

Quantificação de ácidos hexenurônicos em polpação biokraft de *Eucalyptus globulus*

Quantification of hexenuronic acids in biokraft pulping of *Eucalyptus globulus*

Autores/Authors*: Regis Mendonça^{1,2}
Claudio Salazar¹
Jaime Rodríguez^{1,2}
Jaime Baeza^{1,3}
Juanita Freer^{1,3}

Palavras-chave: Ácidos hexenurônicos, biopolpação, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Eucalyptus globulus*, polpação kraft.

RESUMO

A biopolpação é o pré-tratamento biológico de cavacos de madeira com fungos degradadores de lignina. O uso desse bioprocessamento na produção de pasta termomecânica apresenta uma série de benefícios, como economia de energia e aumento em propriedades de resistência mecânica das polpas. Em polpação química se obtêm redução no tempo de cozimento e na carga de reagentes químicos durante a produção de polpas de alto rendimento. Neste trabalho, se avaliou o efeito da biopolpação na formação de ácidos hexenurônicos (HexA) durante o cozimento kraft de *Eucalyptus globulus*. Os HexA são formados na polpação alcalina a partir dos ácidos metilglucurônicos presentes nas glucuronoxilanas. Os HexA aumentam o valor do número kappa, o consumo de reagentes de branqueamento e a reversão de alvura das polpas. Cavacos de *E. globulus* foram inoculados com o fungo de degradação branca *Ceriporiopsis subvermispora* por 15 dias a 27°C e 55% de umidade. As polpações kraft dos cavacos não tratados e biotratados foram realizadas com 12% ou 15% de álcali ativo, 25% de sulfidez, relação licor:madeira 5:1, 165°C de temperatura de cozimento e fatores H de até 3000. Dependendo do grau de deslignificação, as biopolpas kraft apresentam rendimento de polpa similar ou com até 4% de aumento e 10% a 40% de diminuição no número kappa em

Keywords: Biopulping, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Eucalyptus globulus*, hexenuronic acids, kraft pulping.

ABSTRACT

Bio-pulping is the biological pretreatment of wood chips with lignin-degrading fungi. The use of this bioprocess in thermomechanical pulp production has several benefits, as energy savings and increase in pulp strength. In chemical pulping, reduction of cooking time and in chemical charge was obtained for production of high-yield pulps. In this work, it was evaluated the effect of biopulping in the formation of hexenuronic acids (HexA) during kraft cooking of Eucalyptus globulus. HexA were formed in alkaline pulping from the methylglucuronic acids present in the glucuronoxylans. The HexA increase the kappa number, the chemical consumption during bleaching and the brightness reversion of pulps. E. globulus wood chips were inoculated with the white-rot fungus Ceriporiopsis subvermispora for 15 days at 27°C and 55% of moisture. Kraft pulping was carried out with untreated and biotreated wood chips with 12% or 15% active alkali, 25% sulfidity, 5:1 liquor:wood ratio, 165°C cooking temperature and H-factor up to 3000. Depending on the delignification degree, kraft biopulps presented similar or up to 4% increase in pulp yield and from 10% to 40% lower amount of

*Referências dos Autores / Authors' references:

- 1 - Laboratório de Recursos Renováveis, Centro de Biotecnología - Universidad de Concepción, Chile. *Laboratório de Recursos Renováveis, Centro de Biotecnología - Universidad de Concepción, Chile;*
 - 2 - Facultad de Ciencias Forestales - Universidad de Concepción, Chile. *Facultad de Ciencias Forestales - Universidad de Concepción, Chile;*
 - 3 - Facultad de Ciencias Químicas - Universidad de Concepción, Chile. *Facultad de Ciencias Químicas - Universidad de Concepción, Chile.*
- Email: rteixeira@udec.cl

comparação com as polpas-controle. A deslignificação com oxigênio das polpas kraft reduz o número kappa em até 55%, mas não tem efeito algum na redução de HexA.

INTRODUÇÃO

Durante a polpação kraft a solubilização de lignina é também acompanhada por dissolução simultânea de extrativos e carboidratos, que são principalmente hemiceluloses (Gullichsen, 1999). Nas madeiras duras as glucuronoxilanas são mais estáveis a degradação em condições alcalinas, mas os ácidos hexenurônicos (HexA) são formados a partir do ácido 4-O-metilglucurônico (MeGlcA) presente como ramificação nas xilanas (Buchert *et al.*, 1995). A quantidade de HexA na polpa depende do tipo de madeira e vários parâmetros de polpação, como a concentração do íon hidroxilo, o tempo e a temperatura de cozimento (Daniel *et al.*, 2003; Pedroso *et al.*, 2003; Johansson e Germgård, 2006). A importância dos HexA para a indústria de celulose e papel é a sua contribuição para o número kappa (sobrestimando a quantidade real de lignina na polpa), reatividade com reagentes de branqueamento (ClO_2 e O_3) e efeito na reversão de alvura do papel (Li e Gellerstedt, 1997; Vuorinen *et al.*, 1999). Entre algumas estratégias para a redução ou eliminação dos HexA estão uma hidrólise ácida suave da polpa antes do branqueamento ou o uso de altas temperaturas durante a primeira etapa de branqueamento com dióxido de cloro (Shackford *et al.*, 2000; Eiras e Colodette, 2003).

A biopolpação é o pré-tratamento de cavacos de madeira com fungos de degradação branca. Esses fungos são capazes de degradar ou modificar a lignina com baixa perda de celulose em condições controladas de biodegradação e em curtos períodos de tempo (normalmente 15 dias) (Guerra *et al.*, 2002). O uso de madeira biotratada reduz a energia requerida durante a polpação termomecânica em até 30% e aumenta as propriedades de resistência mecânica das polpas (Akhtar *et al.*, 1998). Quando aplicado antes da polpação química, o pré-tratamento da madeira com fungos aumenta a velocidade de deslignificação e polpas com número kappa mais baixo podem ser obtidas em períodos mais curtos de tempo ou com menor carga de reagentes do que os utilizados para polpação de madeira não biotratada (Messner *et al.*, 1998; Ferraz *et al.*, 2000; Mendonça *et al.*, 2002). Neste caso, o processo parece ser mais indicado para a produção de polpas químicas de alto rendimento do que polpas branqueáveis de baixo número kappa (Mendonça *et al.*, 2002; 2004).

Em trabalho recente foi mostrado que a polpação biokraft de uma madeira dura chilena, a *Drimys winteri*, com o fungo de degradação branca *Ganoderma australe* gera biopolpas com redução de 25% no número kappa e até 12% menos HexA quando comparadas com polpas provenientes

HexA than control pulps. Oxygen delignification of kraft pulps decreases the kappa number up to 55% but had no effect in HexA reduction.

INTRODUCTION

*During kraft pulping lignin solubilization is also accompanied by the simultaneous dissolution of extractives and carbohydrates that are mainly hemicelluloses (Gullichsen, 1999). In hardwoods, the glucuronoxylan is more stable toward degradation in alkaline conditions but hexenuronic acids (HexA) are formed from the 4-O-methylglucuronic acids (MeGlcA) ramifications of xylans (Buchert *et al.*, 1995). The amount of HexA in the pulp depends of the wood species and several pulping parameters, as the hydroxyl ion concentration, cooking time and temperature (Daniel *et al.*, 2003; Pedroso *et al.*, 2003; Johansson and Germgård, 2006). The importance of HexA for the pulp and paper industry is due to its contribution to the kappa number (overestimating the real amount of residual lignin in pulp), reactivity with bleaching chemicals (ClO_2 and O_3), and effect in brightness reversion of pulp (Li and Gellerstedt, 1997; Vuorinen *et al.*, 1999). Some strategies for HexA reduction or elimination are the mild acid hydrolysis of pulp before bleaching or the use of high temperatures during the first bleaching stage with chlorine dioxide (Shackford *et al.*, 2000; Eiras and Colodette, 2003).*

*Biopulping is the pretreatment of wood chips with white-rot fungi. These fungi were able to degrade or modify lignin with low cellulose loss in controlled conditions of biodegradation and in short periods of time (usually 15 days) (Guerra *et al.*, 2002). The use of the biotreated wood chips reduces the energy requirements during thermomechanical pulping up to 30% and increases pulp strength properties (Akhtar *et al.*, 1998). When applied before chemical pulping, fungal pretreatment of wood increases the delignification rate and pulps with low kappa number can be obtained in shorter cooking time or with lower chemical charge than used for pulping untreated wood (Messner *et al.*, 1998; Ferraz *et al.*, 2000; Mendonça *et al.*, 2002). In this case, the process shows to be more indicated to produce high-yield chemical pulps than bleachable grade low-kappa pulps (Mendonça *et al.*, 2002; 2004).*

*In a recent work, it was showed that the biokraft cooking of a Chilean hardwood, *Drimys winteri*, with the white-rot fungus *Ganoderma australe* produces biopulps with a reduction of 25% in kappa number and up to 12% less HexA as compared with pulps from untreated wood chips (Franco *et al.*,*

de cavacos de madeira não tratada (Franco *et al.*, 2006). No presente trabalho foi avaliado o biotratamento de *Eucalyptus globulus*, a principal espécie de madeira dura utilizada pela indústria chilena de celulose e papel, com o fungo *Ceriporiopsis subvermispora* e seus efeitos na deslignificação e formação de HexA durante a polpação kraft/O₂.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação e biodegradação da madeira

Cavacos de *E. globulus* com 10-12 anos de idade foram obtidos em uma fábrica de celulose localizada na região do Bio-Bio, Chile. Os cavacos foram secos ao ar até um conteúdo de umidade de 12% e armazenados em condições de baixa umidade. Antes da inoculação com o fungo, os cavacos ficaram submersos em água por 16 h. A água residual foi drenada e 2,5 kg (base seca) de cavacos umedecidos foram esterilizados em bioreatores de 20 L a 121°C por 20 min. Um meio de cultivo líquido (200 mL) previamente esterilizado (121°C por 20 min) e composto por 2% (p/v) de extrato de malte e 0,5% (p/v) de peptona de soja foi inoculado com 20 discos (8 mm de diâmetro) de um meio sólido previamente cultivado com *C. subvermispora*. Estes cultivos líquidos foram mantidos sem agitação por 10 dias a 27°C. A massa de micélio crescida foi filtrada e lavada com 300 mL de água esterilizada. O micélio lavado obtido a partir de vários cultivos foi batido em um liquidificador com água esterilizada por 3 ciclos de 15 s. A suspensão de micélio foi utilizada para inocular os cavacos esterilizados utilizando um volume de suspensão correspondente a 500 mg de micélio/kg de madeira seca. Os cavacos inoculados foram incubados a 27°C e 55% de umidade relativa do ar em sala climatizada e mantidos sem agitação por 15 dias. Depois da biodegradação, os bioreatores foram abertos e os cavacos lavados com água para remover o micélio superficial. Os cavacos foram secos ao ar e se utilizou a massa seca inicial e final para determinar a perda de massa devida ao tratamento fúngico. Cavacos não submetidos a degradação foram preparados de forma similar para serem utilizados como amostra-controle.

Composição química da madeira

Aproximadamente 1,5 g de madeira moída (40/60 mesh) foi extraída em Soxhlet com etanol:tolueno 1:2 por 8 h, lavada com etanol e reextraída com etanol 95% por mais 8 h. O conteúdo de extrativos solúveis em etanol:tolueno foi determinado em base a massa seca das amostras antes e depois da extração. As amostras extraídas foram hidrolisadas com ácido sulfúrico 72% (p/p) a 30°C por 1 h (300 mg de amostra e 3 mL de ácido). O ácido foi então diluído com 79 mL de água e a mistura foi autoclavada a 121°C por 1 h. O material residual foi esfriado e filtrado por filtro de vidro com placa porosa número 3. Os sólidos

(2006). In the present work, it was evaluated the biotreatment of *Eucalyptus globulus*, the main hardwood species used by the Chilean pulp and paper industry, with the fungus *Ceriporiopsis subvermispora* and its effects in the delignification and HexA formation during kraft/O₂ pulping.

EXPERIMENTAL

Wood preparation and biodegradation

Wood chips from 10-12 years old *E. globulus* were obtained from a pulp mill located in the Bio-Bio region, Chile. Wood chips were air-dried until 12% moisture and stored in dry conditions. Before fungus inoculation, wood chips were immersed in water for a 16 h period. Residual water was drained and 2.5 kg (dry basis) of moist wood chips were sterilized in 20-L bioreactors at 121°C for 20 min. Liquid culture medium (200 mL) previously sterilized (121°C for 20 min) and composed by 2% (w/v) malt extract and 0.5% (w/v) soybean peptone was inoculated with 20 discs (8 mm in diameter) of *C. subvermispora*-pre-cultured solid medium. These liquid cultures were maintained unshaken for 10 days at 27°C. The grown mycelium mat was filtered and washed with 300 mL of sterilized water. Washed mycelium obtained from several cultures was blended with sterilized water in 3 cycles of 15 s. The mycelium suspension was used to inoculate the sterilized wood chips with a volume of suspension corresponding to 500 mg of fungal mycelium/kg of dry wood. The inoculated wood chips were incubated at 27°C and 55% of relative air humidity in an acclimatized room and maintained unshaken for 15 days. After the biodegradation, the bioreactors were opened and the wood chips were washed with water to remove the superficial mycelium. Wood chips were air-dried and the initial and final dry weights were used to determine weight loss due to fungal biotreatment. Undecayed wood chips were prepared in a similar form to be used as a control sample.

Chemical composition of wood

Approximately 1.5 g of milled wood (40/60 mesh) was extracted in a Soxhlet with ethanol:toluene 1:2 for 8 h, washed with ethanol and re-extracted with ethanol 95% for another 8 h. The ethanol:toluene-soluble extractives were determined based on dry weight of extracted and unextracted wood samples. Extracted wood samples were hydrolyzed with 72% (w/w) sulfuric acid at 30°C for 1 h (300 mg of sample and 3 mL of acid). The acid was diluted with the addition of 79 mL of water and the mixture was autoclaved at 121°C for 1 h. The residual material was cooled and filtered

foram secos a 105°C até massa constante e quantificados como lignina insolúvel. A concentração de lignina solúvel na fração aquosa foi determinada pela medida da absorvância a 205 nm e utilizando o valor de 110 L/g.cm como absorvância da lignina solúvel em ácido. A concentração de açúcares monoméricos no hidrolisado foi determinada por HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Pressão - usando uma coluna BIORAD HPX-87H a 45°C, eluída com 5 mol/L de ácido sulfúrico a 0.6 mL/min. O teor de ácido metilglucurônico foi quantificado nos hidrolisados de madeira utilizando a metodologia proposta por Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973). Em um tubo de ensaio, imerso em banho de água e gelo, se adicionam 1 mL do hidrolisado ácido, 6 mL de uma solução 12,5 mmol/L de tetraborato de sódio em ácido sulfúrico concentrado. O tubo é agitado em um vórtice e colocado em um banho a 95°C por 15 min. A solução é esfriada em um banho de água e gelo e se adicionam 200 mL de uma solução de m-hidróxidifenilo (0,15% em NaOH a 0,5%). Depois de 5 min de reação a absorvância é lida a 520 nm. Para a preparação do branco, o m-hidróxidifenilo é substituído por 200 mL de NaOH a 0,5%. Uma curva de calibração foi preparada utilizando o ácido galacturônico como padrão com concentrações entre 4 e 24 mg/L.

Polpação kraft

As polpas kraft de *E. globulus* foram produzidas por cozimento dos cavacos de madeira não tratada e biotratada em um reator Parr de 1000 mL. Cada cozimento foi realizado com 50 g de cavacos (base seca) e relação licor: madeira de 5:1. A composição do licor branco foi de 12% ou 15% de álcali ativo e 25% de sulfidez (expressos como NaOH). O tempo de cozimento a temperatura máxima (165°C) foi variado para obter diferentes fatores H (500 a 3000) e polpas com diferentes números kappa e conteúdo de ácidos hexenurônicos. As polpas foram desintegradas em um desintegrador de laboratório modelo TAPPI, lavadas abundantemente com água fresca e centrifugadas. O rendimento de polpa total foi determinado com base na massa de polpa seca dividida pela massa seca de cavacos e o resultado multiplicado por 100%. O número kappa foi determinado seguindo o procedimento padrão descrito na norma TAPPI T-236 om-99.

Os ácidos hexenurônicos foram quantificados pelo método proposto por Chai *et al.* (2001). Aproximadamente 50 mg de polpa seca ao ar com conteúdo de umidade conhecido foi colocado em uma ampola de 20 mL contendo 10 mL da solução de hidrólise (0,6% de cloreto de mercúrio e 0,7% de acetato de sódio). O frasco selado foi agitado manualmente e aquecido a 65°C em banho de água por 45 min. A solução foi esfriada a temperatura ambiente, filtrada por um filtro de nitrocelulose (0,22 µm de poro)

through porous glass filter number 3. Solids were dried at 105°C until constant weight and determined as insoluble lignin. Soluble lignin concentration in the aqueous fraction was determined by measuring the absorbance at 205 nm and using the value of 110 L/g.cm as the absorptivity of acid-soluble lignin. The concentrations of monomeric sugars in the hydrolyzate were determined by HPLC using a BIORAD HPX-87H column at 45°C, eluted with 5 mol/L sulfuric acid at 0.6 mL/min. Methylglucuronic acids were quantified in the wood hydrolyzates by using the colorimetric method proposed by Blumenkrantz and Asboe-Hansen (1973). One mL of acid hydrolyzate and 6 mL of 12.5 mmol/L sodium tetraborate in concentrated sulfuric acid were added to a test tube immersed in an ice-water bath. The tube was shaken in a vortex and placed in a water bath at 95°C for 15 min. The solution was cooled in an ice-water bath and 200 mL of m-hydroxydiphenyl solution (0.15% in 0.5% NaOH) was added into the tube. After 5 min of reaction, the absorbance was read at 520 nm. To prepare the blank solution, the m-hydroxydiphenyl was replaced by 200 mL of 0.5% NaOH. A calibration curve was prepared using galacturonic acid as standard in concentrations between 4 and 24 mg/L.

Kraft pulping

E. globulus kraft pulps were produced by cooking the untreated and biotreated wood chips in a 1000-mL Parr reactor. Each cooking was carried out with 50 g of wood chips (dry basis) and 5:1 liquor: wood ratio. White liquor composition was 12% or 15% of active alkali and 25% of sulfidity (expressed as NaOH). Cooking time at maximum temperature (165°C) was varied to achieve different H-factors (500 to 3000) and pulps with different kappa numbers and hexenuronic acid amount. Pulps were disintegrated in a TAPPI laboratory blender, thoroughly washed with tap water and centrifuged. Total pulp yield was determined based on the weight of the pulp divided by the weight of the wood chips (both in dry basis) multiplied by 100%. Kappa number was determined following the standard procedure described in TAPPI test method T-236 om-99.

Hexenuronic acids were quantified by the method proposed by Chai et al. (2001). Approximately 50 mg of air-dried pulp with known moisture content was placed in a 20 mL vial containing 10 mL of the hydrolysis solution (0.6% of mercuric chloride and 0.7% of sodium acetate). The sealed vial was hand shaken for mixing and heated at 65°C in a water bath for 45 min. The solution was cooled to room temperature, filtered by a nitrocellulose filter (0.22 µm pore) and

e se mediu a absorção UV da solução em uma cubeta de sílica com caminho óptico de 10 mm e a dois comprimento de onda, 260 nm e 290 nm. A solução de hidrólise foi utilizada como branco para as medições por UV. O conteúdo de HexA nas polpas foi calculado utilizando a equação: $CHexA = 0,287[(A_{260} - 1,2A_{290})V/w]$; onde $CHexA$ é o conteúdo de ácidos hexenurônicos na polpa ($\mu\text{mol/g}$); 0,287 é o fator de calibração para o método; A_{260} e A_{290} são as absorções a 260 nm e 290 nm, respectivamente; 1,2 é a relação entre a absorção da lignina nos dois comprimentos de onda; V é o volume da solução de hidrólise (mL) e w é a massa seca de polpa utilizada (g).

Algumas polpas com alto (22-26) e baixo (11) números kappa foram selecionadas e submetidas a deslignificação com oxigênio. Isto foi realizado com a polpa a uma consistência de 10%, 2% NaOH (base polpa), 0,5% MgSO_4 (base polpa), 6 kgf/cm^2 O_2 de pressão, temperatura de 90°C e 60 min de reação. Depois da deslignificação as polpas foram lavadas, centrifugadas e o número kappa e conteúdo de HexA foram determinados de acordo com as metodologias descritas anteriormente.

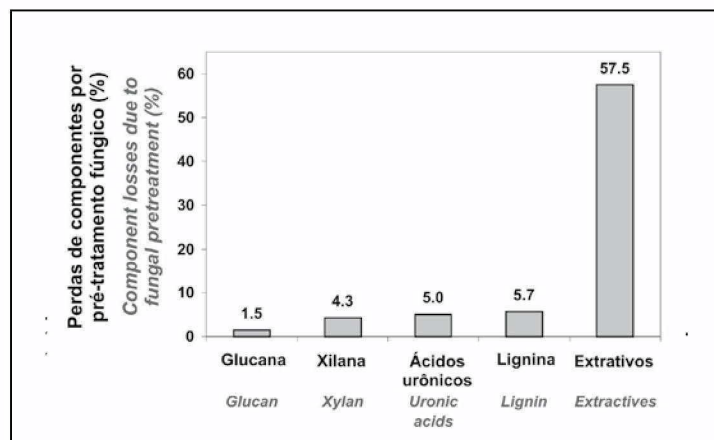


Figura 1. Perda de componentes de *E. globulus* depois de 15 dias de biotratamento por *Ceriporiopsis subvermispota*

Figure 1. Component losses of *Eucalyptus globulus* after 15 days of biotreatment with *Ceriporiopsis subvermispota*

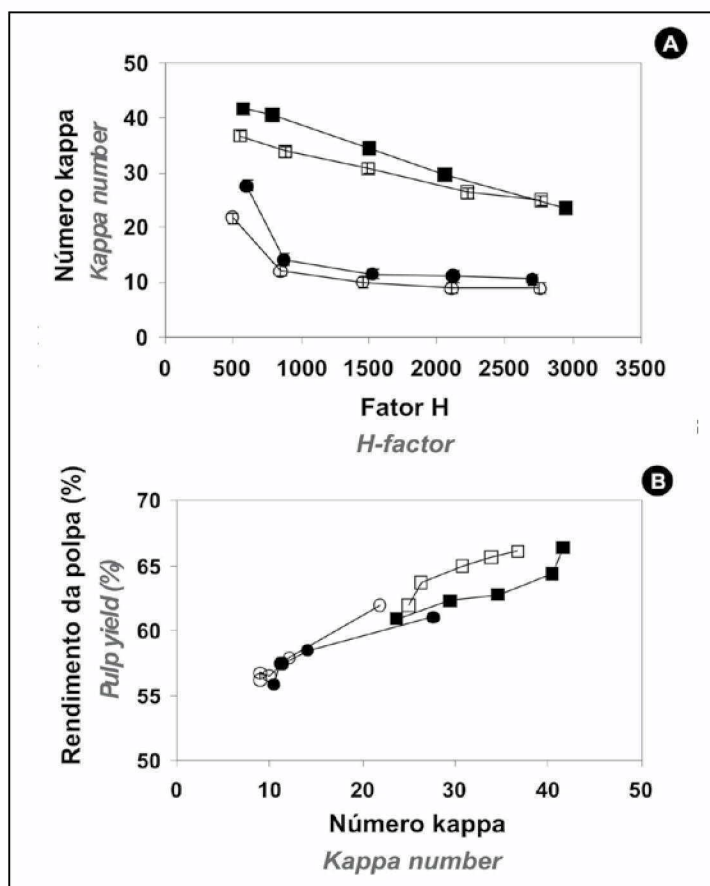


Figura 2. (A) Deslignificação e (B) seletividade da polpação kraft de *E. globulus* com duas concentrações de álcali ativo. 12% AA: (■) controle não degradado e (□) amostra biotratada por 15 dias; 15% AA: (●) controle não degradado e (○) amostra biotratada por 15 dias

Figure 2. (A) Delignification and (B) selectivity of *E. globulus* kraft pulping at two active alkali concentrations. 12% AA: (■) undecayed control and (□) 15-day biotreated sample; 15% AA: (●) undecayed control and (○) 15-day biotreated sample

the UV absorption was measured in a 10 mm path length silica cell at two wavelengths, 260 nm and 290 nm. The fresh hydrolysis solution was used as the blank for the UV absorption measurements. The HexA content in pulp was calculated using the equation: $CHexA = 0.287[(A_{260} - 1.2A_{290})V/w]$; where $CHexA$ is the content of hexenuronic acid groups in pulp ($\mu\text{mol/g}$); 0.287 is the calibration factor for the method; A_{260} and A_{290} are the absorption intensities at 260 nm and 290 nm, respectively; 1.2 is the relationship between the lignin absorption at the two wavelengths; V is the volume of the hydrolysis solution (mL) and w is the oven-dried weight of the pulp sample (g).

Selected pulps with high (22-26) and low (11) kappa numbers were submitted to oxygen delignification. It was carried out with 10% pulp consistency, 2% NaOH (pulp basis), 0.5% MgSO_4 (pulp basis), 6 kgf/cm^2 O_2 pressure, temperature of 90°C and 60 min of reaction. After delignification, pulps were washed, centrifuged and kappa number and HexA amount were determined as described before.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química da madeira não biodegradada (controle) de *E. globulus* foi de 49,9% glucanas, 13,1% xilanas, 25,6% lignina, 4,6% ácido metilglucorônico, 2% grupos acetil e 2,8% extrativos. A perda de componentes de *E. globulus* depois de 15 dias de biotratamento com *C. subvermispora* está mostrada na Figura 1. O fungo degrada preferencialmente lignina (5,7% de perda) com baixas perdas de glucana e xilana (1,5% e 4,3%, respectivamente). A degradação do ácido metilglucorônico foi de 5% e os extrativos foram extensivamente degradados com uma redução de 57,5% em apenas 15 dias de biotratamento.

Os cavacos não tratados e biotratados foram submetidos a deslignificação kraft com duas concentrações de álcali ativo (AA) no licor de polpação, 12% ou 15% e sulfidez de 25% por fatores H entre 500 e 3000. Como efeito do biotratamento, as biopolpas apresentaram uma diminuição de 1 a 5 pontos no número kappa quando comparado com as polpas-controle produzidas a um mesmo fator H e AA (Figura 2A). As biopolpas também apresentaram um ganho de 1-3 pontos no rendimento de polpa para kappa maior que 20. Com baixo número kappa o rendimento de polpa é similar tanto para as polpas-controle quanto para as biopolpas (Figura 2B).

O conteúdo de HexA gerado durante a polpação kraft de *E. globulus* aumenta com a deslignificação e severidade do cozimento (alto fator H e alta concentração de AA) (Figura 3A). A concentração de HexA está na faixa de 8 a 27 mmol/kg polpa e 26 a 47 mmol/kg polpa para cozimentos com 12% e 15% AA, respectivamente, sendo que os valores mais altos são encontrados em polpas aptas para o branqueamento (número kappa menor que 15) (Figura 3B). A um

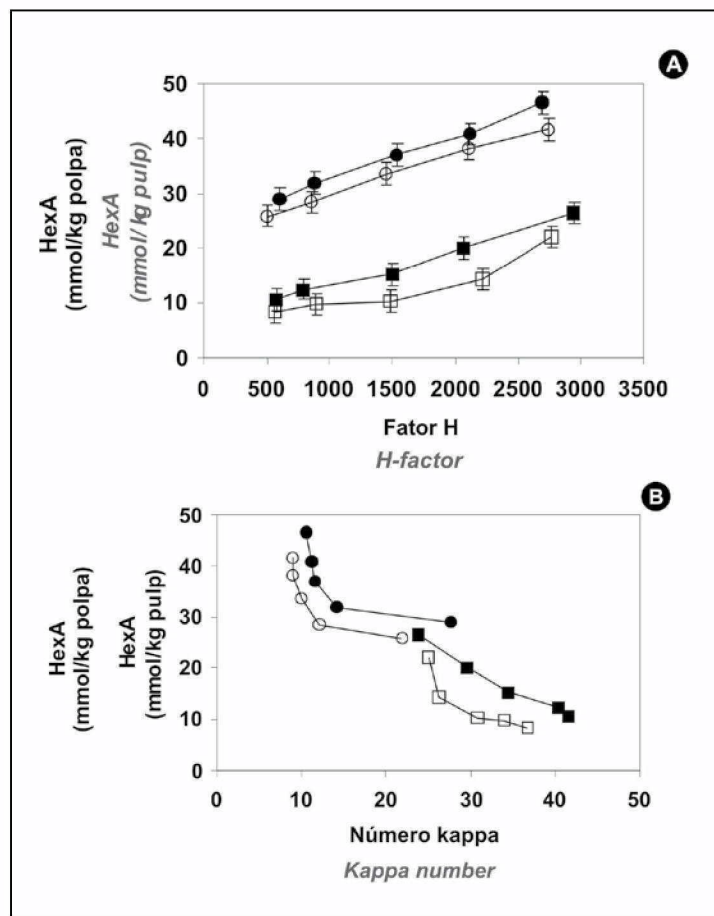


Figura 3. Formação de ácidos hexenurônicos durante a polpação kraft de *E. globulus*. 12% AA: (-■-) controle não degradado e (-□-) amostra biotratada por 15 dias; 15% AA: (-●-) controle não degradado e (-○-) amostra biotratada por 15 dias

Figure 3. Hexenuronic acid formation during kraft pulping of *E. globulus*. 12% AA: (-■-) undecayed control and (-□-) 15-day biotreated sample; 15% AA: (-●-) undecayed control and (-○-) 15-day biotreated sample

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition of undecayed (control) *E. globulus* wood was 49.9% glucan, 13.1% xylan, 25.6% lignin, 4.6% methylglucuronic acid, 2% acetyl groups and 2.8% extractives. Component losses of *E. globulus* after 15 days of biotreatment with *C. subvermispora* are showed in Figure 1. The fungus degrades preferentially lignin (5.7% loss) with low glucan and xylan losses (1.5% and 4.3%, respectively). MeGlcA degradation was 5% and extractives were widely decayed with 57.5% reduction in only 15 days of biotreatment.

Sound and biotreated wood chips were submitted to kraft delignification with two active alkali concentrations

in cooking liquor, 12% or 15% and 25% of sulfidity for H-factors between 500 and 3000. As effect of the biotreatment biopolps presented 1 to 5 points decrease in kappa number, as compared with control pulps produced at same H-factor and AA (Figure 2A). Biopolps also had a gain in pulp yield of 1-3 points for kappa higher than 20. At low kappa numbers, pulp yield was similar for both control and biopolps (Figure 2B).

The amount of HexA generated during kraft pulping of *E. globulus* increases with the delignification and cooking severity (high H-factor and high AA concentration) (Figure 3A). HexA concentration was in the range of 8 to 27 mmol/kg pulp and 26 to 47 mmol/kg pulp for cooking with 12% and 15% AA, respectively, with the highest concentration in bleachable grade pulps (kappa numbers below 15) (Figure 3B). At a same kappa number, biopolps

Tabela 1. Número kappa e conteúdo de HexA em polpas kraft/O₂ produzidas com cavacos de *E. globulus* não tratados e biotratados

*Table 1. Kappa number and HexA amount in kraft/O₂ pulps from untreated and biotreated *E. globulus* wood chips*

	DEPOIS DA POLPAÇÃO AFTER PULPING		DEPOIS DA DESLIGNIFICAÇÃO COM O ₂ AFTER O ₂ DELIGNIFICATION	
	Kappa <i>Kappa</i>	HexA(mmol/kg polpa) <i>HexA(mmol/kg pulp)</i>	Kappa <i>Kappa</i>	HexA(mmol/kg polpa) <i>HexA(mmol/kg pulp)</i>
Polpas-controle <i>Control pulps</i>	26	29	17	29
	11	37	6	36
Biopolpas	22	26	10	27
<i>Biopulps</i>	11	34	6	34

mesmo kappa as biopolpas apresentam entre 10% e 40% menos HexA do que as polpas de cavacos não pré-tratados. A perda de 5% de MeGlcA durante o biotratamento fúngico (Figura 1) poderia ser responsável por parte do decréscimo na quantidade de HexA nas biopolpas, de acordo ao observado em trabalho anterior (Franco *et al.*, 2006).

Polpas e biopolpas kraft com alto (22-26) e baixo número kappa (11) foram submetidas a deslignificação com oxigênio para verificar se algum benefício adicional do biotratamento era observado nesta etapa de pré-branqueamento (Tabela 1). Para as polpas de alto conteúdo de lignina residual, a redução no kappa foi de 35% e 55% para o controle e biopolpas, respectivamente. As polpas de baixo kappa apresentaram resposta similar a deslignificação com oxigênio (45% de diminuição no kappa). De acordo ao já reportado na literatura (Shackford *et al.*, 2000), os HexA não reagem com o oxigênio em meio alcalino e por isso nenhuma redução deste componente foi observada nas polpas-controle e biotratadas (Tabela 1).

CONCLUSÕES

A polpação kraft de cavacos de *E. globulus* biotratados por *C. subvermispota* produz polpas com número kappa mais baixo e rendimento similar ou maior do que os obtidos para polpas de cavacos não biodegradados. De acordo com as condições de cozimento utilizadas, todas as biopolpas apresentaram redução na formação de HexA quando comparadas com as polpas controle, o que é um benefício adicional do tratamento da madeira com fungos de degradação branca. A deslignificação com oxigênio reduz o número kappa pela metade tanto para polpas-controle quanto para biopolpas, mas não tem efeito algum na degradação de HexA.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro de FONDECYT através dos projetos 1050941 e 1050535. ▲

presented 10% to 40% lower amount of HexA than pulps from untreated wood chips. The 5% loss of MeGlcA during fungal biotreatment (Figure 1) could be responsible for part of the decrease of the HexA amount in biopulps, as also observed in a previous work (Franco *et al.*, 2006).

Kraft pulps and biopulps with high (22-26) and low kappa numbers (11) were submitted to oxygen delignification in order to verify if some additional effect of the biotreatment was observed in this pre-bleaching stage (Table 1). For pulps with high residual lignin amount, reduction in kappa was of 35% and 55% for control and biopulps, respectively. Low kappa pulps showed similar response to oxygen delignification (45% reduction in kappa). As previously reported in the literature (Shackford *et al.*, 2000), HexA did not react with oxygen in alkaline medium and no reduction of this component was observed in control and biopulps (Table 1).

CONCLUSIONS

Kraft pulping of *E. globulus* wood chips biotreated by *C. subvermispota* produces pulps with lower kappa number and similar or higher pulp yield than the obtained for pulps from undecayed wood chips. According to the cooking conditions used, all biopulps presented a reduction in HexA formation as compared with control pulps what is an additional benefit of the wood biotreatment with white-rot fungi. Oxygen delignification decreases kappa number by half for both control and biopulps but had no effect on HexA degradation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Financial support from FONDECYT (Grants 1050941 and 1050535) is gratefully acknowledged. ▲

REFERÊNCIAS / REFERENCES

- AKHTAR, M.; BLANCHETTE, R.A.; MYERS, G.; KIRK, K. In *Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry - An overview of biomechanical pulping research*; Young R.A.; Akhtar, M., eds; John Wiley & Sons: New York, USA, 1998; ch 10.
- BLUEMENFRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G. (1973): New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Bioch.* 54:484-489.
- BUCHERT, J.; TELEMAN, A.; HARJUNPÄÄ, V.; TENKANEN, M.; VIIKARI, L.; CHAI, X.; ZHU, J.; LI, J. (2001): A simple and rapid method to determine hexenuronic acid groups in chemical pulps. *J. Pulp Paper Sci.* 27:165-170.
- DANIEL, A.; PASCOAL NETO, C.; EVTUGUIN, D.; SILVESTRE, A. (2003): Hexenuronic acid contents of Eucalyptus globulus kraft pulps: Variation with pulping conditions and effect on ECF bleachability. *Tappi J.* 2:3-8.
- EIRAS, K.M.M.; COLODETTE, J.L. (2003): Eucalyptus kraft pulp bleaching with chlorine dioxide at high temperature. *J. Pulp Paper Sci.* 29:64-69.
- FERRAZ, A.; MENDONÇA, R.; SILVA, F.T. (2000): Organosolv delignification of white- and brown-rotted Eucalyptus grandis hardwood. *J. Chemical Technol. Biotechnol.* 75:18-24.
- FRANCO, H.; FREER, J.; RODRÍGUEZ, J.; BAEZA, J.; ELISSETCHE, J.P.; GUERRA, A.; MENDONÇA, R.; FERRAZ, A. (2002): Characterization of the residual lignins in Pinus taeda biodegraded by Ceriporiopsis subvermispora by using in situ CuO oxidation and DFRC methods. *Holzforschung* 56:157-160.
- GULLICHSEN, J.; FOGELHOLM, C.; *Chemical pulping*, Fapet Oy: Helsinki, 1999.
- JOHANSSON, D.; GERMGÅRD, U. (2006): The relationship between xylan and hexenuronic acid in eucalyptus kraft pulping. *O Papel* 67:84-91.
- LI, J.; GELLERSTEDT, G. (1997): The contribution to kappa number from hexenuronic acid groups in pulp xylan. *Carbohydr. Res.* 302:213-218.
- MENDONÇA, R.; GUERRA, A.; FERRAZ, A. (2002): Delignification of Pinus taeda wood chips treated with Ceriporiopsis subvermispora for preparing high-yield kraft pulps. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 77:411-418.
- MENDONÇA, R. (2006): Kraft pulping of Drimys winteri wood chips biotreated by Ganoderma australe. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 81:196-200.
- MENDONÇA, R.; FERRAZ, A.; KORDSACHIA, O.; PATT, R. (2004): Alkaline sulfite/anthraquinone pulping of pine wood chips biotreated by Ceriporiopsis subvermispora. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79:584-589.
- MESSNER, K.; KOLLER, K.; WALL, M.B.; AKHTAR, M.; SCOTT, G.M. In *Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry - Fungal treatment of wood chips for chemical pulping*; Young R.A.; Akhtar, M., eds; John Wiley & Sons: New York, USA, 1998; ch 12.
- PEDROSO, A.; CARVALHO, M. (2003): Alkaline pulping of portuguese Eucalyptus globulus: effect on hexenuronic acid content. *J. Pulp Pap. Sci.* 29:150-154.
- SHACKFORD, L.; SANTOS, C.A.; COLODETTE, J.L. In *Métodos para remoção de ácidos hexanurônico em polpas kraft de eucalypto*, 33º Congresso Anual de Celulose e Papel da ABTCP, São Paulo, Brazil, 2000; 1-14.
- TELEMAN, A. (1999): Selective hydrolysis of hexenuronic acid groups and its applications in ECF and TCF bleaching kraft pulps. *J. Pulp Paper Sci.* 25:155-162.
- VUORINEN, T. (1995): Effect of cooking and bleaching on the structure of xylan in conventional pine kraft pulp. *Tappi J.* 78:125-130.
- VUORINEN, T.; FAGERSTRÖM, P.; BUCHERT, J.; TENKANEN, M.;