

DESIGNIFICACIÓN BIOLÓGICA DE PULPAS SODA-AQ DE *Pinus caribaea*, MEDIANTE CEPAS DE *Daedalea elegans* Y OTROS XILÓFAGOS DEL PAÍS.

Rondón María Teresa¹; Mogollón Gladys²; Holmquist Otón³.

RESUMEN

Siete hongos de la pudrición blanca de los bosques venezolanos, colectados e identificados por el personal del Laboratorio de Patología Forestal del Laboratorio Nacional de Productos Forestales (LNPF) de la Universidad de Los Andes (ULA); *Trichaptum tricomallus*, *Daedalea elegans*, *Lenzites erubescens*, *Trametes maxima*, *Trametes scabrosa*, *Trametes versicolor* además de *Phanerochaete chrysosporium* usado como patrón, fueron utilizados para deslignificar pulpas Soda-AQ de *Pinus caribaea*. Las astillas fueron pulpeadas, lavadas, esterilizadas e inoculadas con una suspensión del micelio e incubadas por periodos de 5, 10 y 15 días. El número Kappa se determinó de acuerdo a la norma T-236, con el propósito fundamental de determinar la degradación de la lignina por estos microorganismos, los periodos requeridos para la deslignificación y su posible uso en las industrias papeleras, con la finalidad de obtener pulpas blanqueadas biológicamente y así disminuir el uso de productos químicos.

Palabras clave: Deslignificación, Bioblanqueo, Biodegradación.

¹ Ing. For. MSc. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

² Ing. Quím. MSc. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. U.L.A. Mérida, Venezuela.

BIOBLEACHING OF *Pinus caribaea* SODA-AQ PULP USING WHITE-ROT FUNGI FROM DIFFERENT VENEZUELAN FORESTS

Rondón María Teresa; Mogollón Gladys; Holmquist Otón.

ABSTRACT

Soda-AQ pulps were made from *Pinus caribaea* var. *hondurensis* from Uverito pine plantations, located north of the Orinoco river. Seven white-rot fungi were collected in various venezuelan forests, such as, the venezuelan Guayana and western venezuelan Llanos and were used for delignifying the pulps. Wood chips were pulped, washed, sterilized and inoculated with a mycelial suspension and incubated during 5, 10 and 15, days. Fungi used in this experiment were *D. elegans*, *L. erubescens*, *T. tricomallus*, *D. sprucei*, *T. versicolor*, *T. maxima*, *T. scabrosa*, and *P. chrysosporium*. *P. chrysosporium* was used as control. The kappa number was determined according to norm T-236 to determine the lignin degradation using these fungi, as well as the time required for technique in paper making industries in order to obtain biobleached pulps to decrease the pollution of the environment.

Keywords.- Deslignification, Biobleaching, Biodegradation.

Rondón María Teresa; Mogollón Gladys; Holmquist Otón.

INTRODUCCION

Mediante el avance científico y tecnológico de los últimos años y los requerimientos de nuevas fuentes de materia prima, así como los costos económicos y ambientales que ocasionan muchos de los procesos químicos utilizados en la actualidad por las industrias de pulpa y papel, hacen necesario la aplicación de la biotecnología en estas industrias. El *Pinus caribaea* se considera una de las coníferas más promisorias para proveer materia prima de fibra larga necesaria para la producción nacional de pulpa para papeles de alta resistencia.

La biotecnología nos ofrece una alternativa de mucho interés mediante el uso de agentes de pulpeo biológico como sustitutos, que contribuyan a disminuir los efectos de contaminación ambiental y los costos de obtención de pulpas.

Una de estas alternativas la constituye el uso de hongos descomponedores de la madera, del grupos de los hongos de la pudrición blanca, los cuales en la naturaleza pudren la madera removiendo de ella la lignina que usan para su alimentación dejando casi intacta la celulosa, considerados los más atractivos para la remoción biológica de la lignina residual de las pulpas químicas.

El propósito fundamental de esta investigación es establecer la degradación de la lignina utilizando estos microorganismos, los períodos requeridos de deslignificación y su posible uso en las industrias papeleras, para la obtención de pulpas blanqueadas biológicamente.

Materiales y Métodos

Las astillas de madera de *Pinus caribaea*, fueron seleccionadas, pulpeadas, lavadas y esterilizadas. Las pulpas Soda-AQ fueron inoculadas con 40 ml de suspensión del micelio de cada uno de los hongos, por cada 10 gramos bps de pulpas Soda-AQ de *Pinus caribaea* por un periodo de 5, 10 y 15 días. Los frascos con la pulpa inoculada fueron rotulados y luego colocados en un cuarto climatizado a una temperatura de 26°C y 76% de humedad relativa. Culinados los períodos establecidos se determinó el número Kappa a todas las muestras, según método TAPPI. Una vez obtenidos los resultados preliminares, se procedió a hacer un estudio micológico de las muestras de madera utilizadas para el proceso de pulpeo, para determinar él o los posibles microorganismos presentes en dicha materia prima.

Resultados

Concluidos los períodos establecidos para el ensayo a partir del inicio de la incubación de las pulpas, se procedió a la medición del número Kappa, para determinar el nivel de degradación de la lignina. En la tabla I se presenta los valores del número Kappa para cada uno de los hongos ensayados a los diferentes días de tratamiento y en la tabla II se presenta los valores del porcentaje de deslignificación para cada uno de los períodos de tiempo establecidos.

Tabla I: Valores obtenidos del número Kappa de pulpas Soda-AQ inoculadas con hongos de la pudrición blanca.

		Nº Kappa inicial = 42																	
Hongos	FTT						FDS						FDE						
	1		2		3		1		2		3		1		2		3		
Kappa	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	
5 días	38	38	38	38	37	37	37	37	38	38	37	38	37	38	41	41	39	40	36
10 días	38	39	37	38	38	38	39	39	39	38	37	38	37	37	36	36	35	36	37
15 días	40	40	40	39	38	37	36	37	38	38	38	39	38	37	37	37	37	37	38

DESIGNIFICACION BIOLÓGICA DE PULPAS SODA-AQ DE Pinus caribaea MEDIANTE CEPAS DE Dactyloctenium aegyptium Y OTROS XILOFAGOS DEL PAIS. Rev.For.Lat. 27/00

		N° Kappa inicial = 42						N° Kappa inicial = 40					
		FLE						FTM					
		1		2		3		1		2		3	
Hongos	muestras	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂
Kappa													
5 días		37	39	39	40	37	37	38	38	39	39	36	36
10 días		37	37	38	38	39	39	38	38	40	40	40	40
15 días		39	39	39	39	38	38	40	40	41	40	39	39

		Nº Kappa inicial = 62																
Hongos	FTS						FTV						FPC(patrón)					
	1		2		3		1		2		3		1		2		3	
muestras	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂
Kappa	57	58	58	58	62	62	55	58	57	57	60	60	60	61	60	61	60	61
5 días	57	58	58	58	62	62	55	58	57	57	60	60	60	61	60	61	60	61
10 días	61	61	60	62	62	62	61	61	58	58	62	62	62	62	61	62	61	61
15 días	59	58	61	60	56	60	58	61	60	61	58	56	61	62	59	60	57	58

FTM = *T. maxima*
 FTS = *T. scabrosa*
 FTV = *T. versicolor*
 FPC = *P. chryso sporium*

Tabla II. Resultados obtenidos del porcentaje de designificación para cada uno de los períodos de tiempo establecidos (5, 10 y 15 días de incubación).

5 DIAS DE INCUBACIÓN			
Muestras	Nº kappa	I. Designificación	% Designificación
Sin tratar	42,00	-----	-----
<i>T. trichomallus</i>	37,67	4,33	10,31
<i>D. sprucei</i>	37,50	4,50	10,71
<i>D. elegans</i>	39,00	3,00	7,14
<i>L. erubescens</i>	38,17	3,83	9,12
Sin tratar	40,00	-----	-----
<i>T. maxima</i>	37,67	2,33	5,83
Sin tratar	62,00	-----	-----
<i>T. scabrosa</i>	59,17	2,83	4,57
<i>T. versicolor</i>	57,83	4,17	6,72
<i>P. chrysosporium</i>	60,50	1,50	2,42

10 DÍAS DE INCUBACIÓN			
Muestras	Nº	I.	%
	kappa	Designificación	Designificación
Sin tratar	42,00	-----	-----
<i>T. trichomallus</i>	38,00	4,00	9,52
<i>D. sprucei</i>	38,17	3,83	9,11
<i>D. elegans</i>	36,17	5,83	13,88
<i>L. erubescens</i>	38,00	4,00	9,52
Sin tratar	40,00	-----	-----
<i>T. maxima</i>	39,33	0,67	1,68
Sin tratar	62,00	-----	-----
<i>T. scabrosa</i>	61,33	0,67	1,08
<i>T. versicolor</i>	60,33	1,67	2,69
<i>P. chrysosporium</i>	61,17	0,83	1,34

15 DÍAS DE INCUBACIÓN			
Muestras	Nº kappa	I. Designificación	% Designificación
Sin tratar	42,00	----	----
<i>T. trichomallus</i>	39,33	2,67	6,36
<i>D. sprucei</i>	37,50	4,50	10,71
<i>D. elegans</i>	37,17	4,83	11,50
<i>L. erubescens</i>	38,67	3,33	7,93
Sin tratar	40,00	----	----
<i>T. maxima</i>	39,83	0,17	0,43
Sin tratar	62,00	----	----
<i>T. scabrosa</i>	59,00	3,00	4,84
<i>T. versicolor</i>	59,00	3,00	4,84
<i>P. chrysosporium</i>	59,50	2,50	4,03

En la presente investigación se llevó a cabo un proceso de designificación biológico de pulpas Soda-AQ de *Pinus caribaea*, mediante el uso de siete hongos de la pudrición blanca, ensayados a diferentes días de tratamiento (5, 10 y 15 días de incubación). Obteniéndose valores de número Kappa (tabla I), más o menos constantes en los diferentes períodos de incubación; es decir, que la mayoría de los hongos ensayados no produjeron un grado de designificación significativo.

Por otra parte y según los resultados obtenidos en la Figura 1, la cual refleja el comportamiento del porcentaje de designificación de cada uno de los hongos de la pudrición blanca en relación con los períodos de tiempo de incubación establecidos (5, 10 y 15 días). Se puede observar que el hongo *D. elegans* (FDE) resultó ser el más eficaz de todos los hongos de la pudrición blanca utilizados en esta investigación. Demostrándose de esta manera la eficiencia de designificación del referido microorganismo.

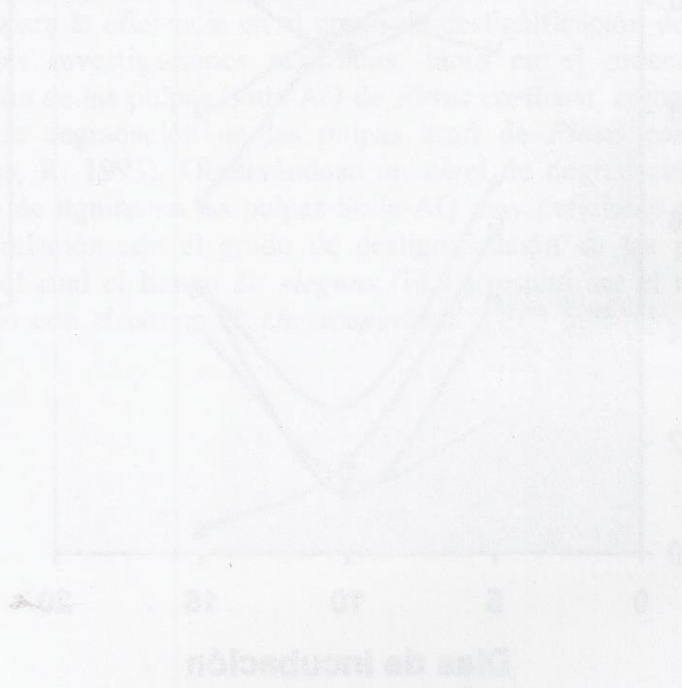
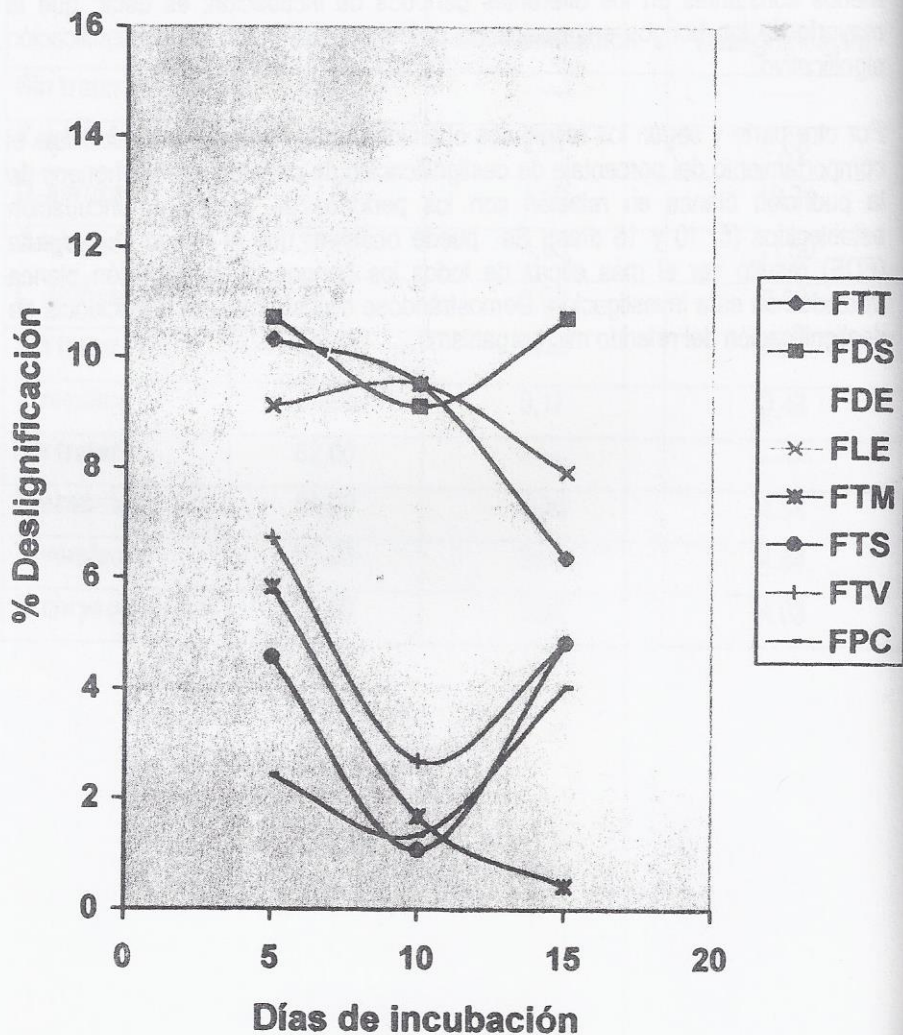


Figura 1. Porcentaje de deslignificación para cada uno de los períodos de tiempo establecidos.



FTT = T. trichomallus

FDS = D. sprucei

FDE = D. elegans

FLE = L. erubescens

FTM = T. maxima

FTS = T. scabrosa

FTV = T. versicolor

FPC = P. chrysosporium

Posteriormente y de acuerdo a los resultados obtenidos en la figura 2, se compara la eficiencia en el grado de deslignificación de cada una de las investigaciones realizadas, tanto en el proceso de degradación de las pulpas Soda-AQ de *Pinus caribaea*, como en el proceso de degradación de las pulpas kraft de *Pinus caribaea* (Cervantes, R. 1993). Observándose un nivel de degradación del contenido de lignina en las pulpas Soda-AQ muy deficiente o muy bajo, en relación con el grado de deslignificación de las pulpas kraft, en el cual el hongo *D. elegans* (FDE) resultó ser el mejor, comparado con el hongo *P. chrysosporium* (FPC) utilizado como patrón.

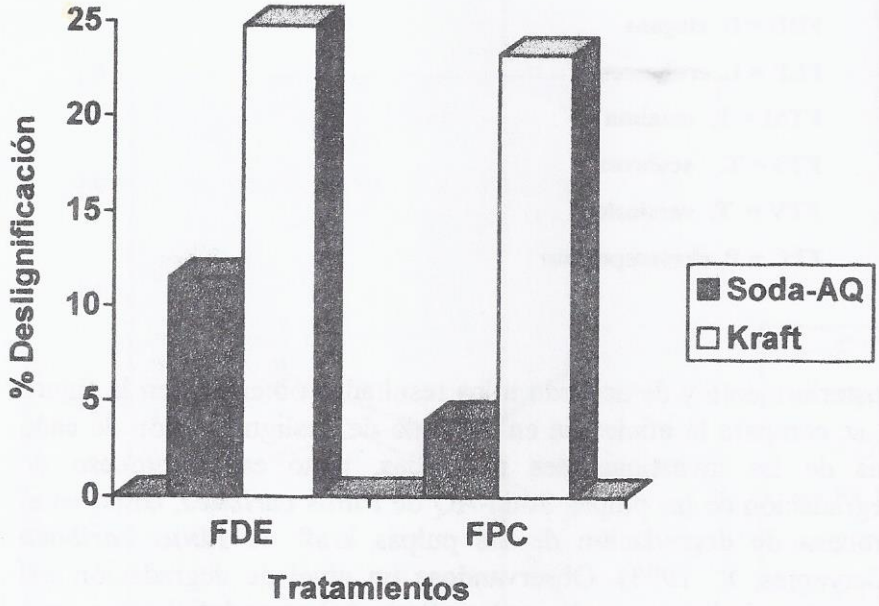


Figura 2. Comparación del porcentaje de designificación entre pulpas Soda-AQ y Kraft utilizando cepas de hongos de la pudrición blanca para 15 días de incubación. Los datos de la pulpa Kraft fueron tomados de Cervantes, R. 1993.

FDE = *Daedalea (Trametes) elegans*

FPC = *Phanerochaete chrysosporium* (patrón)

FDE = *Daedalea (Trametes) elegans*

FPC = *Phanerochaete chrysosporium* (patrón)

Conclusión

Según los resultados obtenidos en la presente investigación, comparados con los resultados de otros procesos llevados a cabo, podemos asumir que las pulpas obtenidas por el proceso Soda-AQ, no son las más adecuadas para ser tratadas con hongos de la pudrición blanca, como agentes de blanqueo biológico usados como sustitutos de los agentes químicos convencionales, sólo cuando se trata de la materia prima fibrosa usada en esta investigación; ya que, de alguna manera el componente químico de antraquinona utilizado en el proceso de pulpeo, pareciera que interfiere con la actividad enzimática llevada a cabo por los hongos asociados o causantes de la pudrición blanca, utilizados en procesos de degradación de lignina de pulpas obtenidas a partir de madera.

No obstante, el medio de cultivo utilizado en otras investigaciones, con adición de otros componentes (nutrientes), para el desarrollo del micelio de los hongos, no es el más correcto para tales tratamientos; ya que uno de los propósitos de dichas investigaciones, es reducir tanto los costos ambientales, como los costos económicos derivados de los procesos de degradación de lignina. Por lo que su aplicación al nivel industrial se vería limitada y por lo tanto ello implicaría un aumento en los costos económicos de producción industrial.

Recomendaciones

Debido al gran interés y logros alcanzados por investigaciones hechas en el área de la biotecnología, especialmente en su aplicación a procesos industriales masivos como lo es la producción y blanqueo de pulpas para papel, así como su posible aplicación para tratamientos adicionales en los efluentes de las fábricas de pulpa y papel, para la degradación de la lignina residual y los productos derivados de la misma durante los procesos de cocción, se hace necesario:

- 1) Continuar con investigaciones de laboratorio utilizando el microorganismo completo *Daedalea elegans*, debido a la problemática ocasionada por el alto costo del aislamiento de enzimas.
- 2) Procesar la materia prima (astillas), lo antes posible, una vez que ha sido extraída de los bosques o plantaciones, evitándose de esta manera una contaminación con microorganismos que puedan inhibir la actividad enzimática de los hongos de la pudrición blanca.
- 3) Estimular el crecimiento del micelio de los hongos, mediante la adición al medio de cultivo de otros componentes (nutrientes) como glucosa, mannososa o arabinosa, que contribuyan a un desarrollo más acelerado del hongo y de esta manera una degradación más rápida de la lignina.
- 4) De acuerdo a los aportes arrojados por esta investigación, se recomienda para posteriores estudios, realizar un análisis micológico a las pulpas obtenidas después del proceso de cocción, como un mecanismo de control, para descartar la presencia de posibles microorganismos contaminantes capaces de producir una acción inhibidora en los agentes de blanqueo biológico (hongos de la pudrición blanca), utilizados como
- 5) sustitutos de los agentes químicos convencionales en los procesos de degradación de lignina residual. También es necesario hacer un mejor acondicionamiento del sitio de trabajo, con el fin de evitar posibles contaminaciones.

Bibliografía.

1. Alexopoulos, C. and Mims, C. 1977. Introducción a la Micología. Editorial Universitaria. Buenos Aires. Argentina. 632 p.
2. Bracamonte, L. 1992. Macromicetes xilófagos de las plantaciones de Pino del Oriente de Venezuela. Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado". Tesis Magister Scientiae. (multigrafiado). Barquisimeto, Venezuela. 123 p.
3. Buswell, J. and Odier, E. 1987. Lignin biodegradation CRC. Critical reviews in biotechnology ISSUE 6: 1-60.
4. Cervantes, R. 1993. Deslignificación biológica de Pulpas Kraft de *Pinus caribaea*, mediante el uso de hongos de Pudrición blanca. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Tesis Magister Scientiae. (mimeografiado). Mérida, Venezuela. 62 p.
5. Colón, P. y García, H. 1981. Progresos Recientes en la Fabricación de Pastas. Ingeniería Química 145(4): 21-34.
6. García, H. y Colon, P. 1996. Avances Recientes en la Tecnología de Pastas Químicas I. Ingeniería Química 323(4): 143-153.
7. Gilbertson, R. and Ryvarde, L. 1987. North American Polypores. Vol. 2. Fungiflora. Oslo, Norway. 746, 747-761, 762.
8. Nezamoleslami, A., Suzuki, K., Nishida, T. and Ueno, T. 1998. Biobleaching of Kenaf bast fiber Soda-AQ pulp using white-rot fungus. Tappi J. 81:179-183.

9. Paice, M., Jurasek, C., Bourbonnais, R. and Archibald, F. 1989. Direct biological bleaching of hardwood Kraft pulp with the fungus *Coriolus versicolor*. Tappi J. 72: 217-221.
10. Vibha, M., Gupta, J. and Jauhario, M. 1992. Biobleaching eucalyptus Kraft pulp with *Phanerochaete chrysosporium* and its effect on paper properties. Tappi J. 75: 151-152.
11. Viikari, L., Kantelinen, A., Poutanen, K. and Ranua, M. 1990. Characterization of pulps treated with hemicellulotic enzymes prior to bleaching. Chapter 13: 145-151. In: Kirk, T., Chang, H. Biotechnology in pulp and paper manufacture applications and fundamental investigations.
12. Zimmermann, W. 1989. The lignin biopolymer products and potential applications of lignin biodegrading systems. *Chimia* 43: 396-403.
13. Zimmermann, W. 1990. Degradation of lignin by bacteria of biotechnology. *Chimia* 13: 119-130.