



UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLAS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y
MATERIALES

PROGRAMA DE DOCTORADO EN METALURGIA Y CIENCIAS
DE LOS MATERIALES

MECANISMOS DEL DESTINTADO DE PAPEL MOW EN
COLUMNAS DE FLOTACIÓN, MEDIANTE LA CATÁLISIS
ENZIMÁTICA DE LA CELULOSA DE TRICHODERMA SP

Tesis que para obtener el grado de
Doctor en ciencias en metalurgia y ciencias de los materiales

Presenta:
M.C. Jeovani González Pineda

Director de tesis:
Dr. Ramiro Escudero García

Morelia, Michoacán, Agosto 2020



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO



Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales

Of. Núm. IIMM-ST-007-2020

DR. RAMIRO ESCUDERO GARCIA
DRA. DIANA FABIOLA CHOLICO
GONZALEZ DR. JOSE LUIS RICO CERDA
DR. SALOMON RAMIRO VAZQUEZ
GARCIA DR. FENG RAO WHU
DR. RICARDO MORALES ESTRELLA

Por medio de la presente, me permito comunicar a Ustedes que han sido designados para formar parte de la mesa sinodal que realizará el examen de grado del **M.C. JEOVANI GONZALEZ PINEDA**, quien está inscrito en el programa de Doctorado en Ciencias en Metalurgia y Ciencias de los Materiales. En este contexto, les pedimos hacer la revisión de tesis en tiempo y forma en **25 días hábiles** para culminar a la brevedad posible, pero con la seriedad debida, el proceso de titulación de la estudiante y cumplir con los indicadores que marca el CONACYT para continuar siendo un Programa reconocido como Posgrado Nacional de Calidad

Esperando contar con su valiosa participación, agradecemos la prioridad que en sus actividades le pueda dar a esta importante actividad académica.

Morelia Mich. a 23 de Junio de 2020

Dr. Arnoldo Bedolla Jacuinde
Sub-Director Técnico
Instituto de Investigación en Metalurgia y
Materiales Universidad Michoacana de San
Nicolás de Hidalgo



*Instituto de Investigaciones Metalúrgicas
Universidad Michoacana de San Nicolás de
Hidalgo Edificio "U" Ciudad Universitaria
Morelia Mich. C.P.
58060 México.*

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

“Debemos encontrar tiempo para detenernos y agradecer a las personas que hacen la diferencia en nuestras vidas”. Jonh F. Kennedy

Existen pasajes en la memoria que jamás se borran. Los mejores de estos, son los que merecen la pena evocar. Como el immaculado recuerdo de las personas que han consolidado y adoquinado cada pisada que damos en nuestro caminar y para quienes, cualquier palabra de gratitud, sería insignificante, comparada con la grandeza de su espíritu y el privilegio de coincidir y haber formado parte de su biografía.

Llevo siempre presente los consejos de mi abuela quien, con toda la experiencia y vivencias de sus años, dominaba el arte de la palabra precisa, para cada tesitura que la historia nos presentara. Y sé muy bien que donde esté, sigue alzando la mira y sus manos por mí, agradeciendo como yo, al creador, por cada minuto y logros que la vida me regala. Que sin duda, el mayor y mejor regalo que he tenido, ha sido el de ser padre.

Hija, en fechas que escribo esto, hace 6 años, esperábamos tu llegada. Y de pronto, como si un torbellino hubiese removido el tiempo estancado en mi interior, aparecieron tus ojos diáfanos, tu majestuosidad imponderable, tu mano apretando mi mano, ordenando de un solo tajo los vericuetos del alma.

Ahora sé y agradezco con mayor vehemencia, la incansable labor que mis madres han hecho. Las noches de desvelo y las veces que sin darme cuenta, besaron mi frente e hicieron lo imposible por verme feliz. Sin ellas, ninguna de estas letras serían posibles, fue su tenacidad, su incansable diligencia y amor, lo que me ha forjado el carácter y el obstinado afán de luchar por mis ideales.

A mi esposa, quien conoce con exactitud las peripecias de este cortometraje de la vida, pero que, pese a toda desavenencia, siempre ha sabido sortear con naturalidad, las sombrías andanadas de los malos vientos que tocan puerto. Y con un virtuosismo magistral, direcciona las velas, buscando siempre el norte, donde yacen nuestros objetivos y propósitos de vida.

Un extenso agradecimiento a mi asesor de tesis, sus enseñanzas, experiencias y concesiones otorgadas, han sido pieza fundamental para la realización de este proyecto, pero de igual forma para mi crecimiento personal. Lo valioso de la formación académica, radica en orientar al estudiante hacia un desarrollo de su propia conciencia como elemento importante en la solución de problemas. Es allí donde converge el verdadero aprendizaje integral, del que agradezco haber sido merecedor.

A todos mis hermanos, primos, tíos y amigos; ¡gracias totales! La fortuna que he tenido al contar con todos ustedes, es única, especial e infinita. Su apoyo incondicional en todo momento, demuestran la grandeza y el verdadero valor de la familia y el de la amistad. Las circunstancias, que nos vinculan en este breve periodo de la historia del tiempo, pudieron ser muchas. Y espero haber sido partícipe y cómplice de momentos gratos y experiencias memorables en la bitácora de tu viaje. Espero que la grandeza de tu persona siga contagiando de entusiasmo y alegría el camino de todos los que te rodean. Y espero también, que toda la energía de universo conspira a tu favor y colme de bienestar y felicidad a todo tu mundo.

“Comer bien, dormir bien, es lo de menos.

Pero, soñar lo menos, es afrenta.

No es digno del dolor romper los frenos, tan solo por la vianda succulenta.

Delante de un redil de vientres llenos, prefiero yo, la humanidad hambrienta”. Almafuer

.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
RESUMEN	XII
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1 JUSTIFICACIÓN	4
1.3 OBJETIVOS	5
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS PARTICULARES	5
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	7
2.1 LA CELULOSA Y SU MECANISMO DE HIDROLISIS.	7
2.2 PROCESOS ENZIMÁTICOS	13
2.3 DESCRIPCIÓN GENERAL DEL DESTINTADO CONVENCIONAL.....	14
2.3.1 Pulpeo.....	15
2.3.2 Curado	16
2.3.3 Tamizado y limpieza	16
2.3.4 Flotación.....	17
2.3.5 Lavado.....	18
2.3.6 Dispersión.....	18
2.3.7 Blanqueo	19
2.4 COLUMNAS DE FLOTACIÓN	20
2.4.1 Diseño	21
2.4.2 Operación	21
2.4.3 Zona de colección.....	22
2.4.4 Zona de limpieza	22
2.4.5 Velocidad superficial del aire.....	23
2.4.6 Velocidad superficial del fluido	23
2.4.7 Fracción de gas.....	23
2.4.8 Diámetro de burbuja.....	24
2.4.9 Área superficial de burbuja	26

2.4.10 Tamaño de partícula.....	26
2.5 ACOPLAMIENTO MOLECULAR ENZIMA-CELULOSA.	27
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA.....	30
3.1. CONSTRUCCIÓN DE LA COLUMNA DE FLOTACIÓN Y ARREGLO EXPERIMENTAL.....	30
3.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN EN LA COLUMNA DE FLOTACIÓN.....	32
3.2.1 Experimentos en el sistema agua-aire en la columna de flotación.....	32
3.2.2 Determinación de la tensión superficial (σ , dinas/cm).....	33
3.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA EL DESTINTADO CONVENCIONAL (USO DE NAOH).....	34
3.4 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA EL DESTINTADO ENZIMÁTICO	36
3.4.1 Preparación de la muestra.	36
3.4.2 Pulpeo.....	37
3.4.3 Pretratamiento enzimático.	37
3.4.4 Flotación.....	37
3.4.5 Formación de las hojas.....	38
3.4.6 Evaluación de las propiedades del papel destintado.....	38
3.5 ACERCAMIENTO MATEMÁTICO DE LA INTERACCIÓN DE LA CELULOSA Y LA ENZIMA CELULASA MEDIANTE LA TÉCNICA DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR.	39
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4.1 MODELADO MOLECULAR.....	42
4.2 COLUMNA DE FLOTACIÓN EN UN SISTEMA AGUA-AIRE.....	49
4.3 DESTINTADO CONVENCIONAL	55
4.4 DESTINTADO ENZIMÁTICO	56
4.4 DESTINTADO CON AMINOÁCIDOS	61
5. CONCLUSIONES.....	68
REFERENCIAS.....	71
APÉNDICES.....	76
ANEXO A.....	76
Subrutina para el cálculo del diámetro de burbuja con el software National Instruments LabVIEW.....	76
ANEXO B.....	77

Especificaciones de la Enzima Celulasa	77
ANEXO C.	78
Especificaciones del espumante esencia de pino grado flotación.....	78
ANEXO D.	79
Formación de hojas de papel.	79
ANEXO E	82
Propiedades ópticas: Interacción del papel con la luz	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2. 1 Estructura química de la celulosa [19].....	8
Figura 2. 2 Mecanismos de hidrólisis enzimática de la β -glucosidasa. A. Mecanismo de inversión. B. Mecanismo de conservación [44]	13
Figura 2. 3 Esquema general de la Columna de Flotación.	22
Figura 3. 1 Arreglo experimental utilizado para el destintado de papel tipo MOW.	31
Figura 3. 2 Equipo periférico para medir y controlar los flujos de aire y agua en cada corriente (a) Bomba centrífuga; (b) Rotámetro para líquidos; (c) Rotámetro para gas; (d) Bomba peristáltica.	32
Figura 3. 3 Tensiómetro semiautomático Cole-Parmer para medir la tensión superficial del líquido alimentado a la columna de flotación.	34
Figura 3. 4 Evidencia de la separación de tinta del papel en la columna de flotación y su salida con la espuma por la parte superior de la misma.	35
Figura 3. 5 Diagrama de flujo del proceso experimental de destintado enzimático en la columna de flotación.	39
Figura 3. 6 Estructura molecular de la celulosa (ligando) con 5 monómeros, construido para el estudio de acoplamiento molecular.	40
Figura 3. 7 Geometría inicial del complejo Enzima-celulosa.	40
Figura 4. 1 Energías de acoplamiento con mejor afinidad y/o energía de unión más negativa. ...	42
Figura 4. 2 Geometría del complejo enzima-celulosa con mayor afinidad.	43
Figura 4. 3 Aminoácidos de enlace en la mejor afinidad enzima-celulosa	43
Figura 4. 4 Estructura de la molécula de celulosa.	44
Figura 4. 5 Glutamato (GLU) Estructura 5.-Asparagina (ASN) Estructura. 6.-Tirosina (TYR).	44
Figura 4. 6 Aspartato (ASP) Estructura 8.-Triptófano (TRP) Estructura 9.-Fenilalanina (PHE).	44
Figura 4. 7 a) GLU1, geometría y disposición 1 del complejo GLU-celulosa. b) GLU2, geometría y disposición 2 del complejo GLU-celulosa. c) GLU3, geometría y disposición 3 del complejo GLU-celulosa.	45
Figura 4. 8 a) ASN1, geometría y disposición 1 del complejo ASN-celulosa. b) ASN2, geometría y disposición 2 del complejo ASN-celulosa. c) ASN3, geometría y disposición 3 del complejo ASN-celulosa.	46

Figura 4. 9 a) TYR1, geometría y disposición 1 del complejo TYR-celulosa. b) TYR2, geometría y disposición 2 del complejo TYR-celulosa. c) TYR3, geometría y disposición 3 del complejo TYR-celulosa.....	46
Figura 4. 10 a) ASP1, geometría y disposición 1 del complejo ASP-celulosa. b) ASP2, geometría y disposición 2 del complejo ASP-celulosa. c) ASP3, geometría y disposición 3 del complejo ASP-celulosa.	46
Figura 4. 11 a) TRP1, geometría y disposición 1 del complejo TRP-celulosa. b) TRP2, geometría y disposición 2 del complejo TRP-celulosa. c) TRP3, geometría y disposición 3 del complejo TRP-celulosa.	46
Figura 4. 12 a) PHE1, geometría y disposición 1 del complejo PHE-celulosa. b) PHE2, geometría y disposición 2 del complejo PHE-celulosa. c) PHE3, geometría y disposición 3 del complejo PHE-celulosa.	46
Figura 4. 13 Complejos formados por el aminoácido Asparagina y la cadena de celulosa.	47
Figura 4. 14 Representación de la tensión superficial en función de la concentración del aceite de pino.	49
Figura 4. 15 Efecto de la velocidad superficial del gas sobre la fracción de gas retenido a las diferentes condiciones de flujos de aire alimentado.	54
Figura 4. 16 Efecto de la velocidad superficial del gas sobre el diámetro de burbuja generado... ..	54
Figura 4. 17 Efecto de la velocidad superficial del gas sobre el área superficial de burbujas.	55
Figura 4. 18 Micrografías a 100X de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.....	58
Figura 4. 19 Micrografías a 250X, sitio 1, de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.	58
Figura 4. 20 Micrografías a 250 X, sitio 2 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.	58
Figura 4. 21 Micrografías a 500X, sitio 1 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4	59
Figura 4. 22 Micrografías a 500X, sitio 2 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.	59
Figura 4. 23 Micrografías a 1000X, sitio 1 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.	59

Figura 4. 24 Micrografías a 1000X, sitio 2 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4	59
Figura 4. 25 Micrografías de la pulpa de papel después del pretratamiento enzimático. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.	61
Figura 4. 26 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado enzimático. a) M a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.....	61
Figura 4. 28 Micrografías de la pulpa de papel antes del destintado. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.	66
Figura 4. 29 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 1. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.....	66
Figura 4. 30 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 3. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.....	66
Figura 4. 31 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 5. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.....	67
Figura 4. 32 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 7. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.....	67
Figura 4. 33 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 8. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.....	67
Figura 4. 34 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 9. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3. 1 Parámetros de control del pretratamiento enzimático.	38
Tabla 4. 1 Energías de adsorción en eV, distancias de enlace en Å para los complejos formados.	48
Tabla 4. 2 Medición de la tensión superficial para diferentes mezclas de agua-aceite de pino	49
Tabla 4. 3 Mediciones y variables de control a diferentes flujos de aire para la corrida agua-aire.	50
Tabla 4. 4 Resultados de las variables de control para la corrida agua-aire a diferentes flujos de aire.	53
Tabla 4. 5 Resultados del destintado convencional, con NaOH.....	56
Tabla 4. 6 Parámetros de control del pretratamiento enzimático.	56
Tabla 4. 7 Características ópticas de las hojas destintadas por el medio enzimático.	57
Tabla 4. 8 Parámetros de control del tratamiento con aminoácidos.	62
Tabla 4. 9 Resultados de las mediciones de las características ópticas de las hojas de papel destintado con aminoácidos.....	63

RESUMEN

El uso de las fibras secundarias provenientes de procedimientos de destintado de papel se ha incrementado en las últimas décadas, aunque por su baja calidad éstas se utilizan principalmente como materia prima para fabricar cartones de embalaje, papel periódico y otros tipos de papel que no requieran rigurosas calidades ópticas y mecánicas.

Las serias afectaciones ambientales, provocadas por la drástica reducción de la masa forestal y una inexistente cultura de reforestación, determinan la urgente necesidad de reducir el uso indiscriminado de materiales celulósicos vírgenes y consecuentemente, desarrollar nuevas alternativas biotecnológicas, para aumentar su ciclo y grado de reutilización.

Algunos tipos de papel con tintas especiales provenientes de impresiones laser que usan los llamados “toner” o tintas a base de metales pesados (Ti, Cr, Ni, Fe, entre otros), son difíciles de destintar y el papel final contiene bastantes puntos negros de partículas de tinta. En el caso de la fabricación de papel de calidad para oficina, utilizando papel reciclado, el porcentaje de adición de éste rara vez sobrepasa el 10% y el resto es celulosa virgen, proveniente de la tala de árboles.

En el destintado tradicional de papel, se utiliza como agente hidrolizante de las tintas, el hidróxido de sodio (NaOH), en concentraciones que fijan el pH del medio en valores mayores de 10, sin embargo, se crean cantidades sustanciales de residuos sólidos y líquidos, siendo su manipulación problemática y peligrosa.

Recientemente la implementación de tratamientos biotecnológicos, por ejemplo el destintado enzimático, se presenta como una opción para el destintado de impresiones mixtas de oficina a pH neutro; es decir, con el uso mínimo de reactivos químicos y por lo tanto, mejor manejo de residuos y el menor impacto ambiental.

Este trabajo de investigación tiene el objetivo principal de estudiar el mecanismo de hidrólisis, desprendimiento y captura de tinta en el sistema burbuja-enzima-tinta, durante el destintado de papel de oficina tipo MOW (Mixed Office Waste), utilizando una columna de flotación de laboratorio. Se empleó la enzima *Cellulase Trichoderma sp.*

Se simuló matemáticamente el acoplamiento molecular de la enzima y la celulosa para establecer e identificar los aminoácidos de la *endo-β-1,4-D-glucanasa* en este acoplamiento, responsables de la hidrólisis de la celulosa.

Para comparar la eficiencia de destintado de papel de oficina mediante enzimas, adicionalmente se realizaron experimentos de destintado de acuerdo al procedimiento tradicional que utiliza hidróxido de sodio. La calidad de las fibras destintadas mediante la medición de sus propiedades ópticas (blancura, reflectancia, opacidad, puntos negros y tonalidad), se llevó a cabo en el laboratorio de la Industria papelera Bio Papel Scribe S.A. de C.V., que se ubica en la ciudad de Morelia, Michoacán, México.

Las variables operativas de la columna de flotación se establecieron mediante experimentos en el sistema agua-aire y adicionando 100 ppm de aceite de pino como surfactante (tensión superficial del líquido en 56.6 dinas/cm). El flujo superficial de aire se fijó en 1.27 cm/s (6 LPM) y el de alimentación de la pulpa en 0.88 cm/s.

Los resultados experimentales muestran la factibilidad de reciclar papel de oficina tipo MOW mediante el uso de la enzima celulasa *Endo-β-1,4-D-glucanasa* y de los aminoácidos Aspartato, Glutamato y Asparagina; estos últimos, individualmente y mezclados. Las propiedades ópticas de las hojas de papel formadas con la celulosa destintada por este procedimiento, resultaron mejores que las mismas propiedades evaluadas a hojas de papel conformadas con fibras de papel reciclado y destintado mediante el procedimiento tradicional.

Para el caso del uso combinado de los tres aminoácidos la blancura ISO es de 90.8%, 303.4 ppm de puntos negros, reflectancia de 47.1% y 89.5% de opacidad. Por el procedimiento tradicional la blancura reportada es de 80.2%, la reflectancia de 57.4%, y la opacidad de 99.6%.

Palabras clave: reciclado, papel, destintado, enzimas, aminoácidos.

ABSTRACT

The use of secondary fibers from paper deinking processes has increased in recent decades, although due to their quality, they are mainly used as raw materials to manufacture packaging cartons, newsprint and other types of paper that do not require rigorous mechanical and optical qualities.

The serious environmental effects, caused by the drastic reduction of the forest mass and a non-existent reforestation culture, determine the urgent need to reduce the indiscriminate use of virgin cellulosic materials and consequently, develop new biotechnological alternatives, to increase their cycle and degree of reuse.

Some types of paper with special laser printing inks that use the so-called "toner" or inks based on heavy metals (Ti, Cr, Ni, Fe, among others), are difficult to deinking and the final paper contains enough blacks. Ink particle stains. In the case of the manufacture of quality office paper, using recycled paper, the addition percentage of this rarely exceeds 10% and the rest is virgin cellulose, derived from deforestation.

In traditional paper pulp deinking, sodium hydroxide (NaOH) is used as a hydrolyzing agent for fibers in concentrations that set the pH of the medium to values greater than 10; however, substantial amounts of solid and liquid waste are created, and their management is problematic and dangerous.

Recently, the implementation of biological treatments, for example, enzymatic deinking, is presented as an option to deink mixed office prints at neutral pH; that is, with the minimum use of chemical reagents and, therefore, better waste management and less environmental impact.

The main objective of this research work is to study the mechanism of hydrolysis, detachment and ink capture in the bubble-enzyme-ink particle system, during the deinking of office paper type MOW (Mixed Office Waste), using a laboratory column flotation. The cellulase enzyme *Trichoderma sp.* was used.

The molecular coupling of the enzyme and cellulose was mathematically simulated to establish and identify the amino acids of endo- β -1,4-D-glucanase in this coupling, responsible for the hydrolysis of cellulose.

To compare the deinking efficiency of office paper using enzymes, deinking experiments were performed according to the traditional procedure using sodium hydroxide. The quality of the deinked fibers by measuring their optical properties (whiteness, reflectance, opacity, black spots and tonality) was performed in the Laboratory of the Paper Industry Bio Papel Scribe SA de CV, located in the city of Morelia, Michoacán, México.

The operational variables of the flotation column were established through experiments in the water-air system and adding 100 ppm of pine oil as a surfactant (surface tension of the liquid in 56.6 dynes / cm). The superficial air flowrate was set at 1.27 cm / s (6 LPM), whereas the pulp feed flow rate was 0.88 cm / s.

The experimental results show the feasibility of recycling MOW-type office paper by using the enzyme cellulase Endo- β -1,4-D-glucanase and the amino acids Aspartate, Glutamate and Asparagine; the latter, individually and mixed. The optical properties of the sheets of paper formed with the cellulose deinked by this procedure, were better than those evaluated to sheets of paper formed with fibers of recycled and deinked paper by the traditional procedure.

In the case of the combined use of the three amino acids, the ISO whiteness is 90.8%, 303.4 ppm of black spots, reflectance of 47.1% and 89.5 of opacity. By the traditional procedure, the reported whiteness is 80.2%, the reflectance is 57.4%, and the opacity is 99.6%.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

La apremiante necesidad de producir y crecer como civilización con un enfoque sustentable, es un tema de conciencia y cuestiones éticas. Más allá de esto, es un requisito ineludible para operar en todos los sectores y giros industriales.

Entre la inmensa variedad de tecnologías que promueven un desarrollo sostenible, la biotecnología ha tomado un lugar importante en varios campos, tales como: producción de alimentos, materias primas renovables, prevención de polución, producción de papel, etc. El empleo de bioproductos ha tenido un considerable impacto en términos de la reducción de desechos y ahorro en consumo de energía.

Durante décadas el empleo de fibras secundarias ha aumentado considerablemente, y el destintado es una etapa importante en el reciclado de fibras. Los destintados convencionales utilizan una gran cantidad de reactivos químicos los cuales requieren costosos sistemas de tratamiento de aguas residuales. En la búsqueda de superar estas desventajas, se han implementado tratamientos biológicos y más específicamente destintado enzimático el cual ha tenido un fuerte interés debido a su alta eficiencia y bajo impacto ambiental [1].

El papel recuperado es principalmente empleado como materia prima para fabricar cartones de embalaje, producción de periódico y muchos otros tipos de papel. Este tipo de materia prima de bajo costo puede llegar a convertirse en productos de buena calidad por medio del destintado. Sin embargo, algunos tipos de papeles con tintas especiales son difíciles de destintar. Siendo la causa de bajos niveles de blancura, y algunos tipos de tinta como la “tónér” tienden a provocar puntos negros en las pulpas [2].

La dificultad de la remoción de tintas depende principalmente del tipo de tinta, del proceso de impresión y del tipo de fibra. Algunos tipos de papeles como los periódicos, impresos con tintas a base de aceite, pueden ser destintados relativamente fácil por destintado convencional. Papeles con impresiones de no impacto (impresión xerográfica, impresión láser) son más difíciles de destintar y la cantidad de este tipo de papeles aumenta su proporción dentro del crecimiento de papeles

reciclad. Similarmente las tintas con colores entrecruzados provenientes de la litografía Offset son igualmente difíciles de remover. Periódicos con impresiones flexográficas base agua pueden causar problemas en los destintados convencionales. El papel de desperdicio de oficina es el que causa mayor dificultad para destintarse, ya que la mayor porción de estas fibras son impresas usando fotocopiadoras e impresoras láser las cuales funden las tintas a las fibras, complicando su proceso de remoción por procesos convencionales. Estos papeles de desperdicio de oficina son una fuente invaluable de fibras de alta calidad que pueden ser empleadas si los procesos de destintado son mejorados [3].

En el destintado tradicional se crean cantidades sustanciales de residuos sólidos y líquidos. La eliminación es un problema, y las plantas de destintado se beneficiarían de procesos más efectivos y menos contaminantes. Recientemente, las enzimas han aparecido como alternativa en el destintado. Se ha encontrado que las enzimas son prometedoras en el destintado de impresiones mixtas de oficina con pH neutro, lo que contribuiría a evitar compuestos químicos como el hidróxido de sodio y consecuentemente se tendría un menor impacto ambiental [4].

Las enzimas pueden ser tan efectivas como el hidróxido de sodio, para el destintado de papel, aunque los resultados dependan del tipo de la preparación enzimática utilizada. La actividad hidrolítica es frecuentemente asociada con la reducción de las propiedades mecánicas en el papel. Comparado con las pulpas químicamente tratadas, estos índices de fuerza (Desgarre, Explosión, Tensión) son más bajos, pero, por otro lado, el drenaje de la pulpa tratada enzimáticamente es mejor. Equilibrando estos efectos, el destintado enzimático es una alternativa al empleo intensivo de compuestos químicos en el proceso convencional, especialmente si el impacto ambiental más bajo del destintado enzimático es tomado en cuenta [5].

Principalmente hay tres objetivos que se quieren atacar con las enzimas [2]:

1. Componentes sobre la superficie de la fibra. Hemicelulasas y celulasas que pueden alterar la superficie de las fibras, al modificar de los enlaces químicos en la vecindad de las partículas de tinta y por lo tanto liberan la tinta para poder ser removida por lavado o flotación.
2. El almidón estucado (almidón recubierto de caolin o carbonato de calcio) puede ser hidrolizado por enzimas amilolíticas.

3. Las tintas a base de aceites vegetales pueden ser degradadas por lipasas.

La formulación para un destintado químico típico implica múltiples componentes, partiendo de que cada especie química agregada puede crear problemas que requieren la adición de otra sustancia química para contrarrestarlos. Cuando más sustancias químicas son agregadas, el papel de cada sustancia química individual llega a ser ambiguo a causa de efectos sinérgicos o antagónicos. En segundo lugar, la cantidad total de sustancias químicas para el destintado que deben ser agregadas por masa de unidad de fibra de papel son bastante grandes, del orden de 2 a 3 % (w/w) [6].

En el caso de las enzimas, estas se unen a la superficie de la fibra modificándola y favoreciendo el desprendimiento durante el repulpeo. En el caso de la celulosa, algunos autores consideran más importante la hidrólisis y degradación superficial de esta, lo cual implica la remoción de la tinta de las fibras. Varios autores consideran que tanto los efectos enzimáticos como los efectos mecánicos son básicos en el proceso [7]. Las enzimas actúan de forma muy específica. También son sustancias químicas catalizadoras, que disminuyen la energía de activación de una reacción, sin ser consumidas por la misma reacción. Estas se mantienen activas hasta su desnaturalización o desactivación por moléculas inhibitoras. Dependiendo del tipo, cada enzima trabaja óptimamente en un rango de temperatura y pH específico [8].

Las corrientes de agua del proceso de destintado son contaminadas por las numerosas sustancias químicas empleadas y tendrán que ser tratadas. Para vencer estos problemas económicos y ambientales, se han presentado trabajos que describen el empleo de celulasas activas del *Fusarium sp.* para el destintado de papel MOW por sus siglas en inglés (mixed office wast) [6].

Durante el fotocopiado, las partículas de tinta tipo tóner son enredadas en los microfibrilos que asisten a la superficie de la fibra, esto puede ser observado en la imagen de un microscopio electrónico. Durante el proceso de destintado, las celulasas actúan de maneras diferentes. Se sabe que la endoglucanasa inicia la acción en la celulosa, el papel de la endoglucanasa en el proceso general de la degradación de celulosa es partir las fibras en varios sitios amorfos y generar un gran número de terminales no reducidos en la cadena. Esta acción sustenta el desprendimiento de las fibras que se torna en una ayuda para la liberación de las partículas de tinta de papel MOW durante

proceso de flotación, en el destintado en presencia de surfactantes. En segundo lugar, la acción de las celulasas en el desgaste de las superficies de las fibras de celulosa, liberando las fibras cortas. Esta capacidad de liberar fibras cortas puede ser asignada a la propiedad mecano-química de componentes de endoglucanasa. Se puede interpretar que esta actividad de formación de fibras cortas ayuda a eliminar también las fibras residuales de las superficies de tóner. Finalmente, la liberación de endoglucanasas de la superficie de alto contenido de tóner, aumenta en cambio la eficiencia de flotación aumentando hidrofobicidad de partículas de tinta. De los datos obtenidos durante los trabajos presentados parece que la acción aleatoria de las endoglucanasas es útil para el conjunto del proceso de destintado. El análisis de viscosidad reveló que el Endo- β del *Fusarium sp* es más aleatorio en su acción y tiene más acceso a las superficies de fibras de celulosa [9].

Los enfoques enzimáticos han sido sugeridos para vencer los problemas encontrados comúnmente en las técnicas de destintado empleadas, que han fallado en un exitoso destintado de papel mezclado de oficina, con fuentes de alimentación tanto de las fotocopiadoras como de los papeles impresos a láser [10].

1.1 JUSTIFICACIÓN

El proceso de destintado convencional y de mayor aplicación industrial reside en el uso de productos químicos nocivos al medio ambiente, donde el hidróxido de sodio (sosa cáustica, NaOH) se emplea para ajustar el pH a la región básica (pH del medio próximo a 11) y saponificar o hidrolizar las resinas de la tinta. En este medio alcalino se produce el hinchamiento de la fibra y se modifican los compuestos ligantes de las tintas, lo cual ayuda a la liberación de la tinta de la superficie de las fibras, facilitando la penetración de las demás sustancias químicas.

Por otra parte, las ventajas de utilizar las enzimas incluyen especificidad, biodegradabilidad, más una habilidad para funcionar a muy bajas concentraciones a temperaturas medias. Alternativas como el destintado enzimático, prometen, entre otras cosas, ser un proceso amigable con el medio ambiente ya que no requiere el uso de la sosa cáustica. Para poder establecer la factibilidad del uso de las enzimas durante el destintado, es necesario estudiar y comprender los mecanismos de formación del agregado burbuja-tinta que se deberán generar en presencia de enzimas.

Otro aspecto importante del destintado es la separación de la tinta desprendida de las fibras de celulosa. En esta etapa se vuelve determinante el vehículo que atrapa las partículas de tinta. En las celdas-tanque utilizadas industrialmente para capturar la tinta, el área superficial de burbujas (por el tamaño grande de burbujas) es relativamente pequeño y la capacidad de captura y arrastre por parte de la dispersión de gas es muy reducida. Además de lo anterior, los flujos altos de aire inyectado provocan cierta intensidad de turbulencia que provoca el desprendimiento de las partículas de tinta que previamente fueron capturadas por las burbujas, reflejándose en la calidad de la fibra destintada por la aparición de puntos negros en las hojas de papel reciclado.

En este trabajo de investigación se propone el uso de columnas de flotación para capturar y separar las partículas de tinta del papel tipo MOW, previamente acondicionado utilizando enzimas, debido a la elevada área superficial de burbujas que es posible generar y a los bajos niveles de turbulencia en el sistema.

1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

El desprendimiento de la tinta de la celulosa es un fenómeno que ocurre al hidrolizarse las fibras, a determinadas condiciones de pH y temperatura. El hidróxido de sodio por ejemplo, realiza esta función a pH mayores de 10.5 y a temperaturas mayores a 50 °C.

La hidrólisis enzimática de la celulosa es un proceso que de forma natural se lleva a cabo a temperatura ambiente y a pH neutro. Existe la posibilidad de que este fenómeno coadyuve en el desprendimiento y separación de la tinta impresa en el papel reciclado.

1.3 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudio del mecanismo de hidrólisis, desprendimiento y captura de tinta en el sistema burbuja-enzima-tinta, durante el destintado de papel de oficina utilizando columnas de flotación.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Establecer mediante modelado computacional, el o los mecanismos de interacción entre las burbujas de aire y las enzimas durante el destintado de papel de oficina.

- Caracterizar la columna de flotación de laboratorio para el destintado de papel para las dos modalidades de acondicionamiento: tradicional y enzimático.
- Analizar por medio de microscopía electrónica de barrido la morfología de las hojas antes y después del destintado.
- Medir las características ópticas de las hojas destintadas.
- Comparar la eficiencia del proceso, calidad de la fibra destintada y reducción de contaminantes entre el destintado tradicional y el destintado enzimático.

La estructura de esta tesis incluye en el capítulo 2, el marco teórico sobre el destintado de papel y el uso alternativo de reactivos, como las enzimas, además de las generalidades de las columnas de flotación. En el capítulo 3 se presenta la metodología de investigación incluyendo la parte del modelado matemático mediante enzimas. Por su parte, el capítulo 4 muestra los resultados experimentales, mismos que se analizan comparándolos con información similar previamente publicada. Finalmente, en el apartado de conclusiones se vierten las observaciones principales de este trabajo de investigación después de comparar las dos propuestas de hidrolizado de las fibras de papel MOW.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 LA CELULOSA Y SU MECANISMO DE HIDROLISIS.

Las maderas están compuestas principalmente de tres polímeros estructurales, la lignina, la celulosa y la hemicelulosa. La lignina es un heteropolímero fenólico sin una composición estereoquímica regular, con una función protectora de los otros dos componentes polisacáridos, la celulosa y la hemicelulosa (colectivamente llamados holocelulosa) [11]. La celulosa es el componente más abundante que existe sobre la tierra, es producida por las plantas formando parte de su pared celular [12]. En menores proporciones, es sintetizada también por algunos otros organismos como bacterias [13].

La celulosa es uno de los materiales más utilizados desde tiempos remotos, y en la actualidad es la fuente de combustibles orgánicos, compuestos químicos, fibras y materiales necesarios para cubrir necesidades humanas tales como el papel, la pulpa, las maderas, etc. [14]. Se estima que alrededor de 180 billones de toneladas de celulosa son producidas por las plantas anualmente, por lo que constituye una de las fuentes de carbono renovables más importantes que hay sobre la tierra [15].

El contenido de celulosa en las plantas depende del grupo taxonómico al que pertenezcan y oscila entre 35 y 50% en peso seco. La celulosa se encuentra embebida en una matriz compuesta de un número de moléculas (pectinas, proteínas, almidón y lípidos), y la hemicelulosa y la lignina que comprenden del 20 al 35%, y del 5 al 30% en peso seco, respectivamente [16].

La celulosa es un biopolímero lineal compuesto por moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos tipo β 1-4 (figura 2.1). Los extremos del polímero son asimétricos, los que contienen el carbono anomérico (C1) libre de la molécula de glucosa pueden reducir a un número de oxidantes (como el cobre, etc.), y se conocen como extremos reductores. Mientras que el C4 con un radical hidroxilo libre es el extremo no reductor [17]. El arreglo de las moléculas de celulosa en la pared celular de las plantas es jerárquico. La configuración tridimensional es estabilizada mediante interacciones de van der Waals, y consiste de 30 moléculas lineales, de entre 10,000 y hasta 14,000 moléculas de glucosa, que forman una estructura conocida como protofibrilla; ésta a

su vez se asocia con otras protofibrillas para formar la fibrilla de celulosa. Por último, las fibrillas se ensamblan entre ellas para formar las fibras de celulosa que son entrelazadas mediante interacciones no covalentes con la hemicelulosa y la lignina [18].

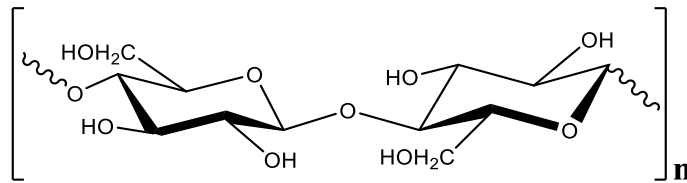


Figura 2. 1 Estructura química de la celulosa [19]

Dentro de las fibras de celulosa se distinguen diferentes regiones que van desde las más organizadas (región cristalina) y hasta las desordenadas (región amorfa). La característica cristalina de la celulosa se debe a que los componentes moleculares de las microfibrillas están organizados muy compactamente mediante puentes de hidrógeno. Usando difracción por rayos X se ha determinado que una unidad básica de celulosa cristalina (conocida como tipo I) está formada por ocho moléculas de celobiosa (dímeros de glucosa) arregladas en capas de moléculas paralelas mediante interacciones débiles (ínter e intramoleculares) entre los átomos de glucosas adyacentes. Aunque existen otros tipos de celulosas cristalinas, la más importante es la celulosa tipo II, que se obtiene de la regeneración de la celulosa nativa después de haber sido tratada con bases fuertes para solubilizarla [17].

La naturaleza estructural de la celulosa cristalina la vuelve insoluble en la mayoría de los solventes, incluyendo el agua, y evita que sea atacada por enzimas microbianas. A este fenómeno se le conoce como recalcitrancia [19]. Las regiones menos ordenadas se conocen como celulosa *para*-cristalina, y las regiones amorfas están compuestas de estructuras secundarias, que se encuentran en menor proporción dentro del arreglo molecular de la celulosa, tales como microfibrillas en formas de rosca o vueltas, o regiones vacías que dan forma a microporos superficiales, grandes hoyos y capilares. La celulosa amorfa por estas razones es menos compacta que la región cristalina, por lo que tiene la capacidad de absorber moléculas de agua que le confieren gran flexibilidad y cierta solubilidad [20].

La hemicelulosa por su parte, es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza. A diferencia de la celulosa su estructura no es homogénea. Está formada de pentosas (xilosa y

arabinosa), hexosas (glucosa, galactosa y manosa) y compuestos fenólicos (como el ácido ferúlico y *p*-cumárico) [21]. Las hemicelulosas son polidispersas (lo que significa que tienen un grado de polimerización variable) y altamente ramificadas, con sustituyentes de diferentes tipos [22]. La frecuencia y composición de las cadenas depende de cada especie vegetal en particular y del método con el que fueron extraídas [23]. Se han identificado dos tipos de hemicelulosa: en las maderas duras ésta existe mayormente en forma de xilanos, en las que los esqueletos homopoliméricos del xilano son cadenas de residuos de β -D-xilopiranososa con uniones 1,4. Mientras que las maderas suaves contienen principalmente glucomanano. Se considera que las moléculas de hemicelulosa se encuentran altamente entrecruzadas mediante puentes diferúlicos formando una red en la que se encuentran embebidas las microfibrillas de celulosa, al tiempo que proteínas de la pared celular también forman puentes con el ácido ferúlico, dándole gran resistencia e insolubilidad a toda la estructura [24]. Estas propiedades, junto con la lignina, contribuyen a la elevada recalcitrancia de los materiales celulósicos.

Se han identificado dos importantes grupos con capacidades celulolíticas. El primero de ellos es el grupo anaeróbico, que comprende especies bacterianas y fúngicas habitantes de aguas residuales el rumen y tracto intestinal de los animales herbívoros y algunos insectos como escarabajos y termitas [25].

Trichoderma reesei es un ascomiceto del que históricamente se han aislado celulasas y xilanasas con aplicaciones industriales (en las industrias de los alimentos–humana y animal, farmacéutica, textil, del papel y la pulpa, y energética), por lo que sus enzimas han sido ampliamente estudiadas y han servido como modelo de la degradación de la celulosa [26].

Los microorganismos encargados de la degradación de sustratos celulósicos producen múltiples enzimas que actúan en sinergismo directamente sobre la celulosa [27]. Un tipo de enzimas de bacterias anaeróbicas actúan a través de un complejo multimérico asociado a la célula, en el que una proteína no catalítica sirve de andamio a las varias subunidades enzimáticas mediante interacciones proteína-proteína de tipo cohesina-dockerina. A este complejo se le conoce como celulosota. Por otra parte, las celulasas de muchas otras bacterias aeróbicas y las fúngicas, son solubles y actúan de forma independiente [28].

Las celulasas son glicosil hidrolasas, y utilizan dos mecanismos de hidrólisis del enlace glucosídico que generan dos posibles configuraciones estereoquímicas finales. Un tipo de enzimas llevan a cabo una reacción en la que el carbono anomérico mantiene su posición β (mecanismo de retención) y otro tipo en la que se pierde (mecanismo de inversión) [29]. Las glicosil hidrolasas se clasifican en base a su secuencia de aminoácidos. Este tipo de clasificación, por familias, permite identificar características estructurales de las enzimas, inferir su mecanismo de acción y determinar relaciones evolutivas entre ellas [30]. De acuerdo al sitio en el que corta, la fibrilla de celulosa se divide en tres grandes grupos. *Endocelulasas*. También denominadas endoglucanasas. Éstas son 1,4- β -D-glucan glucohidrolasas [31]. Actúan de forma azarosa sobre las regiones de celulosa amorfa en el interior del polisacárido, generando oligosacáridos de diferentes tamaños y, por lo tanto, nuevas cadenas terminales. *Exocelulasas*. Son también conocidas como exoglucanasas, y actúan procesivamente en los extremos terminales del polímero liberando ya sea moléculas de glucosa, las glucohidrolasas (1,4- β -D-glucan glucohidrolasa) o celobiosa, las celobiohidrolasas (1,4- β -D-glucan celobiohidrolasas). *β -glucosidasas*. Son enzimas β -D-glucósido glucohidrolasas, pertenecientes a las familias 1 y 3 de las glicosil hidrolasas y se encargan de degradar la celobiosa a monómeros de glucosa [32].

Para la efectiva digestión de la celulosa las enzimas fúngicas han evolucionado mecanismos sinérgicos que les permiten contender con su recalcitrancia [33]. Este fenómeno se refiere a la observación de que la actividad máxima de degradación de la celulosa no se da por enzimas individuales, sino por mezclas de tres o más enzimas [34].

Sinergismo modular. Muchas celulasas presentan una estructura modular. Típicamente, un péptido no catalítico comprende el módulo con la función de unión a carbohidratos (conocido como CBM). Éste se une mediante una bisagra flexible de aminoácidos hidroxilados (Ser y Tre) y altamente glicosilados, al siguiente módulo en donde se encuentra el sitio catalítico de la enzima, aproximándolo íntima y prolongadamente al sustrato y potenciando su acción [35]. También se conocen enzimas compuestas de varios CBM y módulos catalíticos. Los CBM se clasifican a su vez, en familias según su secuencia de aminoácidos, y los fúngicos mayoritariamente constituyen la familia 1. Los CBM contienen desde 30 y hasta 200 aminoácidos, localizados hacia los extremos

carboxilo o aminoterminal, aunque ocasionalmente se encuentran posicionados en el centro de la cadena polipeptídica. A pesar de que cada familia de CBMs tiene características únicas se sabe que su afinidad por la celulosa se debe en parte a su superficie planar compuesta de aminoácidos aromáticos que le proporcionan cualidades hidrofóbicas [36]. Se sabe también que mediante un mecanismo no catalítico el CBM de la endoglucanasa III de *T. reesei* altera la estructura de la celulosa cristalina [37]. Otra evidencia del papel del CBM en la modificación de la estructura de la celulosa, es que sus homólogos en plantas, las expansinas (involucradas en la expansión de la pared celular durante el crecimiento), tienen actividades no hidrolíticas sobre las interacciones entre la celulosa y la hemicelulosa [38].

El siguiente nivel de sinergismo ocurre entre las diferentes enzimas secretadas al medio externo. Aunque los mecanismos que estas enzimas utilizan para potenciar su acción son controvertidos se han propuesto diferentes modelos [39], de los que sobresalen los siguientes: *Sinergismo exo-endo*. En éste las endoglucanasas inician el ataque de la molécula en los múltiples sitios internos de las regiones amorfas de la fibrilla y crean extremos terminales para el subsecuente ataque de las exoglucanasas. Las endoglucanasas también modifican la estructura de la celulosa al reducir las fuerzas de cohesión entre las fibrillas, lo que resulta en el hinchamiento de la estructura que permite un mejor acceso a las celobiohidrolasas [40].

Sinergismo exo-exo. Se descubrió al analizar dos celobiohidrolasas de *T. reesei* (Cel7A/CBHI y CBHII), y observar que las actividades de las dos era mayor que la suma de las actividades individuales [41]. Se ha descubierto que estas enzimas tienen al sitio catalítico embebido en un túnel con sitios (desde 6 hasta 10) de unión para glucósidos. Estos sitios de unión permiten que la enzima siga en contacto con la hebra de glucano, aun después de la hidrólisis de la celobiosa (que es liberada del extremo más lejano del túnel) lo que resulta en una alta procesividad [42].

La conversión de la biomasa celulósica a través de la hidrólisis enzimática ha sido un campo de investigación y desarrollo muy amplio. El alto coste de producción de estas enzimas y su baja eficiencia han limitado las aplicaciones industriales. Es por ello que la industria demanda enzimas más estables, más activas y más económicas. Para dar respuesta a estos requerimientos es necesario entender, entre otras cosas, los mecanismos de acción de estas enzimas, así como la regulación de

su expresión en microorganismos celulolíticos. La arquitectura general deducida para estas enzimas presenta 2 módulos globulares independientes: un dominio catalítico, responsable de la reacción de hidrólisis per se, y un módulo de unión a la celulosa, que desempeña 3 funciones generales: la primera es mantener la enzima próxima al sustrato, la segunda es una función de reconocimiento, y, por último, una función disruptiva [43].

Se han descrito 2 mecanismos de hidrólisis para las glicosil hidrolasas, de conservación y de inversión de la configuración del carbono anomérico. En general, la hidrólisis del enlace glucosídico es catalizada por 2 aminoácidos en el sitio catalítico, uno ácido general (donante de protones) y otro nucleófilo/base, aspartato y glutamato, generalmente [43]. Dependiendo de la posición espacial de estos aminoácidos la hidrólisis se produce a través de un mecanismo o de otro. Si estos están dispuestos a una distancia de $\approx 5,5 \text{ \AA}$ se da el mecanismo de conservación, si por el contrario esta distancia es de $\approx 10 \text{ \AA}$ sucede el mecanismo de inversión [44]. En el mecanismo de conservación, la hidrólisis se da en 2 etapas. En la primera, glucosilación, el nucleófilo ataca el centro anomérico, dando como resultado la formación de una enzima glucosídica intermedia con un carácter ácido provisto por el carboxilato ácido. En la segunda, deglucosilación, el ahora desprotonado carboxilato ácido actúa como base y se une a una molécula de agua nucleofílica para hidrolizar la enzima intermedia, obteniéndose así el producto hidrolizado (figura 2.2 B). Por otro lado, en el mecanismo de inversión, la hidrólisis es alcanzada en una sola etapa, ya que debido a la mayor distancia entre los residuos catalíticos la molécula de agua puede ser acomodada entre la base y el azúcar (figura 2.2 A) [43]

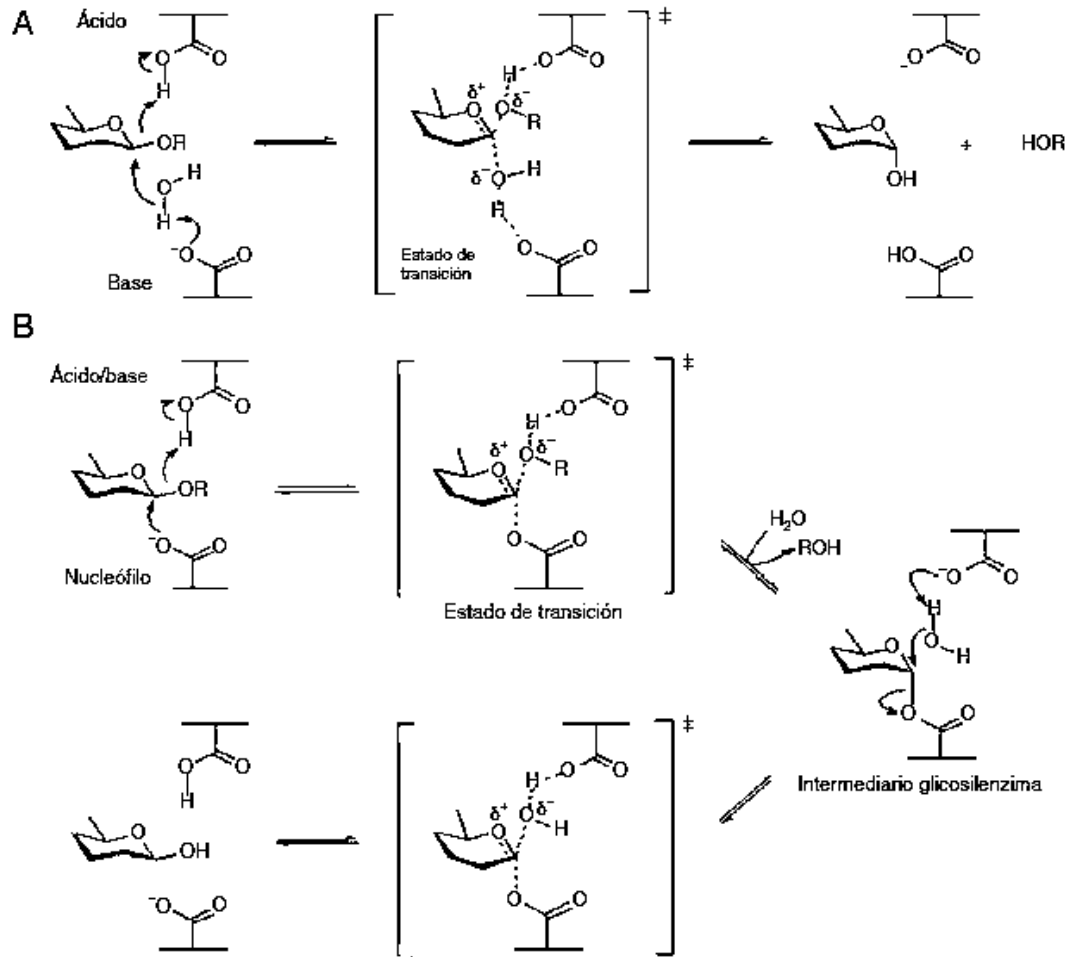


Figura 2. 2 Mecanismos de hidrólisis enzimática de la β -glucosidasa. A. Mecanismo de inversión. B. Mecanismo de conservación [44]

2.2 PROCESOS ENZIMÁTICOS

Las enzimas son proteínas globulares formadas por una o más cadenas polipeptídicas plegadas, creando una “hondonada” donde encaja el sustrato y tiene lugar la reacción. Esta zona de la enzima se denomina centro activo y sólo unos pocos aminoácidos están implicados en él. La proximidad de los aminoácidos en el centro activo está determinada por la estructura terciaria, aunque también pueden ocupar posiciones adyacentes en la estructura primaria. En una enzima con estructura cuaternaria, los aminoácidos del centro activo pueden encontrarse incluso en diferentes cadenas.

La configuración tridimensional del centro activo es complementaria a la del sustrato y posee una distribución complementaria de sus cargas sobre la superficie de unión. Es decir, si una región del sustrato tiene una carga negativa, la zona correspondiente del centro activo tendrá una carga positiva y viceversa.

Las enzimas son catalizadores de origen proteico. Estos catalizadores biológicos aceleran las reacciones bioquímicas a temperaturas específicas para cada tipo de enzima. El incremento de temperatura puede provocar un aumento en la velocidad de reacción hasta cierta temperatura óptima, ya que después de ésta temperatura se comienza a producir la desnaturalización térmica de la enzima [45].

Las enzimas catalizan reacciones bajo condiciones suaves: temperaturas relativamente bajas, presión atmosférica y pH casi neutro. Un aspecto único de la catálisis enzimática es la susceptibilidad del control de su actividad. Cada enzima tiene una temperatura óptima a la que actúa con su máxima eficiencia. Debido a que las enzimas son proteínas, los valores de temperatura óptima dependen del pH y de la fuerza iónica. Si la temperatura se incrementa más allá de la temperatura óptima la actividad enzimática desciende bruscamente. La temperatura óptima de una enzima, normalmente está cerca a la temperatura óptima de crecimiento del organismo del que procede. Del mismo modo cada enzima presenta un intervalo de concentración óptimo. Inicialmente, un aumento de la concentración de sustrato produce un aumento rápido en la velocidad de reacción, pero si se sigue aumentando la concentración de sustrato, la velocidad de reacción comienza a disminuir [46].

2.3 DESCRIPCIÓN GENERAL DEL DESTINTADO CONVENCIONAL

El destintado es el proceso de remoción de contaminantes (tinta impresa y materiales de terminación aplicados), de la fibra de celulosa reutilizable del papel. Básicamente, se puede dividir el proceso en dos grandes etapas: la desintegración del papel impreso, en la cual se produce el desprendimiento de la tinta y otros contaminantes, y la separación de los mismos de la suspensión fibrosa [47].

En la desintegración debe procurarse que los contaminantes sean completamente desprendidos de las fibras, para poder realizar posteriormente la separación de ambos componentes.

Los procesos modernos de destintado, incorporan luego de la desintegración tres etapas para la separación de la tinta: lavado, flotación y dispersión. Además, se agregan etapas de tamizado mecánico para contaminantes pesados, y de centrifugación u otros limpiadores especiales para la remoción de contaminantes livianos. La secuencia utilizada varía de una planta a otra, y no existe una fórmula rígida para el diseño del sistema. Las características específicas del papel de desecho utilizado así como la calidad del producto que se desea obtener, entre otros factores, tienen gran relevancia en la elección del sistema más adecuado [47].

A continuación se describen las etapas del proceso de destintado convencional.

2.3.1 Pulpeo

Cualquiera sea el mecanismo utilizado para la separación de la tinta, las primeras etapas en una planta de obtención de pulpa destintada son conceptualmente similares. El destintado es llevado a cabo mediante la aplicación de tres formas de energía: mecánica, térmica y química. Estos procesos comienzan en el pulpeado, y las condiciones que en éste se establezcan influirán directamente sobre la efectividad de todo el sistema [47].

Esta etapa es llevada a cabo en un equipo denominado pulper. En el mismo se desintegra el papel, se produce el hinchamiento de las fibras y comienza a producirse la separación de la tinta y demás contaminantes, como consecuencia del agregado de agua y productos químicos, del aumento de temperatura y de la fricción generada por el movimiento [47].

La operación de pulpeado se puede realizar en equipos continuos o del tipo de operación por lotes. Esta última modalidad permite mayor versatilidad para el manejo de los desechos de papel que comúnmente son muy variados en cuanto a su calidad.

La formulación química dentro del pulper depende del sistema de destintado empleado. De forma general, los principales agentes químicos agregados son: hidróxido de sodio, silicato de sodio, peróxido de hidrógeno y surfactantes [47].

Entre las variables involucradas en esta etapa se destacan las siguientes: tiempo de pulpeo, consistencia de la pasta, concentración de reactivos, pH y temperatura.

2.3.2 Curado

En algunos sistemas se incorpora esta etapa, en la cual se proporciona un tiempo adicional de acción de los reactivos químicos sobre la pasta obtenida en el pulpeo. La temperatura y el tiempo de curado son variables que pueden afectar el resultado obtenido, además de la concentración de los reactivos agregados en el pulper [47].

2.3.3 Tamizado y limpieza

La limpieza por medios mecánicos de la pasta se realiza en una variedad de equipos diseñados específicamente para remover los distintos tipos de contaminantes que pueden estar presentes. De acuerdo al mecanismo que opera en la separación se pueden dividir entre aquellos que separan por diferencias de tamaño y los que separan por diferencia de densidad. Entre los primeros se encuentran los tamices, ya sean de agujeros o ranuras, presurizados o no, de alta o baja consistencia, etc. En el segundo grupo están los limpiadores centrífugos o hidrociclones, de los cuales existe gran variedad de diseños. Por ejemplo limpiadores para eliminar contaminantes más livianos que la pasta o para contaminantes más pesados.

Normalmente el sistema utilizado es una combinación de los tipos mencionados, y se puede decir que prácticamente todos los sistemas incorporan una secuencia de separación de contaminantes gruesos luego del pulpeado, seguida por una etapa de tamizado fino y finalmente una limpieza centrífuga. A su vez cada uno de estos módulos puede estar formado por más de una etapa, y la complejidad del sistema dependerá como siempre de los requerimientos finales, la calidad de la materia prima y consideraciones económicas [47].

Los parámetros principales que caracterizan la separación de este tipo de equipos son la eficiencia de remoción de contaminantes y la tasa de rechazo de sólidos. Cuanto mayor sea la tasa de rechazo mayor será la eficiencia de remoción, pero también lo será la pérdida de fibras. Por lo tanto ambos parámetros deben ser controlados. Es común emplear sistemas en cascada donde los rechazos de la primera separación son tratados posteriormente para recuperar las fibras perdidas. Existen sistemas que utilizan tres etapas, y en algunos casos hasta cuatro, con lo cual se mejora sustancialmente el rendimiento.

2.3.4 Flotación

Este método de destintado se basa en la flotación selectiva de las partículas de tinta, como consecuencia de la diferencia entre sus propiedades físicas y fisicoquímicas de superficie y las correspondientes a las fibras de celulosa. Actualmente esta tecnología es considerada un componente esencial de cualquier nueva planta de destintado.

El proceso se lleva a cabo en celdas de flotación, en las cuales las partículas de tinta saponificadas y emulsionadas son arrastradas hacia la superficie por burbujas que se forman a partir de una corriente de aire inyectada en su parte inferior. Para lograr la flotación selectiva de las partículas de tinta del resto de la suspensión, es necesaria la acción de un colector. Este agente químico, agregado en la etapa de pulpeado o previo a la etapa de flotación, ayuda a la aglomeración de las partículas de tinta y modifica las características de la superficie de las mismas haciéndolas hidrofóbicas. De esta forma, las partículas aumentan su afinidad por las burbujas de aire y se adhieren a las mismas, lográndose un agregado de menor densidad que asciende y forma una capa de espuma sobre la superficie de la celda. Esta nueva fase debe tener la estabilidad necesaria para evitar que las partículas de tinta vuelvan a incorporarse a la suspensión de pasta. El proceso se completa con la evacuación de la celda de dicha espuma y posterior tratamiento para su disposición final, recuperación de agua y de fibras que representarían pérdidas del proceso. Este método es efectivo en la remoción de partículas de tinta cuyo tamaño se encuentra en el rango de 10 – 100 mm [47].

Entre las variables involucradas en esta etapa se destacan las siguientes: consistencia de la suspensión fibrosa, tiempo de flotación, rpm (aireación), concentración de colector, pH, temperatura, presión y número de etapas de flotación.

2.3.5 Lavado

Esta técnica de destintado se basa esencialmente en la diferencia de tamaño existente entre las partículas de tinta y las fibras de celulosa. Se agregan surfactantes para hacer a las partículas de tinta hidrofílicas y se hace pasar la suspensión a través de tamices de dimensión de malla apropiada, que permiten el paso de las partículas de tinta y retienen las fibras. Este método es más efectivo en la remoción de partículas de tinta cuyo tamaño es menor que 15 μm [47].

Los sistemas de lavado por si solos eran efectivos para el destintado en sus comienzos, cuando existían pocos tipos de tintas (de formulación menos compleja), recubrimientos y adhesivos diferentes. Actualmente, los sistemas de lavado son considerados una parte esencial de las plantas de destintado, pero por si mismos son insuficientes para manejar la variedad de desechos de papel existentes.

Las plantas modernas de destintado emplean flotación y lavado combinados. En algunas se realiza el lavado antes de la flotación, y en otras a la inversa. Dado que la química del lavado requiere hacer a las partículas de tinta hidrofílicas y la química de la flotación hacerlas hidrofóbicas, se debe balancear cuidadosamente la transición entre un sistema y el otro [47].

Entre las variables involucradas en esta etapa se destacan las siguientes: concentración de dispersante, tamaño de tamiz, número de lavados y pH.

2.3.6 Dispersión

En algunos casos la calidad requerida para el producto final no es alcanzada con las etapas ya descritas, especialmente en relación con las pintas de tinta visibles. Por lo tanto, se hace necesario incorporar una etapa que permita su reducción hasta niveles aceptables. Con este objetivo, se ha desarrollado un proceso consistente en la reducción del tamaño de las pintas por medio de esfuerzos de cizalla mecánicos a alta temperatura hasta hacerlas imperceptibles para el ojo humano. Los

equipos utilizados son similares a los refinadores utilizados para la pasta, donde por medio de discos se somete a la misma a tales esfuerzos. Existen diversos diseños, distinguiéndose entre aquellos que trabajan a alta consistencia (aprox. 30%) y los que lo hacen a consistencias medias. Los primeros presentan la ventaja de requerir un menor consumo de vapor, medio por el cual se logra el calentamiento, dado que el volumen tratado es mucho menor. Por otra parte se puede combinar fácilmente con una etapa posterior de blanqueo también de alta consistencia [47].

Dado que la tinta no es separada de la pasta por este mecanismo, si bien se logra eliminar o reducir la cantidad de pintas visibles, se reduce también el grado de blanco, lo cual puede no ser aceptable dependiendo nuevamente de la calidad de producto requerido. En ese caso, una solución utilizada últimamente es agregar una flotación posterior para eliminar las partículas de tinta resultantes que ahora tienen un tamaño conveniente.

Finalmente, como otra alternativa, es posible contrarrestar la disminución de grado de blanco resultante de la dispersión mediante un blanqueo final de la pasta.

2.3.7 Blanqueo

Así como la pulpa virgen es blanqueada como etapa final para su utilización en productos que así lo requieran, la pulpa destintada puede ser sometida al mismo tratamiento. Sin embargo, esta última presenta la ventaja de ya haber sido blanqueada por lo menos una vez, partiendo de la base de que se está utilizando la materia prima adecuada para los fines propuestos. Por lo tanto, el consumo de reactivos químicos es normalmente menor que para la pulpa virgen [48].

El proceso de blanqueo se realiza en torres, operadas tanto a cocorriente como a contra-corriente. También existen variedades de reactivos utilizados, y de los circuitos en los cuales se lleva a cabo la operación, alcalinos, ácidos, o una combinación de ambos. Los reactivos son mezclados con la pasta, previo a su ingreso a la torre en equipos específicamente diseñados para ello.

Finalmente cabe hacer mención a la controversia generada últimamente en cuanto a la utilización de reactivos clorados por consideraciones ambientales conocidas. Si bien no existe unanimidad de opiniones en torno a este tema, como lo demuestran informes especializados al respecto⁴, se debe

destacar la ventaja ya mencionada de la pulpa destintada frente a la virgen en cuanto al menor consumo de reactivos [48].

2.4 COLUMNAS DE FLOTACIÓN

La flotación es la etapa clave del proceso de destintado, es aquí donde las partículas de tinta son separadas de la fibra. En el destintado convencional, ésta operación unitaria tiene lugar en una máquina denominada celda de flotación. Sin embargo, las columnas de flotación podrían eficientar en gran medida este proceso.

La columna desarrollada por P. Boutain y R. Tremblay fue la primera de una nueva generación de aparatos basados en el flujo a contracorriente de aire y pulpa. El principio del sistema es el siguiente: Después de acondicionada la pulpa con reactivos, la alimentación se produce en la altura media de la columna, donde se mezcla con una corriente de agua procedente de la parte superior de la columna, y con la corriente ascendente de burbujas de aire procedente de la parte inferior. El desarrollo de la columna de flotación canadiense se considera como el comienzo de la nueva tendencia en la flotación, con el uso de una contracorriente de pulpa y burbujas de aire [49].

El tipo de movimiento relativo de partículas y burbujas es el factor de mayor peso que gobierna la probabilidad de la unión burbuja/partícula, de la carga de las burbujas, del índice de flotación y del requerimiento de energía del proceso. El flujo contracorriente de burbujas y partículas permite mejores condiciones de unión burbuja-partícula y añade estabilidad al proceso. La probabilidad de la colisión burbuja-partícula está determinada, especialmente, por el valor del componente normal de la velocidad relativa, el tiempo de contacto y la magnitud de las fuerzas de inercia. Cabe recordar que la selectividad en el proceso de flotación en la columna es mayor que en aparatos convencionales, debido a un segundo enriquecimiento en la capa de espuma. Esto permite la producción de concentrados de alta ley, una reducción de depresores y la simplificación de los diagramas de flujo [49].

2.4.1 Diseño

La columna se muestra esquemáticamente en la figura 2.3. Las medidas comerciales son generalmente de 9-15 m de altura y 0.5 a 3.0 m de diámetro (la columna más grande sin deflectores conectados es de 2.5 m, la columna más grande con deflectores es de 3.0 m). La sección transversal puede ser cuadrada o circular. El lado de la columna cuadrada o el diámetro de la columna circular son usados para diseñar el tamaño de la columna. A parte de la forma dos características que distinguen a la columna de otros equipos de flotación son los sistemas de generación de burbujas y el uso de agua de lavado. La generación de burbujas es realizada para ambas directamente a través de burbujeadores internos o después del contacto externo del gas con agua o pulpa (mencionado aquí como un burbujeador externo). Los burbujeadores internos están hechos de perforados tubos revestidos generalmente en tela (por ejemplo, filtro de tela) o caucho perforado. El agua de lavado es adicionada dentro de la espuma, generalmente de un arreglo de tubos localizados justo debajo del labio de desborde [50].

2.4.2 Operación

La alimentación de la pulpa entra aproximadamente a un tercio hacia abajo desde el tope y descende una vez más a una nube creciente de generación de burbujas generadas por el burbujeador. Las burbujas colectan las partículas flotables, esto es, la zona de colección (figura 2.3). Las partículas colectadas son transferidas a la espuma estabilizada por el agua de lavado. El primordial papel del agua de lavado es limpiar la espuma de partículas atrapadas en el agua cruzando con las burbujas de la zona de colección. Por lo tanto, la zona de espuma es también llamada zona de limpieza.

En general la presentación de la columna de flotación es influenciada por la interacción entre la zona de colección y la zona de limpieza. Un término importante en este aspecto es el quedarse atrás de la espuma, la fracción de los sólidos entrando a la espuma los cuales son regresados a la zona de colección [50].

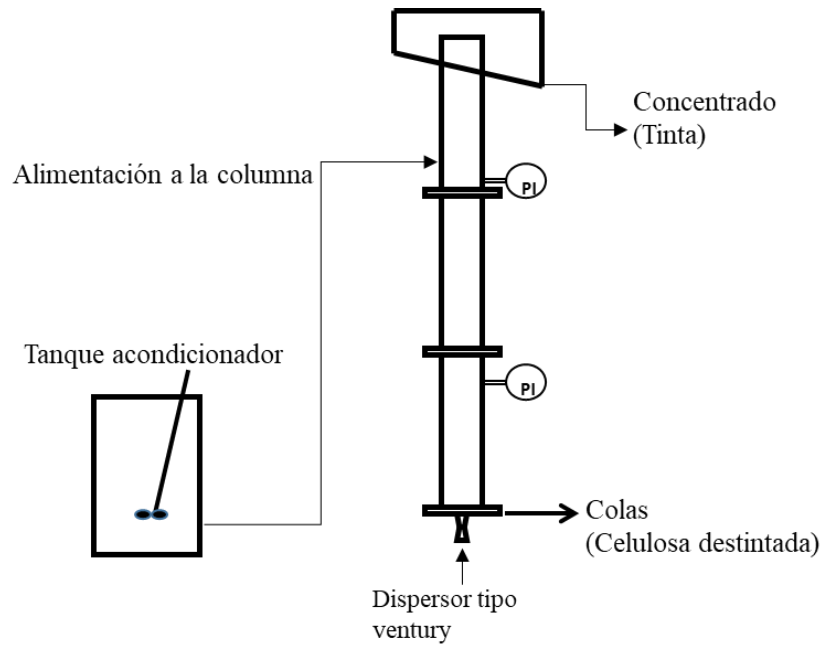


Figura 2. 3 Esquema general de la Columna de Flotación.

2.4.3 Zona de colección

Es la zona donde las partículas hidrofóbicas tienen la oportunidad de apegarse a las burbujas para ser separadas del resto y salir, el proceso se da de la siguiente manera: “Una partícula mineral en una columna de flotación es colectada por una burbuja de aire a través de uno de dos procesos: 1) colisión burbuja-partícula seguida por una unión debido a la naturaleza hidrofóbica de la superficie del mineral; o 2) la adhesión a la burbuja de la partícula sin el límite de la capa y el levantamiento de la burbuja. Una característica clave de la columna de flotación es que el recubrimiento de la partícula por la adhesión a la burbuja puede ser virtualmente eliminado”

2.4.4 Zona de limpieza

Esta es la zona formada por la espuma, la cual está formada a su vez por burbujas que llevan en sus paredes a las partículas hidrofóbicas que se desean separar. Para esta zona se utiliza generalmente agua de lavado para limpiar a la espuma de posibles partículas no hidrofóbicas o hidrofílicas entrampadas entre las burbujas. Para el caso de este trabajo no se utilizó el agua de lavado ya que en la industria para el destintado del papel no se utiliza y como el propósito del trabajo es realizar un escalamiento del proceso, es por ello que para apegarnos lo más posible a las

condiciones reales de la industria se ha desarrollado este estudio para que funcione con dichas condiciones.

2.4.5 Velocidad superficial del aire

La velocidad superficial del gas (J_g), es la velocidad del flujo volumétrico del gas (Q_g) dividido por el área de la sección transversal de la columna (A_c), ecuación 2.1.

$$J_g = \frac{Q_g}{A_c} \quad (2.1)$$

Las unidades son, por ejemplo, (cm^3/s de gas) / (cm^2 área de la columna), o unidades de velocidad, cm/s . La velocidad superficial es conveniente porque puede ser comparada para columnas de diferente diámetro.

2.4.6 Velocidad superficial del fluido

Por analogía, las velocidades superficiales son introducidas para otros flujos, dando la definición general en la ecuación (2.2), siendo las mismas unidades y variables, pero ahora para el fluido y líquido en cuestión, es decir, J_l es la velocidad superficial del fluido y Q_l es la velocidad del flujo volumétrico del fluido.

$$J_l = \frac{Q_l}{A_c} \quad (2.2)$$

2.4.7 Fracción de gas

La fracción de gas retenido (ϵ_g) es la relación del volumen de las burbujas de aire con respecto al volumen de la dispersión aire-líquido. La magnitud de gas retenido es un indicio de las condiciones hidrodinámicas de la zona de colección, cuando se introduce gas en una columna de flotación, el líquido contenido es desalojado por lo tanto la fracción volumétrica es desplazada, la cantidad de aire que permanece en la zona de colección es expresada como % volumétrico, ecuación (2.3).

$$\epsilon_g = \frac{\Delta P}{d} \quad (2.3)$$

donde:

$$\Delta P = P_2 - P_1$$

d = distancia entre los puntos de medición P_1 y P_2 .

Si la fracción de gas retenido es baja, la transferencia de masa disminuye, debido a que existe poca área superficial de las burbujas para realizar el transporte de masa. Con fracciones de gas retenido

mayores, se tiene una superficie de transferencia grande, y de esta manera, se incrementa la eficiencia de colección. Sin embargo, una fracción de gas retenido alta debe evitarse porque disminuye el volumen útil del equipo de dispersión.

2.4.8 Diámetro de burbuja

En los procesos de flotación, el tamaño de burbuja juega un papel clave, ya que, con la disminución del tamaño de burbuja, es mayor la probabilidad de colisión burbuja - especie, y por lo tanto mayor colección, la disminución de tamaño de burbuja generalmente se logra mediante la adición de agentes espumantes a la solución disminuyendo la tensión superficial y por ende la resistencia a la formación de burbujas en el dispersor del gas [51].

Existe un modelo matemático para calcular el diámetro de burbuja el cual fue desarrollado por Finch y Dobby [52] al cual le llaman Drift Flux.

La velocidad relativa (U_{sb}) entre las fases gas (burbujas) y líquido está definida por la ecuación (2.4):

$$U_{S_b} = \frac{J_g}{\epsilon_g} \pm \frac{J_l}{(1-\epsilon_g)} \quad (2.4)$$

La velocidad relativa U_{sb} se relaciona con la velocidad terminal (U_t) de una burbuja generada en un medio de profundidad infinita y la fracción de gas retenido (ϵ_g) con la siguiente expresión (para ϵ_g menores a 30%):

$$U_{S_b} = U_t(1 - \epsilon_g)^{m-1} \quad (2.5)$$

en donde m es función del número de Reynolds de la burbuja (Re_b):

$$m = \left(4.45 + 18 \frac{d_b}{d_c}\right) Re_b^{-0.1} \quad 1 < Re_b < 200 \quad (2.6)$$

$$m = (4.45) Re_b^{-0.1} \quad 200 < Re_b < 500 \quad (2.7)$$

El número de Reynolds de la burbuja se define en:

$$Re_b = \frac{U_t \cdot \rho_{sl} \cdot d_b}{\mu_{sl}} (4.45) Re_b^{-0.1} \quad 200 < Re_b < 500 \quad (2.8)$$

Al combinar las ecuaciones (2.4) y (2.5) se obtiene:

$$U_t = \frac{J_g}{\epsilon_g (1 - \epsilon_g)^{m-1}} + \frac{J_g + J_l}{(1 - \epsilon_g)^{m-1}} \quad (2.9)$$

Yianatos y col. [53] adaptaron la ecuación que representa la velocidad relativa entre fases y el diámetro de burbuja en un sistema de sedimentación de la manera siguiente:

$$U_{sb} = \frac{g \cdot d_b^2 (\rho_{sl} - \rho_b) (1 - \epsilon_g)^{m-1}}{18 \mu_{sl} (1 + 0.15 Re_s^{0.687})} \quad (2.10)$$

El número de Reynolds (Re_s) del enjambre de burbujas se define como:

$$Re_s = \frac{d_b U_{sb} \rho_{sl} (1 - \epsilon_g)}{\mu_{sl}} \quad (2.11)$$

Al igualar las ecuaciones (2.5) y (2.10) se obtiene la ecuación:

$$U_t = \frac{g \cdot d_b^2 (\rho_{sl} - \rho_b)}{18 \mu_{sl} (1 + 0.15 Re_s^{0.687})} \quad (2.12)$$

Para encontrar el diámetro de burbuja promedio es necesario resolver las ecuaciones anteriores de manera iterativa; además, es indispensable conocer algunas propiedades del medio (la densidad de la fase líquida ρ_{sl} y de la fase gas ρ_g , la viscosidad de la fase líquida μ_{sl}), así como algunas variables del sistema (velocidad superficial de gas J_g y de líquido J_l , así como la fracción de gas retenido ϵ_g). El algoritmo empleado para la solución de las ecuaciones es el siguiente [54]:

1. Suponer un valor de m
2. Calcular U_{sb} y U_t de las ecuaciones (2.4) y (2.9), respectivamente
3. Suponer db
4. Calcular U_{sb} y Re_s de las ecuaciones (2.10) y (2.11), respectivamente
5. Calcular db . De la ecuación (2.12), se obtiene:

$$d_b = \sqrt{\frac{18 \mu_{sl} \cdot U_t \cdot (1 + 0.15 Re_s^{0.687})}{g \cdot (\rho_{sl} - \rho_b)}} \quad (2.13)$$

6. Iterar con db hasta que la diferencia entre el db calculado y el supuesto sea menor a una tolerancia especificada.
7. Calcular m a partir de la ecuación (2.5), (2.6) o (2.7).
8. Iterar con m hasta que la diferencia entre el valor calculado y supuesto de m sea menor a una tolerancia especificada.

Para resolver el modelo se apoyará con el software National Instruments LabVIEW. La subrutina para el cálculo del diámetro de burbuja por medio de este programador se muestra en el apéndice A.

2.4.9 Área superficial de burbuja

El área superficial de las burbujas es un valor importante ya que a mayor área superficial de burbujas es mayor la probabilidad de las partículas de tinta para adherirse a las paredes de las burbujas. La fórmula con la que se puede calcular está en función del diámetro de burbuja y de la velocidad superficial del aire es la que se muestra en la ecuación (2.14).

$$S_b = \frac{6J_g}{d_b} \quad (2.14).$$

2.4.10 Tamaño de partícula

El tamaño de las partículas de tinta para ser removido es la base fundamental para la elección de la técnica de destintado adecuada. Limpiadores centrífugos y de pantalla remueven las partículas grandes de tinta (>100 μm). El lavado es más eficiente en remover las partículas de tinta más pequeñas (<10 μm). La flotación remueve las partículas que son demasiado pequeñas para ser removidas por pantallas y limpiadores y todavía son demasiado grandes para ser removidas por lavado (20-150 μm) [51]. Si el tamaño de la partícula es demasiado pequeño, la inercia de las partículas es insignificante y tiende al siguiente razonamiento alrededor de la burbuja de aire. Esto conduce a una menor probabilidad de colisión con las burbujas de aire y por lo tanto, las partículas tienen menos oportunidad de ser capturadas. Generalmente, las partículas de tinta presentes en la pulpa de papel son de una distribución de partícula muy amplia. Por ejemplo, los rangos del tamaño de partículas de tinta desde 10 μm a 600 μm . Finas partículas con un diámetro más pequeño de 30 μm son particularmente resistentes a la flotación. Por lo tanto, algún proceso de coagulación o floculación iniciado en la celda de flotación puede mejorar la eficiencia del destintado por flotación. Esto se ha observado por muchos años con el uso iones de calcio y ácidos grasos. La tinta y la celulosa, difieren significativamente en la hidrofobicidad: las fibras de celulosa son hidrofílicas, sin embargo, las partículas de tinta base aceite son hidrofóbicas [55].

2.5 ACOPLAMIENTO MOLECULAR ENZIMA-CELULOSA.

Las técnicas de acoplamiento molecular (o *docking* por su denominación en inglés), buscan encontrar el mejor acoplamiento entre dos o más moléculas de tal forma que la afinidad entre ellas sea óptima, buscando entre cientos de posibles conformaciones, cuál sería el estado de menor energía. Tales métodos se aplican principalmente al diseño y descubrimiento de medicamentos, química computacional, Biología molecular y Remediación ambiental entre otras áreas. Estos métodos se implementan mediante la modelación de uniones geométricas entre las moléculas como son: posición, flexibilidad y rotación. Lo anterior implica explorar el espacio de posibilidades de las características anteriores y evaluar la relevancia de las propiedades que se busca obtener de las moléculas una vez acopladas [56].

Una quimioteca de compuestos orgánicos se posiciona en el sitio de unión y se evalúa la actividad potencial de estos compuestos a partir de la energía de interacción proteína-ligando. Aquellos ligandos con mayor actividad calculada son candidatos a síntesis o pueden comprarse. Este tipo de aproximación es bastante frecuente cuando se dispone de la estructura resuelta de la proteína o bien de un modelo de la misma construido por homología. Así, se han identificado ligandos para más de 50 receptores, tanto de estructura conocida como a partir de modelos teóricos. Otro de los usos establecidos del *docking* es la identificación del modo de unión, es decir, la orientación y conformación que el ligando adopta en la cavidad de la proteína, y, menos frecuentemente, se utiliza para identificar el sitio de unión (*blind docking*) [57].

Un protocolo de *docking* se caracteriza tradicionalmente por dos aspectos: el *docking* en sí mismo, es decir, el método seguido para muestrear el espacio conformacional del complejo ligando-receptor, y la función de *scoring* utilizada para evaluar la afinidad de la interacción ligando-macromolécula [58]. Existen diferentes implementaciones de algoritmos para encontrar configuraciones proteína-ligando (denominadas *poses*) próximas a la conformación nativa del complejo cristalizado (una RMSD inferior a 2 Å es el criterio de aceptación de una *pose* particular) [59].

Actualmente, todos los algoritmos modernos de *docking* modelan el ligando como flexible, dejando de lado las aproximaciones más primitivas en las que el ligando se consideraba rígido (*docking rígido*).

Los métodos más comunes son: *fast shape matching* (DOCK, EUDOCK, LIGANDFIT), construcción incremental del ligando en la cavidad de la proteína (FLEXX, HAMMERHEAD), búsquedas tabú (PRO_LEADS, SFDOC), algoritmos genéticos (GOLD, AUTODOCK3.0, GAMBLER), algoritmos genéticos acoplados a búsqueda local o Lamarckianos (AUTODOCK3.0), programación evolutiva, *simulated annealing* (AUTODOCK2.4, GLIDE), métodos de Monte Carlo (MCDOCK, QXP, ICM-DOCK) y geometría de distancias (DOCKIT). También existen combinaciones de estos métodos [60].

Los métodos *fast shape matching*, como el implementado en DOCK, caracterizan el sitio activo del receptor mediante esferas, cuyos centros se ajustan a los centros del ligando (átomos pesados o esferas) sobre la base de una comparación de las distancias internas ligando-ligando y receptor-receptor. Los métodos de construcción incremental del ligando utilizan en muchos casos, como HAMMERHEAD, una caracterización del sitio activo similar a la de los métodos *fast shape matching*. En este caso, acoplan progresivamente fragmentos del ligando que contengan como mínimo dos enlaces rotables, explorando para cada uno de ellos las conformaciones posibles. Los métodos que utilizan algoritmos heurísticos de optimización parten de una o varias conformaciones iniciales, modificando los grados de libertad de rotación y traslación según las particularidades de cada algoritmo [60].

El *docking* es la parte que requiere más tiempo computacional, por lo que los algoritmos que tardan más de tres minutos por ligando por procesador, se consideran demasiado lentos. La parte más conflictiva es la función de *scoring* para predecir la afinidad de la unión proteína (o cualquier otra macromolécula) –ligando. Las funciones tradicionalmente aplicadas se clasifican en [61]:

- 1.- Basadas en campos de fuerza (*Force field-Based*): a partir de mecánica molecular, aproximan la energía libre de unión a partir de la suma de interacciones electrostáticas y de van der Waals. Frecuentemente, incluyen también términos empíricos que incluyan la entropía y solvatación. Destacan las funciones DOCK y CHARM.

2.- Empíricas (*Empirical*): estiman la energía libre de unión sumando términos de interacción derivados de la contribución ponderada de parámetros estructurales (número de puentes de hidrógeno, interacciones iónicas, contactos apolares, entropía). Los pesos de cada parámetro se obtienen por ajuste a constantes de unión experimentales de un conjunto de complejos proteína-ligando. Las más conocidas son LUDI, CHEMSCORE, SCORE, FRESNO, FLEXX, PLP, AUTODOCK Y GOLDScore.

3.- *Knowledge-Based*: representan la afinidad como suma de interacciones de pares de átomos proteína-ligando. Estos potenciales se derivan a partir de complejos de estructuras conocidas del *Protein Data Bank*, donde las distribuciones de probabilidad de distancias interatómicas entre diferentes pares de tipos de átomo proteína-ligando se convierten, asumiendo distribuciones energéticas tipo Boltzmann, en funciones de potencial. La energía libre de interacción se calcula sumando las contribuciones de los pares de átomos dentro de una cierta distancia. Destacan PMF, DrugScore, SMOG, BLEEP y SMOG200.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

En este capítulo se describe el equipo de flotación utilizado para la captura de partículas de tinta del papel tipo MOW previamente acondicionado en un tanque por los métodos tradicional y el propuesto en este trabajo mediante el uso de enzimas.

3.1. CONSTRUCCIÓN DE LA COLUMNA DE FLOTACIÓN Y ARREGLO EXPERIMENTAL

Se construyó una columna de flotación con material acrílico transparente de 10 cm. de diámetro interno y 277 cm. de altura. A lo largo de la columna, en dos puntos se instalaron transductores de presión (Cole Parmer, modelo EW-68971-01) para medir y monitorear la presión hidrostática. Estos orificios se localizan a 12 y 230 cm. desde la base de la columna. El punto de alimentación de la pulpa se ubicó a una altura de 240 cm de la base de la columna.

En cada experimento en el tanque de acondicionamiento limpio se mezclaron 60 litros de agua corriente con surfactante aceite de pino, para modificar la tensión superficial. El surfactante fue suministrado por la empresa ALKEMIN S.A. DE C.V. DE S.R.L. Las características químicas de este surfactante se muestran en el Anexo C.

El flujo de aire se varió desde 1 hasta 10 LPM para establecer la relación máxima entre el flujo superficial de aire (J_g , cm/s), flujos superficiales en las corrientes de alimentación, concentrado y colas (J_l , cm/s). Las variables monitoreadas, además de las anteriores fueron la presión hidrostática en dos puntos de la columna para calcular ϵ_g y los diámetros promedio de burbuja (db , cm). La figura 3.1 muestra el arreglo experimental para el acondicionamiento de la pulpa y el destintado de papel en la columna de laboratorio.

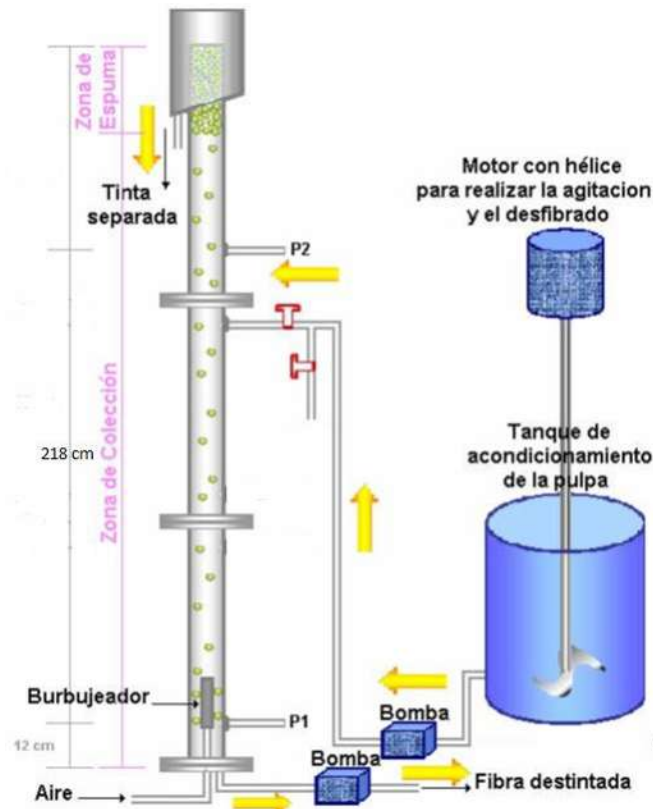


Figura 3. 1 Arreglo experimental utilizado para el destintado de papel tipo MOW.

En la base de la columna se instaló un dispersor de aire del tipo rígido poroso de acero inoxidable (Moot Industrial) con un diámetro nominal de poro de $2 \mu\text{m}$. El dispersor tiene diámetro externo de 2.5 cm y 5 cm de altura y se cubrió con una fina malla de tela para evitar su bloqueo por los sólidos. En el fondo de la columna, a un lado del dispersor, se ubicó la salida de la corriente de colas o desechos, mediante un orificio de 2 cm de diámetro.

El flujo de la corriente de alimentación se manipuló con una bomba centrífuga (Marca Caudal, modelo CPM1226RB-1A); para la medición y control del flujo del agua se empleó un rotámetro de esfera de la marca (Cole-Parmer), mientras que para controlar y medir el flujo del aire se usará un rotámetro de esfera (Gilmont Instruments, 150 MM). El control del flujo de la corriente de colas se realizó mediante una bomba peristáltica MasterFlex (modelo 7518-12). Estos instrumentos se muestran en la figura 3.2. Mientras tanto en la columna se fijó el flujo de aire y se encendió la bomba de alimentación. Al ingresar la pulpa a la columna se enciende la bomba de colas para de esta manera controlar la espuma y el nivel de la misma en la parte superior de la columna. Una vez

que la columna está prácticamente llena y que la interfase zona de colección/zona de espuma, está estable, se toman mediciones de la presión hidrostática en las pantallas de sus transductores y se procede al muestreo de la pulpa en los puntos de alimentación, concentrado y colas.



Figura 3. 2 Equipo periférico para medir y controlar los flujos de aire y agua en cada corriente (a) Bomba centrífuga; (b) Rotámetro para líquidos; (c) Rotámetro para gas; (d) Bomba peristáltica.

3.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN EN LA COLUMNA DE FLOTACIÓN

3.2.1 Experimentos en el sistema agua-aire en la columna de flotación

En la caracterización de la columna de flotación se establecieron las condiciones operativas de la misma (flujo de aire inyectado, tensión superficial del medio acuoso, volumen de gas retenido, velocidades de flujo en las corrientes, etc.), en un sistema aire-agua. Las variables operativas aquí obtenidas se aplicaron durante todas las experiencias de destintado.

Una vez homogeneizada la mezcla de agua corriente y surfactante en el tanque acondicionador, se alimentó a la columna a través de la bomba de alimentación. El flujo de aire inyectado a la columna se modificó desde 1 hasta 10 L/min.

Al llenarse la columna con líquido, se accionó la bomba de colas a un flujo determinado, que permitiera la formación de la interfase: zona de colección/zona de espuma, a 30 cm desde el tope de la columna. La finalidad de esta interfase es regresar hacia la zona de colección la fase o especies que contaminan el agregado burbuja-partícula (o burbuja-partículas de tinta) formados en la zona de colección y que deben salir de la columna (por la parte superior) por la corriente de concentrado.

En cada experimento o cambio de flujo de aire, se utilizó agua corriente nueva y se adicionaron 100 ppm de espumante. Como se muestra en párrafos siguientes, esta concentración de surfactante evita el impacto por la adición del mismo, durante la discusión de los resultados.

3.2.2 Determinación de la tensión superficial (σ , dinas/cm).

La tensión superficial del agua se modificó con la adición del espumante aceite de pino. El comportamiento clásico de los espumantes es de disminuir la tensión superficial del líquido. De acuerdo al límite de solubilidad para cada surfactante se observa un mínimo en el valor de la tensión superficial, donde adiciones posteriores de espumante no se reflejan en valores menores de tensión superficial.

Se realizaron mezclas de agua y aceite de pino a diferentes concentraciones, midiendo en cada una de las muestras su tensión superficial.

La tensión superficial del líquido para cada adición de espumante se determinó utilizando un tensiómetro semiautomático Cole-Parmer (modelo 59780-90, figura 3.3). A continuación, se describe el procedimiento para medir la tensión superficial con este equipo. El equipo consta de un aro de alambre de platino-iridio (el cual se sumerge a la muestra). Se mide la tensión superficial a una muestra de aproximadamente 100 ml de líquido de cada punto experimental, y se sigue el procedimiento:

1. Nivelar el equipo, mediante el centrado de la burbuja que se encuentra en la base del equipo, una vez colocado el aro de platino-iridio en el tensiómetro.
2. Calibrar el aro con la línea que se encuentra en el espejo, esto mediante la manivela del lado derecho del equipo. Si no coincide la escala, es necesario empatarla con la manija que se encuentra en la parte frontal del equipo.

3. Colocar el recipiente con la muestra (vaso de precipitados) sobre la base de acero. El aro debe quedar sumergido en la muestra, aproximadamente medio centímetro.
4. Quitar seguro y encender el equipo para que inicie el ascenso del aro de platino-iridio.
5. El tensiómetro detiene su ascenso al salir el aro de la solución. En este momento se registra el dato de tensión superficial.
6. Ajustar nuevamente la escala con la manivela de la parte derecha del equipo para realizar la siguiente medición.



Figura 3. 3 Tensiómetro semiautomático Cole-Parmer para medir la tensión superficial del líquido alimentado a la columna de flotación.

3.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA EL DESTINTADO CONVENCIONAL (USO DE NAOH).

Se utilizó papel de oficina tamaño carta, el cual fue impreso con tóner por ambos lados. Las hojas fueron cortadas en piezas de 2 por 2 cm y desintegradas en un Pulper de Laboratorio Heidolph, sin aplicar ningún reactivo químico. En el tanque acondicionador con deflectores y limpio, se preparó la pulpa de la siguiente manera:

- 1.- Se colocó la pulpa y la cantidad de agua requerida en el tanque de acondicionamiento para ajustar la consistencia a un 0.3%.
- 2.- Se mide y monitorea el pH de la solución, se le adiciona el NaOH hasta alcanzar un pH=10.
- 3.- Se colocaron dos resistencias tipo comercial dentro del tanque de acondicionamiento para elevar y controlar de la temperatura, midiéndola con un termómetro de vidrio con ampolla de mercurio.
- 4.- Se agitó y homogeneizó la pulpa alrededor de 1.5 hrs que es el tiempo que se requiere en este caso para elevar la temperatura hasta los 50 °C. Se utilizó un mezclador de 1HP de potencia (Siemens).

Una vez preparada la pulpa se le adiciona el espumante, se fija el flujo de aire a 6 L/min y se activa la bomba de alimentación. Inmediatamente al iniciar la alimentación, se enciende la bomba de colas, esto permite que a la vez que se va llenando la columna se forma la espuma y se forma la interfase zona de colección/zona de espuma.

Al controlar el nivel de la interfase manipulando la velocidad de la bomba de colas, se continúa con los experimentos de acuerdo al siguiente procedimiento:

1. Después de 30 minutos de estabilizar la interfase, se registran las mediciones de presión en los transductores de la columna
2. Se recolectan las muestras de pulpa de las tres corrientes de la columna; primero de la corriente de concentrado, seguido por la corriente de colas y finalmente del flujo de alimentación a la entrada de la columna. De cada corriente se recolecta aproximadamente 1 litro de pulpa.
3. Al concluir con la recolección de muestras, se apagan las bombas y el mezclador del tanque de acondicionamiento. Se expulsa la pulpa de papel que está dentro de la columna de flotación al tanque de acondicionamiento, para después lavar con agua y purgar las mangueras. La pulpa del tanque de acondicionamiento se filtra y el papel separado se deja secar.



Figura 3. 4 Evidencia de la separación de tinta del papel en la columna de flotación y su salida con la espuma por la parte superior de la misma.

Las muestras de pulpa recolectadas se llevan a un formador de hojas Lorentzen & Wettre (Sweden), y a una prensa de laboratorio, para la elaboraron las hojas de papel de acuerdo a la norma TAPPI T-205-OM-81 (Anexo D), para posteriormente medir las propiedades ópticas de la hoja destintada, siguiendo las normas y procedimientos establecidos para cada uno de las variables en cuestión (Anexo E). La evaluación de las propiedades del papel formado se realizó en el laboratorio de la Industria papelera Bio Papel Scribe S.A. de C.V., ubicada en la ciudad de Morelia, Michoacán.

3.4 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA EL DESTINTADO ENZIMÁTICO

3.4.1 Preparación de la muestra.

La metodología se inicia con la preparación de la muestra, es decir, el papel de desecho de oficina. Para evitar la variabilidad de los resultados como efecto del tipo de impresión y de papel, se imprimió un texto "estándar" en una hoja de tamaño carta utilizando la misma máquina multifuncional (Xerox WorkCentre 3345, monocromática). En cada hoja se imprimieron aproximadamente 3,500 caracteres (en la fuente Times New Roman, tamaño 12 puntos, en interlineado sencillo). Todas las hojas se imprimieron en papel tamaño carta de 75 gr/m² ("Copy Paper". Compañía: Biopapel Scribe). Este papel era alcalino y contenía 70% de pulpa química, 20% de carbonato de calcio precipitado como relleno, 6% de aglomerantes y 4% de humedad. La pasta química consistió en aproximadamente 20% de madera blanda (pino) y 80% de madera dura (eucalipto y encino).

Se calcula de la cantidad de pulpa a emplear, teniendo en cuenta su consistencia (%C.S.).

$$\%C.S. = \frac{W_s}{W_h} (100) \quad (3.1)$$

donde:

W_s = masa del papel en seco

W_h = masa del papel en húmedo

$$W_h = W_s + W_a \quad (3.2)$$

donde:

W_a = masa del agua

3.4.2 Pulpeo.

Se cortan las muestras de papel en [2x2 cm] y se agregan 46 gr en un Pulper de laboratorio 2 L. Heidolph, con 1 litro de agua del grifo, para obtener una consistencia de la mezcla del 4%.

El tiempo de pulpeo se mantiene para todas las pruebas, en 3 minutos.

3.4.3 Pretratamiento enzimático.

La pulpa obtenida en proceso anterior se pasa a una unidad de tratamiento, que consiste en un vaso de precipitado de vidrio de 2 L, equipado con un agitador de varilla, una placa calefactora, un medidor digital de pH, y un termómetro. La pulpa se mantiene en agitación constante para lograr la homogeneidad de la mezcla.

Se realizan 4 series experimentales, modificando la dosis de enzima de 0.015% a 0.07% en base papel seco. Manteniendo constantes la temperatura de la mezcla a 50 °C y el pH a 5, con ácido sulfúrico. Al alcanzar estas condiciones se agrega la enzima. El tiempo de tratamiento se varió de 20 a 50 minutos.

3.4.4 Flotación.

Después del tratamiento con la enzima se procede a la separación de la tinta, en una columna flotación de laboratorio. En este proceso se fijan como constantes: la consistencia de flotación (0.1% en base papel seco), el tiempo de flotación (20 min), la concentración del surfactante, las corrientes de alimentación y colas, así como el flujo de aire alimentado a la columna. El agua utilizada la columna de flotación fue agua de la red comercial potable.

Como surfactante se utiliza, esencia de pino grado de flotación, facilitado por la empresa ALKEMIN, S. DE RL DE CV (Anexo C).

Durante las corridas de flotación se recolectan las muestras de la pulpa de la corriente de colas, para la formación de las hojas y determinación de las propiedades de la celulosa destinada.

3.4.5 Formación de las hojas.

La fibra tomada de la corriente de colas (fibra destintada), se lleva a un formador de hojas, Lorentzen & Wettre (Sweden), y a una prensa de laboratorio, para la elaboraron las hojas de papel de acuerdo a la norma TAPPI T-205-OM-81 (Anexo D).

3.4.6 Evaluación de las propiedades del papel destintado.

La evaluación de la calidad del papel se realiza después de la ejecución de las mediciones de las propiedades ópticas del papel (brillo, tonalidad, opacidad y contenido de impurezas), y el análisis del microscopio electrónico de barrido (SEM).

Mediante el uso del microscopio electrónico de barrido (SEM, JEOL, modelo JSM-7600F FEG-SEM), se obtuvieron imágenes de la morfología de la fibra antes y después del tratamiento con los aminoácidos en cuestión. Las muestras fueron preparadas con un baño de cobre (metalizado), usado como tratamiento para optimizar las observaciones. Las imágenes fueron tomadas a 100X, 250X, 500X y 1000X, en diferente dos diferentes zonas de la muestra.

Tabla 3. 1 Parámetros de control del pretratamiento enzimático.

FACTORES	Unidades	Valor
Dosis Enzima	%	0.015 a 0.07
Consistencia en el pretratamiento	%	4 a 6
Tiempo pretratamiento	min	20
pH	-	5
Temperatura	°C	50
Surfactante	ppm	100

Nota: Los porcentajes son en base a la masa del papel seco.

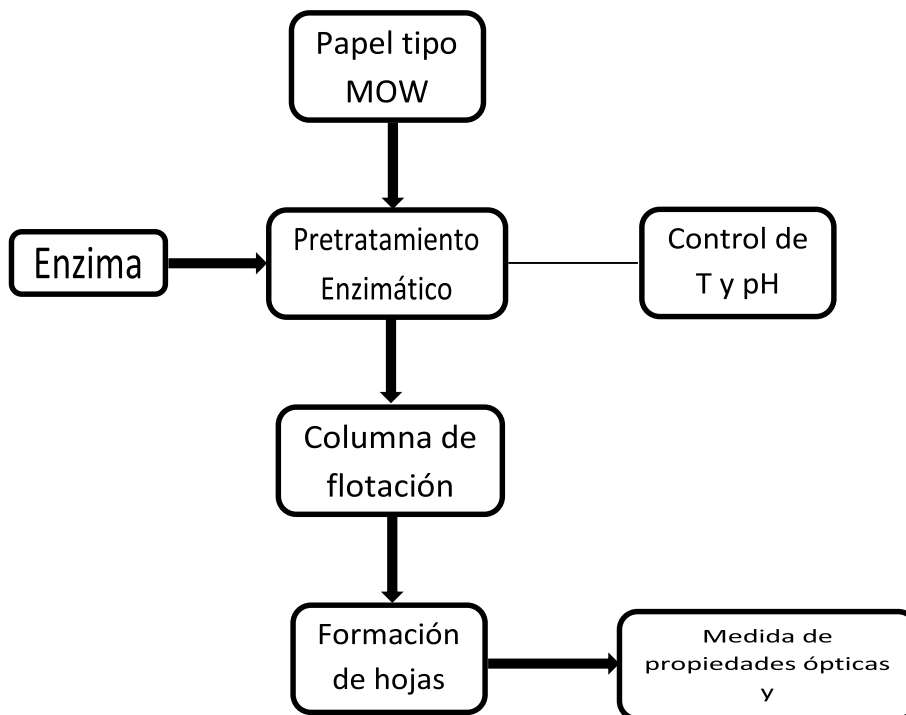


Figura 3. 5 Diagrama de flujo del proceso experimental de destintado enzimático en la columna de flotación.

3.5 ACERCAMIENTO MATEMÁTICO DE LA INTERACCIÓN DE LA CELULOSA Y LA ENZIMA CELULASA MEDIANTE LA TÉCNICA DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR.

Para efectos del presente trabajo se utilizó el método de algoritmos genéticos acoplados a búsqueda local o Lamarckianos (AUTODOCK3.0). De su base de datos se extrae la molécula de la enzima celulasa en su forma endo- β -1,4-D-glucanasa (sustrato rígido). Esta metodología se tomó como base para encontrar la geometría entre un fragmento de celulosa (ligando) y la enzima celulasa (sustrato). Esta analogía se tomó por el tamaño de las especies químicas consideradas en este proyecto.

Se construyó un modelo molecular que representara una celulosa de 5 unidades monomérica, dándole flexibilidad (ligando flexible), el modelo teórico empleado en esta etapa del proyecto de muestra en la figura 3.6.



Figura 3. 6 Estructura molecular de la celulosa (ligando) con 5 monómeros, construido para el estudio de acoplamiento molecular.

Se simularon los resultados de las corridas utilizando la suite AutoDockTools, en particular el programador para analizar el espacio conformacional del complejo ligando-sustrato. Las simulaciones se llevaron a cabo en un clúster de procesamiento del Laboratorio de Cómputo de Alto Desempeño del IIQB de la UMSNH. La geometría inicial del complejo estudiado se muestra en la figura 3.7

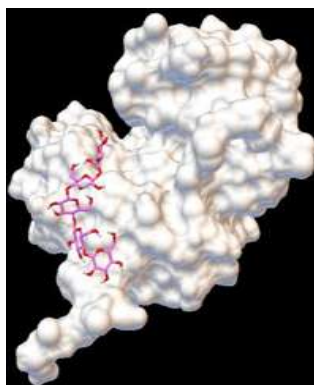


Figura 3. 7 Geometría inicial del complejo Enzima-celulosa.

En cada simulación del *docking*, se calculan 100 conformeros independientes, correspondiendo cada uno de ellos al resultado de una optimización iniciada con diferentes valores aleatorios. En el análisis de los resultados, se toman como referencia las coordenadas cristalográficas del ligando cristalizado, agrupándose las 100 conformaciones obtenidas en *clusters*. Cada *docking* se repite 5 veces para su validación. En el proceso de búsqueda conformacional, se aplica el algoritmo genético lamarckiano (LGA). El parámetro *Intelec* se activa, de manera que la energía electrostática interna del ligando afecta a la energía de *docking* (*docked energy*) que guía el proceso de optimización, aunque no a la energía de unión del ligando (*binding free energy*). El algoritmo analiza 100 posibles poses de la celulosa en la enzima, adoptando la propiedad de flexibilidad para la molécula de la celulosa, de tal forma de no descartar este fenómeno de interacción entre ligando-sustrato.

Las 100 poses resultantes aparecen agrupadas en *clusters*, estableciéndose el orden relativo de mayor a menor energía de *docking* según el valor que presenta el acoplamiento con mayor *energía libre de acoplamiento (binding free energy)*. Se desea enfatizar el hecho de que AUTODOCK devuelve dos energías: la denominada *docked energy*, utilizada para guiar el *docking*, y la energía libre de unión (*binding free energy*), esta última nos permite definir el acoplamiento ligando-sustrato con mayor afinidad, es decir, aquel con la energía libre de unión más negativa.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan y discuten los resultados del acoplamiento molecular del complejo enzima-celulosa y los aminoácidos que propician esta unión. De la misma forma se muestran los resultados de la experimentación en la columna de flotación en un sistema agua-aire, los resultados del destintado convencional, el destintado enzimático y el destintado con un grupo de aminoácidos, en una columna de flotación, escala laboratorio.

4.1 MODELADO MOLECULAR

De las 100 conformaciones del complejo Celulosa - Endo- β -1,4-D-glucanasa, analizadas con AUTODOCK, la pose con mayor afinidad resultó con una energía de -0.57 kcal/mol, un snapshot del análisis realizado a este complejo de menor energía se muestra en la figura 4.1.

74 4h7m_celulose2 Conformation Chooser

Rank: 1_1	
Binding Energy:	-0.57
K _d :	379.8mM
Intermolecular Energy :	-9.52
Internal Energy :	-14.0
Torsional Energy :	8.95
Unbound Extended Energy:	-14.0
Cluster RMS:	0.0
Ref RMS:	84.49

select from 100 dockings:
(double click to update coords)
(Rank_SubRank docked energy)

CELULOSE_2 input	
CELULOSE_2_1_1	-0.57
CELULOSE_2_2_1	-0.45
CELULOSE_2_3_1	-0.4
CELULOSE_2_4_1	-0.16
CELULOSE_2_5_1	0.35
CELULOSE_2_6_1	0.43
CELULOSE_2_7_1	0.43
CELULOSE_2_8_1	0.51
CELULOSE_2_9_1	0.68

Figura 4. 1 Energías de acoplamiento con mejor afinidad y/o energía de unión más negativa.

En la figura 4.2, se muestra la pose con la mayor afinidad entre el complejo formado por la enzima endo- β -1,4-D-glucanasa y la celulosa, es en esta pose donde se produce el llamado efecto llave-cerradura.

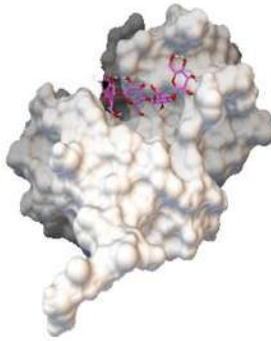


Figura 4. 2 Geometría del complejo enzima-celulosa con mayor afinidad.

Una vez obtenido el acoplamiento con mejor afinidad entre la enzima y la celulosa se procede a analizar cuáles son los residuos que propician dicho acoplamiento y así definir los aminoácidos involucrados en dicha interacción, para tomarlos como base en la siguiente etapa del proyecto. De este análisis, podemos observar en la figura 4.3, cuales son los aminoácidos de la enzima más cercanos a la celulosa, siendo estos el Glutamato (GLU, A: 207), Asparagina (ASN, A: 27), Tirosina (TYR, A: 118), Aspartato (ASP, A: 106), Triptófano (TRP, A: 29) y Fenilalanina (PHE, A: 108).

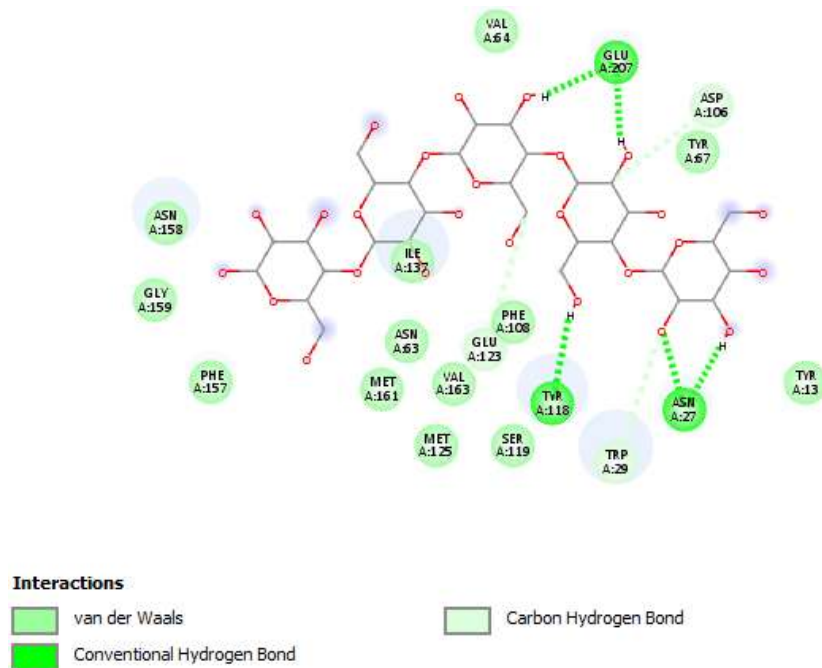


Figura 4. 3 Aminoácidos de enlace en la mejor afinidad enzima-celulosa

Se analizan por medio de técnicas computacionales, la molécula de celulosa y cada uno de los aminoácidos anteriormente mencionados, para tener elementos teóricos que puedan definir cuáles de estos complejos tienen una mayor estabilidad estructural y energética.

Por medio del paquete de cómputo Molden, se construye la geometría de la molécula de celulosa se construye a partir de una unidad monomérica de ésta, reproduciéndola hasta 168 átomos, en una celda unitaria con 1.000 \AA^3 de volumen (figura 4.4).

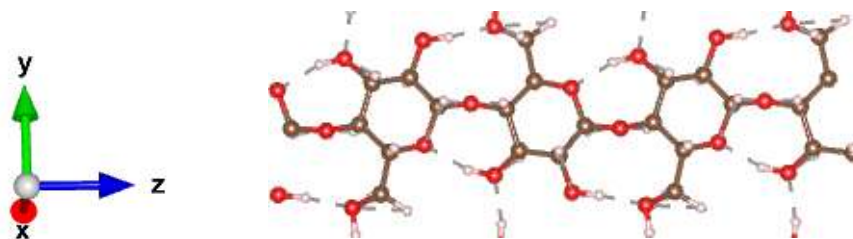


Figura 4. 4 Estructura de la molécula de celulosa.

Con el mismo paquete de computacional utilizado en la molécula de celulosa, se construyen las moléculas de cada uno de los aminoácidos, el Glutamato (GLU), Asparagina (ASN), Tirosina (TYR), Aspartato (ASP), Triptófano (TRP) y Fenilalanina (PHE), con el paquete de cómputo, Molden. A continuación, se muestran las estructuras químicas de dichas moléculas.

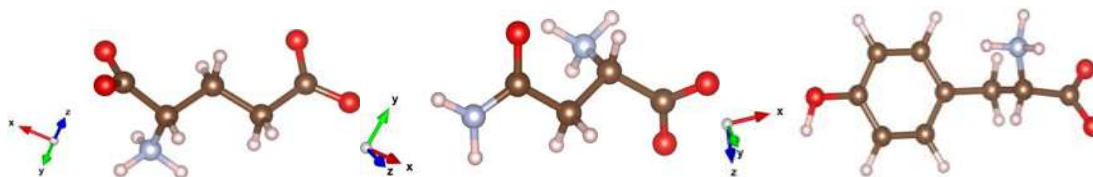


Figura 4. 5 Glutamato (GLU) Estructura 5.-Asparagina (ASN) Estructura. 6.-Tirosina (TYR)

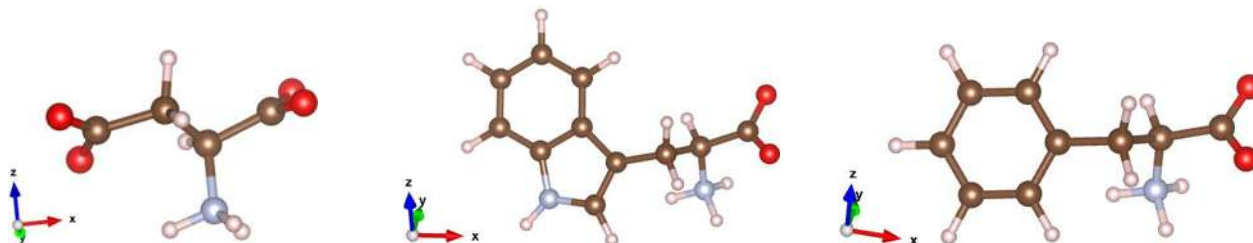


Figura 4. 6 Aspartato (ASP) Estructura 8.-Triptófano (TRP) Estructura 9.-Fenilalanina (PHE)

En las estructura moleculares anteriores, las esferas en color café representan los átomos de carbono, las rojas al oxígeno, las azules al nitrógeno y las blancas a los átomos de hidrogeno.

Se analizan y representan tres disposiciones geométricas de cada aminoácido, en interacción con la molécula de celulosa, formando tres diferentes complejos para cada uno de ellos (figuras 4.7-4.12), es decir, un total de 18 complejos químicos. Cada una de estos complejos son tratados a nivel DFT sin imponer ninguna restricción de simetría, usando el método del gradiente conjugado, hasta que la fuerza entre cada átomo sea menor que $0.01 \text{ eV}/\text{Å}$. Los análisis numéricos se llevan a cabo utilizando el “Paquete de Simulación de Viena *Ab initio*.” (VASP). Aquí, se establecen las ecuaciones de DFT Kohn-Sham usando una base de onda plana. Se selecciona el método de onda aumentada por proyector (PAW) para utilizar las interacciones entre núcleos iónicos y electrones de valencia. También se incluye el intercambio electrónico y los efectos de correlación mediante el uso del funcional corregido por gradiente Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) con una corrección de dispersión de largo alcance mediante el método D2 de Grimme.

Como VASP utiliza un enfoque periódico en las estructuras electrónicas, la cadena de celulosa se coloca en una celda cúbica, periódica en la z dirección de la cadena. Al tener un espacio mínimo de 10 Å a lo largo de las direcciones no periódicas, es posible reducir las interacciones falsas entre las imágenes del sistema vecino. Estas dimensiones están optimizadas para mantener el estrés total de la celda cerca de un mínimo.

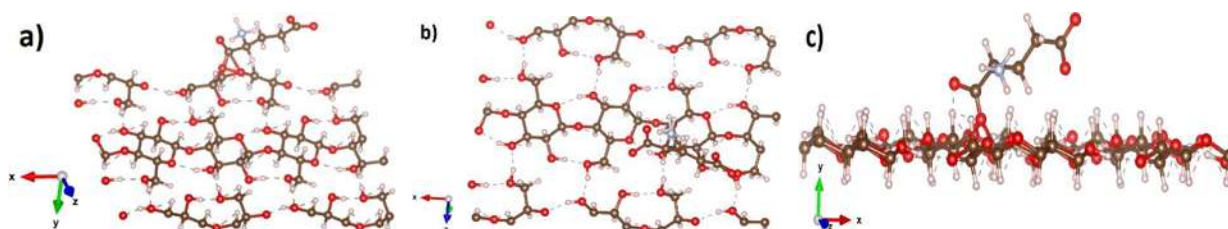


Figura 4. 7 a) GLU1, geometría y disposición 1 del complejo GLU-celulosa. b) GLU2, geometría y disposición 2 del complejo GLU-celulosa. c) GLU3, geometría y disposición 3 del complejo GLU-celulosa.



Figura 4. 8 a) ASN1, geometría y disposición 1 del complejo ASN-celulosa. b) ASN2, geometría y disposición 2 del complejo ASN-celulosa. c) ASN3, geometría y disposición 3 del complejo ASN-celulosa.

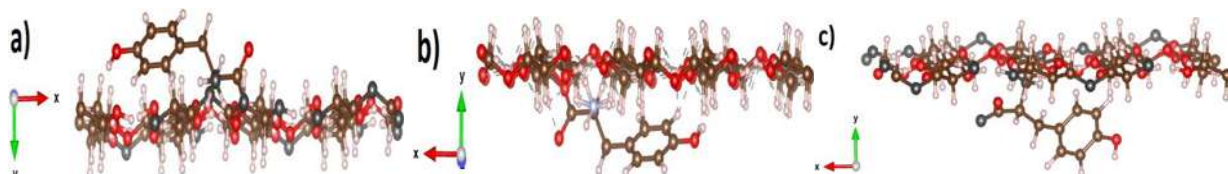


Figura 4. 9 a) TYR1, geometría y disposición 1 del complejo TYR-celulosa. b) TYR2, geometría y disposición 2 del complejo TYR-celulosa. c) TYR3, geometría y disposición 3 del complejo TYR-celulosa.

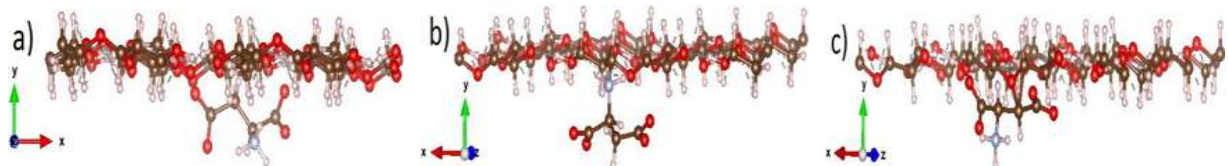


Figura 4. 10 a) ASP1, geometría y disposición 1 del complejo ASP-celulosa. b) ASP2, geometría y disposición 2 del complejo ASP-celulosa. c) ASP3, geometría y disposición 3 del complejo ASP-celulosa.

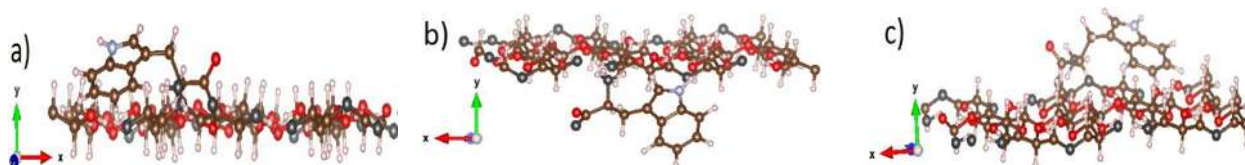


Figura 4. 11 a) TRP1, geometría y disposición 1 del complejo TRP-celulosa. b) TRP2, geometría y disposición 2 del complejo TRP-celulosa. c) TRP3, geometría y disposición 3 del complejo TRP-celulosa.

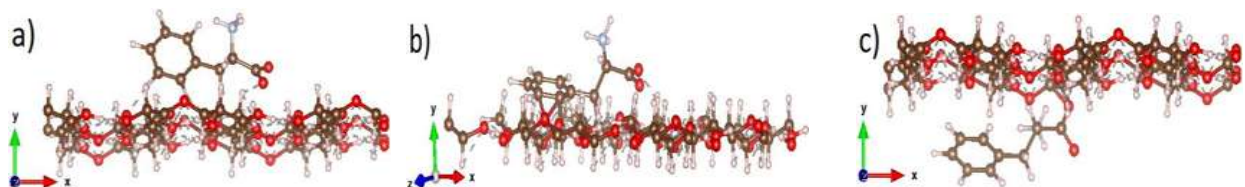


Figura 4. 12 a) PHE1, geometría y disposición 1 del complejo PHE-celulosa. b) PHE2, geometría y disposición 2 del complejo PHE-celulosa. c) PHE3, geometría y disposición 3 del complejo PHE-celulosa.

Con el fin de estudiar la reactividad de los aminoácidos optimizados hacia la adsorción de la molécula de celulosa, hemos localizado los sitios de adsorción más activos en la superficie de su cadena mediante el uso de un descriptor de reactividad apropiado.

Se consideran varias configuraciones de prueba para estudiar los aminoácidos de adsorción en la celulosa, para varias orientaciones de las moléculas de cada uno de los aminoácidos en sitios activos en la cadena de celulosa, con distancias entre los átomos de ésta y el o los átomos a interactuar en cada configuración de la molécula del aminoácido, no mayor a 3.0 Å. Estas configuraciones están optimizadas en cada uno de los complejos. Las energías de adsorción (E_A) se analizan usando la siguiente ecuación:

$$E_A = E_{complex} - (E_{celulosa} - E_{amino}), \quad (4.1)$$

donde $E_{complex}$ es la energía del complejo optimizado, $E_{celulosa}$ es la energía de la molécula de celulosa optimizada y E_{amino} es la energía del aminoácido optimizado.

Se ha resuelto estudiar varias conformaciones para explorar la afinidad que tiene la superficie de la cadena de celulosa con un conjunto de diferentes orientaciones de cada aminoácido en cuestión.

Con el fin de cubrir las principales vías de adsorción de cada aminoácido en la superficie de la celulosa, hemos considerado los siguientes casos. El primer conjunto es cuando la adsorción pudiera tener lugar a través del átomo de oxígeno orientado perpendicularmente a la superficie y colocado cerca del enlace 1,4-β Glucosídico de la cadena de celulosa. Un segundo conjunto corresponde al caso cuando la celulosa se adsorbe a través de los átomos de Hidrogeno del grupo amino y un por último un tercer conjunto de configuración es para la interacción entre los átomos de hidrogeno de los anillos aromáticos, (figura 4.13).

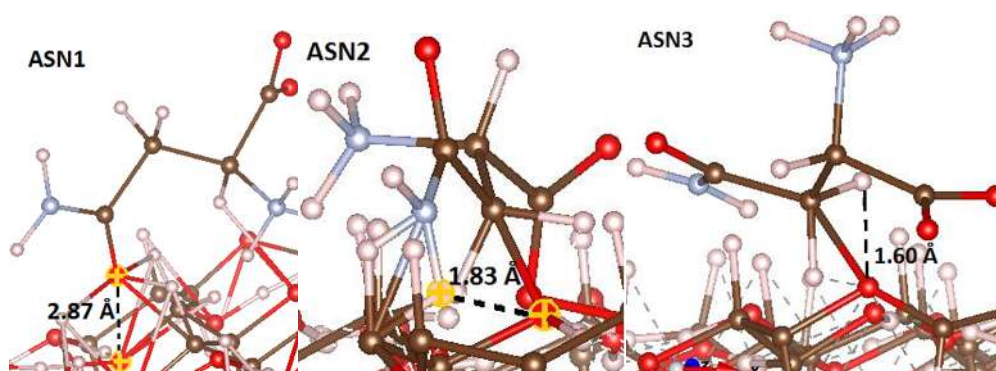


Figura 4. 13 Complejos formados por el aminoácido Asparagina y la cadena de celulosa.

Por medio del modelado molecular y su análisis numérico se obtienen las energías de cada uno de los complejos, así como la de la molécula de celulosa y la molécula de cada uno de los aminoácidos en cuestión.

Haciendo uso de la ecuación 4.1 se calcula la energía de adsorción para cada uno de los complejos formado. Las simulaciones se llevaron a cabo en un clúster de procesamiento del Laboratorio de Cómputo de Alto Desempeño del IIQB de la UMSNH.

Tabla 4. 1 Energías de adsorción en eV, distancias de enlace en Å para los complejos formados.

Configuración	1	2	3
Complejo			
GLU	-89.53(kcal/mol) d_{C-O} (1.98 Å)	-73.92(kcal/mol) d_{C-H} (2.47Å)	-64.79 d_{C-N} (2.89 Å)
ASN	-80.98(kcal/mol) d_{C-O} (2.68 Å)	-66.71(kcal/mol) d_{C-H} (2.55 Å)	-62.83(kcal/mol) d_{C-N} (1.77 Å)
TYR	-82.77(kcal/mol) d_{C-O} (2.47 Å)	-73.59(kcal/mol) d_{C-H} (1.97 Å)	-61.66(kcal/mol) d_{C-N} (2.38 Å)
ASP	-84.65(kcal/mol) d_{C-O} (1.88 Å)	-71.44(kcal/mol) d_{C-H} (2.03 Å)	-80.87(kcal/mol) d_{C-N} (2.11 Å)
TRP	-11.50(kcal/mol) d_{C-O} (1.59Å)	-9.77(kcal/mol) d_{C-H} (2.22 Å)	-12.27(kcal/mol) d_{C-N} (1.93 Å)
PHE	-7.93(kcal/mol) d_{C-O} (2.45 Å)	-12.47(kcal/mol) d_{C-H} (1.81 Å)	-7.11(kcal/mol) d_{C-N} (2.90 Å)

En la tabla 4.1, se puede observar que las menores energías de absorción corresponden al GLU (-89.53 kcal/mol), ASP (-84.65kcal/mol), TYR (-82.77 kcal/mol) y a la ASN (-80.98 kcal/mol). Po lo tanto, siendo estos cuatro aminoácidos los de mayor afinidad con la molécula de celulosa, son ellos los que promueven el desprendimiento de las partículas de tinta en el pretratamiento enzimático.

Corresponde hacer la experimentación de destintado, con los cuatro aminoácidos en cuestión para corroborar los resultados de la simulación computacional anterior.

4.2 COLUMNA DE FLOTACIÓN EN UN SISTEMA AGUA-AIRE.

En la siguiente tabla se condensan los resultados de las mediciones de la tensión superficial para cada muestra.

Tabla 4. 2 Medición de la tensión superficial para diferentes mezclas de agua-aceite de pino

CONC.(ppm)	TENSIÓN SUPERFICIAL (dn/cm)					
	1	2	3	4	5	promedio:
20	61.3	63.7	64.8	64.2	63.9	63.58
30	60.5	60.3	60.9	60.6	60.5	60.56
40	62	63.4	62.4	62.9	63.2	62.78
50	58	59.3	58.7	58.5	58.9	58.68
60	57.3	58	57.5	57.9	57.4	57.62
70	56.7	58	58.2	57	57.5	57.48
80	56.1	56.5	58.5	57	56.3	56.88
90	56.8	56.5	56.7	56.5	56.1	56.68
100	56.5	56.8	57	56.4	56.5	56.64

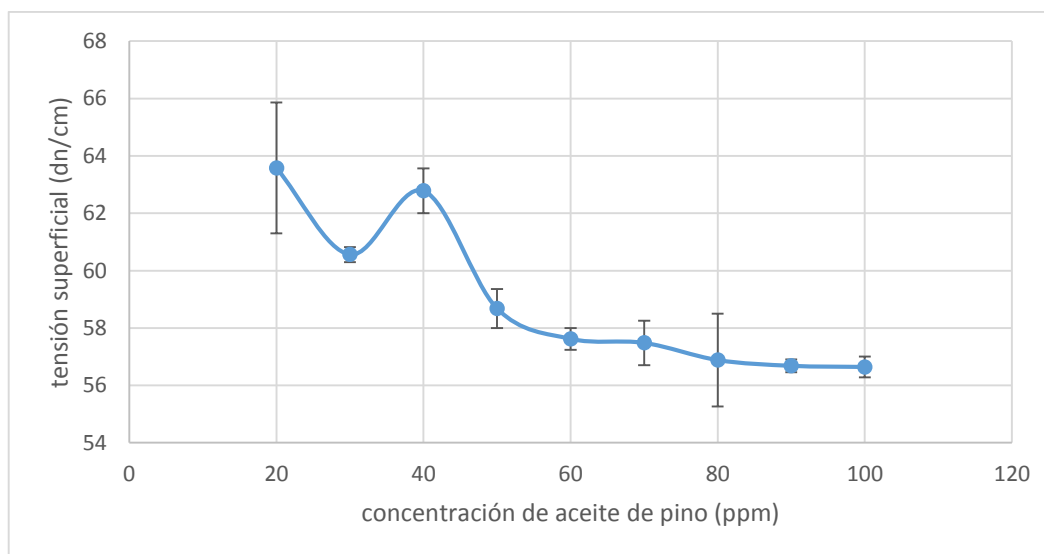


Figura 4. 14 Representación de la tensión superficial en función de la concentración del aceite de pino.

En la figura 4.14 se observa que, a partir de una concentración de 80 ppm del aceite de pino, la tensión superficial tiende a mantenerse constante y en su valor mínimo.

Tabla 4. 3 Mediciones y variables de control a diferentes flujos de aire para la corrida agua-aire.

Para $Q_a=1.0$ L/min de aire				
$Q_a=$	1	LPM	1000	cm^3
$A_c=$	78.54	cm^2		
$J_g=Q_a/A_c$	0.212	cm/s		
$\Delta P=$	3.5	cm		
$d=$	218	cm		
$\epsilon_g=\Delta P/d$	0.016			
% $\epsilon_g=$	1.606			
$\langle t \rangle=$	14.93	s		
$F_c=$ flujo de colas				
$F_c=$	4.018	LPM	66.96	cm^3/s
$J_l=F_c/A_c$	0.853	cm/s		

Para $Q_a=1.5$ L/min de aire				
$Q_a=$	1.5	LPM	1500	cm^3
$A_c=$	78.54	cm^2		
$J_g=Q_a/A_c$	0.318	cm/s		
$\Delta P=$	6.5	cm		
$d=$	218	cm		
$\epsilon_g=\Delta P/d$	0.03			
% $\epsilon_g=$	2.982			
$\langle t \rangle=$	14.37	s		
$F_c=$ flujo de colas				
$F_c=$	4.176	LPM	69.61	cm^3/s
$J_l=F_c/A_c$	0.886	cm/s		

Para $Q_a=2.5$ L/min de aire				
$Q_a=$	2.5	LPM	2500	cm^3
$A_c=$	78.54	cm^2		
$J_g=Q_a/A_c$	0.531	cm/s		
$\Delta P=$	12.5	cm		
$d=$	218	cm		
$\epsilon_g=\Delta P/d$	0.057			
% $\epsilon_g=$	5.734			
$\langle t \rangle=$	15.2	s		
$F_c=$ flujo de colas				
$F_c=$	3.947	LPM	65.79	cm^3/s
$J_l=F_c/A_c$	0.838	cm/s		

Para $Q_a=3$ L/min de aire				
$Q_a=$	3	LPM	3000	cm^3
$A_c=$	78.54	cm^2		
$J_g=Q_a/A_c$	0.637	cm/s		
$\Delta P=$	17.5	cm		
$d=$	218	cm		
$\epsilon_g=\Delta P/d$	0.08			
% $\epsilon_g=$	8.028			
$\langle t \rangle=$	14.27	s		
$F_c=$ flujo de colas				
$F_c=$	4.206	LPM	70.09	cm^3/s
$J_l=F_c/A_c$	0.892	cm/s		

Para $Q_a=3.5$ L/min de aire				
$Q_a=$	3.5	LPM	3500	cm^3
$A_c=$	78.54	cm^2		
$J_g=Q_a/A_c$	0.743	cm/s		
$\Delta P=$	20	cm		
$d=$	218	cm		
$\epsilon_g=\Delta P/d$	0.092			
% $\epsilon_g=$	9.174			
$\langle t \rangle=$	13.03	s		
$F_c=$ flujo de colas				
$F_c=$	4.604	LPM	76.73	cm^3/s
$J_l=F_c/A_c$	0.977	cm/s		

Para $Q_a=4.0$ L/min de aire				
$Q_a=$	4	LPM	4000	cm^3
$A_c=$	78.54	cm^2		
$J_g=Q_a/A_c$	0.849	cm/s		
$\Delta P=$	23.5	cm		
$d=$	218	cm		
$\epsilon_g=\Delta P/d$	0.108			
% $\epsilon_g=$	10.78			
$\langle t \rangle=$	12.9	s		
$F_c=$ flujo de colas				
$F_c=$	4.651	LPM	77.52	cm^3/s
$J_l=F_c/A_c$	0.987	cm/s		

Para $Q_a = 4.5$ L/min de aire			
$Q_a =$	4.5	LPM	4500 cm^3
$A_c =$	78.54	cm^2	
$J_g = Q_a/A_c$	0.955	cm/s	
$\Delta P =$	29	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.133		
% $\epsilon_g =$	13.3		
$\langle t \rangle =$	12.77	s	
$F_c =$ flujo de colas			
$F_c =$	4.7	LPM	78.33 cm^3/s
$J_l = F_c/A_c$	0.997	cm/s	

Para $Q_a = 5.5$ L/min de aire			
$Q_a =$	5.5	LPM	5500 cm^3
$A_c =$	78.54	cm^2	
$J_g = Q_a/A_c$	1.167	cm/s	
$\Delta P =$	33	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.151		
% $\epsilon_g =$	15.14		
$\langle t \rangle =$	14.3	s	
$F_c =$ flujo de colas			
$F_c =$	4.196	LPM	69.93 cm^3/s
$J_l = F_c/A_c$	0.89	cm/s	

Para $Q_a = 6.5$ L/min de aire			
$Q_a =$	6.5	LPM	6500 cm^3
$A_c =$	78.54	cm^2	
$J_g = Q_a/A_c$	1.379	cm/s	
$\Delta P =$	41	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.188		
% $\epsilon_g =$	18.81		
$\langle t \rangle =$	14.6	s	
$F_c =$ flujo de colas			
$F_c =$	4.11	LPM	68.49 cm^3/s
$J_l = F_c/A_c$	0.872	cm/s	

Para $Q_a = 5.0$ L/min de aire			
$Q_a =$	5	LPM	5000 cm^3
$A_c =$	78.54	cm^2	
$J_g = Q_a/A_c$	1.061	cm/s	
$\Delta P =$	29.5	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.135		
% $\epsilon_g =$	13.53		
$\langle t \rangle =$	13.9	s	
$F_c =$ flujo de colas			
$F_c =$	4.317	LPM	71.94 cm^3/s
$J_l = F_c/A_c$	0.916	cm/s	

Para $Q_a = 6.0$ L/min de aire			
$Q_a =$	6	LPM	6000 cm^3
$A_c =$	78.54	cm^2	
$J_g = Q_a/A_c$	1.273	cm/s	
$\Delta P =$	34	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.156		
% $\epsilon_g =$	15.6		
$\langle t \rangle =$	14.4	s	
$F_c =$ flujo de colas			
$F_c =$	4.167	LPM	69.44 cm^3/s
$J_l = F_c/A_c$	0.884	cm/s	

Para $Q_a = 7.0$ L/min de aire			
$Q_a =$	7	LPM	7000 cm^3
$A_c =$	78.54	cm^2	
$J_g = Q_a/A_c$	1.485	cm/s	
$\Delta P =$	47	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.216		
% $\epsilon_g =$	21.56		
$\langle t \rangle =$	14.5	s	
$F_c =$ flujo de colas			
$F_c =$	4.138	LPM	68.97 cm^3/s
$J_l = F_c/A_c$	0.878	cm/s	

Para $Q_a = 7.5$ L/min de aire			
$Q_a =$	7.5	LPM	7500 cm ³
$A_c =$	78.54	cm ²	
$J_g = Q_a/A_c$	1.592	cm/s	
$\Delta P =$	53	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.243		
% $\epsilon_g =$	24.31		
$\langle t \rangle =$	14.4	s	
F_c = flujo de colas			
$F_c =$	4.167	LPM	69.44 cm ³ /s
$J_l = F_c/A_c$	0.884	cm/s	

Para $Q_a = 8.0$ L/min de aire			
$Q_a =$	8	LPM	8000 cm ³
$A_c =$	78.54	cm ²	
$J_g = Q_a/A_c$	1.698	cm/s	
$\Delta P =$	54	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.248		
% $\epsilon_g =$	24.77		
$\langle t \rangle =$	14.47	s	
F_c = flujo de colas			
$F_c =$	4.147	LPM	69.12 cm ³ /s
$J_l = F_c/A_c$	0.88	cm/s	

Para $Q_a = 8.5$ L/min de aire			
$Q_a =$	8.5	LPM	8500 cm ³
$A_c =$	78.54	cm ²	
$J_g = Q_a/A_c$	1.804	cm/s	
$\Delta P =$	61	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.28		
% $\epsilon_g =$	27.98		
$\langle t \rangle =$	13.53	s	
F_c = flujo de colas			
$F_c =$	4.433	LPM	73.89 cm ³ /s
$J_l = F_c/A_c$	0.941	cm/s	

Para $Q_a = 9.0$ L/min de aire			
$Q_a =$	9	LPM	9000 cm ³
$A_c =$	78.54	cm ²	
$J_g = Q_a/A_c$	1.91	cm/s	
$\Delta P =$	65	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.298		
% $\epsilon_g =$	29.82		
$\langle t \rangle =$	13.53	s	
F_c = flujo de colas			
$F_c =$	4.433	LPM	73.89 cm ³ /s
$J_l = F_c/A_c$	0.941	cm/s	

Para $Q_a = 9.5$ L/min de aire			
$Q_a =$	9.5	LPM	9500 cm ³
$A_c =$	78.54	cm ²	
$J_g = Q_a/A_c$	2.016	cm/s	
$\Delta P =$	67	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.307		
% $\epsilon_g =$	30.73		
$\langle t \rangle =$	13.37	s	
F_c = flujo de colas			
$F_c =$	4.489	LPM	74.81 cm ³ /s
$J_l = F_c/A_c$	0.953	cm/s	

Para $Q_a = 10.0$ L/min de aire			
$Q_a =$	10	LPM	10000 cm ³
$A_c =$	78.54	cm ²	
$J_g = Q_a/A_c$	2.122	cm/s	
$\Delta P =$	73.5	cm	
$d =$	218	cm	
$\epsilon_g = \Delta P/d$	0.337		
% $\epsilon_g =$	33.72		
$\langle t \rangle =$	14.47	s	
F_c = flujo de colas			
$F_c =$	4.147	LPM	69.12 cm ³ /s
$J_l = F_c/A_c$	0.88	cm/s	

Con los datos anteriores de la fracción de gas, la velocidad superficial del aire y del fluido, se calcula el diámetro de burbuja con el modelo de Drift Flux. En la siguiente tabla se muestran los resultados de dicho cálculo para las diferentes condiciones de flujo de aire alimentado a la columna.

Tabla 4. 4 Resultados de las variables de control para la corrida agua-aire a diferentes flujos de aire.

Q_a(L/min)	ε_g	J_l (cm/s)	J_g (cm/s)	d_b (mm)	S_b (cm²/s)
1	0.0161	0.8526	0.2122	1.3030	9.7716
1.5	0.0298	0.8862	0.3183	1.0710	17.8324
2	0.0390	0.8395	0.4244	1.1010	23.1287
2.5	0.0573	0.8377	0.5305	0.9620	33.0883
3	0.0803	0.8925	0.6366	0.8640	44.2096
3.5	0.0917	0.9769	0.7427	0.9020	49.4050
4	0.1078	0.9870	0.8488	0.9000	56.5883
4.5	0.1330	0.9973	0.9549	0.8590	66.7004
5	0.1353	0.9160	1.0610	0.9230	68.9727
5.5	0.1514	0.8904	1.1671	0.9260	75.6242
6	0.1560	0.8842	1.2732	0.9810	77.8738
6.5	0.1881	0.8721	1.3793	0.9290	89.0854
7	0.2156	0.8781	1.4854	0.9150	97.4061
7.5	0.2431	0.8842	1.5915	0.9100	104.9371
8	0.2477	0.8801	1.6976	0.9530	106.8824
8.5	0.2798	0.9408	1.8038	0.9540	113.4435
9	0.2982	0.9408	1.9099	0.9750	117.5295
9.5	0.3073	0.9525	2.0160	1.0100	119.7599
10	0.3372	0.8801	2.1221	1.0110	125.9383

Se observa en la figura 4.15 que la fracción de gas aumenta con el flujo de aire, y con la disminución en la tensión superficial del líquido. Las fracciones volumétricas de gas son mayores cuando se producen burbujas pequeñas. Estas burbujas ascienden a menor velocidad que las burbujas grandes y se acumulan en la zona de colección de la columna, dando lugar a incrementos en la fracción de gas retenido (ϵ_g). A partir de adiciones de espumante de 80 ppm, prácticamente la fracción volumétrica de gas no varía, al no disminuir significativamente la tensión superficial del líquido.

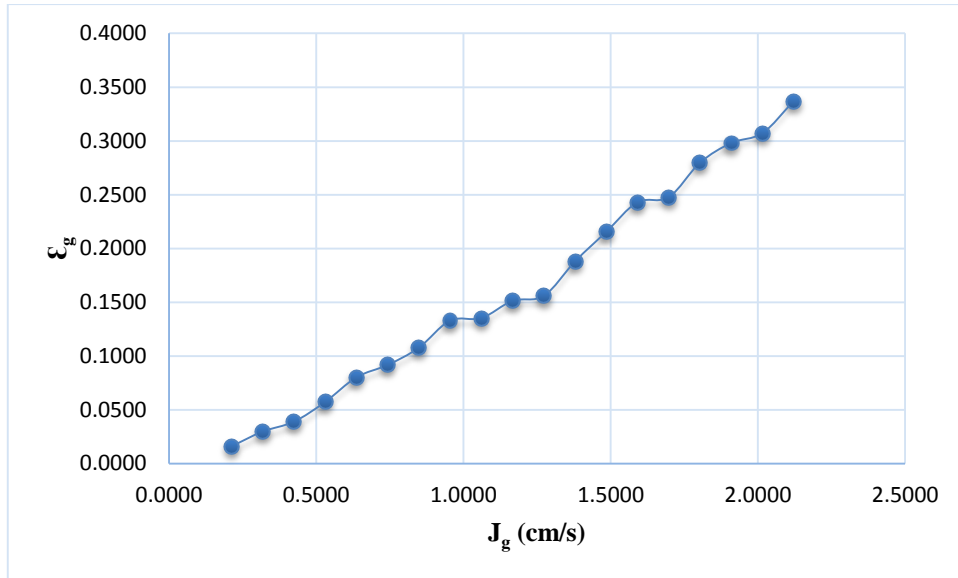


Figura 4. 15 Efecto de la velocidad superficial del gas sobre la fracción de gas retenido a las diferentes condiciones de flujos de aire alimentado.

Para comprobar que, a mayor concentración de espumante, es decir a menor tensión superficial disminuyen los diámetros de burbujas de aire, se calcularon estos diámetros por el método del drif flux y se graficaron en la figura 4.16, donde se observa que conforme aumenta la velocidad superficial del aire (J_g), disminuye el diámetro de burbuja.

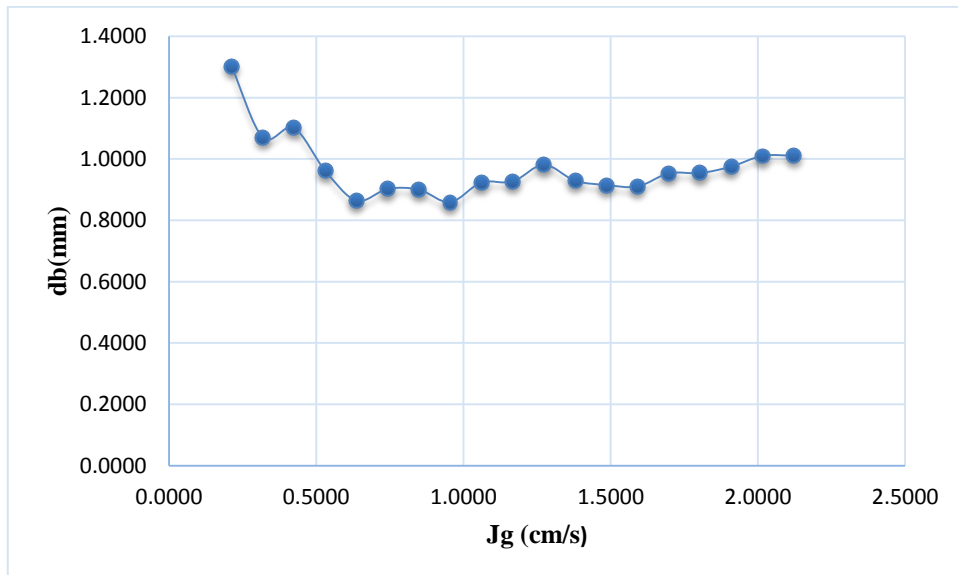


Figura 4. 16 Efecto de la velocidad superficial del gas sobre el diámetro de burbuja generado.

Se puede decir, de la figura 4.17 que, a mayor concentración de espumante y mayores flujos de aire se logran áreas superficiales mayores, es decir existe mayor probabilidad de que la tinta sea capturada por las burbujas.

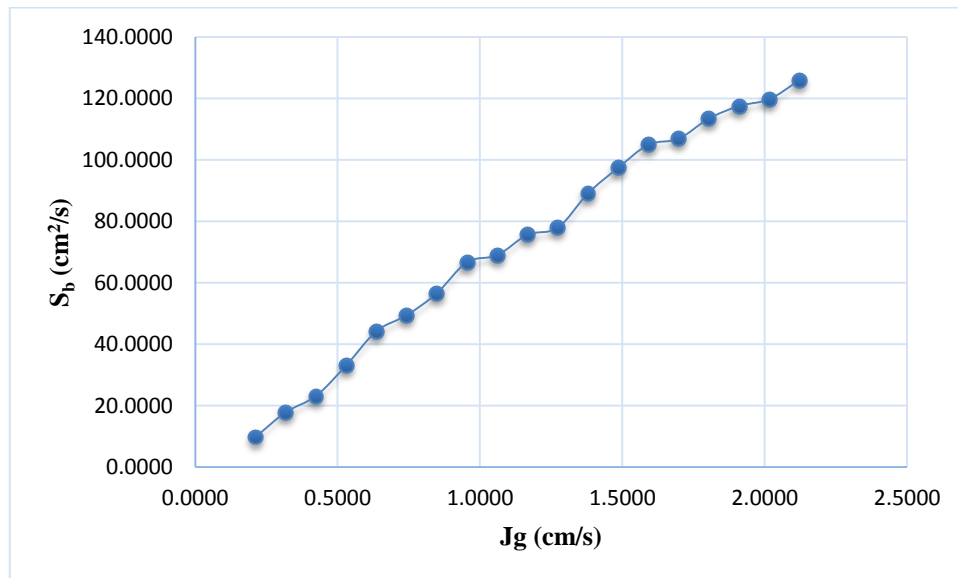


Figura 4. 17 Efecto de la velocidad superficial del gas sobre el área superficial de burbujas.

De los resultados anteriores se concluye que, a manera de evitar algún efecto en la reproducibilidad de datos, causado por las variaciones en la concentración del surfactante, por la volatilidad del mismo, el valor de la tensión superficial se fijó en 56.64 dn/cm, al adicionar 100 ppm del aceite de pino, para el resto de la experimentación, al igual el flujo de aire a alimentar será de 6 LPM.

4.3 DESTINTADO CONVENCIONAL

Una vez realizada la metodología descrita en la sección 3.3, se procede a la elaboración de las hojas (apéndice D), con la fibra colectada en la corriente de colas de la columna de flotación. A las hojas formadas se le hacen las pruebas de laboratorio descritas en el apéndice E. Los resultados se muestran en la tabla 4.5.

Las mediciones de las propiedades ópticas de las hojas de papel destintado, se llevan a cabo en los laboratorios de la empresa Bio Papel Scribe S.A. de C.V. que se encuentra en la ciudad de Morelia, Michoacán, con sus equipos especializados y siguiendo las normas y procedimientos establecidos para cada uno de las variables en cuestión (Anexo E).

Tabla 4. 5 Resultados del destintado convencional, con NaOH.

Característica	Fibra destintada con NaOH
Blancura ISO (%)	80.2
L*	92.86
a*	1.68
b*	0.21
Reflectancia (%)	57.45
Opacidad (%)	99.46

El grado de blancura obtenido por este método, fue de 80.2%. Las especificaciones para pulpas kraft vírgenes blanqueadas, tienen como estándar mínimo un 83% de blancura ISO. En este caso, ya que la metodología propuesta en todas las pruebas del presente trabajo no implica la implementación de la etapa de blanqueo químico, no se logró alcanzar el mínimo de blancura requerido.

4.4 DESTINTADO ENZIMÁTICO

Los parámetros de control para las pruebas del destintado con la enzima Cellulase from *Trichoderma sp.* facilitada por la empresa SIGMA LIFE SCIENCE (Anexo B), se muestran en la tabla 4.6

Tabla 4. 6 Parámetros de control del pretratamiento enzimático.

FACTORES	Unidades	PRUEBA 1	PRUEBA 2	PRUEBA 3	PRUEBA 4
Dosis Enzima	%	0.015	0.025	0.05	0.07
Consistencia en el pretratamiento	%	4	4	6	4
Tiempo pretratamiento	min	30	50	20	30
pH	-	5	5	5	5
Temperatura	°C	50	50	50	50
Surfactante	ppm	100	100	100	100

Nota: Los porcentajes son en base a la masa del papel seco.

En la tabla 4.7, se muestran los resultados de las mediciones de las características ópticas de las hojas destintadas con la enzima. La calidad de fibra destintada en la prueba 3, donde se utilizó 0.05% de la enzima, fue la mejor, logrando una blancura de 85.7% y el menor número de puntos negros, 398.8 ppm. Además las características de tonalidad, a^* y b^* son bastante cercanas a la neutralidad, lo cual es muy bueno, ya que es un indicativo de que si se reutilizase esta fibra para la producción de papel, no le conferiría cierta tendencia hacia ningún valor extremo de estas tonalidades. El 93.54 de la L^* , para esta prueba 3, fue el valor más alto, casi igualado con el 93.49 obtenido en la prueba 4. Este valor es un indicativo de la blancura, siendo el 100, el valor máximo de su escala.

Tabla 4. 7 Características ópticas de las hojas destintadas por el medio enzimático.

CARACTERÍSTICA	PRUEBA 1	PRUEBA 2	PRUEBA 3	PRUEBA 4
<i>Dosis Enzima (%)</i>	0.015	0.025	0.05	0.07
<i>Blancura ISO (%)</i>	79.1	85.5	85.7	85.2
<i>Puntos negros(ppm)</i>	677.5	410.9	398.8	460.5
L^*	92.1	92.74	93.54	93.49
a^*	1.57	1.56	0.52	1.71
b^*	-0.68	-3.55	-1.40	-3.09
<i>Reflectancia (%)</i>	33.99	36.60	43.65	34.70
<i>Opacidad (%)</i>	97.33	88.66	89.53	97.75

Se observa que, con la dosis menor de la enzima, 0.015% (prueba 1), la blancura es la más baja, 79.1%, y los puntos negros registran el valor más alto, 677.5 ppm. En la prueba 2, 3 y 4, se tienen buenos resultados, la blancura se mantiene prácticamente constante, 85.5%, 85.7% y 85.2% y las demás características están dentro de los parámetros de calidad exigidos para papeles de impresión y fotocopiado.

De la microscopía electrónica de barrido, se pudo observar en los diferentes acercamientos para dos sitios de la muestra analizada, seleccionados al azar, del papel antes del destintado (figuras 4.18 a) a la 4.23 a)) y después de ser destintado con la enzima Celulasa (figuras de la 4.18 b) y c)

a la 4.23 b) y c)), de las pruebas 1 y 4 que, las partículas de tinta implícitas en la muestra antes del destintado con la enzima revisten y están ligadas con todas las fibras de enlace que conforman el papel. Una vez finalizado el destintado de papel con la enzima Celulasa (pruebas 1 y 4) las fibras aparecen prácticamente limpias de todas las partículas de tinta que estaban impresas en su superficie en su estructura y no se logra definir un incremento significativo en la composición de fibras cortas, que se predican ser producto del ataque enzimático, lo cual favorece naturalmente a la calidad de la fibra destintada en sus resistencias mecánicas y por ende a la calidad del producto final.

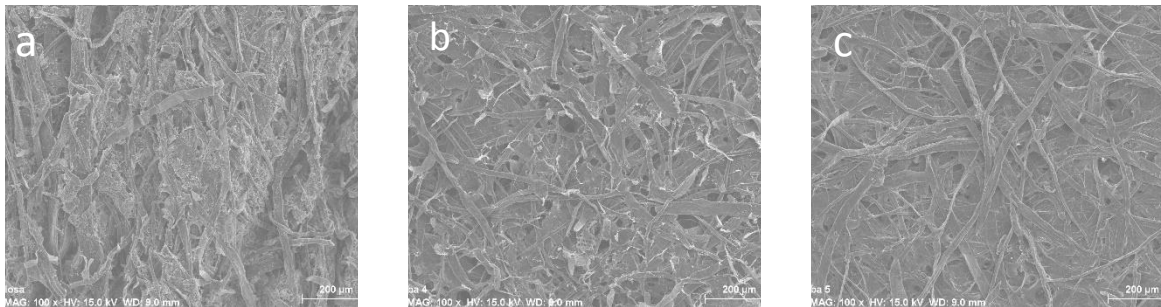


Figura 4. 18 Micrografías a 100X de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.

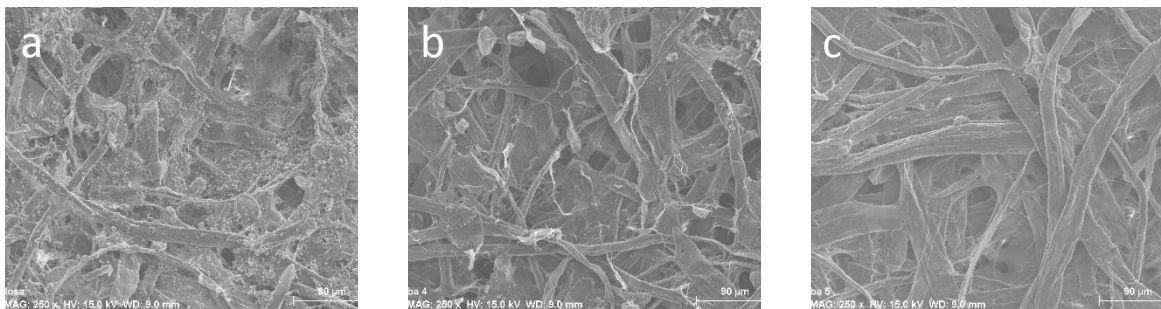


Figura 4. 19 Micrografías a 250X, sitio 1, de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.

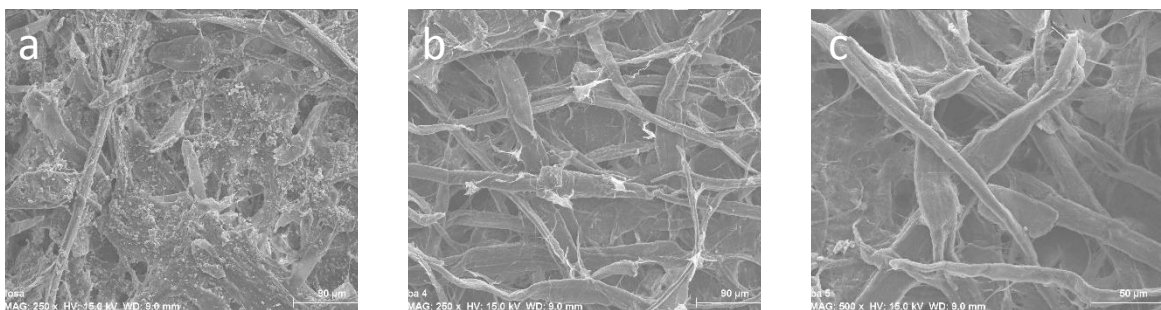


Figura 4. 20 Micrografías a 250 X, sitio 2 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.

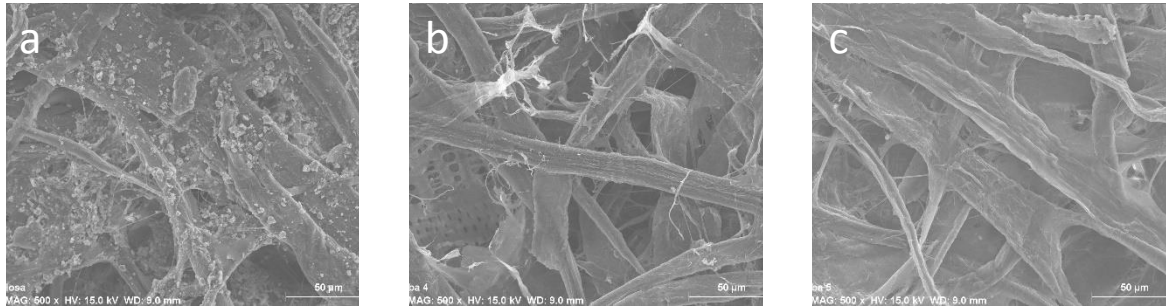


Figura 4. 21 Micrografías a 500X, sitio 1 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4

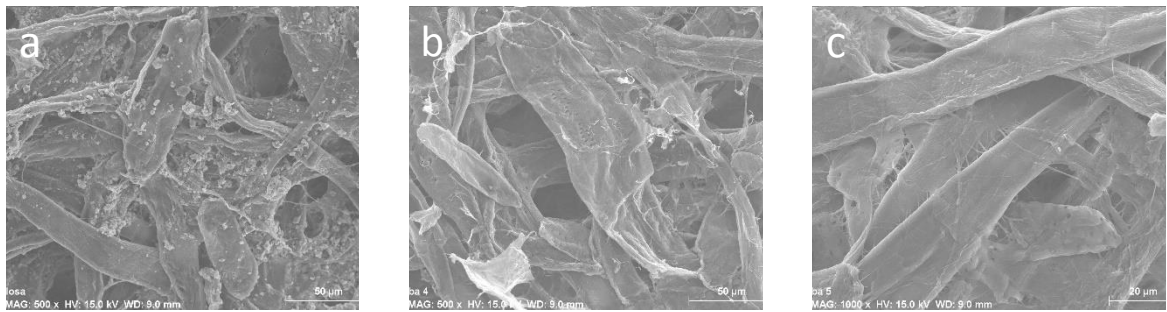


Figura 4. 22 Micrografías a 500X, sitio 2 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.

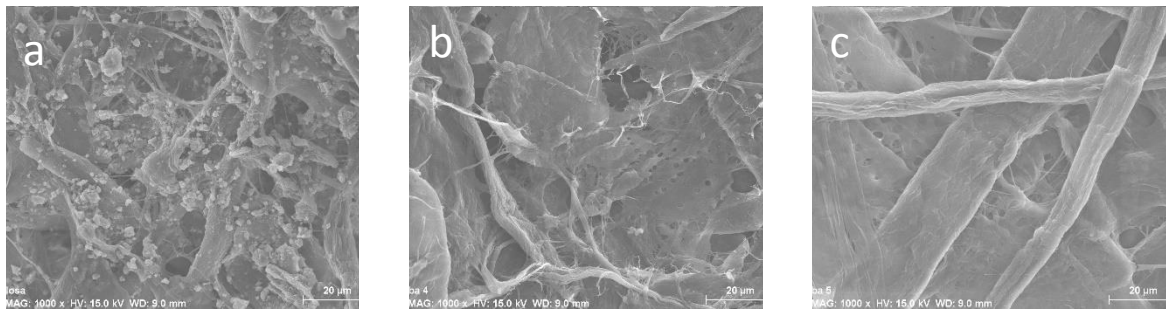


Figura 4. 23 Micrografías a 1000X, sitio 1 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4.

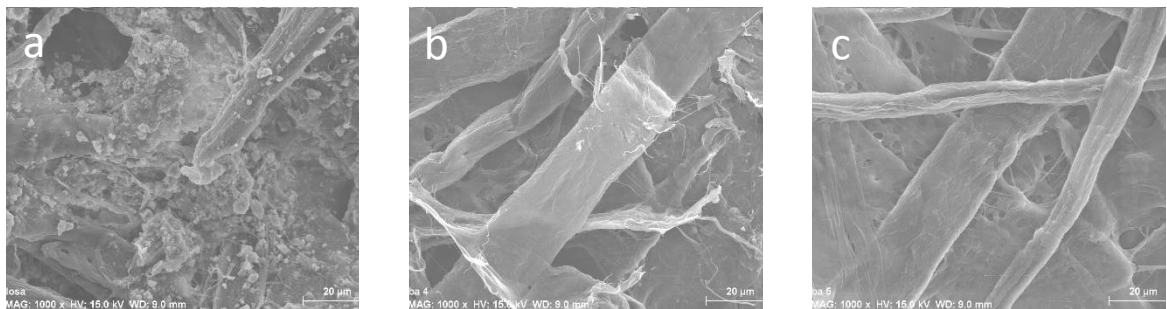


Figura 4. 24 Micrografías a 1000X, sitio 2 de: a) fibra de papel reciclado, b) prueba 1, c) prueba 4

En la figura 4.25 se puede apreciar la morfología de la fibra después del pretratamiento con la enzima celulasa, de la prueba 3. En las condiciones dadas en este pretratamiento, la gran mayoría

de las impurezas de las tintas y/o sus componentes, se ven liberadas en la superficie de las fibras, muy reducidos son los grupos de estas impurezas, los que se aprecian intrínsecos en la morfología de las fibras, destacando que no se logra observar una desintegración significativa en la estructura de las fibras, ni en su capa cortical, ni en su núcleo. Es apenas perceptible una minúscula fibrilación en la capa superficial de la fibra.

Si la reacción esperada de la enzima celulasa sobre las fibras recicladas es únicamente una degradación por hidrólisis, se esperaría una notoria afectación en las fibras celulósicas, sin embargo, las micrografías no muestran lo propio en una gran escala. La reacción de hidrólisis se produce preferentemente sobre la superficie de la fibra, y no en toda su estructura, debido a la diferencia sustancial de tamaño entre las moléculas de enzima (diámetro medio 35-75 Å) y los poros de las fibras de celulosa regenerada (20-30 Å). De esta forma, teniendo en cuenta la estructura corteza/núcleo característica de las fibras de celulosa regenerada, parece lógico pensar que la capa cortical tendrá un papel relevante en el proceso de hidrólisis. A tiempos más largos, la degradación de esta corteza provocaría el ataque sobre las zonas más internas, con menor presencia de regiones amorfas entre las microfibrillas altamente orientadas y de gran cristalinidad. Por lo tanto el tiempo de reacción del pretratamiento enzimático contribuye sustancialmente para que el efecto adverso, que sería una degradación del material celulósico, que pudiera resultar de una sobre exposición de la enzima celulasa sobre las fibras del papel reciclado.

Las micrografías (figura 4.26) de la fibra obtenida después del proceso de flotación, de la prueba 3, muestran que la eliminación de las partículas de tinta fue efectiva, esta etapa del proceso, el fenómeno más relevante que se suscita es precisamente la separación selectiva de las partículas hidrofóbicas, por lo tanto no es de esperarse un cambio en la estructura o morfología de las fibras, únicamente se requiere corroborar que las impurezas y componentes ajenos al material celulósico fueron separadas eficientemente, como se presenta en las imágenes citadas.

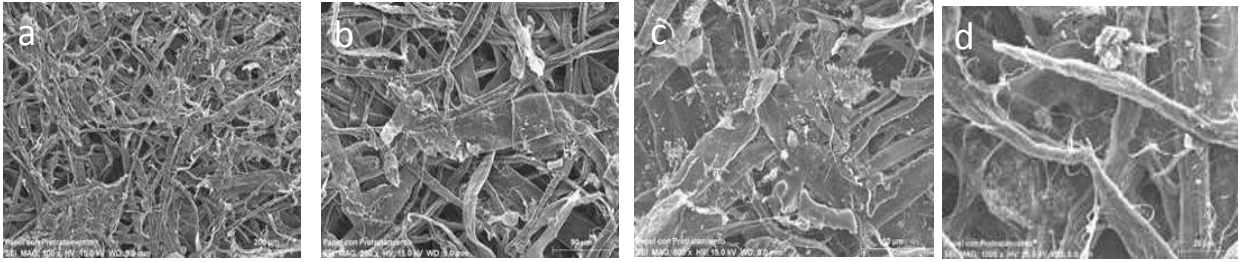


Figura 4. 25 Micrografías de la pulpa de papel después del pretratamiento enzimático. a) a 100X, b) a 250X, c) a 500X, d) a 1000X.

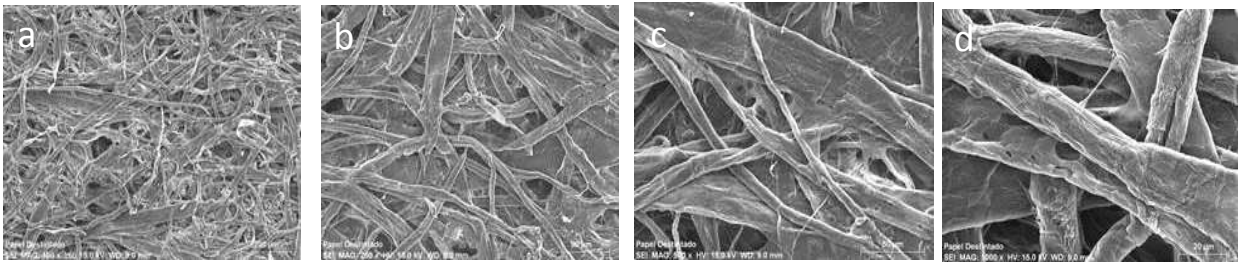


Figura 4. 26 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado enzimático. a) M a 100X, b) a 250X, c) a 500X, d) a 1000X.

4.4 DESTINTADO CON AMINOÁCIDOS

Siguiendo la misma metodología, pasos y secuencia descrita en las secciones 3.4.1 a 3.4.6, en este apartado se investiga el efecto de la aplicación de los aminoácidos, Aspartato, Glutamato y Asparagina, en el destintado de papel de oficina, utilizando la columna de flotación. Es decir, solo se sustituye la enzima por estos aminoácidos, y la metodología se sigue la misma metodología del destintado enzimático.

Se realizaron 9 series experimentales, modificando la dosis del aminoácido de 0.1% a 0.2% en base papel seco. En la primera prueba con Aspartato, se elevó la temperatura de la mezcla a 50 °C y se ajustó el pH a 5, con ácido sulfúrico. Al alcanzar dichas condiciones se agrega el Aspartato al 0.1% en base papel seco. El tiempo de tratamiento fue de 30 minutos.

En las siguientes pruebas, el tratamiento se lleva a cabo a condiciones de temperatura ambiente (25 °C) y pH de la mezcla, neutro (pH=7). Manteniendo el mismo tiempo de reacción con cada aminoácido bajo agitación constante durante 30 minutos.

En la tabla 4.8 se muestran la dosis, tipo y mezcla de aminoácidos que tuvieron efecto en cada una de las pruebas realizadas.

Tabla 4. 8 Parámetros de control del tratamiento con aminoácidos.

FACTORES	uds.	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4	Prueba 5	Prueba 6	Prueba 7	Prueba 8	Prueba 9
Tipo de aminoácido		ASP	ASP	ASP	GLU	GLU	ASN	ASN	ASP:GLU:ASN	ASP:GLU:ASN
Dosis de aminoácido	%	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1: 0.1: 0.1	0.2: 0.2: 0.2
Consistencia	%	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Tiempo de rxn.	min	30	30	30	30	30	30	30	30	30
pH	-	5	7	7	7	7	7	7	7	7
Temperatura	°C	50	25	25	25	25	25	25	25	25
Surfactante	ppm	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Nota: Los porcentajes son en base a la masa del papel seco. (uds. = unidades)

Los resultados de las mediciones de las características ópticas de las hojas destintadas en estas 9 pruebas, se presentan en la tabla 4.9. En la prueba 1, tratamiento con el Aspartato (ASP), se manejaron las mismas condiciones (pH=5 y T=50°C) a las que se trabajó con la enzima celulasa. Sin embargo, los resultados de calidad de la fibra destintada en este medio no fueron buenos. La blancura ISO fue muy inferior a la que se venía logrando con la enzima celulasa, 75 %, y por lo tanto la variable L* (referencia de tonalidad respecto al blanco) también resultó baja, 89.75. Las variables a* y b*, 1.1 y -1.2, respectivamente, resultan con valores aproximados a uno, recordando que un valor cero para estas variables significaría ausencia de color en dichas tonalidades. Lo anterior es producto del ácido sulfúrico, utilizado para modificar el pH en el tratamiento, al provocar un amarillamiento en las fibras. Las impurezas o puntos negros resultaron elevadas 720.6 ppm, es decir, una menor separación de la tinta inmersa entre las fibras. La opacidad y reflectancia, no se ven disminuidas en gran medida, y resultan en valores próximos a los obtenidos en las demás pruebas.

Tabla 4. 9 Resultados de las mediciones de las características ópticas de las hojas de papel destintado con aminoácidos.

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4	Prueba 5	Prueba 6	Prueba 7	Prueba 8	Prueba 9
	ASP 0.1%, pH=5	ASP 0.1%	ASP 0.2%	GLU 0.1%	GLU 0.2%	ASN 0.1%	ASN 0.2%	ASP:GLU: ASN 0.1%	ASP:GLU: ASN 0.2%
Blancura ISO (%)	75	85	86	84.9	86.9	81.5	85.8	89.1	90.8
Puntos negros (ppm)	720.6	445.2	412.5	455.3	377.1	550.8	423.3	333.0	303.4
L*	89.75	93.05	94.25	93.8	94.44	91.6	94.6	94.7	95.3
a*	1.1	1.6	1.6	1.67	1.27	1.5	1.3	1.65	1.7
b*	-1.2	-3.3	-3.36	-2.55	-2.1	-2.8	-2.5	-4.3	-4.52
Reflectancia (%)	37.5	41.5	42.7	39.57	47.15	40.2	39.32	35.9	34.7
Opacidad (%)	87.1	88.3	89.5	88.9	89.9	88	89.5	89.6	89.9

Siguiendo con el Aspartato, al realizar el experimento con una dosis igual a la anterior, de 0.1% (prueba 2) en base papel seco, y 0.2% (prueba 3), pero sin añadir ácido sulfúrico, ni elevar la temperatura del sistema, se logró un aumento de 10 puntos porcentuales en la blancura ISO, 85% y 86%. Los puntos negros 445.2 y 412.5 ppm, respectivamente. Para tonalidad L*, se obtuvieron valores de 93.05 en la prueba 2, y 94.25, en la prueba 3. La tonalidad a* y b*, se manifestaron con valores prácticamente iguales, 1.6 y -3.3 para ambos casos. Lo mismo ocurre en la reflectancia y opacidad, con valores muy cercanos, 41.5 y 42.7% de reflectancia, y 88.3 y 89.5% de opacidad.

Para el Glutamato, al aumentar la dosis de 0.1% a 0.2% se obtiene un aumento en la blancura de 2%, es decir, de 84.9% sube a 86.9%, éste último valor ya por encima del mejor resultado obtenido con la enzima celulasa que fue de 85.7%. Los puntos negros son reflejo directo de la calidad del destintado y efectividad de la flotación, y este número también disminuye al aumentar la dosis de GLU, de 455.3 a 377.1 ppm. Las variables de tonalidad L*, a* y b*, al igual que la opacidad, sufren solo ligeros cambios, sin mayores implicaciones. La reflectancia en cambio sí se modificada en buena medida, desde 39.57% hasta 47.15% al aumentar la dosis del aminoácido en cuestión.

Al tratar el papel MOW con la Asparagina se notan mayores cambios entre ambas pruebas. Cuando se dosifica 0.1% del aminoácido, la blancura ISO obtenida es de 81.5%, los puntos negros 550.8 ppm y la L* de 91.6, todos, números muy por debajo de los alcanzados en las demás pruebas con

aminoácidos. Para este caso las variables a^* , b^* , reflectancia y opacidad no muestran mayores cambios entre ambas pruebas.

Al mezclar los tres aminoácidos (prueba 8), agregando 0.1% de cada uno en base al peso de papel seco a destintar, se obtiene un resultado de blancura muy por encima de lo logrado en las pruebas anteriores, incluso con la enzima celulasa, la cual había sido la mejor alternativa en cuanto a calidad obtenida, en comparación con los métodos convencionales. En la prueba 8, la blancura resultante fue de 89.1% y los puntos negros 333.0 ppm. La variable b^* cambia en menor medida a -4.3. Los parámetros L^* , a^* , y opacidad se mantienen sobre la media de los obtenidos en las pruebas anteriores. Pero la reflectancia si disminuye considerablemente, 35.9%, siendo ésta inversamente proporcional a la blancura.

En la prueba 9 se realizó el tratamiento al papel MOW con 0.2% de cada aminoácido. Esta arrojó los mejores resultados de calidad en el destintado. Blancura ISO de 90.8% y puntos negros 303.4 ppm, datos muy por encima de lo esperado, tomando en consideración que no se está tratando el papel MOW con ningún agente químico blanqueador y solo se está trabajando con básicamente 3 etapas de proceso: pulpeo, tratamiento químico y flotación. Además de eliminar el gasto energético que implica el destintado enzimático, al tener que acondicionar el sistema a la temperatura de activación de la celulasa y modificar el pH del medio para tales efectos. La blancura original de papel destintado, "Copy Paper 75 gr/m²", tiene como rango de aceptación entre 91 y 97%. Lo cual implica que obtener 90.8% de blancura, es prácticamente llegar a su calidad original. Los parámetros de tonalidad logrados $L^*=95.3$, $a^*=1.7$ y $b^*=-4.52$, oscilan dentro de los valores obtenidos en pruebas anteriores y caen dentro de lo esperado. Cabe precisar que éstas variables para el tipo de papel en cuestión su estándar es: L^* , de 92.5 a 95.5, a^* de 1.3 a 2.3, b^* de -9 a -8, reflectancia de 32 a 40% y opacidad mínima aceptada de 87%.

La variable b^* es controlada con un pigmento a partir de la anilina, y el negativo de su valor indica el corrimiento del color hacia el azul. La adición de tal pigmento en la fabricación del papel es directamente proporcional a la negatividad de éste parámetro, es decir, a mayor anilina más negativa la b^* . En el destintado estos pigmentos responsables del color son desprendidos de las

vecindades de la fibra y removidos por la flotación. Por lo que es de esperarse una disminución de este parámetro después del destintado.

La opacidad es necesaria en los papeles en todos los papeles de impresión. Debe ser suficiente para evitar que la impresión en el reverso del papel no afecte negativamente el aspecto de una impresión, por lo que a mayor opacidad mayor calidad de impresión. Y el resultado en esta prueba fue el de mejor opacidad 89.9%.

Con el análisis de microscopia electrónica de barrido se busca conocer la morfología de superficie de la fibra después del destintado. Para poder apreciar el grado de fibrilación y que éste no sea mayor, tal que pueda afectar las propiedades mecánicas de la fibra. En la prueba 1 donde se obtuvo menor calidad en cuanto a las características ópticas, se puede observar (figura 4.48) una ligera abrasión en ciertas zonas de la superficie de las fibras, resultado probable de la acción y efecto del ácido sulfúrico utilizado en dicho experimento. También se pueden apreciar en estas micrografías, algunas impurezas, motas de carbonato de calcio y almidón aglomerados; pero no, una fibrilación mayor, representativa de un ataque excesivo del aminoácido en cuestión. La baja calidad de la blancura, limpieza y brillo, es consecuencia del amarillamiento provocado por el ácido sulfúrico añadido la prueba. Esto puede justificarse de la siguiente manera: el carbonato de calcio contenido en el papel como relleno aumenta el brillo y, por lo tanto, reducir su cantidad (durante el tratamiento en un medio ácido) conduce a la reducción de la cantidad correspondiente en el papel producido y, en consecuencia, a la disminución del brillo y blancura del papel.

En las micrografías de la pulpa destintada con Aspartato, Glutamato, Asparagina (figura de la 4.29 a la 4.34) y mezcla de los anteriores, todos al 0.2% en base papel seco, se puede observar algo similar a lo descrito en el párrafo anterior. La despolimerización inducida por los aminoácidos no representa una fibrilación excesiva que afecte la morfología interna de la fibra de celulosa y por tanto no se verían afectadas las propiedades mecánicas de las mismas. No se aprecian partículas de tóner o tina de impresión, solo pequeñas aglomeraciones, probables del almidón, carbonato de calcio precipitado, y/o residuos de otros aditivos, propios de la fabricación del papel.

La figura 4.34, muestra la micrografía de la prueba 9, la cual arrojó los mejores resultados de las características ópticas, de ésta se puede observar que la estructura morfológica de la fibra conserva su robustez, algunas fibras se aprecian más planas que otras, como resultado propio de la formación de la hoja, sin embargo, no hay presencia de fibrilación o formación excesiva de finos. La fragmentación de las tintas es otro fenómeno que ocurre en los procesos de destintado, que es deseable hasta cierto punto, para que las partículas formadas de éstas adquieran el tamaño adecuado para ser flotadas con mayor eficacia. Cuando esto sucede, se obtienen papeles con blancura y brillo superiores, sin repercusiones considerables en las propiedades mecánicas de la fibra destintada.

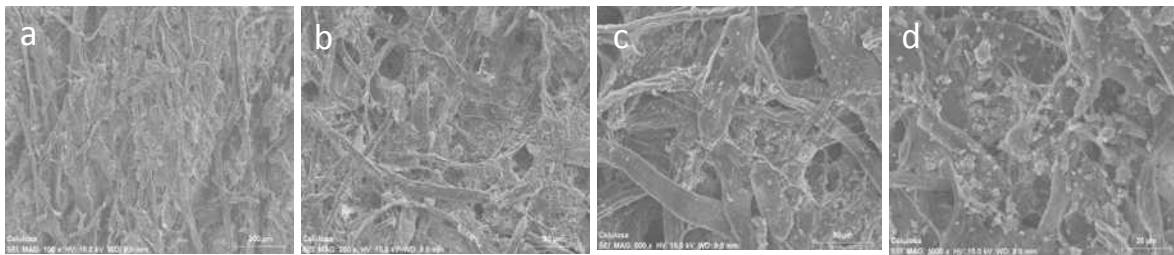


Figura 4. 27 Micrografías de la pulpa de papel antes del destintado. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.

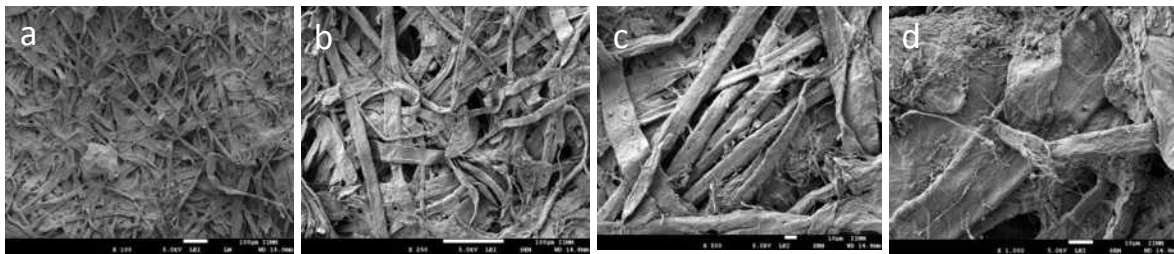


Figura 4. 28 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 1. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.

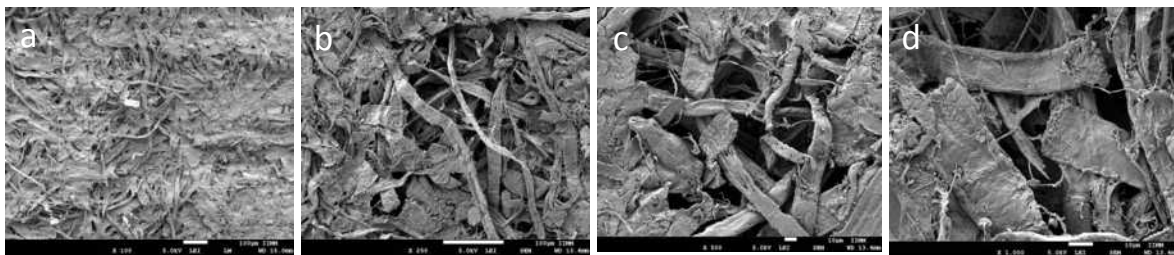


Figura 4. 29 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 3. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.

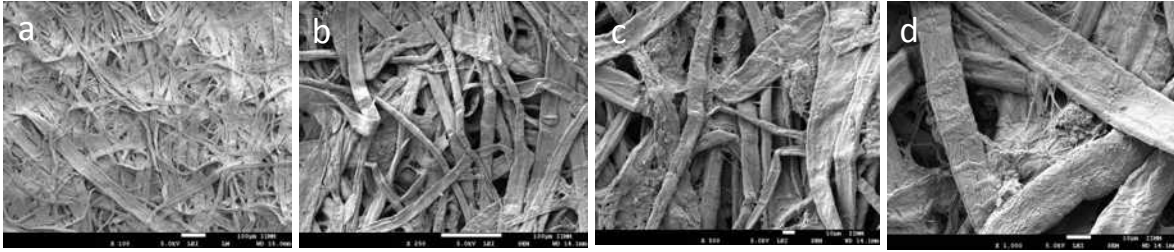


Figura 4. 30 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 5. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.

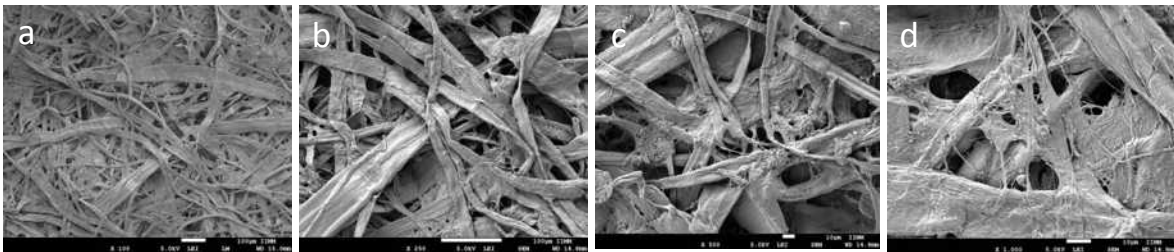


Figura 4. 31 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 7. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.

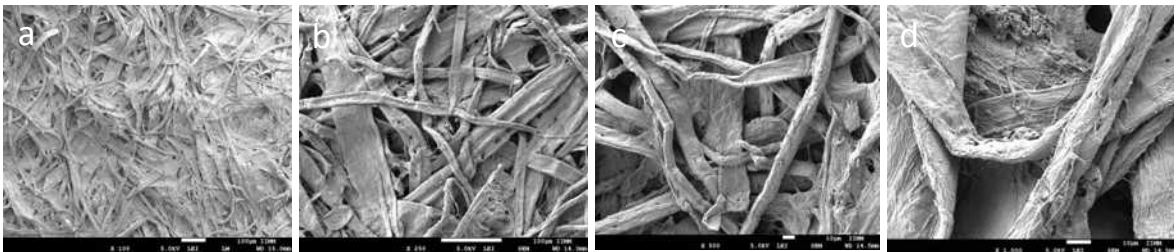


Figura 4. 32 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 8. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.

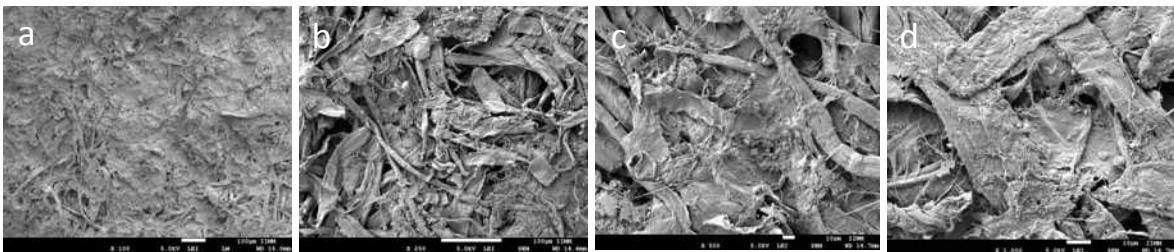


Figura 4. 33 Micrografías de la pulpa de papel después del destintado, prueba 9. a) a 100X, b) a 250X 3, c) a 500X, d) a 1000X.

5. CONCLUSIONES

Del trabajo de investigación descrito, desarrollado y discutido en este trabajo de tesis, desde la simulación matemática de los mecanismos de interacción entre las enzimas y burbujas de aire, hasta la separación de las partículas de tinta mediante el sistema de flotación en una columna de flotación de laboratorio, se derivan las siguientes conclusiones:

a. De la simulación matemática de los mecanismos de hidrólisis

El estudio de la química computacional que se realizó fue la pieza clave para que, con este respaldo teórico poder determinar los componentes de la enzima que inciden directamente en la molécula de celulosa para propiciar el desprendimiento de las partículas de tinta inmersas en las fibras recicladas tipo MOW.

De las 100 conformaciones del complejo Celulosa - Endo- β -1,4-D-glucanasa, analizadas con AUTODOCK, la pose con mayor afinidad resultó con una energía de -0.57 kcal/mol, es decir, donde se produce el llamado efecto llave-cerradura.

Del acoplamiento con mejor afinidad entre la enzima y la celulosa, los aminoácidos involucrados en dicha interacción son el Glutamato (GLU, A: 207), Asparagina (ASN, A: 27), Tirosina (TYR, A: 118), Aspartato (ASP, A: 106), Triptófano (TRP, A: 29) y Fenilalanina (PHE, A: 108).

b. De los parámetros de operación de la columna de flotación

Las condiciones de operación en la columna de flotación se establecieron en: flujo de aire de 6 LPM para evitar la turbulencia excesiva en la zona de colección que dificulte el choque entre las burbujas y las partículas de tinta (incluso el despegue de las partículas ya capturadas), disminuyendo la eficiencia del destintado. El valor de la tensión superficial del líquido se fijó en 56.64 dinas/cm, al saturar el sistema con la adición de 100 ppm de aceite de pino, para evitar algún efecto de la tensión superficial en los resultados del destintado.

Los flujos en las corrientes de colas y de concentrado se varían de acuerdo a la estabilidad de la interfase: zona de colección/zona de espuma.

c. De los resultados de destintado por el procedimiento tradicional

Los resultados del destintado convencional utilizando NaOH muestran que las propiedades del papel reciclado son cercanas a las establecidas por la respectiva norma ISO, aunque en la norma se contempla la pulpa de papel sometido a la etapa de blanqueo. En este trabajo de investigación, no se aplicó algún tipo de blanqueador.

d. De los resultados de destintado utilizando enzimas

La calidad de fibra destintada en la corrida donde se utilizó 0.05% de la Enzima Celulasa, resultó con una mejor calidad, logrando una blancura de 85.7% y el menor número de puntos negros, 398.8 ppm.

Las fotografías por microscopia electrónica de barrido muestran que en la mayoría de los casos de destintado enzimático las fibras aparecen prácticamente limpias de todas las partículas de tinta que estaban impresas en su superficie en su estructura y no se logra definir un incremento significativo en la composición de fibras cortas, que se predicen ser producto del ataque enzimático, lo cual favorece naturalmente a la calidad de la fibra destintada en sus resistencias mecánicas y por ende a la calidad del producto final.

e. De los resultados de destintado con aminoácidos

Al mezclar los tres aminoácidos (prueba 8), agregando 0.1% de cada uno en base al peso de papel seco a destintado, se obtiene un resultado de blancura muy por encima de lo logrado tanto en el destintado tradicional como en el enzimático. En la prueba 8, la blancura resultante fue de 89.1% y los puntos negros 333.0 ppm. La variable b^* cambia en menor medida a -4.3. Los parámetros L^* , a^* , y opacidad se mantienen sobre la media de los obtenidos en las pruebas anteriores.

En la prueba 9 que corresponde al tratamiento del papel MOW con 0.2% de cada aminoácido, se obtuvieron los mejores resultados de calidad en el destintado. Blancura ISO de 90.8% y puntos negros 303.4 ppm. La opacidad fue de 89.9%.

En las micrográficas de la pulpa destintada con Aspartato, Glutamato, Asparagina y mezcla de los anteriores, no se aprecian partículas de tóner o tina de impresión, solo pequeñas aglomeraciones,

probables del almidón, carbonato de calcio precipitado, y/o residuos de otros aditivos, propios de la fabricación del papel.

Conclusión final

Es factible el destintado de papel reciclado de oficina tipo MOW mediante el uso de la enzima *Endo- β -1,4-D-glucanasa* y de los aminoácidos Aspartato, Glutamato y Asparagina; estos últimos, individualmente y mezclados. Las propiedades mecánicas y ópticas de las hojas de papel formadas con la celulosa destintada por este procedimiento, resultaron mejores que las mismas propiedades evaluadas a hojas de papel conformadas con fibras de papel reciclado y destintado mediante el procedimiento tradicional. El destintado, realizado al operar eficientemente el arreglo experimental de laboratorio cuya parte medular es la columna de flotación.

REFERENCIAS

- [1] Q. Xu, Y. Fu, Y. Gao y M. Qin, «Performance and efficiency of old newspaper deinking by combining cellulase/hemicellulase with laccase-violuric acid system.,» *Waste Management*, vol. 29, pp. 1486-1490, 2009.
- [2] L. Magnin, P. Delpech y R. Lantto, «Potential of enzymatic deinking,» *Biotechnology in the Pulp and Paper Industry*, pp. 323-332, 2002.
- [3] P. Bajpai, «Deinking with enzymes: A review,» *Tappi J.*, vol. 81, pp. 111-117, 1991.
- [4] P. Bajpai, *Biotechnology in pulp & paper processing*, New York, USA: Springer US New York Inc., 2012, pp. 147-157..
- [5] H. Pala, M. Mota y M. Gama, «Enzimatic versus chemical deinking of non-impact,» *Journal of Biotechnology*, vol. 108, pp. 79-89, 2004.
- [6] T. Moon y R. Nagarajan, «Deinking xerographic and laser-printed paper using block,» *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 132, pp. 275-288, 1998.
- [7] J. Wodward, L. Stephan, L. Koran, L. Wong y J. Saddler, «Enzymatic separation of high-quality uninked pulp fibers from recycled newspaper.,» *Biotechnology.*, vol. 12, pp. 905-908, 1994.
- [8] R. Gill, «Advances in use of Fibre Modification Enzymes in Paper Making,» de XXI TECNICELPA/ VI CIADICYP, Portugal, 2010.
- [9] S. Vyas y A. Lachke, «Biodeinking of mixed office waste paper by alkaline active cellulases,» *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 32, pp. 236-245, 2003.
- [10] G. Gubitz, S. Mansfield, D. Bohm y J. Saddler, «Effect of endoglucanases and hemicellulases in magnetic and flotation deinking of xerographic and laser-printed papers,» *Journal of Biotechnology*, vol. 65, pp. 209-215, 1998.
- [11] E. Masai, Y. Katayama y M. Fukuda, «Genetic and biochemical investigations on bacterial catabolic pathways for lignin-derived aromatic compounds.,» *Biosci Biotechnol Biochem*, vol. 71, pp. 1-15, 2007.
- [12] C. Plomion, G. Leprovost y A. Stokes, «Wood Formation in Trees.,» *Plant Physiol*, vol. 127, pp. 1513-1523, 2001.

- [13] W. K. Czaja, D. J. Young, M. Kawecki y R. M. Brown, «The future prospects of microbial cellulose in biomedical application,» *Biomacromolecules*, vol. 8, pp. 1-12, 2007.
- [14] L. R. Lynd, C. E. Wyman y T. U. Gerngross, «Biocommodity engineering,» *Biotechnol Prog.*, vol. 15, pp. 777-793, 1999.
- [15] J. F. Kadla y R. D. Gilbert, «Cellulose structure : A review.,» *Cellul Chem Technol.*, vol. 34, pp. 197-216, 2000.
- [16] D. Peters, «Carbohydrates for fermentation.,» *Biotechnol J.*, vol. 1, pp. 806-814, 2006.
- [17] R. C. Pettersen, The chemical composition of wood. In *The chemistry of solid wood Advances in chemistry series*, Washington, D.C.: R. M. Rowell, 1984.
- [18] L. R. Lynd, P. J. Weimer y I. S. Pretorius, «Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology.,» *Microbiol Mol Biol Rev*, vol. 66, pp. 506-577, 2002.
- [19] M. E. Himmel, S. Y. Ding, D. K. Johnson, W. S. Adney, M. R. Nimlos, J. W. Brady y T. D. Foust, «Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production.,» *Science.*, vol. 315, pp. 804-7, 2007.
- [20] E. B. Cowling, «Physical and chemical constraints in the hydrolysis of cellulose and lignocellulosic materials.,» *Biotechnol Bioeng Symp.*, pp. 163-81, 1975.
- [21] B. M. Wilder y P. Albersheim, «The structure of plant cell walls: IV. A structural comparison of the wall hemicellulose of cell suspension cultures of sycamore (*Acer pseudoplatanus*) and of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*).,» *Plant Physiol.* 51, 889-893., vol. 51, pp. 889-893, 1973.
- [22] B. C. Saha, «Hemicellulose bioconversion,» *J Ind Microbiol Biotechnol*, vol. 30, pp. 279-91, 2003.
- [23] J. Puls, N. Schröder, A. Stein, R. Janzon y B. Saake, «Xylans from Oat Spelts and Birch Kraft Pulp.,» *Macromol Symp*, vol. 232, pp. 85-92, 2005.
- [24] J. Bidlack, M. Malone y R. Benson, «Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants.,» *Proc Okla Acad Sci.*, vol. 71, pp. 51-56, 1992.
- [25] F. Warnecke, P. Luginbuhl, N. Ivanova, M. Ghassemian, T. H. Richardson, J. T. Stege, M. Cayouette, A. C. McHardy, G. Djordjevic y N. Aboushadi, «Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a woodfeeding higher termite.,» *Nature*, vol. 450, pp. 560-565, 2007.

- [26] I. S. Druzhinina, M. Schmoll, B. Seiboth y C. P. Kubicek, «Global carbon utilization profiles of wild-type, mutant, and transformant strains of *Hypocrea jecorina*.» *Appl Environ Microbiol.*, vol. 72, pp. 2126-2133, 2006.
- [27] K. Murashima, A. Kosugi y R. H. Doi, «Synergistic effects of cellulosomal xylanase and cellulases from *Clostridium cellulovorans* on plant cell wall degradation.» *J Bacteriol*, vol. 185, pp. 1518-1524, 2003.
- [28] E. A. Bayer, J. P. Belaich, Y. Shoham y R. Lamed, «The cellulosomes: multienzyme machines for degradation of plant cell wall polysaccharides.» *Annu Rev Microbiol*, vol. 58, pp. 521-554, 2004.
- [29] S. G. Withers, «Mechanisms of glycosyl transferases and hydrolases.» *Carbohydr Polym.*, vol. 44, pp. 325-337, 2001.
- [30] B. Henrissat y A. Romeu, «Families, superfamilies and subfamilies of glycosyl hydrolases.» *Biochem J.*, vol. 311, pp. 350-351, 1995.
- [31] F. Goedegebuur, T. Fowler, J. Phillips, P. van der Kley, P. van Solingen, L. Dankmeyer y S. Power, «Cloning and relational analysis of 15 novel fungal endoglucanases from family 12 glycosyl hydrolase.» *Current Genetics*, vol. 41, pp. 89-98, 2002.
- [32] L. R. Lynd, W. P. J. W. H. van Zyl y I. S. Pretorius, «Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology.» *Microbiol Mol Biol Rev*, vol. 66, pp. 506-577, 2002.
- [33] B. Henrissat, H. Driguez, C. Viet y M. Schulein, «Synergism of cellulases from *Trichoderma reesei* in the degradation of cellulose.» *Nat Biotech*, vol. 3, pp. 722-726, 1985.
- [34] B. Nidetzky, W. Steiner, M. Hayn y M. Claeysens, «Cellulose hydrolysis by the cellulases from *Trichoderma reesei*: a new model for synergistic interaction.» *Biochem J.*, vol. 298, pp. 705-710, 1994.
- [35] M. Linder y T. T. Teeri, «The cellulose-binding domain of the major cellobiohydrolase of *Trichoderma reesei* exhibits true reversibility and a high exchange rate on crystalline cellulose.» *Proc Nat Acad Sci USA*, vol. 93, pp. 1251-1255, 1996.
- [36] L. Hilden y G. Johansson, «Recent developments on cellulases and carbohydrate-binding modules with cellulose affinity.» *Biotechnol Lett*, vol. 26, pp. 1683-1693, 2004.
- [37] Z. Xiao, P. Gao, Y. Qu y T. Wang, «Cellulose-binding domain of endoglucanase III from *Trichoderma reesei* disrupting the structure of cellulose.» *Biotechnol Lett.*, vol. 23, pp. 711-715, 2001.

- [38] D. J. Cosgrove, «Loosening of plant cell walls by expansins,» *Nature*, vol. 407, pp. 321-326, 2000.
- [39] P. Valjamae, V. Sild, G. Pettersson y G. Johansson, «The initial kinetics of hydrolysis by cellobiohydrolases I and II is consistent with a cellulose surface-erosion model.,» *Eur J Biochem*, vol. 253, pp. 469-475, 1998.
- [40] P. Josefsson y G. Henriksson, «The physical action of cellulases revealed by a quartz crystal microbalance study using ultrathin cellulose films and pure cellulases,» *Biomacromol.*, vol. 9, pp. 249-254, 2008.
- [41] B. K. Barr, Y. L. Hsieh, B. Ganem y D. B. Wilson, «Identification of two functionally different classes of exocellulases.,» *Biochem. J.*, vol. 35, pp. 586-592, 1996.
- [42] K. Kipper, P. Valjamae y G. Johansson, «Processive action of cellobiohydrolase Cel7A from *Trichoderma reesei* is revealed as 'burst' kinetics on fluorescent polymeric model substrates,» *Biochem J.*, vol. 385, pp. 527-535, 2005.
- [43] H. B. y G. Davies, «Glycoside hydrolases and glycosyltransferases. Families, modules, and implications for genomics.,» *Plant Physiol*, vol. 124, pp. 1515-1519, 2000.
- [44] J. Davies y G. Henrissat, «Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases.,» *Structure*, vol. 3, pp. 853-900, 1995.
- [45] S. G. Rodríguez, *Avances en purificación y aplicación de enzimas en biotecnología*, México: Universidad Autónoma Metropolitana, 199.
- [46] C. García y T. Navarrete, *Avances en purificación y aplicación de enzimas en biotecnología*, México: Universidad Autónoma Metropolitana, 1999.
- [47] E. Hoyos y R. Lopez, «Yumpu.com,» 2006. [En línea]. Available: <https://www.yumpu.com/es/document/read/16128356/destintado-enzimatico-de-papel-impreso-por-el-metodo-offset>.
- [48] M. Cañas, D. Ferrufino y M. Soriano, *Estudio de la factibilidad tecnico y economico de la producción de embalajes de pulpa moldeada a base de papel reciclable*, Salvador: Tesis, 2009.
- [49] D. A. Pinto, *Artist, Implementación de una columna de flotación para reducir el contenido de cenizas en carbones magallánicos*. [Art]. Universidad de Magallanes. Punta arenas, Chile., 2011.

- [50] E. Espinoza, Diseño de una columna de flotación para destintado de papel, Morelia: Tesis, 2007.
- [51] W. Kracht, C. Gomez y J. Finch, «Controlling bubble size using a frit and sleeve parger.,» Minerals Engineering, vol. 21, pp. 660-663, 2008.
- [52] F. J. A. y D. G., «Column Flotation,» Pergamon Press, 1989.
- [53] Y. J. y D. Murdock, «Nuevos avances en la tecnología de columnas de flotacion.,» Minería Chilena, vol. 125, 1991.
- [54] R. Escudero, « Modelos matemáticos comúnmente empleados en sistemas de dispersion para estimar las características de las mismas,» de Programa de capacitación y adiestramiento, UMSNH, Morelia, México., 2007.
- [55] J. Drelich, J. Pletka, P. Boyd, E. Raber, D. Herron, E. Luhta, H. Walqui, N. Tervo y S. Boston, Interfacial chemistry aspects of de-inking flotation of mixed office paper., Michigan, USA, 2001.
- [56] I. Halperin, H. Wolfson y R. Nussinov, « Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions.,» Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics , vol. 47, pp. 409-443, 2002.
- [57] C. Hetenyi y D. Van der Spoel, «Efficient docking of peptides to proteins without prior knowledge of the binding site.,» Protein Science. , vol. 11, pp. 1729-1737, 2002.
- [58] I. Muegge, M. Rarey, K. B. Lipkowitz y D. B. Boyd, Small Molecule Docking and Scoring. En Reviews in Computational Chemistry;, New York: Wiley and Sons, 2001.
- [59] C. Bissantz, G. Folker y D. Rognan, «Protein-based virtual screening of chemical databases. Evaluation of different docking/scoring combinations.,» J. Med. Chem., vol. 43, pp. 4759-4767, 2000.
- [60] O. Rabal, Herramientas de cribado virtual aplicadas a inhibidores de tirosina quinasas. Contribución al desarrollo del programa PRALINS para el diseño de quimiotecas combinatorias., Barcelona: Tesis .
- [61] H. J. Böhm y M. Stahl, «The use of scoring functions in drug discovery applications.,» Wiley and Sons, vol. 18, pp. 41-87, 2002.
- [62] J. McMurry, Química Orgánica, New York: Thomson Brooks Cole, 2008.

APÉNDICES

ANEXO A.

Subrutina para el cálculo del diámetro de burbuja con el software National Instruments
LabVIEW.

```
g=982;
rol=1;
rog=0.0013;
mul=0.01;
rangom=0.0001;
errorm=1;
rangodb=0.0001;
errordb=1;

m=2.5;
db=1;

usb1=(jg/eg)+(jl/(1-eg));
ut=jg/(eg*(1-eg)^(m-1))+((jg+jl)/((1-eg)^(m-1)));

while errordb>=rangodb
  resdb=db;
  Res=(db*usb1*rol*(1-eg))/mul;
  usb2=(g*db^2*(rol-rog)*(1-eg)^(m-1))/(18*mul*(1+0.15*Res^0.687));
  db=(((18*mul*ut)/(g*rol))*(1+0.15*Res^0.687))^0.5;
  errordb=abs(db-resdb);

  reb=(ut*rol*db)/mul;
  if reb<200
    m=(4.45+18*(db/7.5))*reb^-0.1;

    resm=m;
    errorm=abs(m-resm);

end
end
```

ANEXO B.

Especificaciones de la Enzima Celulasa

Name: Cellulase from *Trichoderma* sp. – BioReagent, plant cell culture tested, 3-10 units/mg solid.

Unit Definition: One unit will liberate 1.0 μ mole of glucose from cellulose in one hour at pH 5.0 at 37 °C (2 hr incubation time).

Application: Cellulase (β -1,4-glucanase) is a natural enzyme produced by the filamentous fungi *Trichoderma viride* which promotes the endohydrolysis of (1->4)-beta-D-glucosidic linkages in cellulose and lichenin. Cellulases are important for processing potential commercial products such as cellulosic ethanol.



ANEXO C.

Especificaciones del espumante esencia de pino grado flotación

Especificaciones

Gravedad Especifica a 25/25 °C
Min. 0.924
Máx. 0.934
Alcoholes Terciarios Totales, %
Min. 70.0
Máx. 76.0
Humedad, %Máx. 0.50
Rango de Destilación, °C
5.0 200.0
95.0 225.0
Índice de Refracción a 20 °C
Min. 1.478
Máx. 1.488
Color, Apha Máx. 100.0
Punto de Enfriamiento, °C -10.0

Propiedades Típicas

Gravedad específica a 20/20 °C 0.930
Alcoholes Terciarios Totales, % 75.0
Humedad, % 0.35
Rango de Destilación, °C
5.0 205.0
95.0 230.0
Índice de Refracción a 20 °C 1.482
Color, Apha 70.0
Punto de Inflamación (Setaflash), °C
74.0

ANEXO D.

Formación de hojas de papel.

Para elaboración de Hojas de prueba se toma como base a la norma TAPPI T-205-OM-81.

MATERIAL:

1 Cubeta de 10 Lt

1 Jarra de 1000 ml

1 Desfibrador

1 Formador de Hojas

Hojas de papel secante

1 Prensa automática para hojas

2 Portadiscos con sus discos de acero inoxidable

1 Secador de hojas

1 Balanza analítica

Bolsas de plástico con cierre hermético

MUESTREO: Salida de pulpa del depurador lavada y depurada.

PROCEDIMIENTO:

A) PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

1. A la celulosa muestreada se le determina el por ciento de consistencia, con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Consistencia} = \frac{\text{seco} (100)}{W \text{ Húmedo}}$$

Donde: W = Peso en gramos de la muestra

2. Sobre la base de la consistencia obtenida, calcular los gramos húmedos (ecuación 2.2) que se requieren para elaborar 5 hojas de 60 gr/m² cada una.

$$\text{Gramos Húmedos de Pulpa} = \frac{(100)(10.77)}{(\% \text{ de Consistencia})}$$

Donde: Diámetro de la hoja formada = 214 mm

Radio de la hoja formada = 107 mm = 0.107 m

Área de la hoja formada = $(\pi) (r^2) = 0.0359 \text{ m}^2$

Gramaje requerido por hoja = 60 gr/m²

Peso seco de cada hoja = 2.154 gr

Número de hojas a elaborar = 5

Pulpa seca requerida = $(2.154 \text{ gr}) (5) = 10.77 \text{ gr}$

3. Los gramos húmedos de pulpa calculados, se colocan en el desfibrador conteniendo 2 litros de agua y desfibrar hasta completar 2777 r. p. m.
4. Después de que la muestra ha sido desfibrada, pasarla a una cubeta y aforar 5 litros con agua. Homogenizar perfectamente y tomar 1 Lt para formar cada hoja.
5. Limpiar perfectamente la base de formación del formador de hojas y adicionar al cilindro un 40% de su capacidad de agua (aproximadamente 5 Lt).
6. Adicionar el litro de muestra al formador de hojas, agitar perfectamente durante 6 segundos y aplicar el vacío lentamente al formador hasta que toda el agua haya sido drenada y la hoja formada.
7. Después de que la hoja está formada, colocarle encima una hoja de papel secante y un disco metálico de acero inoxidable. Presionar para que la hoja se pegue en el papel secante.
8. Quitar las hojas del formador, colocar un disco encima de la hoja formada e identifíquela con el número de digestión que proviene.
9. Repetir el mismo procedimiento para cada hoja hasta completar la formación de todas las hojas.

B) PRENSADO DE LAS HOJAS

Posteriormente ya que todas las hojas han sido elaboradas, deberemos darle un prensado y secado, para esto, se utilizará la prensa automática de la siguiente manera:

10. Colocar primeramente en la parte inferior de la zona de prensado dos hojas de papel secante, además de una hoja de papel secante intermedia entre cada disco para aumentar el secado.
11. Coloque la tapa de la prensa encima de los discos ya colocados y atornille perfectamente, poniendo el botón accionador de presión en el numero 1, el cual durará 5 minutos con una presión de 50 lb/pulg² (3.5 kg/cm²).
12. Al terminar el tiempo, quite la tapa y coloque al revés todos los discos; ponga de nuevo la tapa y cambie el botón accionador al numero 2 el cual durará 2 minutos a la presión de 50 lb/pulg² (3.5 kg/cm²).

C) SECADO DE LAS HOJAS

13. Luego de que las hojas han sido prensadas, deberemos quitar las hojas de la prensa, separando únicamente el papel secante, y las hojas formadas quedaran en los discos metálicos. Estos se colocan en un Portadiscos debiendo quedar bien ajustados para evitar que las hojas se arruguen con el secado.

14. Meter el Portadiscos al secador de hojas durante 3 horas a una temperatura de 70-80°C aproximadamente.

15. Finalizando esto, se separan las hojas del Portadiscos y se revisa que la formación haya sido homogénea. Si no es así, se elimina la hoja.

16. Posteriormente se pesa cada hoja en la balanza analítica debiendo tener un gramaje de 60 gr/m² (peso seco de cada hoja 2.154 gr), se calcula con la siguiente ecuación:

$$\text{Gramaje} = \text{Peso de la Hoja de Prueba Formada} / \text{Área de la Hoja de Prueba Formada}$$

Donde: W = Peso en gr de la muestra

A = Área en m² de la muestra,

pudiendo estar en un rango de $\pm 5.0 \%$, es decir, de 57 a 63 gr/m² (2.0463 a 2.2617 gr). Si no cumple esta condición, se eliminará la hoja.

ANEXO E

Propiedades ópticas: Interacción del papel con la luz

Determinación de la reflectancia: Se denomina Reflectancia (%R) al valor porcentual de reflectancia de una pila de papeles en relación a un patrón considerado como 100%. Para su determinación se usa luz difusa para lo cual se ilumina al papel desde una esfera integradora y se cuantifica (mas comúnmente) la reflectancia desde una dirección perpendicular al papel (ángulo de 0° respecto a la vertical).

Blancura (ISO Brightness): Se denomina ISO Brightness al índice de reflectividad determinada con el uso de espectro de sensibilidad estándar centrado en una longitud de onda de 457 nm según las normas ISO 2470 o norma TAPPI T525. Anteriormente se la denominaba factor de reflectancia azul. El mismo espectro de sensibilidad se lograba con un filtro previo al detector.

Opacidad: La opacidad es la medida de la capacidad del material de obstruir el paso de luz. Es decir, que un papel opaco es aquel que presenta dificultad para ver a través de él. La opacidad es necesaria en los papeles blancos de oficina y en todos los papeles de impresión. Debe ser suficiente para evitar que la impresión en el reverso del papel no afecte negativamente el aspecto de una impresión. Podría medirse según la luz transmitida pero la forma usual de medirla es determinar la relación entre dos reflectancias medidas usando un espectro de sensibilidad centrado en 557 nm (valor triestimulo Y e iluminante C, ISO 2471). Este espectro cubre todo el rango visible y corresponde a la sensibilidad normal del ojo humano.

Tonalidad: La determinación o el cálculo de los valores triestimulo (X, Y, Z de CIE) a partir de la determinación de reflectancia espectral permite obtener las coordenadas de color como por ejemplo los valores L^* , a^* y b^* en el espacio de color CIELab (ISO 5631). El parámetro a mide el tinte en el eje rojo (+)-verde (-) y el parámetro b mide el tinte en el eje amarillo (+) azul (-). Ambos pueden alcanzar valores máximos de 80–90. Ausencia de color significa valores nulos de los parámetros a y b .

Puntos negros: la medición de puntos negros se realiza mediante un escáner que por contraste óptico determina y calcula su tamaño y cantidad. Su unidad de medida es ppm o partes por millón en términos de área; mm^2/m^2 de papel. (Norma TAPPI T 1210 sp-00).