electrónica de madera de *D. winteri* biodegradada 15 días por *G. australe*. El crecimiento de las hifas se observa entre las fibras. Aumento 400 x.



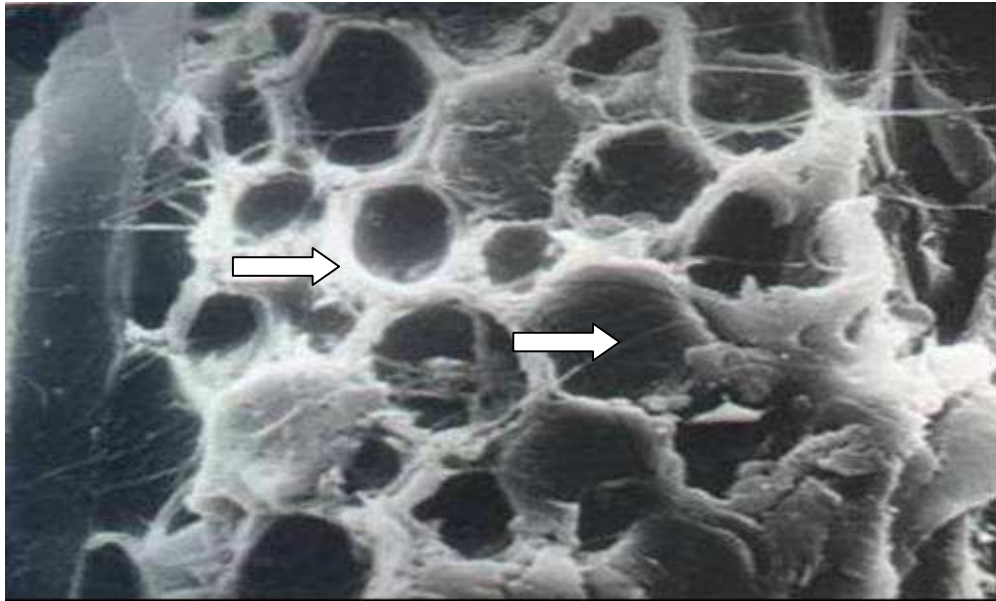
**Figura 7.** Plano transversal de madera de *D. winteri* degradada 15 días por *G. australe*. Se observa la penetración de las hifas a través de las punteaduras. Aumento 400 x.



**Figura 8.** Microscopía electrónica de la sección transversal de madera degradada 30 días por *G. australe*. La colonización del hongo es extensiva a través de toda la estructura de la madera. Aumento 400 x.



**Figura 9.** Microscopía electrónica de *D. winteri* degradada 45 días por *G. australe*. Se observan las hifas que han penetrado las fibras a través de los elementos de conducción de la madera y la presencia de hifas es abundante en toda la estructura. Aumento 200 x.

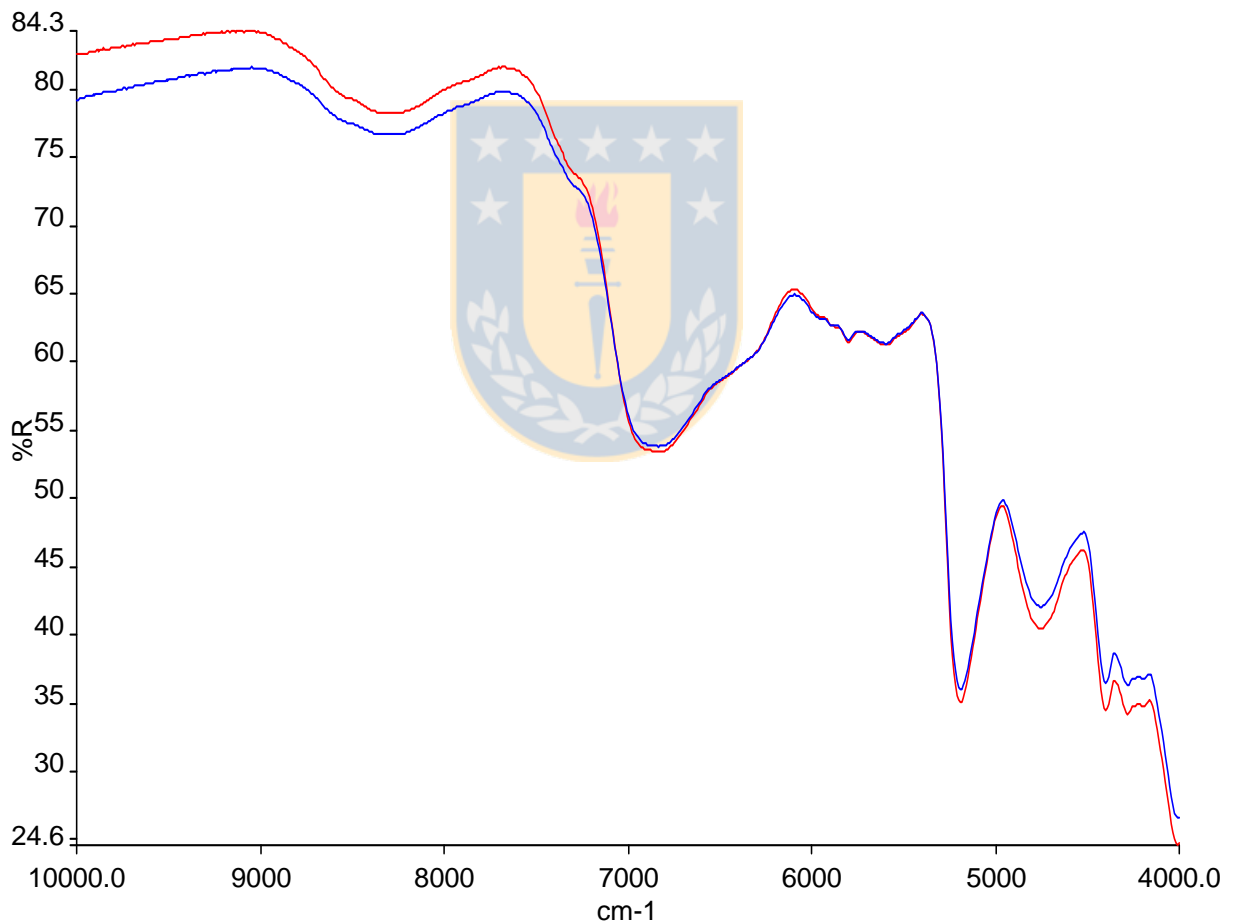


**Figura 10.** Plano transversal de microscopía electrónica de madera de *D. winteri* biodegradada 45 días. Se observa la presencia de micelio en la pared de las fibras y las hifas dentro de los vasos. Aumento 400 x.

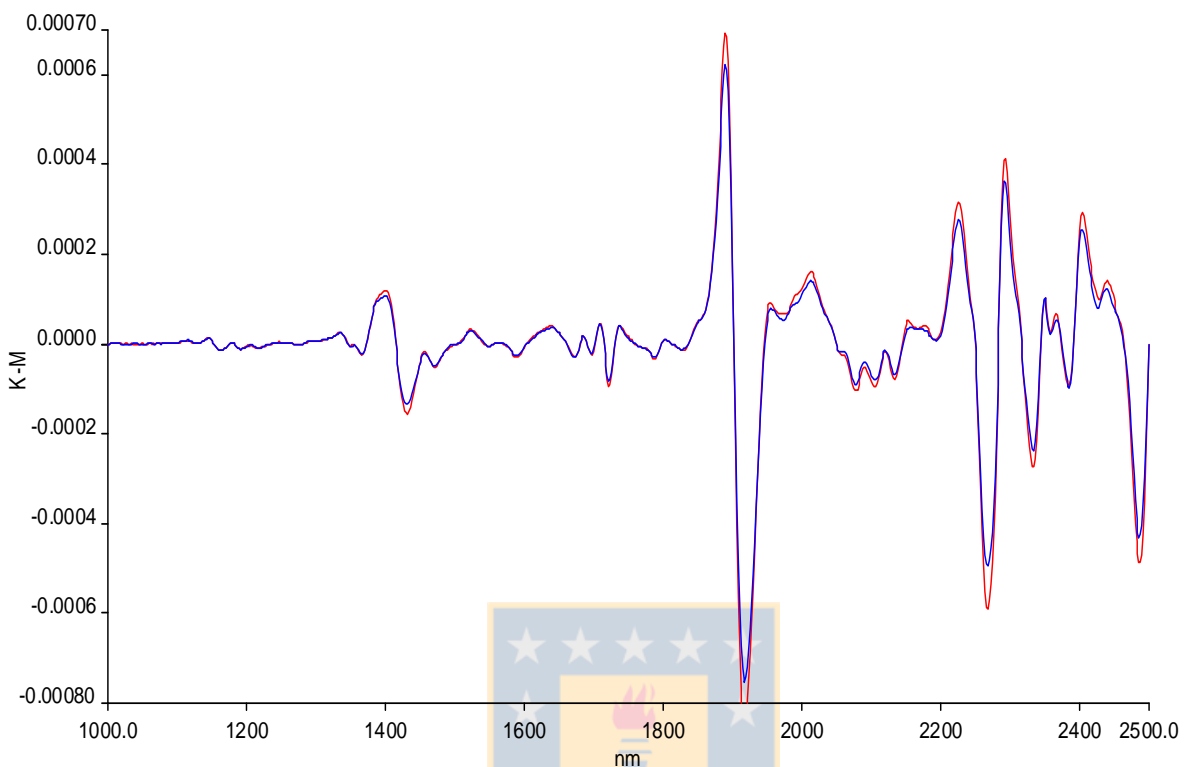


### 4.3 Espectroscopía infrarrojo en el análisis de madera de *D. winteri*

Espectros en la región del infrarrojo cercano fueron realizados a muestras de madera de canelo sin degradar y degradadas por *G. australe*, esta información espectroscópica junto con los datos obtenidos por química húmeda fueron analizadas para buscar correlaciones entre la variación espectral y el contenido de lignina, glucanos, poliosas, extractivos y pérdida de masa. En las Figuras 11 y 12 se muestran los espectro NIR de reflectancia difusa original de la muestra control y la degradada por el mayor período de tiempo (55 días) y el espectro de la segunda derivada, respectivamente.



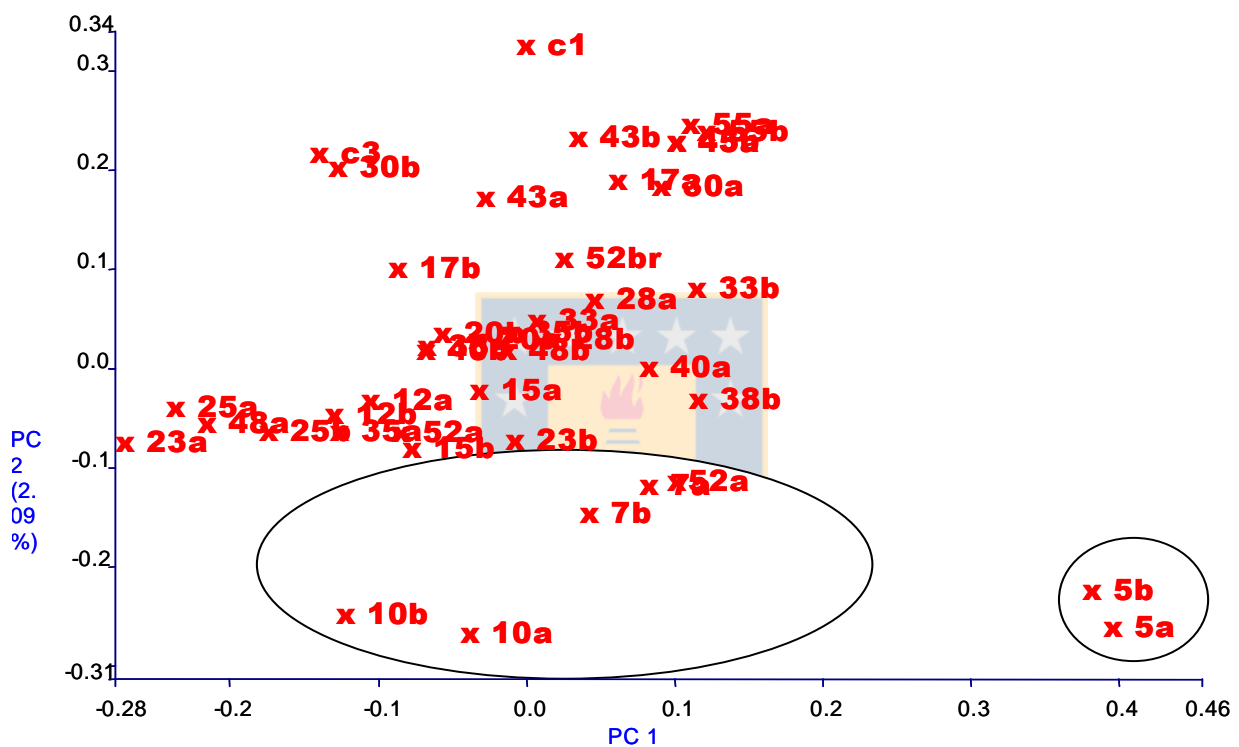
**Figura 11.** Espectro DRIFT-NIR de muestra de *D. winteri* sin degradar (---) y degradada (---) 55 días por *G. australe*



**Figura 12.** Segunda derivada de espectros de muestras de *D. winteri* sin degradar (----) y biodegradada (----) 55 días por *G. australe*.

No se puede apreciar a simple vista diferencias entre los espectros de las dos muestras. Se realizó una agrupación de los espectros de las muestras en estudio por medio de la técnica de análisis por componentes principales (PCA), la cual permite agrupar las unidades experimentales en subgrupos de tipo semejante. En nuestro caso como se puede apreciar en la Figura 15, sólo las muestras con 5 días de biodegradación se diferencian del resto y se sitúan en el eje negativo del PC2, también las muestras de 7, 10 y 52 días de biodegradación se agrupan en el eje negativo del PC2. Esto nos conduce a suponer que los cambios a nivel de estructura química de los componentes de la madera en estudio, no tuvieron una buena correlación con el contenido de sus componentes químicos, debido probablemente a que los extractivos en la madera de canelo absorben en la región del infrarrojo y pueden superponerse a las bandas del espectro IR originadas por los componentes macromoleculares de la madera, afectando el modelo PCA de las muestras. Para *E. globulus* se reportaron modelos PLS de baja calidad, debido a la presencia de extractivos en la madera, tomando

en consideración que alguna información espectral originada por estos compuestos puede ser considerada para los modelos de los componentes macromoleculares de la madera; también se sugirió que un rango pequeño de las concentraciones de los componentes de la madera, puede afectar la calidad del modelo de regresión, a diferencia de los rangos de concentraciones que fueron obtenidos para muestras de *P. radiata* sometida a tratamientos similares y en los cuales se obtuvo modelos PLS de buena calidad (Ferraz y col. 2000).



**Figura 13.** Gráfico de componentes principales 1 y 2 de los espectros de muestras de *D. winteri* sin biodegradación y biodegradadas por *G. australe*. Los números en el gráfico indican el tiempo de biodegradación de las muestras en días.

En estudios de análisis de componentes principales realizados en degradación de *P. radiata* por *G. australe* se ha observado que la remoción de lignina está restringida a las áreas superficiales de las astillas de madera biodegradada; el período de biodegradación fue de 140 y 360 días (Ferraz y col., 2001). En el caso de la biodegradación sería recomendable para aplicar la técnica

de PCA, utilizar madera libre de extraíbles, para evitar la sobreposición de bandas en el espectro IR.

#### 4.4 Pulpaje biokraft de *D. winteri* biodegradado por *G. australe*

##### 4.4.1 Composición química de muestras biodegradadas para pulpaje kraft

En la Tabla 9 se muestra la composición química de la madera de *D. winteri* sin biodegradar (control) y las muestras biodegradadas a distintos tiempos de biodegradación.

**Tabla 9. Composición química de la madera de *D. winteri* para pulpaje kraft.**

Tiempo de Biodegradación (Días)	Extraíbles (%)	Lignina Total (%)	Glucano (%)	Poliosas (%)
0	2,5 ± 0,1	31,1 ± 0,4	39,9 ± 0,3	20,9 ± 0,6
15	1,2 ± 0,2	30,7 ± 0,1	39,1 ± 1,7	20,8 ± 1,6
30	0,94 ± 0,01	30,20 ± 0,01	38,9 ± 1,1	19,2 ± 0,8
45	1,3 ± 0,3	30,4 ± 0,2	38,6 ± 0,4	19,3 ± 0,1

La diferencia más significativa es la reducción de la cantidad de extraíbles en la madera biodegradada en los primeros 15 días de biodegradación, lo que sugiere un gran beneficio en la reducción de las partículas coloidales, conocidas como “pitch”, que se generan en el proceso de cocción de la madera, y que se depositan en la pulpa o maquinaria utilizada para la producción de papel, afectando la calidad de la pulpa (producen puntos y agujeros en el papel, roturas en las hojas) y pueden causar la paralización de las operaciones técnicas del proceso de producción de papel (Gutiérrez y col., 2001). En relación al contenido de lignina total, este componente experimenta una disminución con el biotratamiento, pero lo más importante pueden ser las modificaciones que experimenta la lignina por la acción del *G. australe*; se ha reportado que no existe relación directa entre la remoción de lignina de maderas biodegradadas y el ahorro de energía o mejoramiento de las propiedades físico-mecánicas de la pulpa, durante el biopulpaje (Akhtar, 1997). En relación a glucanos y las poliosas, existe una leve diferencia entre la muestra control y las biodegradadas, por lo que se demuestra la selectividad del hongo en degradar principalmente lignina y no azúcares



#### 4.4.2 Composición química de pulpa kraft

En la Tabla 10 se presentan los resultados de la composición química de las pulpas obtenidas a partir de la madera de *D. winteri* sin biodegradar y biodegradada en distintos períodos de tiempo. Para glucanos se observa un leve aumento de su concentración en las pulpas de las maderas biodegradadas en relación al control, principalmente en las pulpas con un tiempo de cocción menor (Factor H de  $565 \text{ h}^{-1}$ ). El contenido de poliosas se mantiene entre 16 y 18 % para todas las pulpas, lo que indica que este componente es relativamente estable en el proceso de pulpaje kraft, incluso cuando la madera ha sido sometida a biodegradación. El contenido original de poliosas en la madera utilizada para el pulpaje kraft es de aproximadamente 20%, lo que significa que sólo fue solubilizado entre 10-20% de las poliosas originalmente presentes en la madera. En maderas duras los xilanos son el mayor componente de las poliosas, y se encuentran en la forma de 4-O-metilglucoronoxilano, siendo estables en el pulpaje kraft. Las polisosas en pulpa kraft, contribuyen a las resistencias a la tensión, explosión y ruptura de la hoja de pulpa (Genco y col., 1990).



**Tabla 10. Composición química de pulpa kraft de *D. winteri*, biodegradada por *G. australe*.**

Componente	Tiempo de Biodegradación de la madera (días)	Factor H (h <sup>-1</sup> )				
		565	1022	1480	1937	2852
Glucano (%)	0	68,3 ± 1,3	72,1 ± 3,4	79,0 ± 1,6	77,7 ± 1,2	75,0 ± 1,5
	15	72,7 ± 0,9	74,4 ± 1,0	77,9 ± 3,0	71,9 ± 1,3	76,0 ± 3,5
	30	78 ± 1	80,4 ± 1,9	79,2 ± 2,1	77,2 ± 1,8	78,8 ± 1,7
	45	74,9 ± 2,4	75,1 ± 2,3	78,1 ± 3,6	72,1 ± 2,7	78,9 ± 2,2
Poliosas (%)	0	16,2 ± 0,2	16,1 ± 0,6	18,7 ± 0,3	17,7 ± 0,5	16,9 ± 0,4
	15	16,5 ± 0,2	17,192 ± 0,003	17,4 ± 0,3	15,5 ± 2,0	17,7 ± 1,
	30	17,78 ± 0,03	17,1 ± 1,6	17,7 ± 0,5	17,4 ± 0,9	17,8 ± 0,3
	45	17,0 ± 0,6	18,3 ± 3,7	17,5 ± 0,5	16,0 ± 0,4	17,4 ± 0,2
Lignina Total (%)	0	5,6 ± 0,2	2,7 ± 0,5	2,9 ± 1,6	1,9 ± 0,7	2,9 ± 0,8
	15	5,1 ± 1,0	2,5 ± 0,3	3,3 ± 0,6	3,4 ± 1,8	2,2 ± 1,1
	30	6,4 ± 3,2	4,8 ± 3,8	3,7 ± 1,9	3,6 ± 1,5	1,96 ± 0,03
	45	5,6 ± 0,2	4,7 ± 0,9	3,0 ± 0,7	3,6 ± 1,3	2,0 ± 0,1

Para pulpaje kraft de madera de pino se han reportado valores de lignina total en la pulpa de 3,3 %, 20,3 % para poliosas y 79,1 % de glucano (Casey, 1980), similares a los encontrados para pulpa kraft de *D. winteri* degradada y sin biodegradar.

#### **4.4.3 Rendimiento pulpable de *D. winteri***

Los valores obtenidos para el rendimiento de pulpa kraft, se presentan en la Tabla 11. Se muestra que el rendimiento total para las pulpas con el factor H menor, parámetro que relaciona el tiempo y la temperatura de reacción del pulpaje kraft en una única variable, no presentan diferencias significativas; para factores H mayores a  $1022 \text{ h}^{-1}$  el rendimiento total es menor en comparación con pulpas de factor H de  $565 \text{ h}^{-1}$ , pero el rendimiento total no presenta variaciones con relación al tiempo de biodegradación de las astillas y presenta valores similares para factores más alto. Esto nos indica que la deslignificación del canelo ocurre con tiempos de cocción cortos y que no es necesario someter las astillas a procesos de cocción demasiado largos, y menos si las astillas son biodegradadas, porque la deslignificación ocurre con mayor facilidad, por los cambios producidos en la morfología de la madera, por acción de los hongos. El porcentaje de rechazos del proceso de pulpaje está en un rango de 2 a 4 % para el factor H menor, valores de 3,9 % han sido reportados para pulpa kraft de canelo (Rodríguez y col., 1998), pero para valores de factor H mayores, el contenido de rechazos en pulpa es igual o menor a 1%. El rendimiento clasificado para la pulpa de madera no biodegradada y de las maderas biodegradadas por 15, 30 y 45 días por *G. australe* no presenta diferencias significativas; para la pulpa de madera no biodegradada el rendimiento clasificado está en el rango de 44,5 a 39, 4%, para el factor H más bajo y para el más alto respectivamente. Para las muestras biodegradadas los valores obtenidos se encuentran entre 42 y 45 % de rendimiento clasificado. El resultado obtenido nos indica que las condiciones del proceso Kraft, al cual fue sometido la madera de *D. winteri* es muy degradativo. Para la pulpa de madera biodegradada, el proceso de deslignificación es más rápido, porque la madera ha sufrido degradación a nivel estructural, por la acción de los hongos, que atacan la madera, en las primeras etapas de la degradación, a través de las punteaduras, facilitando la acción del licor kraft en el pulpaje. Para obtener pulpas kraft de madera biodegradada, con el mismo rendimiento clasificado que las pulpas de madera no biodegradada, pero de menor número kappa, se necesitarían las

mismas concentraciones de reactivos químicos, pero con menor tiempo a temperatura de cocción.

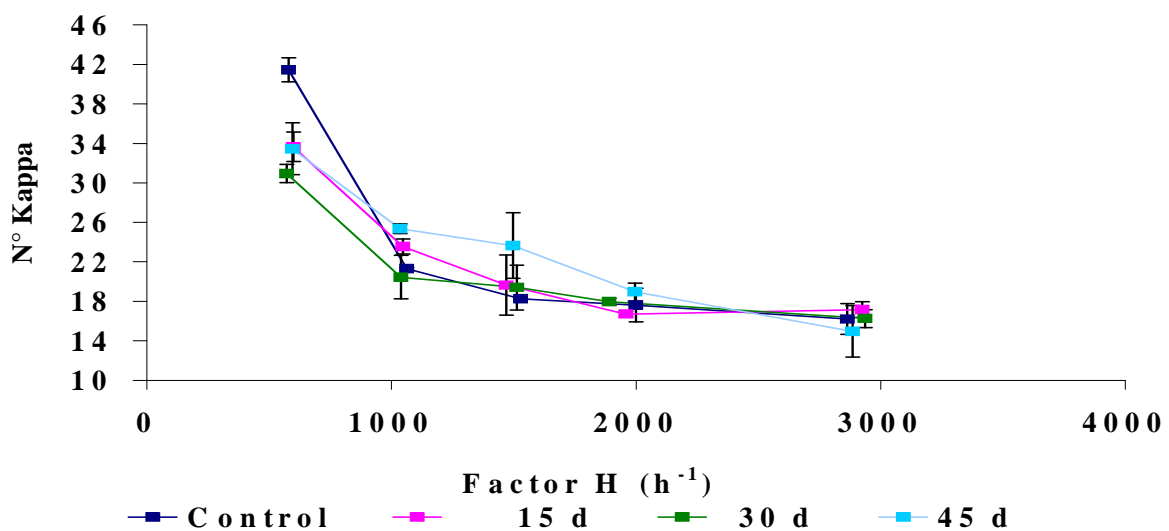


**Tabla 11. Rendimiento total, rendimiento clasificado y rechazos de pulpa kraft de *D. winteri***

Propiedad	Tiempo de Biodegradación (días)	Factor H (h <sup>-1</sup> )				
		565	1022	1480	1937	2852
Rendimiento Total (%)	0	49 <sub>±2</sub>	44 <sub>±3</sub>	43 <sub>±2</sub>	42 <sub>±3</sub>	41,3 <sub>±0,4</sub>
	15	47,9 <sub>±0,2</sub>	44,6 <sub>±0,3</sub>	44,5 <sub>±0,6</sub>	44,2 <sub>±0,8</sub>	42,7 <sub>±0,0</sub>
	30	48,6 <sub>±1,1</sub>	44 <sub>±3</sub>	43,1 <sub>±0,2</sub>	42,7 <sub>±0,4</sub>	43 <sub>±1</sub>
	45	47,4 <sub>±1,4</sub>	46 <sub>±1</sub>	44,5 <sub>±0,3</sub>	44,3 <sub>±0,6</sub>	43 <sub>±1</sub>
Rechazos (%)	0	4,6 <sub>±3,8</sub>	1,0 <sub>±0,7</sub>	0,1 <sub>±0,1</sub>	0,3 <sub>±0,6</sub>	1,95 <sub>±1,87</sub>
	15	4,1 <sub>±2,6</sub>	0,7 <sub>±0,2</sub>	0,02 <sub>±0,03</sub>	0,4 <sub>±0,6</sub>	0
	30	2 <sub>±2</sub>	1,1 <sub>±1,6</sub>	0,6 <sub>±0,8</sub>	0,3 <sub>±0,2</sub>	0,2 <sub>±0,2</sub>
	45	5 <sub>±2</sub>	0,7 <sub>±0,5</sub>	0,5 <sub>±0,5</sub>	1,2 <sub>±0,3</sub>	0
Rendimiento Clasificado (%)	0	44,5 <sub>±1,5</sub>	43,3 <sub>±2,1</sub>	42,8 <sub>±1,5</sub>	41,5 <sub>±3,2</sub>	39,4 <sub>±1,5</sub>
	15	43,9 <sub>±2,8</sub>	43,9 <sub>±0,5</sub>	44,5 <sub>±0,5</sub>	43,8 <sub>±1,3</sub>	42,6 <sub>±0,0</sub>
	30	47,5 <sub>±2,8</sub>	42,8 <sub>±1,1</sub>	42,5 <sub>±0,6</sub>	42,4 <sub>±0,6</sub>	42,7 <sub>±0,9</sub>
	45	42,9 <sub>±0,1</sub>	45,2 <sub>±0,5</sub>	44,1 <sub>±0,2</sub>	43,0 <sub>±0,9</sub>	42,5 <sub>±1,0</sub>

#### 4.4.4 Número kappa

En la Figura 14 se muestra la relación entre el número kappa y el factor H. Para el factor H más bajo (entre 571 y 599  $\text{h}^{-1}$ ), el número kappa de las muestras biodegradadas es más bajo que el de su control; encontrándose reducciones de 19% para la muestra de 15 días de biodegradación y 25 % para las muestras con 30 y 45 días de biodegradación. Estos resultados indican que los efectos de la biodegradación son favorables y distinguibles, a tiempos de cocción menor y con un período de biotratamiento relativamente corto (15 días). Para pulpas con un factor H mayor (entre 1034 y 2936  $\text{h}^{-1}$ ), no se observan diferencias entre el número kappa de la pulpa de la madera sin biodegradar y las pulpas de las maderas biodegradadas, lo que sugiere que la madera de *D. winteri* requiere un tiempo de cocción corto para alcanzar una deslignificación extensiva, por lo tanto el efecto de la biodegradación es poco significativo en pulpas con factores H de más de 600  $\text{h}^{-1}$ . En comparación con resultados de pulpaje kraft de *P. radiata* biodegradado por *C. subvermisporea* en condiciones de cocción de 15% de álcali activo y factor H de 691  $\text{h}^{-1}$ , se obtienen pulpas de mayor número kappa que para las pulpas de *D. winteri*: 49 para la madera no biotratada y 43 para madera biotratada por 15 días (Mendonça y col., 2002). Los resultados para el número kappa para las diferentes pulpas kraft se resumen en el Anexo II.



**Figura 14** .Número kappa en función del factor-H para pulpas de madera de *D. winteri* biodegradadas por *G. australe* y sin biodegradar.

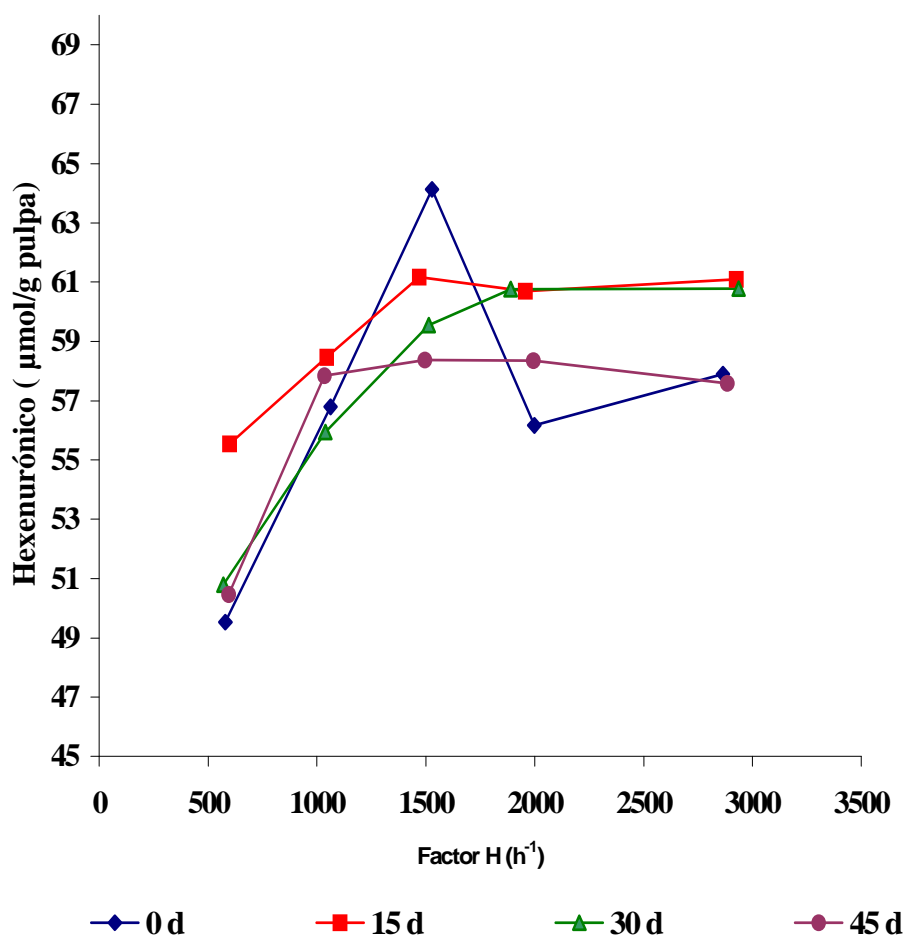
#### 4.4.5 Ácidos hexenurónicos

Los ácidos hexenurónicos afectan la determinación del número kappa por reacción con el permanganato y pueden reaccionar con agentes blanqueadores de la pulpa, por eso en los últimos años han recibido especial atención. Son formados en el pulpaje alcalino a partir de la conversión de ácido 4-O-metilglucoronoxilano a ácido 4-deoxihex-4-enurónico por eliminación  $\beta$  de metanol (Allison, 2000). En la Figura 15, observamos que las pulpas de madera biodegradada presentan un comportamiento similar en relación al contenido de ácidos hexenurónicos, es decir que el contenido de este componente aumenta con el aumento del factor H, sin embargo a partir de un valor de factor H, se mantiene constante la concentración de ácidos hexenurónicos. En relación a la pulpa obtenida de madera no biodegradada, el contenido de ácidos hexenurónicos aumenta sostenidamente hasta un factor H de  $1500 \text{ h}^{-1}$ , y después experimenta una disminución a valores mayores de factor H, comportamiento similar ha sido reportado para pulpa kraft de pino, encontrándose contenidos de ácidos hexenurónicos entre 32,9 y 52,3  $\mu\text{mol/g-pulpa}$ ; para pulpa de Arce (madera dura) los valores reportados se encuentran en un rango entre 62,3-66,2  $\mu\text{mol/g-pulpa}$  (Chai y col., 2001). De acuerdo a estos valores de referencia podemos clasificar a *D. winteri* dentro del grupo de maderas duras, para las que se ha encontrado en pulpa kraft, contenidos de ácidos hexenurónicos hasta dos veces más alto que en las pulpas kraft de maderas blandas. Esto se explica porque las maderas duras contienen una gran cantidad de xilanos en relación con las maderas blandas.

Se observó una relación inversa entre el contenido de ácidos hexenurónicos y el número kappa para las pulpas kraft de *D. winteri*; tanto en las pulpas de madera con y sin biodegradar, a un número kappa más alto, el contenido de hexenurónicos es más bajo, lo que es favorable para el proceso de biopulpaje kraft, porque a tiempos cortos a la temperatura de cocción, y bajo las mismas concentraciones de licor, se obtienen pulpas con menor contenido de ácidos hexenurónicos y menor número kappa, que las pulpas de madera no biodegradada. Este hecho se explica en que la formación de ácidos hexenurónicos se da en función del tiempo de cocción (Chai y col., 2001). Otra evidencia que respalda este resultado, es que las diferencias en la concentración de ácidos hexenurónicos entre las pulpas kraft con un factor H entre 500 y  $3000 \text{ h}^{-1}$  es de 10  $\mu\text{mol/g-pulpa}$  (55-65  $\mu\text{mol/g-pulpa}$ ), mientras que las diferencias en el número kappa de las pulpas corresponden a aproximadamente 25 unidades (41-15 unidades kappa),

siendo la deslignificación más rápida que la formación de ácidos hexenurónicos. No se observó ningún efecto del proceso de biodegradación de la madera por *G. australe*, en la reducción del contenido de ácidos hexenurónicos en pulpa kraft de *D. winteri*.

En el Anexo II, se muestran los resultados del contenido de ácidos hexenurónicos para las diferentes pulpas kraft de *D. winteri* y su relación con el número kappa.



**Figura 15.** Relación entre el factor H y ácidos hexenurónicos para la pulpa de *D. winteri* sin biodegradar y degradadas por *G. australe*



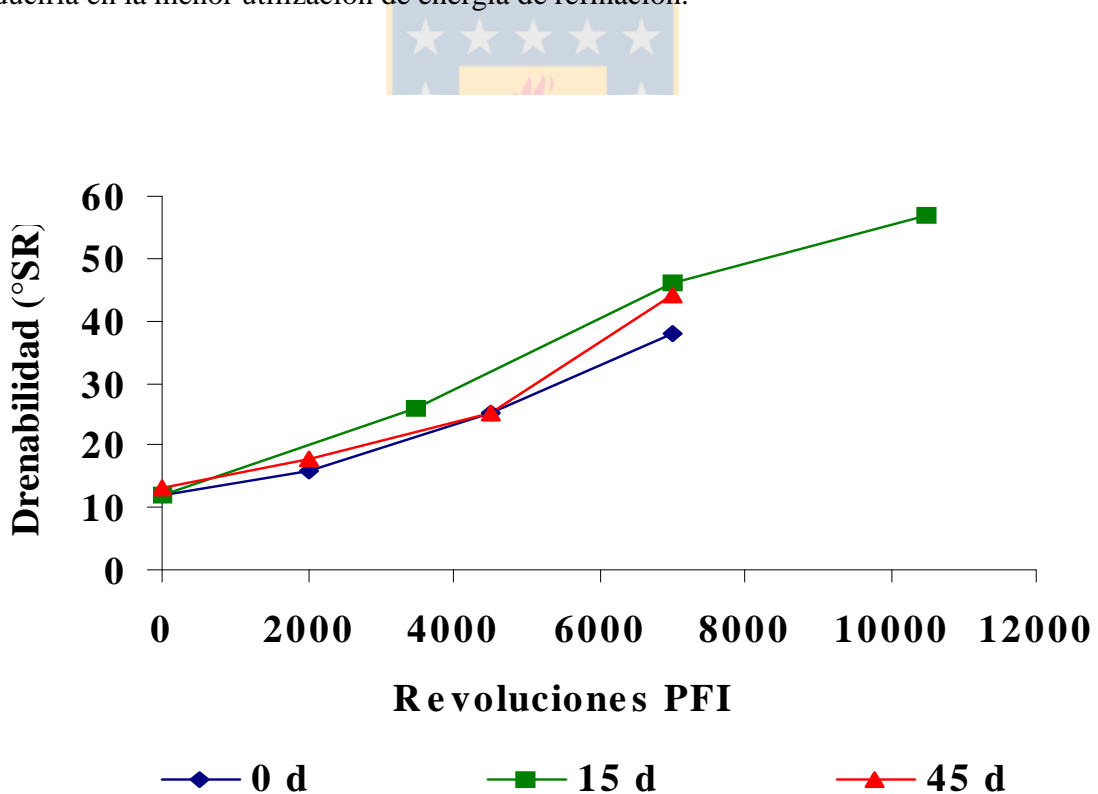
#### 4.4.6 Propiedades físicas-mecánicas y ópticas de las pulpas kraft

Las medidas de pulpa en suspensión, como la resistencia al drenaje, las propiedades físico-mecánicas y ópticas, se utilizan para caracterizar las pulpas, con el objetivo de controlar un proceso de manufacturación o para evaluar su calidad para la fabricación de un producto con determinadas características, de acuerdo con los resultados de sus propiedades medidas en el laboratorio. Para el pulpado químico, las propiedades de la pulpa en suspensión y propiedades de las hojas de papel, dependen en gran medida de la refinación. Las propiedades más importantes de las hojas confeccionadas en el laboratorio, son tradicionalmente presentadas en función de la drenabilidad, que es expresada en número Schopper Riegler (°SR). En el Anexo III se muestran los resultados obtenidos para cada una de las propiedades. Las propiedades físico-mecánicas: drenabilidad e índices de rasgado, tensión y explosión, de las pulpas kraft de *D. winteri* no blanqueadas, se discuten a continuación.



#### 4.4.7 Drenabilidad

En la Figura 16 se muestra la drenabilidad ( $^{\circ}\text{SR}$ ) de la pulpa de *D. winteri*, sin biodegradar y biodegradada por 15 y 45 días por *G. australe*, en función del número de las revoluciones PFI. El número  $^{\circ}\text{SR}$  es directamente proporcional a la resistencia al drenaje de la pulpa en suspensión acuosa. Esta medida depende directamente del número de finos y de la compresibilidad de la pulpa, y se utiliza para describir la fibrilación de las fibras durante el batido. Se puede apreciar que para la pulpa con 15 días de biotratamiento se logra una mayor drenabilidad, con menor número de revoluciones PFI, que para la pulpa de madera sin biodegradar, este efecto es de menor importancia para la pulpa de madera biodegradada por 45 días, por lo que el efecto del tratamiento con *G. australe* en cortos períodos de tiempo sería más favorable desde el punto de vista que la pulpa sería más fácil de refinar, lo que se traduciría en la menor utilización de energía de refinación.



**Figura 16.** Drenabilidad en función del número de revoluciones PFI para las pulpas de *D. winteri*.

#### 4.4.8 Índice de rasgado

La resistencia al rasgado es la medida de la fuerza requerida para continuar el rasgado del papel a partir de un corte inicial en una hoja o en un grupo de hojas. Es altamente dependiente de la orientación de las fibras en el papel. Fibras largas y resistentes proporcionan altos valores de resistencia al rasgado. En la Figura 17 se observa que los valores obtenidos para la resistencia al rasgado son similares para valores de drenabilidad altos. La única diferencia entre las pulpas de madera biodegradada y la no biodegradada se observa a 12 °SR, que corresponde a 0 revoluciones PFI. Los valores de resistencia al rasgado obtenidos para todas las pulpas son similares a los obtenidos para pulpa kraft no blanqueada de *P. radiata*, que fluctúan entre 10,2 y 8,4 mN.m<sup>2</sup>/g, para 16°SR y 31°SR, respectivamente (Raymond y col., 2004); además son similares a los valores obtenidos para pulpaje biokraft de eucalipto con *C. subvermispora*, que corresponden a 7,68 mNm<sup>2</sup>/g, para 35 °SR (Bajpai, y col., 2001). Esto ratifica la calidad de la pulpa biokraft de *D. winteri* para poder utilizarse como opción a la pulpa kraft de pino, con propiedades físicas-mecánicas similares, como el caso de la resistencia al rasgado, porque el comportamiento de sus fibras no se ve afectado negativamente por el biotratamiento con *G. australe*.

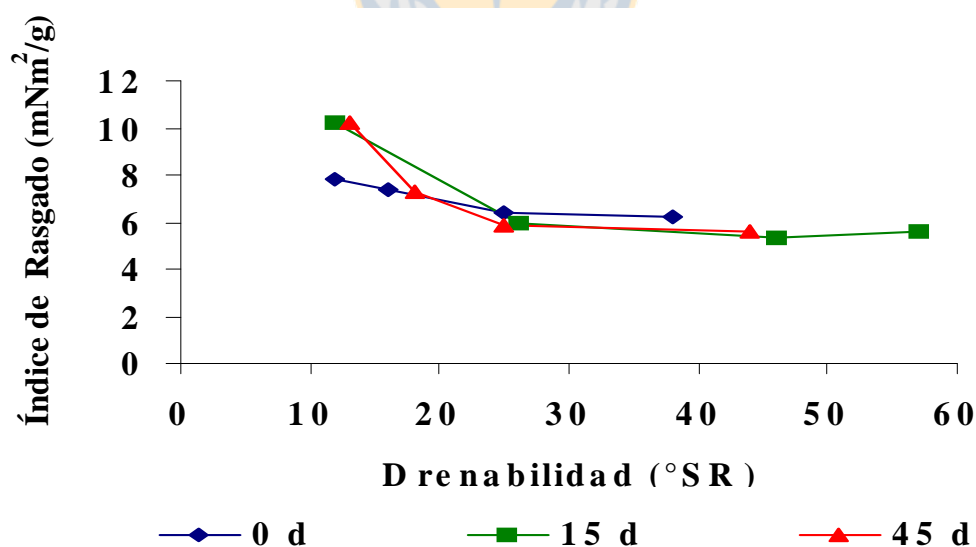
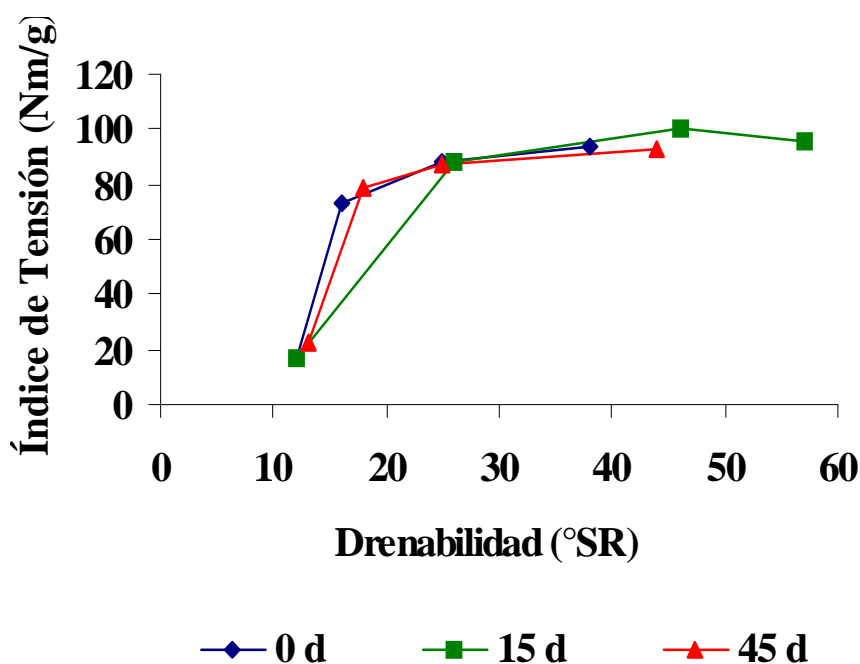


Figura 17. Índice de rasgado en función de la drenabilidad para las pulpas de *D. winteri*.

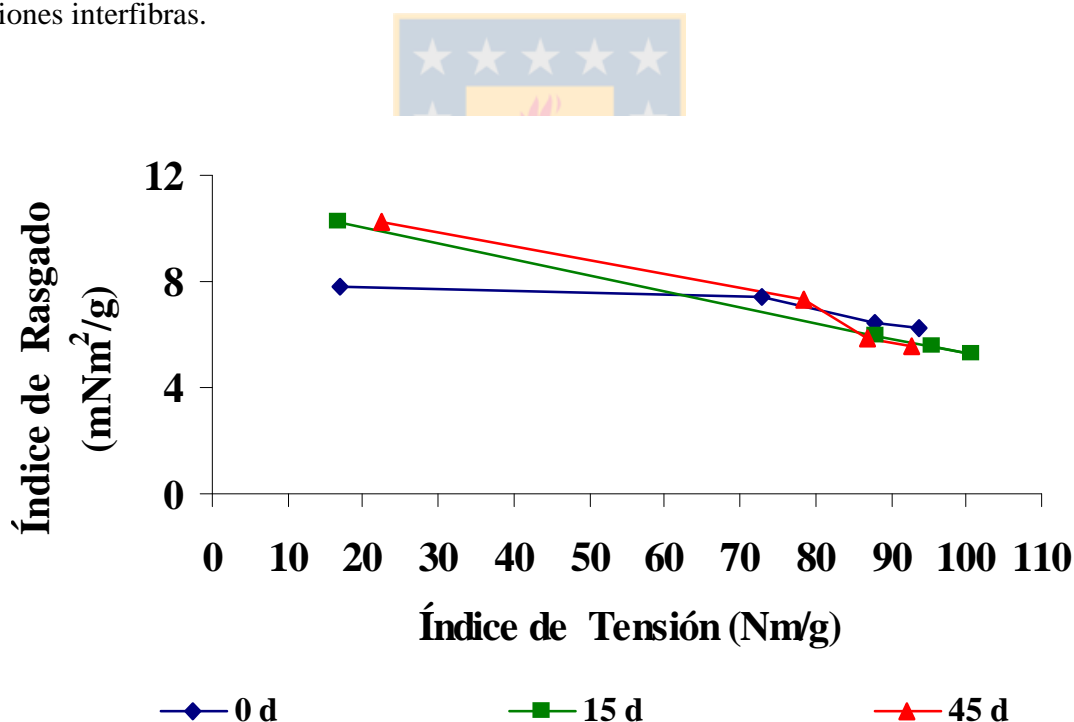
#### 4.4.9 Índice de tensión

Para papeles la resistencia a la tensión es la máxima fuerza por unidad de ancho, que una lámina de papel puede resistir, antes de romperse al aplicar una carga en dirección paralela a la longitud de la lámina. Depende de la resistencia de las fibras, pero en primera instancia del grado de enlace entre las fibras; en pulpas es una característica general para describir la capacidad de enlace entre las fibras. La resistencia a la tensión es un indicador de la orientación de las fibras en el papel. En la Figura 18, se aprecia que no existen diferencias entre las distintas pulpas kraft; la biodegradación de *D. winteri* con *G. australe* no afecta esta propiedad, para los períodos de biodegradación comprendidos entre los 30 y 45 días. El índice de tensión de las pulpas kraft es similar al reportado para pulpa kraft de pino: 80 y 99 N.m/g, para 16°SR y 31° (Raymond, 2004), y superior a pulpa biokraft no blanqueada de eucalipto, que para una drenabilidad de 35 °SR es de 72,3 Nm/g (Bajpai y col., 2001).



**Figura 18.** Índice de tensión en función de la drenabilidad para las pulpas de *D. winteri*.

En la figura 19 se observa la relación inversa que existe entre el índice de rasgado y el índice de tensión para las pulpas kraft de *D. winteri*. Para las pulpas de madera biodegradada el índice de rasgado fue mayor que el de la pulpa de madera no biodegradada, para índices de tensión menores a 60 Nm/g, pero a partir de este punto no se observa diferencia en las pulpas. Dependiendo del uso final que se le de al papel, sería una característica favorable que las muestras de pulpa de *D. winteri* biodegradada presente valores de rasgado mayor a índices de tensión bajos. Para pulpa sulfito alcalino/antraquinona de pino comercial biodegradado por 30 días con *C. subvermispora*, se ha reportado que las pulpas obtenidas de madera biodegradada presentan valores de índice de rasgado en función del índice de tensión, menores en comparación con la pulpa de muestra de pino sin biodegradar (Mendonça, 2002). Podemos señalar entonces que la biodegradación de *D. winteri* con *G. australe*, favorece la relación del índice de rasgado en función del índice de tensión, quizás porque se beneficia el número de uniones interfibras.



**Figura 19.** Índice de rasgado en función del índice de tensión para pulpas kraft de *D. winteri*.

#### 4.4.10 Índice de explosión

La resistencia a la explosión es la máxima presión que el papel puede resistir sin romperse, con la presión aplicada perpendicularmente al plano de una hoja de prueba. Algunas veces se relaciona la resistencia a la explosión con la resistencia a la tensión y elongación del papel. En la Figura 20, no se observan diferencias en el comportamiento de las pulpas kraft para esta propiedad. Para pulpa kraft de pino sin blanquear los resultados obtenidos son de 6.0 y 7.0 kPa.m<sup>2</sup>/g, para 16°SR y 31°SR (Raymond y col., 2004), similares a los encontrados para pulpa kraft de *D. winteri*; para pulpa biokraft de eucalipto, biotratada por dos semanas con *C. subvermispota*, el índice de explosión es más bajo (4,85 kPa.m<sup>2</sup>/g, para 35 °SR).

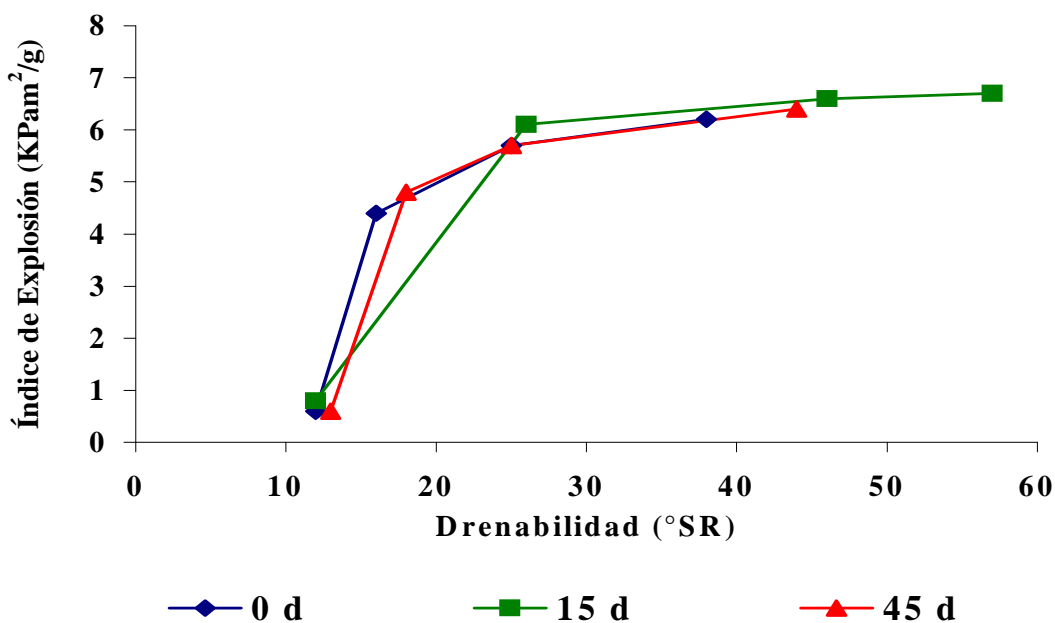


Figura 20. Índice de explosión en función de la drenabilidad para las pulpas de *D. winteri*.

#### 4.4.11 Blancura (ISO)

La medida de blancura es generalmente utilizada en la industria del papel como un valor numérico del valor de reflectancia de una muestra con respecto a la luz azul, de características espectrales y geométricas específicas. La lectura del factor de reflectancia direccional de una muestra de pulpa o papel se realiza a 457 nm. Las medidas de reflectancia de la luz azul son realizadas para proveer una indicación de la cantidad de agentes blanqueadores que deben utilizarse in la manufactura del papel. En la Figura 21 se aprecia que la blancura de las muestras de pulpa son similares a lo largo de la curva de refinación para todas las pulpas, disminuyendo con el aumento en el grado de refinación. La blancura de las pulpas de *D. winteri* son más alta que las encontradas para pulpa kraft de pino que fueron de 13,6 % para una drenabilidad de 16°SR (Raymond y col., 2004) y menores que las reportadas para pulpa biokraft de eucalipto tratada con *C. subvermispora* (15 días), para la cual se obtuvo 29,1 % de blancura, para pulpa con 35 °SR de refinación (Bajpai, 2001).

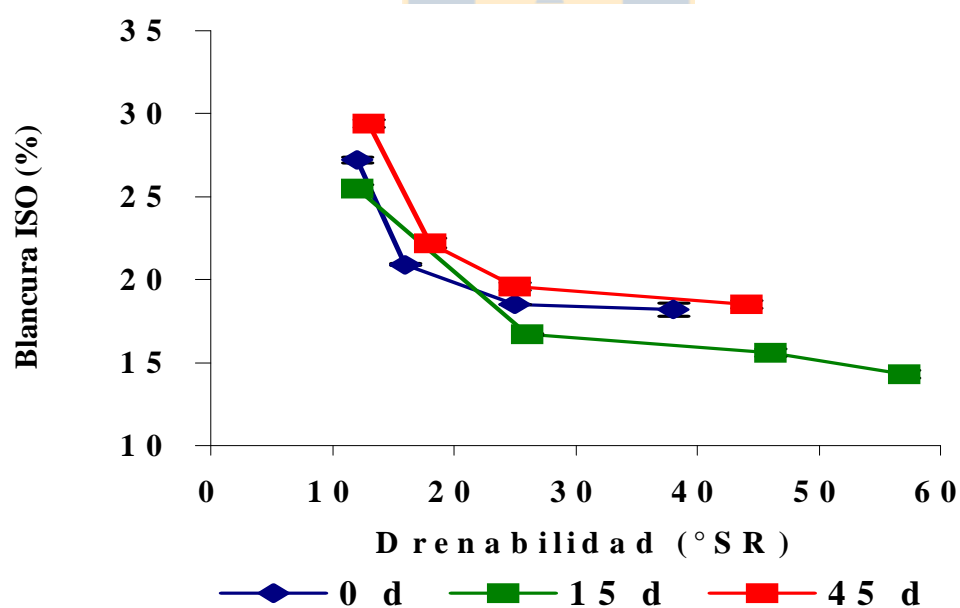


Figura 21. Blancura %ISO en función de la drenabilidad para las pulpas de *D. winteri*

#### 4.4.12 Comparación de las propiedades físicas-mecánicas de pulpas kraft de *D. winteri* a diferentes °SR de drenabilidad.

En la tabla 12 se muestran los valores obtenidos para las propiedades físico-mecánicas de pulpas kraft a 25, 30 y 35 °SR de drenabilidad para pulpas obtenidas de madera biodegradada por 15 días y sin biodegradar. La elección de estas pulpas y no de las pulpas obtenidas de astillas biodegradadas 30 y 45 días, se debe a que no se observaron diferencias significativas para las propiedades estudiadas con relación a la pulpa de astillas con 15 días de biodegradación. Observamos que el número de revoluciones PFI disminuye considerablemente (28%) para la pulpa de madera biodegradada 15 días y con drenabilidad de 25°SR, lo que representaría un ahorro de energía importante para el proceso de refinación, el ahorro de energía sería menor a medida que aumenta el grado de refinación.

**Tabla 12. Propiedades físico-mecánicas y ópticas de pulpas kraft preparadas a un factor H de 585 h<sup>-1</sup> con astillas de *D winteri* sin degradar y biodegradadas.**

	Control	Astillas degradadas por 15 días*
<b>Propiedades de la pulpa a 25°SR</b>		
Revoluciones PFI	4500	3250 (-28%)
Índice de Tensión (N m g <sup>-1</sup> )	88,0	85,3 (-3%)
Índice de Rasgado (mN m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	6,4	6,3 (-2%)
Índice de Explosión (kPa m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	5,7	5,9 (+4%)
Blancura ISO (%)	18,5	17,0 (-8%)
<b>Propiedades de la pulpa a 30°SR</b>		
Revoluciones PFI	5500	4200 (-24%)
Índice de Tensión (N m g <sup>-1</sup> )	90,2	90,6 (+0,4%)
Índice de Rasgado (mN m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	6,3	5,8 (-8%)
Índice de Explosión (kPa m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	5,9	6,2 (+5%)
Blancura ISO (%)	18,3	16,5 (-10%)
<b>Propiedades de la pulpa a 35°SR</b>		
Revoluciones PFI	6425	5075 (-21%)
Índice de Tensión (N m g <sup>-1</sup> )	92,4	98,7 (+7%)
Índice de Rasgado (mN m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	6,2	5,7 (-8%)
Índice de Explosión (kPa m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	6,1	6,3 (+3%)
Blancura ISO (%)	18,3	15,7 (-14%)

\*Números entre paréntesis representan el porcentaje de cambio con relación a la pulpa control.



El índice de tensión presenta una disminución de 3% para una drenabilidad de 25°SR, pero aumenta a medida que se incrementa la drenabilidad y alcanza un aumento de 7% a 35°SR. El índice de rasgado para biopulpa con 25°SR de drenabilidad muestra una disminución de 2% y disminuye su valor a medida que aumenta el grado de refinación. Para el índice de explosión se encontró un aumento entre 3 y 5% para las biopulpas. En relación con el porcentaje de blancura ISO se observa una tendencia a disminuir la blancura con aumentos en la drenabilidad. Estos resultados nos indican que los principales beneficios obtenidos de un proceso de biopulpaje kraft en comparación con el tradicional, sería la disminución considerable de la energía de refinación, dependiendo la disminución de la drenabilidad a la cual se quiere refinar la pulpa; de la misma forma el índice de tensión e índice de explosión presenta mayores valores para las biopulpas con drenabilidades de 30 y 35°SR.



## 5. CONCLUSIONES

- La biodegradación de canelo por *G. australe* fue selectiva en todo el período de biodegradación, siguiendo el orden: extractivos, lignina, poliosas y glucanos. Con relación al contenido de extraíbles, estos compuestos son disminuidos en un 50% a los 15 días de biodegradación, pero a mayores períodos de biodegradación no se observa una disminución progresiva en el contenido de extraíbles, lo que sugiere que *G. australe* los degrada en las primeras etapas de colonización de la madera.
- No se encontró correlación entre el contenido de glucanos, poliosas, extraíbles y lignina con la variación espectral de DRIFT-NIR de las muestras biodegradadas. Es probable que otras propiedades afectadas por el biotratamiento estén correlacionadas con la información espectral obtenida. Además la agrupación espectral de las muestras, indica que no existen agrupaciones particulares de muestras con diferentes períodos de biodegradación, exceptuando las muestras con 5 días de biodegradación.
- El rendimiento clasificado de pulpa kraft para *D. winteri* es similar para las distintas pulpas de astillas biodegradadas y sin degradar, encontrándose entre 39 y 45 %. El porcentaje de rechazos es menor al 1% para las diferentes pulpas, excepto para las pulpas con el factor H de  $565 \text{ h}^{-1}$  que muestra valores de rechazo entre 2 y 5%.
- El número kappa para la biopulpa de astillas biodegradadas 15 días y factor H de  $565 \text{ h}^{-1}$  experimentó una disminución de 19% en comparación con la pulpa control. A mayores factores H las diferencias entre las biopulpas y la pulpa control no presentan variaciones significativas con relación al número kappa, por lo que el efecto de la biodegradación en la disminución del número kappa sólo es importante para pulpas con factores H bajos.
- El contenido de ácidos hexenurónicos encontrados en pulpa kraft de canelo fue de 50-65  $\mu\text{mol/g}$  pulpa, valor que sitúa al canelo dentro del grupo de maderas duras, que poseen concentraciones de ácidos hexenurónicos hasta dos veces mayor, que la encontrada en pulpas de maderas blandas. Se encontró una relación inversa entre el contenido de ácidos

hexenurónicos y el número kappa para todas las muestras de pulpa kraft. Se observa que el contenido de ácidos hexenurónicos aumenta con el incremento del factor H, pero a partir de un factor H de  $1500 \text{ h}^{-1}$ , el contenido de hexenurónicos tiende a mantenerse constante para todas las pulpas.

- Las propiedades físico-mecánicas de las biopulpas kraft presentaron valores similares a las de la pulpa de astillas sin biodegradación. Para la pulpa de astillas de canelo biodegradadas 15 y 45 días, se obtienen una drenabilidad mayor con menor número de revoluciones PFI, lo que es beneficioso para el ahorro de energía de refinación. El mayor ahorro de energía de refinación (28%) se obtiene a una drenabilidad de  $25 \text{ }^\circ\text{SR}$ .



## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agosin E., Blanchette R.A., Silva H., Lapierre C., Cease R.K., Ibach R. E., Abad R. A.A. and Muga P. 1990, Characterization of Palo Podrido, a Natural Proces of Delignification in Wood., Appl. Environ. Microbiol. **56**: 65-74.

Akhtar M.; Kirk T.K. and Blanchette R.A. 1996, Biotechnology in the pulp and paper industry-recent advances in applied and fundamental research: Proceedings of the 6th international conference on biotechnology in the pulp and paper industry; Vienna, Austria: Facultas-Universitätsverlag: 187-192.

Akhtar M., Blanchette Robert A., Kirk K.T. 1997, Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of wood. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology ( Scheper T., Ed.), Berlín, Alemania. **57**: 160-193.

Akhtar M., Blanchette Robert A., Myers G. and Kirk K.T. 1998, An Overview of Biomechanical Pulping Research, ( Young R, Akhtar M, Eds.).Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry. J. Wiley & Sons, New York, USA. p. 309–340.

Allison R.W., Timoneni O., Mcgrouter K.G. and Suckling D.I.1999, Hexenuronic acid in kraft pulps from radiate pine. Appita J. **52**: 448-453.

Baldrian P. 2003, Interactions of heavy metals with white-rot fungi. Enzyme Microb. Technol.**32**:78-91.

Bajpai P., Bajpai P.K., Akhtar M. and Jauhari M.B.2001, Biokraft Pulping of Eucalyptus with Selected Lignin-Degrading Fungi. J. Pulp Pap. Sci. **27**: 235-239.

Barrios R.E.A. 2004. Determinación del diámetro del cilindro central defectuoso en trozas podadas de Pino radiata (*Pinus radiata* D. Don) mediante atenuación de radiación gamma. Tesis para optar al título de Ingeniero Forestal. Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Blanchette R.A., Burnes T.A., Leatham G.F., and Effland M.J. 1988, Selection of white-rot fungi for biopulping. *Coriolus versicolor*, *Scytinostroma galactinum*, *Poria medullapanis*, *Phellinus pini*, *Dichomitus squalens*, *Phanerochaete chrysosporium*. *Biomass* **15(2)**: 93-101.

Blanchette R. A., Abad A. R., Farrell R. L. and T. D. Leathers. 1989, Detection of Lignin Peroxidase and Xylanase by Immunocytochemical Labeling in Wood Decayed by Basidiomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* **55(6)**: 1457–1465.

Biotechnology in The Pulp and Paper Industry: 8<sup>th</sup> ICBPPI 2002, (Viikari, L. and Lantto, R., Eds.). Elsevier, Helsinki, Finlandia.

Chai X.S., Luo Q., Yoon S.H. and Zhu J.Y. 2001, The Fate of Hexenuronic Acid Groups During Kraft Pulping of Hardwoods. *J. Pulp Pap. Sci.* **27**: 403-406.

Chile Forestal. 1998, Experiencia Silvicultural del Bosque Nativo de Chile. Octubre, pp. 61-69. Santiago, Chile.

Dill I. and Kraepelin G. 1986, Palo Podrido: Model for Extensive Delignification of Wood by *Ganoderma applanatum*. *Appl. Environ. Microbiol.*: **52**:1305-1312

Elissetche J.P., Ferráz A., Parra C., Freer J., Baeza J. and Rodríguez J. 2001, Biodegradation of Chilean native wood species, *Drymis winteri* and *Nothofagus dombey*, by *Ganoderma australe*. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* **17**: 577-581.

Enoki A., Itakura S. and Tanaka H. 1997, The involvement of extracellular substances for reducing molecular oxygen to hydroxyl radical and ferric iron to ferrous iron in wood degradation by wood decay fungi. *J. Biotechnol.* **53**:265-272.

Faix O. 1991, Classification of Lignins from Different Botanical Origins by FT-IR Spectrosc. *Holzforschung*, **45**:21-27.

Fardim P, Ferreira M.C.M. and Durán N. 2002, Multivariate Calibration for Quantitative Analysis of *Eucalyptus* Kraft Pulp by NIR Spectrometry. *Wood Chem. Technol.* **22(1)**:67-81.

Fengel D. and Wegner G. 1984, *Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions* (Walter de Gruyter, Ed.). New York, USA.

Ferraz A., Chistov L. and Akhtar M. 1998, Fungal Pretreatment for Organosolv Pulp and Dissolving Pulp Production. *Environmentally Friendly Technologies for the pulp and paper Industry* (Young RA. And Akhtar M., Eds.) USA.

Ferraz A., Rodríguez J., Freer J. and Baeza, J. 2000a, Biodegradation of *Pinus radiata* softwood by white and brown-rot fungi. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* **17**: 31-34.

Ferraz A., Parra C., Freer, J., Baeza, J. and Rodríguez, J. 2000b, Characterization of white zones produced in *Pinus radiata* wood chips by *Ganoderma australe* and *Ceriporiopsis subvermispora*. *W.J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 641-645.

Ferraz, A., Baeza, J. Rodríguez, J. and Freer J. 2000c, Estimating the Chemical composition of biodegraded pine and eucalyptus wood by DRIFT spectroscopy and multivariate analysis *Bioresource Technol.* **74**: 201-212.

Ferraz A., Parra C., Freer J., Baeza J. and Rodríguez J. 2001, Occurrence of iron-reducing compounds in biodelignified "palo podrido" wood samples. *Int. Biodeterioration Biodegradation* **47**: 203-208.

Genco J., Bausayasakul N., Medhora H.K. and Robbins W. 1990, Hemicellulose retention during kraft pulping. *Tappi J.* **5**: 223-233.

Goodell B., Jellison J., Liu J. Daniel G. Paszczynski A., Fekete F. Krishnamurthy S., Jun L. and Xu G. 1997, Low molecular weight chelators and phenolic compounds isolated from

wood decay fungi and their role in the fungal biodegradation of wood. *J. Biotechnol.* **53**: 133-162.

Gutiérrez A., Del Río J.C., Martínez J.M., Martínez A.T. 2001, The biotechnological control of pitch in paper pulp manufacturing. *TRENDS in Biotechnology.* **19**: 340-348.

Hatakka A., Maijala P., Mettala A., Hakala T., Hauhio L. and Ellmén J. 2002, Fungi as potencial assisting agents in softwood pulping (Vilkari L. and Lantto R., Eds.). *International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry (8<sup>th</sup>: 2001: Helsinki, Finlandia)*. Elsevier Science, Holanda.

Highley T.L. and Dashek W.V. 1998, *Biotechnology in the study of brown and white-rot decay* (Bruce A., Palfreyman, J. W., Eds. ). *Forest products biotechnology*. London, Great Britain: Taylor & Francis.

Hofrichter M. 2002. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (Mn). *Enzyme Microb. Technol.* **30**: 454-466.

INFOR-CONAF. 1997, *Monografía de Canelo (Drimys winteri)*. Santiago, Chile, p. 60.

INFOR. 2001, *Investigación y Desarrollo Forestal en la Pequeña Propiedad*. Santiago, Chile, pp. 102-113.

Jensen K., Houtman C., Ryan Z. and Hammel K. 2001, Pathways for extracellular Fenton Chemistry in the brown rot basidiomycete *Gleophyllum trabeum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 2705-2711.

Jiang Z.H., Audet A., Sullivan J. Van Lierop B and Berry R. 2001, A New Method for Quantifying Hexenuronic Acid Groups in Chemical Pulps. *J. Pulp Pap. Sci.* **27**:92-97.

Juacida R., Rodríguez P.S. y Torres U.M. 2002, Composición química, obtención de pulpa Kraft y su evaluación papelera en castaño, ciprés y encino. *Bosque* **23(1)**:125-130.

Kent K. and Cullen D. 1998, *Enzymology and Molecular Genetics of Wood Degradation by White-Rot Fungi* (John Wiley & Sons, Eds.). *Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry*, New York.

Kersten P.J. 1990, Glyoxal oxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: its characterization and activation by lignin peroxidase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 2936-2940.

Kersten P.J., Kalyanaraman B., Hammel K.E., Reinhammar B. and Kirk TK. 1990, Comparison of lignin peroxidase, horseradish peroxidase and laccase in the oxidation of methoxybenzenes. *Biochem J.* 1990 **268(2)**:475-80.

Kirk K.T., Higuchi T., Chang H. 1980, *Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry, and Potential Applications*. (CRC Press, Inc., Ed.). *Library of Congress Cataloging in Publication Data*, USA.

Kirk K.T. and Cullen D. 1998, *Enzymology and molecular genetics of wood degradation by wooddegrading fungi*. (Young, R.A. & Akhtar, M., Eds.). *Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry*, John Wiley & Sons, New York, pp. 273-307.

Kirkpatrick N., Reid D.I., Ziomek E., Ho C. and Paice M. 1989, Relationship between Fungal Biomass production and the Brightening of Hardwood Kraft Pulp by *Coriolus versicolor*. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 1147-1152.

Levy J.F. 1987, The natural history of the degradation of wood. *Phil Trans. R. Soc. Lond. A* **321**: 423-433.

Libby C. E. 1969, *Ciencia y Tecnología sobre Pulpa y Papel* (McGraw- Hill Book Co. Inc., Eds.). New York, USA.



Mardones L. 2003, Pulpaje Biokraft de *Eucalyptus nitens* con el hongo de pudrición blanca *Ceriporiopsis subvermispota*. Tesis para optar al grado de Magister, Universidad de Concepción, Chile.

Melo R., Murcia C, Rivera G., Paz J., Carrasco V. y Torres M. 1976, Pulpa Kraft de Mezclas de Maderas Nativas del Sur de Chile. Estudio Técnico OEA-Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico-Proyecto Multinacional de Celulosa y Papel, Vol. I. Santiago, Chile.

Melo R. y Paz J. 1993, Tecnología de la Celulosa y Papel. Universidad de Concepción, Chile.

Mendonça R., Guerra A., Ferraz A. 2001, Kinetic Study of Isothermal Kraft Delignification of *Pinus taeda* Wood Chips Biotreated by *Ceriporiopsis subvermispota*. 7<sup>th</sup> Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and other wood components, Bello Horizonte, Brazil.

Mendonça R., Ferraz A., Kordsachia O. and Patt R. 2004, Alkaline sulfite/anthraquinone pulping of pine wood chips biotreated with *Ceriporiopsis subvermispota*. J. Chem. Technol. Biotechnol. **79**: 584-589.

Messner K., Masek S. and Srebotnik E. 1993, Techt:: Fungal pretreatment of wood chips for chemical pulping., ( M.Kuwahara, M. Shimada (Eds.). BIOTECHNOLOGY IN THE PULP AND PAPER INDUSTRY: Proceedings of the 5th Intern.Conf. on Biotechnology in the pulp and paper industry, 1992, Kyoto, Japan: Uni Publishers Co. Ltd.

Messner, K. and Srebotnik, E. 1994, Biopulping: an overview of developments in an environmentally safe paper-making technology. FEMS Microbiol. Rev. **13**:351–364.

Messner K., Koller K., Wall B.M., Akhtar M. and Scott G.M. 1998, Fungal Treatment of Wood Chips for Chemical Pulping. Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry (Raymond A. Young and Masood Akhtar, Eds.) Wisconsin, USA.

Moncalvo M.J. 2000, Systematics of *Ganoderma* ( Flood J. , Bridge P.D. and Holderness M., Eds.). CAB International, pp. 23-45.

Otjen L.; Blanchette R.; Effland, M. and Leatham, G.1987, Assessment of 30 white rot basidiomycetes for selective lignin degradation. *Holzforschung*. **41(6)**: 343-349.

Owen L.N. and D.W. Thomas.1989, Infrared Studies of Hard and Soft Woods. *Appl. Spectros.* **43(3)**: 451-455.

Pandey K.K. Q. 1999, Study of Chemical Structure of Soft and Hardwood and Wood Polymers by FTIR Spectroscopy. *J. Appl. Polym. Sci.* **71**: 1969-1975.

Papermaking Science and Technology Series. 1999, Pulp and Papermaking Testing ( Johan Gullichsen and Hannu Paulapuro, Eds.) Helsinki, Finland.

Raymond A.C, Dickson R., Rowell D., Blakemore P., Clark N., Williams M., Freischmid G. and Joe B. 2004, Wood and fibre properties of dryland conifers. Rural Industries Research and Development Corporation, Australia.

Rodríguez R.S, Marco H. y Torres U. 1991, Composición Química y Pulpaje Kraft de Madera de Canelo crecido en la zona de Valdivia. Instituto de Tecnología de Productos Forestales, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Rodríguez R., Mathei O. y Quezada A. 1983, Flora Arbórea de Chile. Editorial de la Universidad de Concepción, pp.133-135.

Rodríguez, S.1998, Antecedentes Tecnológicos de Canelo (*Drimys winteri* Forst.). *Bosque* **19(1)**: 91-99.

Rojas P.M., Pistono B.L. y Bluhm S.E. 1975., Densidad, Largo de Fibra y Composición Química de la Madera de Canelo. Informe Técnico N° 53, Santiago, Chile.

Sarkanen V.K., Chang H. and Allan G.G. 1967, Species Variations in Lignins. Tappi: **50**(12): 583-590.

Srebotnik E. , Messner K., Foisner R. (1988) Penetrability of white rot degraded pine wood by the lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* . Appl. Environ. Microbiol. **54**: 2608-2614.

Srebotnik E., Jensen A.K., Kawai S. and Hammel K. 1997, Evidence that *Ceriporiopsis subvermispora* Degrades Nonphenolic Lignin Structures by a One-Electron-Oxidation Mechanism. Appl. Environ. Microbiol. **63**(11): 4435–4440.

Schultz P., Glasser W. G. 1996, Quantitative Structural Analysis of Lignin by Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Holzforschung*, **40**: 37-44.

Sjostrom E. 1993, *Wood Chemistry Fundamentals and Applications* (Academic Press, Eds.). New York, USA.

Swaney R., Akhtar M., Horn E., Lentz M., Houtman C. and Klungnees J. 2003. Commercialization of Biopulping: An Energy-Saving and Environmentally-Friendly Technology for the Paper Industry. TAPPI Press, 1 CD-ROM, TAPPI Fall Technical Conference: Engineering, Pulping & PCE&I. Atlanta, GA, USA.

Vuorinen T., Fagerstrom P., Buchert J., Tenkanen M. and Teleman A. 1999, Selective Hydrolysis of Hexenuronic Acid Groups and its Application in ECF and TCF Bleaching of Kraft Pulps. *J. Pulp Pap. Sci* **25**:155-162.

Yin L.S. and Dence W.C . 1992, *Methods in Lignin Chemistry* (Yin L.S. and Dence, W.C., Eds.). Springer-Verlag, Berlín, Alemania.

Zabel R.A. and Morrel J.J. 1992, *Wood Microbiology, Decay and Its Prevention*(Academic Press, Inc., Eds.). Library of Congress Cataloging in Publication Data, USA.

**Anexo I**  
**Madera de *D. winteri* Biodegradada por *G. australe***





**Figura 21.** Astillas de *D. winteri*: sin biodegradar.

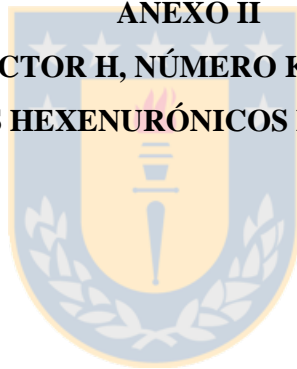


**Figura 22.** Astillas de *D. winteri* biodegradadas 15 días por *G. australe*



**Figura 23 .** Astillas de *D. winteri* biodegradadas 45 días por *G. australe*,  
contenidas en reactor para biodegradación.

**ANEXO II**  
**FACTOR H, NÚMERO KAPPA Y**  
**CONTENIDO DE ÁCIDOS HEXENURÓNICOS EN PULPA KRAFT DE *D. winteri***



**Tabla 13. Factor H de las muestras para pulpaje kraft**

Tiempo aprox. a Temperatura de Cocción (aprox.) min.	Factor H (h <sup>-1</sup> ) Control	Factor H (h <sup>-1</sup> ) 15 d	Factor H (h <sup>-1</sup> ) 30 d	Factor H (h <sup>-1</sup> ) 45 d
30	578.9 ± 0.3	599 ± 24	571 ± 4	595 ± 10
60	1063 ± 41	1046 ± 34	1038 ± 13	1034 ± 2
90	1528 ± 70	1469 ± 21	1512 ± 9	1496 ± 6
120	1999 ± 30	1958 ± 22	1890 ± 30	1994 ± 18
180	2864 ± 15	2925 ± 38	2936 ± 98	2885 ± 73

**Tabla 14. Número kappa, ácidos hexenurónicos y rendimiento clasificado de pulpa kraft de *D. winteri* biodegradada por *G. australe*.**

Componente	Tiempo de Biodegradación de la madera (días)	Factor H (h <sup>-1</sup> )				
		565	1022	1480	1937	2852
Ácidos Hexenurónicos (µmol/g pulpa)	0	49,5 ± 1,3	56,8 ± 1,7	64,1 ± 1,5	56,2 ± 3,7	57,9 ± 4,9
	15	55,5 ± 1,5	58,5 ± 1,7	61,2 ± 1,5	60,7 ± 1,5	61,1 ± 2,2
	30	50,8 ± 0,7	55,9 ± 2,6	59,5 ± 3,8	60,8 ± 1,5	60,8 ± 1,6
	45	50,5 ± 0,9	57,8 ± 5,2	58,4 ± 3,2	58,3 ± 2,0	57,6 ± 3,3
Número Kappa	0	41,5 ± 1,2	21,3 ± 0,1	18,3 ± 0,1	17,6 ± 1,7	16,2 ± 1,6
	15	33,7 ± 1,5	23,6 ± 0,8	19,7 ± 3,0	16,7 ± 0,3	17,2 ± 0,8
	30	31 ± 1	20,5 ± 2,2	19,4 ± 2,3	18,0 ± 0,4	16,3 ± 0,9
	45	33,5 ± 2,6	25,4 ± 0,5	23,7 ± 3,3	19,0 ± 0,9	15,0 ± 2,6

**ANEXO III**  
**PROPIEDADES FÍSICOMENCÁNICAS Y ÓPTICAS DE PULPA KRAFT DE *D. winteri***





**Tabla 15. Propiedades físico-mecánicas de pulpas kraft de *D. winteri* biodegradadas por *G. australe*.**

<b>Tiempo de biodegradación de las astillas de canelo (días)</b>	<b>Revoluciones PFI</b>	<b>Drenaje(°SR)</b>	<b>Volúmen específico(cm<sup>3</sup>/g)</b>	<b>Índice de Explosión (KPam<sup>2</sup>/g)</b>	<b>Índice de Rasgado (mNm<sup>2</sup>/g)</b>	<b>Índice de Tensión(Nm/g)</b>
0	0	12	2,22	0,6	7,8	16,8
	2000	16	1,29	4,4	7,4	73
	4500	25	1,16	5,7	6,4	88
	7000	38	1,12	6,2	6,2	93,7
15	0	12	2,05	0,8	10,2	16,7
	3500	26	1,16	6,1	6	88
	7000	46	1,1	6,6	5,3	100,7
	10500	57	1,09	6,7	5,6	95,2
45	0	13	2,16	0,6	10,2	22,6
	2000	18	1,26	4,8	7,3	78,4
	4500	25	1,16	5,7	5,9	87
	7000	44	1,11	6,4	5,6	92,7

**Tabla 16. Blancura (%) de las pulpas kraft.**

<b>Tiempo de Biodegradación (Días)</b>	<b>Revoluciones. PFI</b>	<b>% de Blancura</b>
0	0	27,2 ± 0,2
	2000	20,9 ± 0,1
	4500	18,5 ± 0
	7000	18,2 ± 0,4
15	0	25,5 ± 0,2
	3500	16,7 ± 0,1
	7000	15,6 ± 0,2
	10500	14,3 ± 0,2
45	0	29,4 ± 0,2
	2000	22,2 ± 0,3
	4500	19,6 ± 0,2
	7000	18,5 ± 0,2

