UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
***CAMPUS* DE CASCAVEL**
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANA CAROLINA FEIL KMETZKI

Aplicação de xilanases fúngicas no processo de branqueamento da polpa kraft pelas indústrias de papel

CASCAVEL- PR
2018

ANA CAROLINA FEIL KMETZKI

Aplicação de xilanases fúngicas no processo de branqueamento da polpa kraft pelas indústrias de papel

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Oeste do Paraná, *campus* de Cascavel, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas na linha de pesquisa Prospecção de Micro-organismos e Substâncias Bioativas com Aplicações Biotecnológicas e em Saúde.

Orientadora: Profª Dra. Marina Kimiko Kadowaki

CASCAVEL - PR
2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Kmetzki, Ana Carolina Feil
Aplicação de xilanases fúngicas no processo de branqueamento da polpa kraft pelas indústrias de papel / Ana Carolina Feil Kmetzki; orientador(a), Marina Kimiko Kadowaki, 2018.
44 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.

1. Enzimas. 2. Fungos filamentosos. 3. Biobranqueamento. I. Kadowaki, Marina Kimiko. II. Titulo.

Dissertação revisada conforme as normas de redação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas por Odete Bonsere, graduada em Letras, RG 3.944.013-0, em 26 de abril de 2018.

ANA CAROLINA FEIL KMETZKI

APLICAÇÃO DE XILANASES FÚNGICAS NO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DA POLPA KRAFT PELAS INDÚSTRIAS DE PAPEL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná como pré-requisito para obtenção do título de Mestre(a) em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Prospecção de micro-organismos e substâncias bioativas com aplicações biotecnológicas e em saúde.

Orientador: Prof. Drª Marina Kimiko Kadowaki

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Drª Marina Kimiko Kadowaki
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE
Orientador

Prof. Drª Adriana Knob
Universidade Estadual do Centro-Oeste
UNICENTRO

Prof. Drª Luciane Sene
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE

Cascavel - PR
2018

BIOGRAFIA RESUMIDA

Ana Carolina Feil Kmetzki, natural de Toledo, Paraná, Brasil, nascida no dia 22 de janeiro de 1988, formou-se em Farmácia na Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* de Cascavel em dezembro de 2010. Possui duas especializações, sendo uma em Farmacologia Clínica com ênfase em Atenção Farmacêutica, concluída em março de 2015, pela Faculdade Assis Gurgacz; e outra em Gestão em Saúde, concluída em abril de 2016, pela Universidade Estadual de Maringá – UEM. Ingressou no Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em nível de mestrado em Ciências Farmacêuticas no ano de 2016. Desenvolveu projeto de dissertação junto à linha Prospecção de micro-organismos e substâncias bioativas com aplicações biotecnológicas e em saúde, orientada pela professora Dra. Marina Kimiko Kadowaki. Atualmente exerce a profissão farmacêutica em uma unidade hospitalar no município de Cascavel, com experiências anteriores na indústria farmacêutica e análises clínicas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo o que ele pôs em minhas mãos, pela saúde e sem Ele nada poderia ser possível. Também meu agradecimento infinito aos meus pais, Pedro e Marlice pelo amor incondicional, pelos ensinamentos de valores, pelo incentivo, pelos conselhos e por todo apoio, assim como à minha irmã Raquel por igual demonstração de amor.

A José Roberto Alves Filho, por simplesmente tudo.

Aos amigos e colegas de trabalho, pelo incentivo e compreensão nos meus momentos de ausência.

À Professora Doutora Marina Kimiko Kadowaki, por não desistir de mim. Pela paciência e apoio, assim como os ensinamentos e orientação.

Aos membros da banca de defesa dessa dissertação, que aceitaram o convite para colaborar com a correção e o aprimoramento desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e Unioeste, assim como a todos os professores que contribuíram para minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e CAPES.

Aplicação de xilanases fúngicas no processo de branqueamento da polpa kraft pelas indústrias de papel

RESUMO

A indústria de papel e celulose é um segmento em ampla expansão mundial. Com foco na rentabilidade econômica e preservação ambiental, a indústria papeleira tem buscado alternativas viáveis para aprimorar a etapa do processo da polpa Kraft. O método convencional de branqueamento da polpa com cloro, embora altamente eficiente, causa poluição ambiental devido à descarga de compostos organoclorados em efluentes. A utilização de enzimas de micro-organismos, em especial as xilanases, têm surgido como uma alternativa promissora para o processo de branqueamento da polpa Kraft. Essas enzimas podem auxiliar consideravelmente na redução da poluição ambiental, com diminuição da utilização de compostos organoclorados, que atuam como agentes químicos branqueadores das polpas e ocasionam a formação de compostos residuais que são extremamente prejudiciais ao meio ambiente e conferem às indústrias de celulose a condição de ser uma das mais poluidoras. Em razão disso, estudos que proporcionam o uso de processos enzimáticos na cadeia de branqueamento da polpa Kraft pela indústria serão sempre relevantes, principalmente com o intuito de reduzir a descarga de material contaminante em efluentes. Dentro desse contexto, essa revisão abordará sobre as características da constituição da matéria-prima para obtenção da polpa celulose pela indústria papeleira, bem como, as propriedades enzimáticas das xilanases fúngicas isentas de celulases testadas em polpas de celulose, kraft e palhas de resíduos que apresentam potencial para uso futuro pelas indústrias papeleiras.

Palavras-chave: enzimas, fungos filamentosos, biobranqueamento, processo Kraft.

Application of fungal xylanases in the bleaching process of kraft pulp by paper industries

ABSTRACT

The pulp and paper industry is a globally expanding segment. Focusing on economic profitability and environmental preservation, the paper industry has been looking for viable alternatives to enhance the Kraft process. The chlorine bleaching conventional method, although highly efficient, causes environmental pollution due to the discharge of organochlorine compounds into effluents. The use of enzymes microorganisms, especially xylanases, has emerged as a promising alternative for the bleaching processes. These enzymes could considerably help reduce environmental pollution, reducing the use of organochlorine compounds, which acts as a bleaching chemical for pulps and causes the formation of organochlorine residual compounds, which are extremely harmful to the environment and give the pulp industry one of the most polluting. Therefore, studies that provide the use of enzymatic processes in the Kraft pulp bleaching stage by the industry will always be relevant, mainly in order to reduce the discharge of contaminating material into effluents. In this context, this review will discuss the characteristics of the constitution of the raw material for the pulp kraft paper industry, as well as the enzymatic properties of fungal xylanases cellulase-free tested on cellulose pulps, kraft and waste straw, which have potential for future use by paper industry.

Key-words: enzymes, filamentous fungi, biobleaching, Kraft process.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 2
2.1 Indústria de papel e celulose 2
2.1.1 Fontes de matéria-prima para a indústria papeleira 3
2.2 Composição da madeira 4
2.2.1 Celulose 5
2.2.2 Hemicelulose 7
2.2.3 Lignina 9
2.3 Etapas de obtenção da polpa de celulose ou kraft da madeira 12
2.4 Processo kraft e branqueamento na indústria de papel 15
2.4.1 Polpação 15
2.4.2 Biopolpação 16
2.4.3 Branqueamento 16
2.5 Uso de enzimas xilanase na indústria de papel e celulose 19
2.5.1 Xilanases 19
2.6 Aplicação de xilanases em biobranqueamento 21
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS 27
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição da madeira dos gêneros *Pinus* sp. e *Eucalyptus* sp.....4

Tabela 2 Propriedades de xilanases fúngicas com potencial para uso no branqueamento de polpa.....25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Composição estrutural e química da madeira.....5
Figura 2 Estrutura da celulose com destaque para as regiões cristalina e amorfa.....6
Figura 3 Estrutura química da celulose..... 7
Figura 4 Estrutura química do xilano.....9
Figura 5 Estrutura proposta para a macromolécula de lignina de *E. grandis*.....10
Figura 6 Precursores básicos na formação da molécula de lignina……..…….....10
Figura 7 Esquema do processo de obtenção de papel a partir da madeira.....14
Figura 8 Processo Kraft e branqueamento na indústria de papel.....18
Figura 9 Enzimas xilanolíticas envolvidas na degradação do xilano.....20
Figura 10 Três hipóteses de mecanismo da enzima xilanase.....23

1 INTRODUÇÃO

A indústria de papel e celulose é um dos setores mais produtivos do mundo, estimulado pela crescente demanda global. Aproximadamente 400 milhões de toneladas métricas de papel são produzidos e consumidos globalmente a cada ano. Porém, tradicionalmente se sabe que este segmento industrial contribui para a poluição ambiental, principalmente devido à descarga de material contaminante em efluentes.

Com isso, as indústrias de papel têm buscado estratégias metodológicas de sustentabilidade (econômicas e tecnológicas) para minimizar seu impacto ambiental, visto que produzir uma (01) tonelada de papel requer entre 75 e 227 metros cúbicos de água. Além disso, o método convencional de branqueamento com cloro, embora altamente eficiente leva à descarga de compostos organoclorados em efluentes para o qual se estima que 2 a 4 kg de organoclorados por tonelada de polpa sejam originados nesse processo. Tais substâncias, como dioxinas, clorofenóis, clorocatecóis e cloroguaiacóis são tóxicos, mutagênicos e bioacumuláveis, podendo causar sérios distúrbios biológicos mesmo em baixas concentrações.

A ação tóxica destes compostos pode ser verificada, por exemplo, em micro-organismos aquáticos, nos quais é comum o surgimento de anomalias no sistema reprodutivo e imunológico. A detecção de compostos organoclorados em sedimentos marinhos de regiões próximas a indústrias papeleiras é um fato bastante frequente. O fenômeno de contaminação por organoclorados tem-se difundido de uma maneira tão generalizada, que pode ser observado até em regiões bastante isoladas do planeta. Na última década, por exemplo, tem-se registrado a presença de compostos organoclorados na região ártica.

As regulamentações ambientais restringem cada vez mais o emprego de compostos de cloro nos processos de branqueamento de polpa Kraft nas indústrias; com isso, processos que requerem menores concentrações de cloro e que são inovadores do ponto de vista ambiental, têm sido adotados pelas empresas mais avançadas do mundo.

Concomitante a isso, tem crescido o interesse do setor industrial em utilizar enzimas em seus processos, entre as quais se pode destacar as xilanases, que estão entre as mais promissoras. As xilanases podem ser produzidas por micro-organismos como fungos e bactérias e têm a capacidade de hidrolisar o xilano, o maior componente da hemicelulose, presente na parede das células vegetais. A aplicação

desta enzima aumentou consideravelmente nas últimas décadas devido a necessidade de implantar tecnologias sustentáveis.

Na indústria de papel e celulose, o uso da enzima xilanase isenta de atividade celulásica tem demonstrado importante função nas etapas de pré-tratamento da madeira e branqueamento da polpa celulósica. Com sua utilização, é possível verificar o aumento da eficiência do processo devido à redução do volume de reagentes, tais como compostos de cloro, hipoclorito ou hidrossulfeto de zinco, além de possibilitar condições mais brandas de cozimento, possibilitam a redução do impacto sobre as fibras e, consequentemente, a obtenção de um produto de melhor qualidade.

Dentro desse contexto, esse estudo tem como objetivo abordar sobre os componentes da matéria-prima utilizada para obtenção da polpa Kraft pela indústria papeleira, bem como as propriedades enzimáticas das xilanases fúngicas com potencial para aplicação no branqueamento da polpa Kraft.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Indústria de papel e celulose

As mais recentes estimativas indicam que a população mundial deve atingir 9,1 bilhões de pessoas até 2050, impulsionando a demanda por “commodities” e bioenergia. Para atender esse volume crescente, serão necessários 250 milhões de hectares adicionais de florestas plantadas no mundo. Da área total de 7,84 milhões de hectares de árvores plantadas no Brasil em 2016, 34 % pertence às empresas do segmento de papel e celulose. Atualmente, a produção de celulose tem se expandido fortemente para países do Hemisfério Sul, com destaque para o Brasil, o Chile, o Uruguai e a Indonésia, na busca de redução de custos e aumento da produtividade (IBÁ, 2016).

A produção de madeira em tora destinada à indústria de papel e celulose cresceu 10,8 % em 2016 no Brasil, em comparação com o ano anterior. A ampliação do parque industrial deste segmento no estado do Paraná resultou o alcance do estado como maior produtor nacional de madeira em tora. Esse posto era ocupado por São Paulo, que agora está na segunda posição com uma queda na produção em 5,4 % (IBÁ, 2016).

Em 2016, a produção brasileira de celulose cresceu 8,1 % em relação a 2015 e elevou o Brasil em duas posições no “ranking” de produção da “commodity”, alcançando a segunda posição entre os maiores produtores mundiais de celulose. Apesar do volume de papel fabricado tornar-se praticamente estável em relação ao ano anterior, o Brasil alcançou também uma posição neste segmento e ocupou o oitavo lugar no “ranking” dos maiores produtores de papel (IBÁ, 2016).

2.1.1 Fontes de matéria-prima para a indústria papeleira

No Brasil, as duas maiores fontes de madeira empregadas na produção de celulose são provenientes de árvores dos gêneros *Pinus* e *Eucalyptus*, responsáveis por mais de 98 % do total produzido. Outros tipos de plantas também podem ser fontes alternativas de celulose como bambu, babaçu, sisal e resíduos agrícolas (bagaço de cana-de-açúcar). No “ranking” dos países produtores de celulose, o Brasil é o primeiro produtor mundial de celulose de eucalipto (IBÁ, 2016).

O Eucalipto, pertencente ao gênero *Eucalyptus*, que soma mais de 600 espécies diferentes, encontrou no Brasil ótimas condições de clima e solo para se desenvolver. *Eucalyptus* sp. representa uma importante fonte de matéria-prima para produção de papel (TURA, 2014).

Entre as principais espécies de eucalipto cultivadas no Brasil estão *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus viminalis*, híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus camaldulensis*. Do Eucalipto originam-se as fibras curtas, de menor resistência, alta maciez e boa absorção (CASTRO, 2009; TURA, 2014).

O gênero *Pinus* sp. constitui a principal conífera utilizada mundialmente para a produção de celulose, com destaque para as espécies *P. taeda*e *P. ellioti,* caracterizadas *p*ela facilidade de cultivo, rápido crescimento (7 a 11 anos) e reprodução intensa no sul e sudeste do Brasil (CASTRO, 2009; TURA, 2014).

Deste gênero originam-se fibras longas de celulose, que conferem elevada resistência físico-mecânica ao papel (GOMES, 2009). Este gênero caracteriza-se por ser tolerante à baixas temperaturas e ao plantio em solos rasos e pouco produtivos para agricultura.

A tabela 1 apresentada na sequência demonstra a composição em porcentagem dos principais constituintes das madeiras de *Pinus* sp. e *Eucalyptus* sp., na qual é possível verificar as diferenças de cada um dos gêneros, sendo que, em

geral, para *Pinus* sp. há maiores níveis de concentração de celulose e lignina, e para *Eucalyptus* sp. há maiores níveis de concentração de hemicelulose. Porém vale ressaltar que estas concentrações sofrem variações não só relacionadas ao gênero da planta, mas também a outros fatores como inerentes ao cultivo.

Tabela 1 Composição da madeira dos gêneros *Pinus* sp. e *Eucalyptus* sp

Componentes	*Pinus* sp.	*Eucalyptus* sp.
Celulose (%)	40 – 45	34 – 48
Hemicelulose (%)	10 – 13	20 – 25
Lignina (%)	26 – 34	20 – 29

Fonte: Castro, 2009.

2.2 Composição da madeira

Estruturalmente, a madeira é constituída principalmente por celulose, lignina e hemiceluloses que estão presentes em todas as madeiras e, somadas, representam 80-90 % do seu peso seco. Além disso, a madeira é composta em menores frações de extrativos e material inorgânico (RITTER, 2008; BRAND, 2010).

As proporções destes compostos variam entre diferentes espécies e também de acordo com a idade do vegetal, porém as variações podem ocorrer ainda dentro da mesma espécie devido a fatores genéticos e ambientais. As faixas de variação dos componentes são de 50 % para celulose, 20 – 25 % para hemicelulose e 20 – 30 % para lignina. Ainda, as madeiras podem ser agrupadas em duas categorias distintas: Moles, “softwoods” ou coníferas (grupo das gimnospermas, como por exemplo: Pinus e Araucária); ou Duras, “hardwoods” ou folhosas (grupo das angiospermas dicotiledôneas, como por exemplo: Imbuia, Ipê, Eucalipto) (CASTRO, 2009).

A figura 1 representa a estrutura da parede celular vegetal com a composição estrutural e química da madeira.

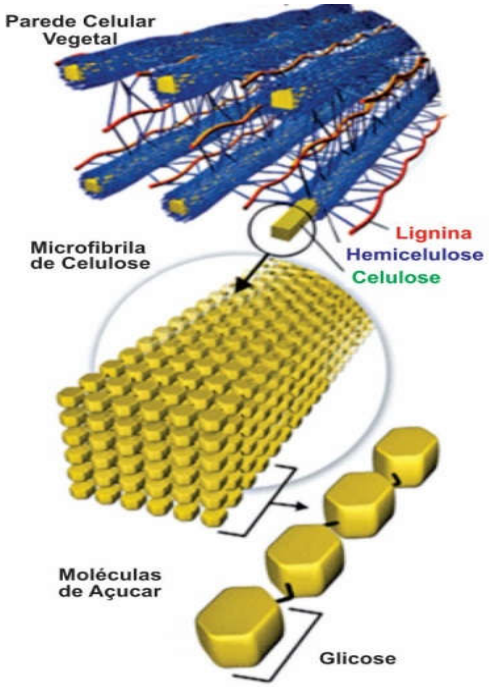

Figura 1 Composição estrutural e química da madeira (Fonte: adaptado de RITTER, 2008).

2.2.1 Celulose

Celulose é considerado o polissacarídeo mais abundante do planeta e representa mais de 50 % da composição da massa das madeiras. Sua estrutura é linear não ramificada, formada por monômeros de glicose que são unidos por ligações do tipo β-1-4 e se dispõem paralelamente, de modo a formar pontes de hidrogênio entre si. A celulose é um homopolissacarídeo de alto peso molecular, constituído por 10.000 a 15.000 unidades de D-glicose (LEHNINGER *et al.*, 2011; LINO, 2015). Cada monômero de glicose é composto por três grupos hidroxila (OH^-) livres. Tais radicais são responsáveis pelo comportamento físico e químico da celulose, sendo capazes de formar dois tipos de ligações de hidrogênio, em função do seu posicionamento na unidade glicosídica, denominados intramoleculares e intermoleculares (REIS, 2011).

As ligações intramoleculares são as que ocorrem entre grupos OH^- de unidades glicosídicas adjacentes da mesma molécula, sendo estas responsáveis pela rigidez da cadeia de celulose, uma vez que se caracteriza por ser uma região mais compacta e de difícil degradação enzimática. Já as ligações intermoleculares ocorrem entre grupos OH^- de moléculas adjacentes de celulose e são regiões de menor organização, denominadas amorfas. As regiões de celulose amorfa apresentam baixa resistência aos ataques químicos e biológicos, sendo, portanto, pontos de degradação

enzimática (FAN *et al.*, 1980; REIS, 2011). As regiões de ligações intra e intermoleculares estão diferenciadas na figura 2, que representa a estrutura química da celulose.

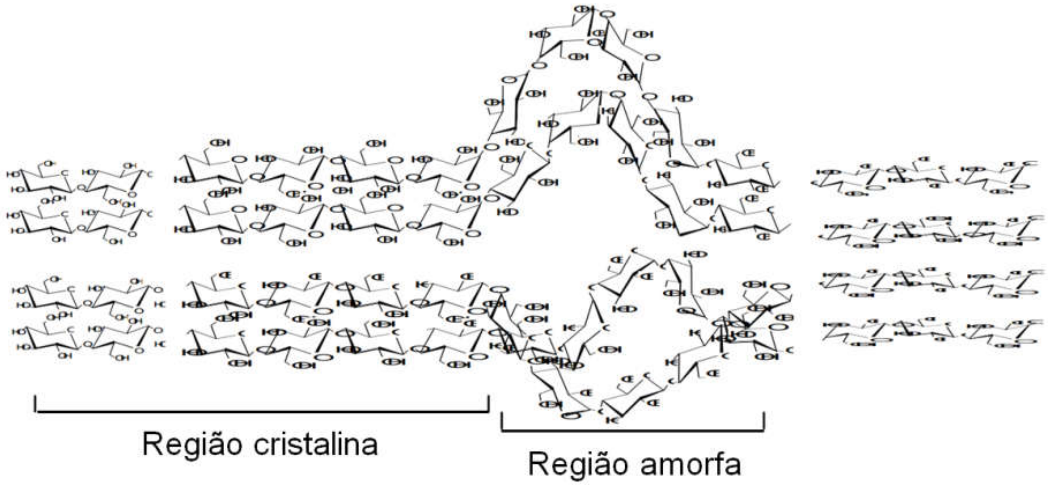

Figura 2 Estrutura da celulose com destaque para as regiões cristalina e amorfa (Fonte: adaptado de Reis, 2011).

Ainda em relação à estrutura da celulose, verifica-se que feixes de moléculas de celulose se agregam na forma de microfibrilas na qual regiões altamente ordenadas (cristalinas) se alternam com regiões menos ordenadas (amorfas). As microfibrilas se unem formando fibrilas e estas constroem as fibras celulósicas, conforme está representado na figura 3. Como consequência dessa estrutura fibrosa, a celulose possui alta resistência à tração e é insolúvel na maioria dos solventes (BALAT, 2009; LINO, 2015)

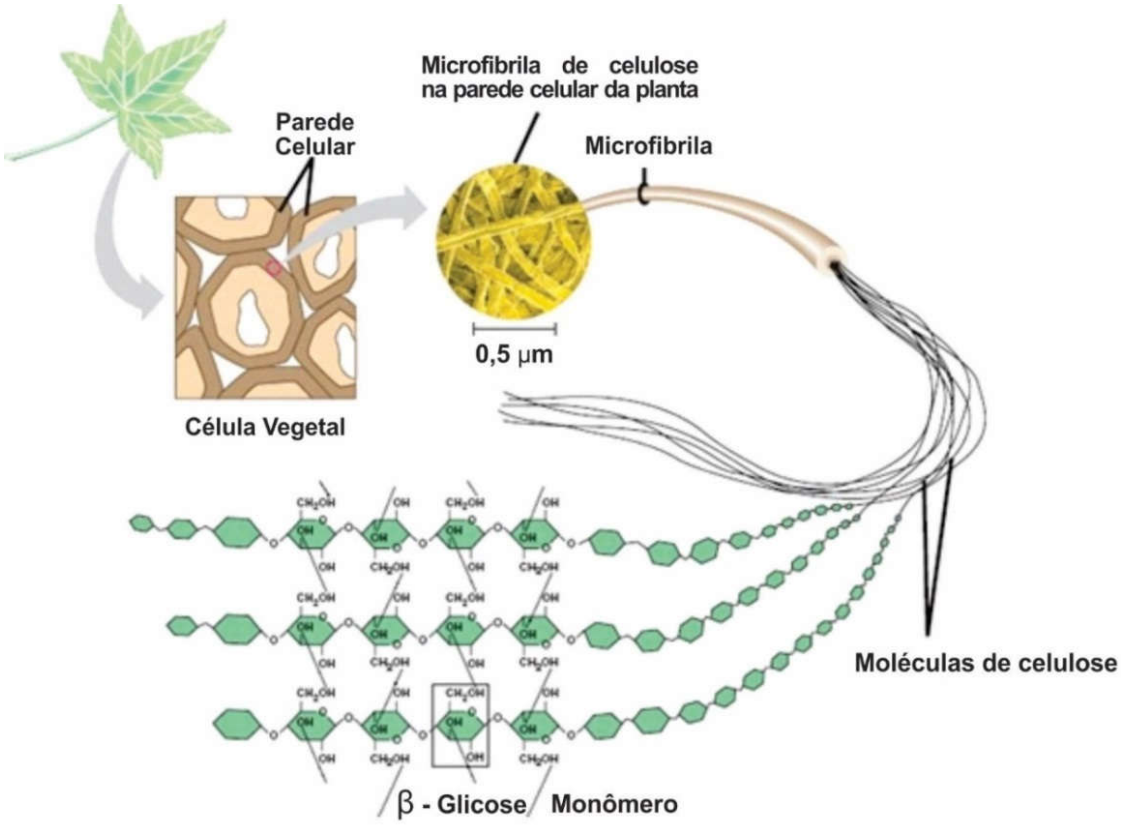

Figura 3 Estrutura química da celulose (Fonte: adaptado de BALAT, 2009).

Apesar da característica hidrofílica da celulose, não é possível a entrada de água no interior de sua porção cristalina à temperatura ambiente, que é limitada às regiões amorfas da molécula (LINO, 2015).

A extração de celulose da madeira é uma etapa fundamental para a obtenção do seu produto final na indústria de papel. Sendo que o processo Kraft é o principal método para a obtenção de celulose, separando-a dos demais componentes da madeira (CARVALHO, 2003).

2.2.2 Hemicelulose

As hemiceluloses caracterizam-se por possuir estrutura de natureza amorfa, conter considerável grau de ramificação entre suas cadeias e apresentar baixo peso molecular. Além disso, são bastante hidrofílicas, o que facilita a absorção de água e contribui para o intumescimento e flexibilidade das fibras. A hemicelulose é o segundo componente mais abundante em plantas disponível na natureza e localiza-se na parede celular vegetal. Está intercalada às microfibras de celulose, atuando como um

elemento de ligação entre a celulose e a lignina (FENGEL *et al.*, 1989; DA SILVA *et al*., 1997, TIBOLLA, 2014).

As hemiceluloses diferem da celulose pela composição de várias unidades de açúcar, com cadeias moleculares menores e ramificadas. Podem ser classificadas como xilanas, glicomananas, galactanas ou arabinanas, de acordo com o principal resíduo de açúcar presente em sua estrutura polimérica (BEG *et al.*, 2001). Assim, tais substâncias são definidas como uma classe de compostos poliméricos presentes em vegetais fibrosos, sendo que cada um desses componentes possui propriedades diferentes entre si (LINO, 2015).

A proporção e o teor dos distintos componentes encontrados nas hemiceluloses de madeira variam de acordo com a espécie vegetal (TELEMAN, 2009). Madeiras de folhosas e coníferas diferem não só na porcentagem do total de polioses, mas também na porcentagem individual de cada açúcar que compõem as polioses. Coníferas possuem uma maior concentração de unidades de manose e galactose quando comparado às folhosas. Estas, por sua vez, apresentam maior proporção de unidades de xilose e grupos acetila (LINO, 2015).

Aproximadamente 70 % das hemiceluloses pertencem ao grupo do xilano, sendo este o principal componente da classe, presente na maioria das plantas. O xilano apresenta cadeia principal caracterizada por unidades de xilose unidas entre si através de ligações glicosídicas $\beta(1 \rightarrow 4)$. A estrutura do xilano, que está identificada na figura 4, contribui para a resistência da célula vegetal frente à degradação microbiana devido às suas características estruturais como as ligações glicosídicas entre xilano, presença de substituintes laterais e outros polissacarídeos (SAHA, 2003). Devido à heterogeneidade e à complexidade das estruturas de xilano, a sua hidrólise requer várias atividades enzimáticas que atuam de forma cooperativa e sinérgica para converter o xilano em seus açúcares de origem monomérica (POLIZELI *et al*., 2005; ALVES-PRADO *et al*., 2010).

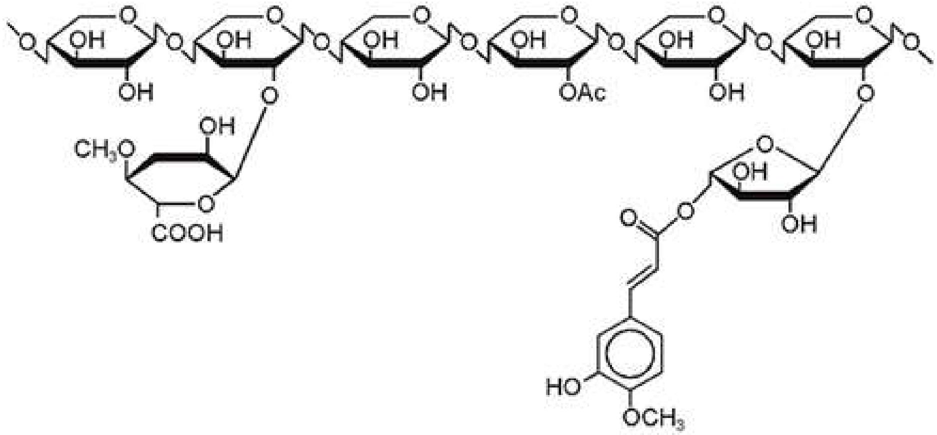

Figura 4 Estrutura química do xilano. Polissacarídeo composto por unidades de D-xilose unidos por ligações glicosídicas β 1→ 4 na cadeia principal e cadeias laterais com ácidos urónicos, L-arabinose e outros oligossacáridos (FONTE: Adaptado de Chen *et al.*, 2015).

2.2.3 Lignina

A lignina é um complexo fenólico amorfo, tridimensional, de subunidades aromáticas, normalmente derivadas de fenilalanina. Localiza-se na lamela média composta, bem como na parede secundária das plantas, sendo um composto hidrofóbico e altamente resistente à degradação química e biológica (DIOGO, 2012).

Esta substância atua como uma matriz em volta dos polissacarídeos da parede celular das plantas, fornecendo uma rigidez adicional e tornando as paredes impermeáveis à água. Durante o desenvolvimento das células, a lignina é incorporada como o último componente na parede, interpenetrando as fibrilas e assim fortalecendo as paredes celulares (ANDREAUS *et al.*, 2008).

A estrutura da macromolécula de lignina é mais complexa em relação às estruturas de celulose e hemicelulose (figura 5), sendo formada a partir de três precursores básicos, que são os álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico (BUDZIAK, 2004), cujas estruturas químicas estão demonstradas na figura 6.

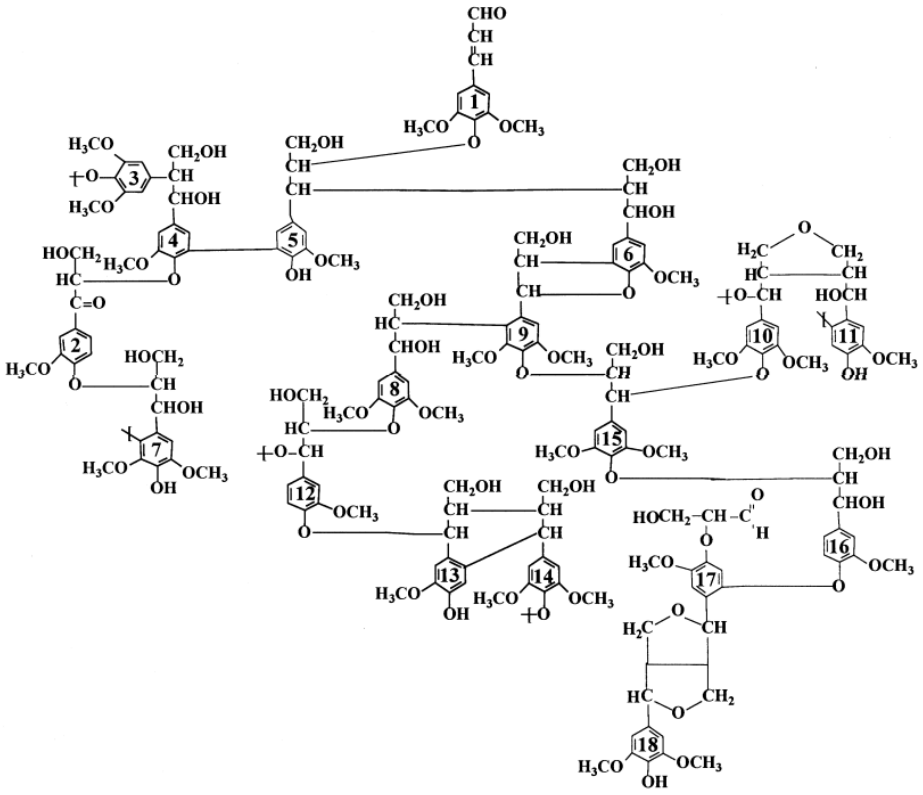

Figura 5 Estrutura proposta para a macromolécula de lignina de *Eucalyptus grandis (*Fonte: Brasileiro, 2001).

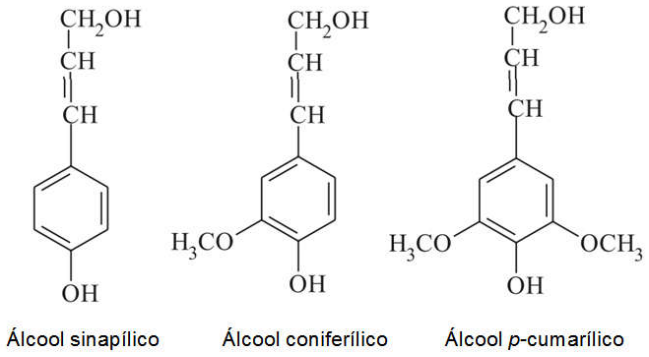

Figura 6 Precursores básicos na formação da molécula de lignina (Fonte: Budziak, 2004).

Algumas ligninas constituem-se de polímeros fenilpropanóides, da parede celular, com alto grau de condensação e resistência à degradação. De acordo com sua origem, podem ser compostos por unidades de p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) em diferentes proporções (BUDZIAK, 2004).

Uma das classificações possíveis para a lignina é estabelecida em função das espécies vegetais e dos padrões aromáticos de substituição, como segue (LINO, 2015):

- Lignina de Coníferas: São mais homogêneas, contendo quase que exclusivamente unidades guaiacila (Ligninas-G);

- Ligninas de Folhosas: Apresentam quantidades equivalentes de grupos guaiacila e siringila, e pequenas unidades p-hidroxifenila (Ligninas-GS);

- Ligninas de Gramíneas: Apresentam maior quantidade de unidades p-hidroxifenila que o encontrado em madeiras (coníferas ou folhosas), mas sempre em proporção menor que as outras unidades (Ligninas-GSH).

A composição estrutural da lignina é uma característica importante a ser considerada na seleção de madeira para manufatura (BOSE *et al*., 2009). No caso da polpação Kraft da madeira, o objetivo deste processo é desconstituir a estrutura da lamela média da parede celular, formada principalmente por lignina, e assim, individualizar as fibras. Durante este processo, grande parte da lignina e das hemiceluloses presentes nas paredes das fibras é removida e a elasticidade das fibras individualizadas aumenta. Esta remoção ocorre com o auxílio de produtos químicos, tais como hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na_2S), que reagem com a lignina, fragmentando-a em substâncias de baixa massa molar que se solubilizam na solução alcalina e que podem ser removidas das fibras por inúmeras etapas de lavagem. A polpa ou pasta celulósica resultante da polpação tem a coloração marrom que é devida, principalmente, a pequenas quantidades de lignina que não foram removidas das fibras, chamada agora de lignina residual. Com o objetivo de obter polpas totalmente brancas, é necessário a remoção dessa lignina, através de um processo químico denominado branqueamento (TUTUS *et al*., 2010).

Alguns parâmetros como número Kappa e brilho da polpa de celulose são determinados durante o processamento, uma vez que o número Kappa indica o grau de deslignificação ou a quantidade de lignina residual que persiste na polpa após a etapa de cozimento, sendo esta estimativa fundamental para a quantificação do consumo de reagentes nos processos de branqueamento, avaliação da qualidade da madeira e da eficiência do processo de polpação (MARINHO *et al.,* 2017).

O parâmetro brilho é definido como a capacidade da superfície de um papel em refletir a luz. A refletância do papel é medida na região azul do espectro da luz. O brilho é atribuído ao papel através da calandragem (processo de conformação de materiais através de cilindros aquecidos de uma calandra) do mesmo (VIEIRA, 2007; DIOGO, 2012).

2.3 Etapas de obtenção da polpa de celulose ou kraft da madeira

A produção de papel envolve um ciclo de atividades que se iniciam pela produção de mudas das árvores, sendo que a espécie produzida varia de acordo com a região, passando de plantio ao corte, por volta dos sete anos de cultivo (BRACELPA, 2014).

Após colheita das árvores plantadas, a madeira é descascada e picada em pequenos pedaços, denominados cavacos. O descascamento é a primeira etapa do tratamento dado à madeira, uma vez que a casca é indesejável como matéria-prima na fabricação de celulose devido ao fato da casca impactar em perdas de rendimento em outra etapa do processo, denominada polpação e consequentemente aumentar a necessidade de reagentes em etapas sequenciais da obtenção da polpa celulósica. O descascamento pode ser realizado com o auxílio de máquinas de colheita especializadas ou na própria fábrica, sendo que em ambas as situações esta operação consome muita energia, apresenta baixa eficiência e acarreta em grande desperdício de madeira. Estudos sugerem a aplicação de enzimas como pectinase, xilanase e glucanase na etapa de descascamento da madeira, entretanto esta ainda trata-se de uma biotecnologia de difícil aplicação na prática (FOELKEL, 2013).

Na etapa seguinte, os cavacos são selecionados com o objetivo de uniformizar a matéria-prima e remover lascas e serragens (IBÁ, 2016).

Na forma de cavacos, a madeira segue para a próxima etapa, denominada polpação. O processo de polpação tem como objetivo modificar os materiais lignocelulósicos pelo rompimento da estrutura da parede celular vegetal, removendo, solubilizando ou despolimerizando a lignina, e assim facilitar a separação das fibras e melhorar suas propriedades para a fabricação do papel (BRACELPA, 2014).

Os diferentes processos de polpação são classificados de acordo com os seus rendimentos em polpa e com a forma de energia utilizada na separação das fibras, sendo estes: mecânicos, químicos ou ainda uma combinação destes aliados à utilização de energia térmica (DIOGO, 2012; KLOCK, 2013).

A utilização de energia mecânica fornece fibras inteiras, fibras danificadas, pedaços e aglomerados de fibras e material fino sem estrutura. Ao utilizar energia mecânica e energia térmica ou/e química, as fibras obtidas podem ser inteiras, assim como danificadas e em pedaços. O emprego de apenas energia química gera fibras inteiras, completamente individualizadas. Desta maneira, pode-se obter polpas

celulósicas de propriedades bastantes distintas devido às possibilidades de utilização de métodos (KLOCK, 2013).

Os processos mecânicos são aqueles em que se é requerido um elevado consumo de energia, com consequentes implicações nos custos operacionais. Os equipamentos tipicamente empregados neste processo são Moinho de Bolas, Moinho de Rolos e Extrusora, com os quais a madeira é prensada e reduzida a uma pasta fibrosa denominada “pasta mecânica” (CASTRO, 2009; DIOGO, 2012). Ao tratara madeira com energia térmica, através de vaporização a temperaturas de até 130 ºC, com consequente amolecimento da madeira, e posterior desfibramento mecânico, uma menor quantidade de energia mecânica é necessária, sendo assim o processo denominado termo-mecânico (KLOCK, 2013).

Em relação aos processos químicos, diz-se que estes envolvem a separação das fibras através da ação de reagentes químicos em condições específicas de temperatura, pressão, tempo e concentração, que atuem principalmente sobre a lignina. Os processos químicos podem ser alcalinos (soda e kraft) ou ácidos (sulfito) (DIOGO, 2012). O processo com sulfito, submete os cavacos de madeira à uma mistura de ácido sulfuroso e íons bissulfito a uma pressão de 6,1 a 7,5 ATM e temperatura de 125 a 160 ºC por um período de 6 a 12 horas (CASTRO, 2009).

No processo de polpação alcalina, o agente deslignificante é o hidróxido de sódio (NaOH). Neste processo se obtém rendimento menor e qualidade inferior da polpa celulósica, que é menos resistente, quando comparados ao processo Kraft. Essas desvantagens são atribuídas ao tempo de deslignificação excessivamente longo, às altas temperaturas e concentrações de NaOH para a produção de polpas que possam ser branqueadas posteriormente. No processo kraft, utiliza-se NaOH conjuntamente com o sulfeto (Na_2S) como agentes deslignificantes (KLOCK, 2013).

A polpa obtida no processo de polpação apresenta coloração escura devido à presença de lignina residual. Para a obtenção de polpas totalmente brancas, é necessário remover os resíduos persistentes através do processo de branqueamento (KLOCK, 2013).

O processo de branqueamento é realizado em diversas etapas e pode envolver agentes oxidantes como cloro, hipoclorito de sódio ou de cálcio, dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, ou agentes redutores como o hidrossulfeto de zinco. Tal processo visa garantir a obtenção de polpas de alvuras elevadas, com mínima degradação da celulose (KLOCK, 2013).

Após o branqueamento, a celulose encontra-se bastante diluída em água e desta forma faz-se necessária a etapa de secagem. A operação é realizada com o intuito de obter-se a concentração no produto de 90% de fibras e 10% de água. A etapa de secagem pode ser realizada por cilindros secadores e após isto, o papel deve ser acondicionado de maneira a ser enviado para transporte ao mercado consumidor (KLOCK, 2013).

A figura 7 representa de forma esquemática todas as etapas do processo de fabricação de papel.

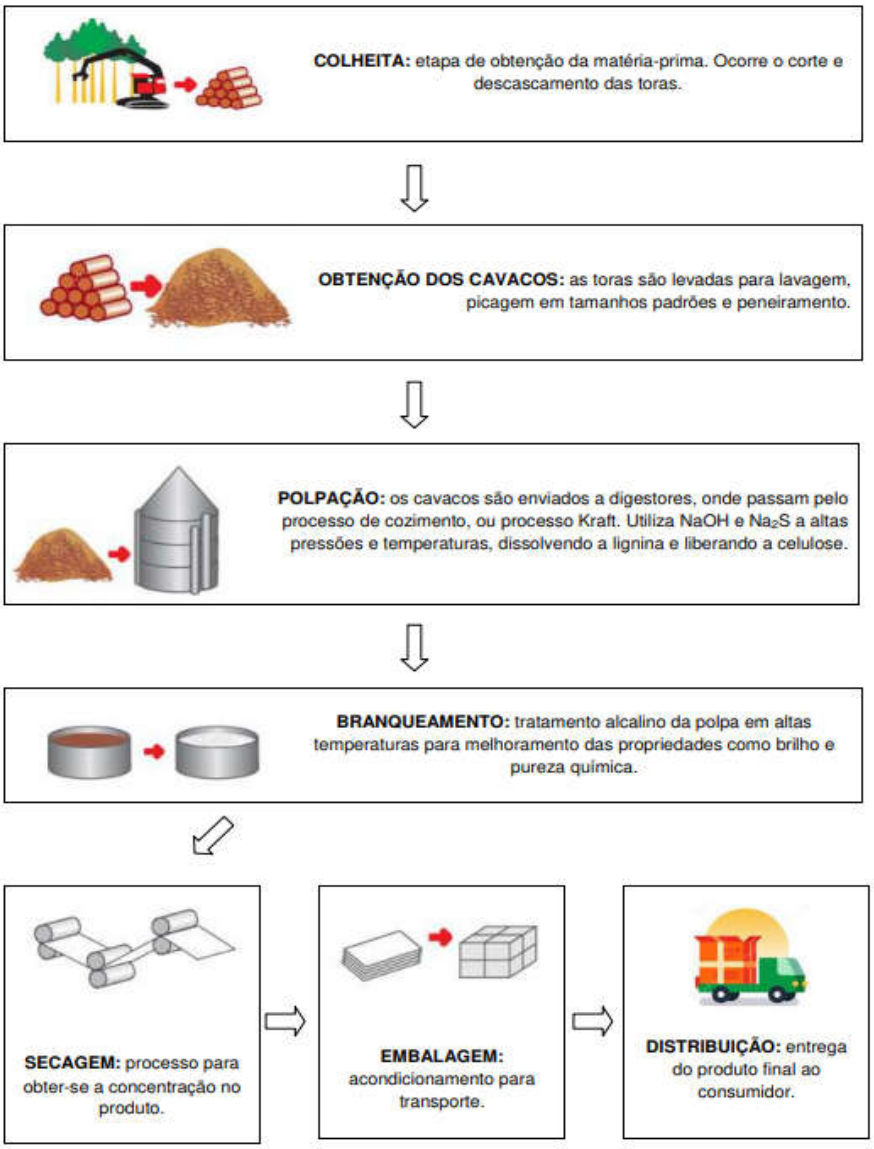

Figura 7 Esquema do processo de obtenção de papel a partir da madeira.

2.4 Processo kraft e branqueamento na indústria de papel

2.4.1 Polpação

Para a obtenção do papel, são utilizadas essencialmente as fibras de celulose, seja através de métodos mecânicos ou químicos para separá-las dos demais constituintes da madeira e formar uma massa celulósica denominada polpa. Entre os processos químicos de polpação, o mais utilizado é o Kraft, que representa mais de 80% da produção anual mundial de polpas celulósicas, e atualmente é considerada a metodologia melhor estabelecida (D'ALMEIDA, 2013).

No processo de polpação, inicialmente eram utilizadas madeiras originária da Escandinávia, sendo que o primeiro papel foi obtido na Suécia, no final do século XIX, mais precisamente em 1885. Este papel apresentava características de maior resistência, sendo então denominado "processo Kraft", pela derivação da palavra sueca para o conceito de resistência. O método para obtenção do papel Kraft objetiva melhorias das propriedades de resistência da polpa. Em suma, o processo Kraft dissolve a lignina, agente ligante das fibras na madeira, na busca de liberar as fibras com a menor degradação possível dos carboidratos celulose e hemicelulose (CASTRO SILVA, 2001).

Para a obtenção da polpa Kraft, os cavacos obtidos são selecionados e submetidos à etapa de cozimento, que é realizada em digestores mantidos a altas pressões e temperaturas (varia de 160 a 180 ºC), na qual são empregados o hidróxido de sódio (NaOH) e o sulfeto de sódio (Na_2S) como agentes ativos na reação (D'ALMEIDA, 1988). Esses reagentes fragmentam a lignina, quebrando-a em substâncias de baixa massa molecular, solúveis na solução alcalina, podendo então ser removidas das fibras por inúmeras etapas de lavagem, que tem como objetivo separar as fibras e o licor negro (solução residual de coloração marrom escuro, impregnado com lignina, hemiceluloses, resinas, haletos orgânicos, ácidos graxos e outros compostos solubilizados durante o cozimento) para que esse último possa ser encaminhado para o processo de recuperação de insumos químicos e energia, enquanto as fibras são enviadas para a etapa seguinte (IPPC, 2015). A etapa de polpação Kraft está demonstrada na figura 8.

O processo Kraft resulta em uma polpa com elevada qualidade. Entre as vantagens deste processo estão à possibilidade de adaptação a diversos tipos de madeira e a produção de polpas de alta qualidade com alta resistência (VASCONCELOS, 2005).

2.4.2 Biopolpação

A biopolpação é um tipo de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica que promove a deslignificação de material celulósico através da ação de exoenzimas ligninolíticas produzidas "in situ", que é normalmente realizado por fungos que crescem em material sólido ligninolítico ou em fermentação de processo sólido. Estas enzimas agem sobre o substrato sólido, quebrando as ligações químicas da molécula de lignina (SOCCOL, 2017). Na situação mais clássica, o reator biológico é a própria pilha de cavacos, ou eventualmente, um silo de cavacos com condições de aeração, umidade e temperatura (FOELKEL, 2013).

O fungo aplicado na biopolpação é selecionado de acordo com sua atividade enzimática, com baixa ou nenhuma atividade celulásica para preservar a celulose da amostra. Isso leva preferencialmente à digestão da lignina que está presente na parede celular vegetal. Devido a estas condições, a biopolpação produz pasta de celulose exigindo menos produtos químicos e energia quando comparado a um processo severo como o químico ou mecânico convencional. Além disso, a biopolpação melhora o rendimento da recuperação de celulose e qualidade da fibra de papel (SOCCOL, 2017).

O tempo de biotratamento da pilha de cavacos inoculada com fungo costuma ser de 8 a 30 dias. Esta inoculação pode ocorrer de duas maneiras:

- Com micelas maceradas do fungo que são colocadas em suspensão aquosa e aspergidas sobre os cavacos (0,1 a 0,3% de inóculo base peso seco de cavacos);
- Com cavacos pré-tratados em tanque, também denominado de “por semente”. É realizada distribuindo os cavacos inoculados sobre cavacos não inoculados (FOELKEL, 2013).

2.4.3 Branqueamento

A etapa de branqueamento consiste em um tratamento físico-químico dividido em duas etapas principais: adição dos reagentes químicos e, após a ação destes, a etapa de lavagem da polpa (MARINS, 2012).

O processo de branqueamento sofreu um desenvolvimento significativo nos últimos dois séculos. No século XIX predominou um processo baseado na aplicação de apenas um composto químico: o hipoclorito. Em meados de 1920 iniciou-se o uso de cloro como agente de branqueamento, seguido de um estágio de extração alcalina

para remoção da lignina oxidada, conhecido como CEH, onde: C - Cloro, E - Extração alcalina e H - Hipoclorito, que foi o procedimento de branqueamento padrão até meados dos anos 70. Este processo consiste em submeter a polpa obtida após a etapa de polpação ao tratamento alcalino (pH em torno de 11), com ação de agentes químicos (cloro, hipoclorito de sódio ou de cálcio, dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, ou agentes redutores como o hidrossulfeto de zinco), sob valores de temperatura variando entre 55 – 70 ºC. Nestas condições, ocorre a remoção de lignina residual e fragmentos de casca da polpa, resultando assim na obtenção de um maior grau de alvura e qualidade final da mesma. Com isso, o processo de branqueamento interfere diretamente no valor comercial de polpa (DYER, 2004; CASTRO SILVA, 2001).

A água residual eliminada após a etapa de lavagem no branqueamento contém substâncias organocloradas, de grande potencial contaminante ao meio ambiente e alta resistência à degradação microbiana. Proporcionalmente ao aumento de produção de polpa de celulose pelas indústrias, os efeitos da poluição foram tornando-se cada vez mais evidentes. As fábricas que utilizavam cloro e/ou hipoclorito de sódio como agentes de branqueamento, passaram a eliminar cada vez mais níveis elevados destes compostos nos cursos de água (DYER, 2004). Na década de 60, estudos associaram a presença de dioxinas e compostos organoclorados nos efluentes a efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (POKHREL *et al.,* 2004; BAJPAI, 2015).

A figura 8 representa esquematicamente as etapas de polpação e branqueamento na indústria de papel, descritas anteriormente.

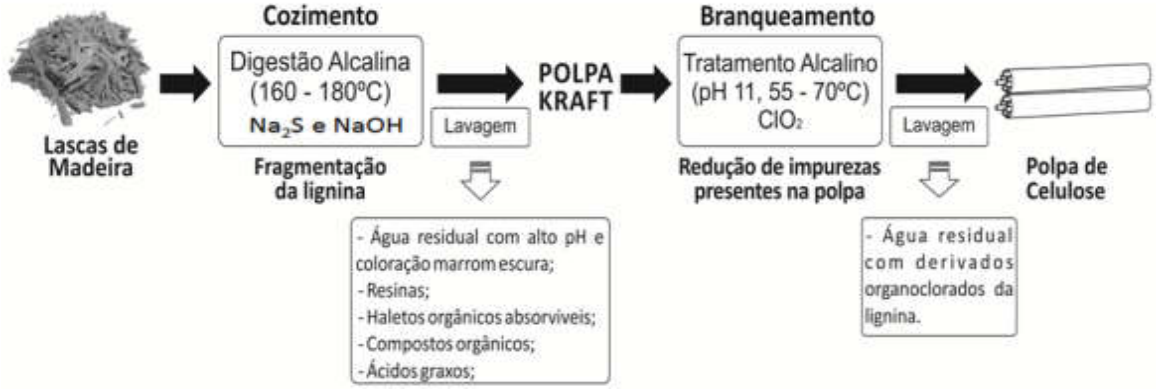

Figura 8 Processo Kraft e branqueamento na indústria de papel.

Alguns estudos têm relatado esforços significativos para remover esses organoclorados dos efluentes. Desde então se buscou alternativas para eliminar a utilização de cloro elementar em sequências de branqueamento ECF (“Elemental Chlorine Free”) ou a eliminação total de cloro em sequências TCF (“Totally Chlorine Free”), através da utilização de oxigênio, peróxido de hidrogênio ou ozônio como substituintes (BAJPAI, 2015).

Assim, nas últimas décadas as sequências ECF tornaram-se o estado da arte do branqueamento. Apesar de estabilizada a utilização de reagentes de branqueamento em sequências ECF ou TCF, a Biotecnologia surgiu como uma possível alternativa de branqueamento, empregando enzimas (BEG *et al*., 2001; DHIMAN *et al*., 2008; GARG *et al*., 2011; LIN *et al*., 2013; GANGWAR *et al*., 2014; BAJPAI, 2015).

É sabido que enzimas apresentam vantagens em relação aos processos químicos e isto se deve ao fato de reações bioquímicas apresentarem uma menor energia de ativação, em geral, necessitam de menor tempo de reação e menor agressividade sobre a polpa celulósica. Quando aplicadas de forma adequada, as enzimas possibilitam a redução de custos, e consequente aumento do valor agregado, sendo muitas vezes superiores às alternativas convencionais nos aspectos de matéria-prima, consumo de energia, rendimento e qualidade (SKALS *et al*., 2008). Além disso, as enzimas são consideradas ambientalmente corretas, uma vez que são biocatalisadores (GANGWAR *et al*., 2014).

2.5 Uso de enzimas xilanase na indústria de papel e celulose

Sabe-se há muito tempo do papel fundamental das enzimas em diversos processos de produção, como na fabricação de alimentos como pão, vinho, queijo, etc. Nas últimas décadas, a Biotecnologia – incluindo os processos enzimáticos – surge como uma alternativa importante, ou suplementar aos processos químicos em uma vasta gama de setores industriais (POLIZELI *et al.*, 2005).

Nas últimas décadas, é notável o crescente interesse das indústrias por enzimas que promovam a degradação do xilano. Os micro-organismos, como os fungos, são fontes promissoras de enzimas, dentre as quais as xilanases apresentam grande possibilidade de aplicação em processos biotecnológicos (MOTTA *et al*., 2013).

Uma significativa aplicação da enzima xilanase está na indústria de celulose e papel. Devido a necessidade de expansão de oferta de produtos livres de cloro, as indústrias de papel adotaram as enzimas como uma ferramenta versátil. Com isso, as xilanases têm sido amplamente utilizadas, uma vez que o efeito do agente de branqueamento é substancialmente aumentado após o pré-tratamento da pasta, permitindo assim uma redução de até 25 % do volume do produto clorado originalmente empregados. Consequentemente, ocorreu uma diminuição proporcional na geração de efluentes clorados (BAJPAI, 2006).

O grande desafio na utilização de enzimas em processos industriais é garantir a estabilidade às enzimas um máximo desempenho. Enzimas podem ser desnaturadas pelas mudanças bruscas em temperatura, pH, condutividade e pressão. Também podem ter seu efeito inibido na presença de reagentes químicos agressivos às suas moléculas (oxidantes e redutores fortes como dióxido de cloro, dióxido de enxofre, peróxido de hidrogênio) (FOELKEL, 2013).

2.5.1 Xilanases

As enzimas xilanases pertencem à família das glicosilhidrolases (GH), que catalisam a hidrólise das ligações 1,4-β-D-xilosídicas da cadeia principal do xilano (COLLINS *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2012). As principais enzimas envolvidas na degradação do xilano são classificadas em endoxilanases ou endo-β-xilanases (EC 3.2.1.8), e hidrolisam as ligações glicosídicas internas da cadeia da xilana, liberando xilobioses e que são degradadas pelas enzimas β-xilosidases (EC 3.2.1.37), liberando

monossacarídeos de xilose (POLIZELI *et al*., 2005; ALVES-PRADO *et al*., 2010). Ainda, outras enzimas também são requeridas para a completa despolimerização do xilano, dentre elas as β-xilosidases (EC 3.2.1.37), α-L-arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55), α-glucoronidases (EC 3.2.1.1), acetilxilanaesterases (EC 3.1.1.72), ácido ferúlicoesterases (EC 3.1.1.73) e ácido ρ-cumáricoesterases (EC 3.1.1 x.) (MARTINS *et al.*, 2011; WONGWISANSRI *et al.*, 2013).

As enzimas α-L-arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55) atuam nas cadeias laterais do xilano removendo as ramificações de L-arabinose, enquanto as enzimas α-glucoronidases (EC 3.2.1.131) hidrolisam as ligações glicosídicas α(1→2) entre ácidos glucurônicos ou de ésteres metílicos. Por fim, as acetilxilanaesterases (EC 3.1.1.72) e ácido ferúlicoesterases (EC 3.1.1.73), removem grupos acetil e ácidos fenólicos, respectivamente (POLIZELI *et al*., 2005).

A hidrólise do xilano pelas xilanases facilita a liberação de lignina da polpa, que melhora o brilho, as propriedades da polpa, reduz o número kappa, e consequentemente reduz o uso de cloro (MOTTA *et al*., 2013). A hidrólise completa do xilano por micro-organismos ocorre através de um aparato enzimático, de enzimas com funções especializadas, denominado sistema xilanolítico, representado na figura 9.

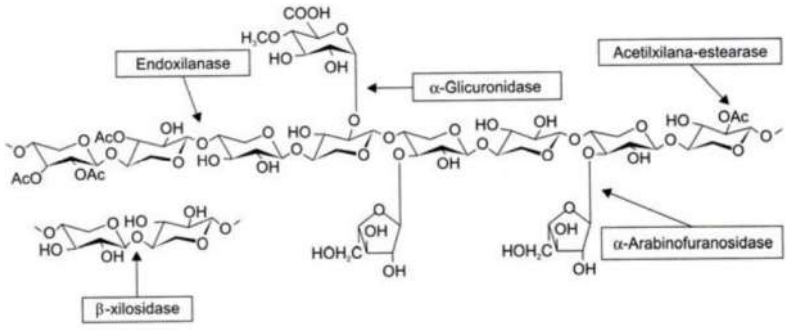

Figura 9 Enzimas xilanolíticas envolvidas na degradação do xilano (adaptado de CARVALHO, 2003).

As enzimas de origem microbiana são mais interessantes no segmento industrial, por serem produzidas em breve período de tempo e em quantidades elevadas (ANBU *et al.,* 2015). Dentre os micro-organismos produtores de xilanase, os fungos filamentosos são especialmente interessantes, pois se destacam devido à sua grande facilidade de cultivo e por secretarem suas enzimas diretamente no meio de produção, não sendo necessária assim a ruptura celular para sua liberação.

Adicionalmente, apresentam elevados níveis de produção enzimática, com potencial para inúmeras aplicações industriais (NASCIMENTO *et al.*, 2014; KUMAR *et al.* 2017).

Entre os fungos produtores de xilanase estão os dos gêneros: *Aspergillus*, *Coniothyrium*, *Disporotrichum*, *Penicillium*, *Thermomyces*, *Neurospora*, *Fusarium*, *Neocallimastix*, *Trichoderma* (BAJPAI, 2015). Na tabela 1 estão apresentadas propriedades das xilanases oriundas de algumas das espécies de fungos estudados ao longo dos anos.

2.6 Aplicação de xilanases em biobranqueamento

A adição de hemicelulases à polpa durante o branqueamento foi essencialmente o primeiro passo da utilização de enzimas como ferramentas tecnológicas eficientes que podem ser adicionadas a plantas industriais existentes sem grandes investimentos. A utilização de enzimas degradadoras do xilano ganhou importância nas últimas duas décadas devido à sua aplicação no pré-branqueamento da polpa kraft (COLLINS *et al.*, 2005; POLIZELI *et al.*, 2005).

Durante a Terceira Conferência Internacional sobre Biotecnologia na Indústria de Polpa e Papel de 1986, em Estocolmo, foi apresentado o primeiro registro sobre a possibilidade da xilanase aumentar o branqueamento de polpa Kraft. Na ocasião foi relatado o uso de xilanase no branqueamento que resultou na redução do consumo de cloro e, desde então, novas investigações têm sido realizadas com essa enzima (VIIKARI *et al*., 1986; MANDAL, 2015).

O biobranqueamento da polpa com xilanases, uma técnica que proporciona a redução do volume de cloro empregado no processo de branqueamento, promove a remoção do xilanoligado ao complexo lignina-carboidrato facilitando a lixiviação da lignina (BAJPAI, 2006).

Apesar dos recentes desenvolvimentos no campo, mecanismos enzimáticos no processo de branqueamento da polpa ainda não são totalmente compreendidos (BAJPAI, 2015), entretanto, é sabido que o número kappa, que reflete o teor de lignina da polpa, é diminuído durante os tratamentos com xilanases. Isto sugere que as xilanases contribuem para a deslignificação das polpas; ou ainda, sugere-se que enzimas xilanases podem agir removendo ácido hexenurônico, um componente encontrado no xilano que é formado durante a polpação alcalina. Dependendo do tipo de polpa, um ou ambos mecanismos podem contribuir para os efeitos de branqueamento observados (HENRIKSSON *et al.* 2009).

Três hipóteses têm sido descritas com o intuito de esclarecer este mecanismo e encontram-se representadas na figura 10.

A primeira hipótese sugere que as xilanases atuam sobre o xilano precipitado na lignina (VIIKARI *et al.*, 1986; VIIKARI *et al.*, 1994). Este xilano se precipita na lignina devido a diminuição do pH no final do passo de aquecimento e funciona como um obstáculo para produtos químicos para penetrar na fibra. A remoção deste xilano pelas xilanases levaria a uma maior exposição da lignina aos compostos utilizados no branqueamento da polpa de papel (POLIZELI *et al.*, 2005; HENRIKSSON *et al.,* 2009).

A segunda hipótese baseia-se na capacidade da lignina formar complexos com polissacarídeos como o xilano, tornando algumas das ligações resistentes ao álcali e deixando algumas das ligninas não hidrolizadas durante o processo de polpação Kraft (BUCHERT *et al.,* 1992). Assim, as xilanases poderiam clivar as ligações entre a lignina e xilano, melhorando assim a acessibilidade à estrutura da pasta de celulose, o que leva à fragmentação e subsequente extração de fragmentos de xilano (PAICE *et al.*, 1992; HENRIKSSON *et al.,* 2009).

A última hipótese é referente aos ácidos hexenurônicos, que são formados durante a polpação alcalina pela modificação dos ácidos 4-O-metilglicurônicos presentes nas xilanas. As condições de polpação que mais influenciam o conteúdo de ácidos hexenurônicos na polpa são álcali ativo, sulfidez e temperatura. O tratamento com xilanase remove regiões que contêm os ácidos hexenurônicos, desse modo, o consumo de compostos químicos de branqueamento seria diminuído (HENRIKSSON *et al.,* 2009; VENTORIM *et al.*, 2009).

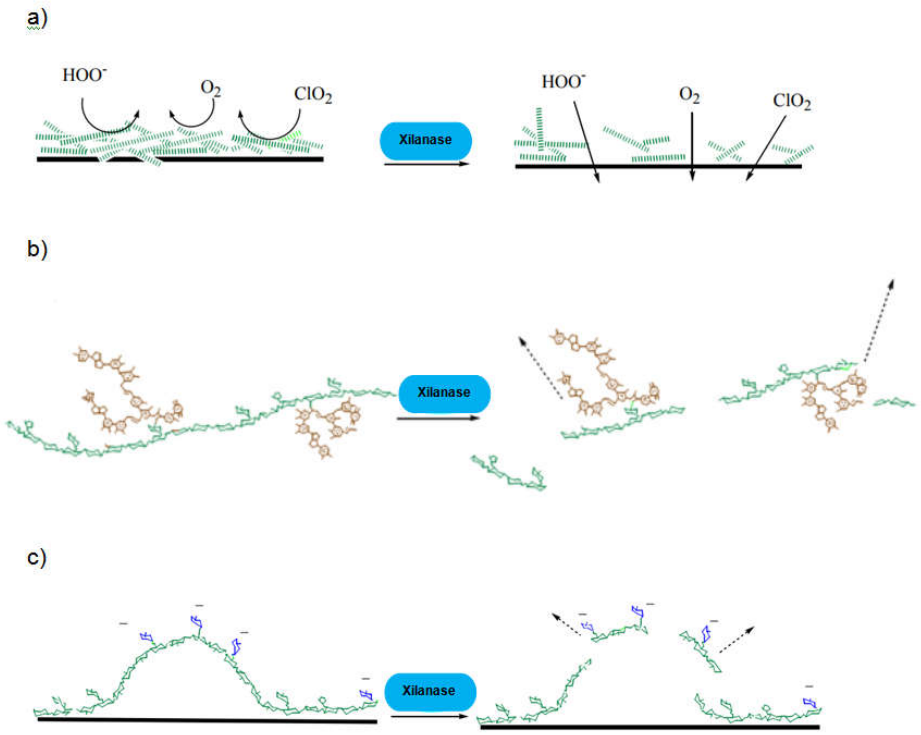

Figura 10 Três hipóteses de mecanismo da enzima xilanase a) O xilano precipitado na superfície da fibra impede a entrada de produtos químicos na fibra. A ação da xilanase é remover parcialmente a camada de xilano e abre poros para produtos químicos de branqueamento; b) A lignina encontra-se ligada covalentemente ao xilano, formando um complexo que é clivado por xilanases; c) Xilanase remove regiões do xilano que contém ácido hexenurónico, diminuindo o consumo de agentes químicos de branqueamento (Fonte: adaptado de Henriksson *et al.* 2009).

Além disso, outras hemicelulases, tais como peroxidases, lacases, esterases, galactosidases e esterases de ácido ferúlico, também são relatadas como auxiliares no processo de branqueamento de polpa de celulose juntamente com xilanases (POLIZELI *et al.*, 2005). Enquanto as lipases são geralmente aplicadas durante o processamento do papel, xilanase e lacase são mais comumente empregadas nos processos de branqueamento e deslignificação (DEMUNER *et al.*, 2011). Os benefícios do tratamento enzimático incluem redução de custos operacionais, redução de poluentes orgânicos, melhorias no brilho e propriedades da polpa, redução do número de kappa e aumento do rendimento de fibras (GANGWAR *et al.*, 2014).

As enzimas com propriedades bioquímicas compatíveis podem permitir uma remoção mais eficaz da lignina durante as fases de polpa e branqueamento e reduzir o uso de produtos químicos oxidantes. Além disso, ao melhorar as propriedades da polpa branqueada, o tratamento enzimático leva a uma série de melhorias no processo de produçãode celulose, incluindo menos geração de águas residuais, e consequentementemenor toxicidade (ALI *et al.*, 2001; MARTINS *et al.*, 2014). Atualmente, um número significativo de indústrias de celulose e papel na Europa, América do Norte, América do Sul e Japão usam enzimas em seus processos de

produção. A América do Norte já melhorou o processamento de 2,5 milhões de toneladas de celulose utilizando xilanase nas etapas de pré-branqueamento (NGUYEN *et al.*, 2008).

Estudos têm relatado as características bioquímicas da xilanase de fungos, como pH e temperatura, bem como as condições de cultivo das enzimas que estão relacionadas ao período de tratamento e polpa empregada. Ainda, encontram-se relatados os parâmetros obtidos para esta somatória de fatores, tais como número kappa, eficiência kappa e brilho da polpa. A indústria de papel e celulose necessita principalmente de xilanases que apresentem estabilidade em temperaturas elevadas e pH alcalino. Com isso, vários estudos têm sido realizados em busca de enzimas para aplicação nesse segmento industrial (WALIA *et al.,* 2015).

Outras propriedades também são vislumbradas às xilanases com potencial para aplicação na indústria de papel e celulose, tais como não apresentar atividade celulásica para evitar a hidrólise das fibras de celulose, e possuir baixa massa molecular para facilitar sua difusão nas fibras da polpa. É fundamental ainda, que a enzima empregada no processo apresente resultados relacionados à alta produtividade do produto a ser obtido, sem representar o aumento do custo para a indústria. Dados sobre a potencial utilização de xilanases fúngicas em processos de branqueamento e de polpação foram compilados a partir de artigos publicados e estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2 Propriedades de xilanases fúngicas com potencial para uso no branqueamento de polpa.

Fungo	Xilanase (U/g polpa)	pH	Temperatura (ºC)	Tempo de Tratamento (h)	Número Kappa (Un. Kappa)	Efeciencia kappa (%)	Brilho (%)	Tipo de polpa	Referência
Aspergillus flavus	11	6,5	55	2	8,89	36,32	NR	Polpa de Celulose de *Eucalyptus*	DE ALENCAR GUIMARAES *et al*., 2013.
Aspergillus fumigatus	10	5,0 – 5,5	70	1	6,8	11,7	NR	Polpa de Celulose de *Eucalyptus*	PEIXOTO-NOGUEIRA, *et al.,* 2009.
Aspergillus flavus	12	6	50	2	13,5	25,2	48,3	Polpa de Celulose de *Eucalyptus*	KUMAR, 2017
Aspergillus japonicus	10	5,2	50	3	11,6	25,93	57,7	Polpa de Celulose de *Eucalyptus*	DE ALENCAR GUIMARAES *et al*., 2013.
Aspergillus niger	10	6,5	55	2	10,34	14,9	NR	Polpa *de* Celulose de *Eucalyptus*	DE ALENCAR GUIMARAES *et al*., 2013.
Aspergillus niger	35	5,5	55	2	7,4	NR	59,6	Polpa de Celulose de *Eucalyptus*	BETINI *et al*., 2009.
Aspergillus niger	5	7	50	4	4,8	39,6	70,8	Polpa de Celulose	MEDEIROS *et al.,* 2007.
Aspergillus niveus	10	4,5 – 5,0	65	1	7,1	20,7	58,1	Polpa kraft de celulose de *Eucalyptus*	PEIXOTO-NOGUEIRA *et al.,* 2009.
Aspergillus niveus	35	5,5	55	2	6,9	20,7	59,6	Polpa de Celulose	BETINI *et al*., 2009.
Aspergillus ochraceus	35	5,5	55	2	6,9	36,4	58,9	Polpa de Celulose	BETINI *et al*., 2009.
Aspergillus ochraceus	10	5	65	1	7,5	14,3	57,1	Polpa de Celulose	MICHELIN *et al*., 2009.
Aspergillus terricola	10	6,5	60	1	6,6	NR	60,3	Polpa de Celulose de *Eucalyptus*	MICHELIN *et al*., 2009.
Penicillium corylophilum	5	7	50	4	4,9	NR	73	Polpa kraft de celulose de *Eucalyptus*	MEDEIROS *et al.,* 2007.
Penicillium crstosum	25	5,5	50	2	9,77	NR	NR	Polpa kraft de celulose de *Eucalyptus*	SILVA *et al*., 2016.
Penicillium janczewskii	2	5,5	50	1	<3	NR	NR	Polpa Kraft de *Eucalyptus*	TERRASAN, *et al,* 2013.
Thermomyces lanuginosus	40	7,0 – 7,5	70 - 75	1	NR	NR	66,91	Polpa de palha de Trigo	LI, *et al,* 2005.
Thermomyces lanuginosus M7	10	8	65	01:30	10,5	NR	46,5	Polpa de palha de Trigo	BOKHARI, *et al,* 2010.
Thermomyces lanuginosus SSBP	50	6,5	50	3	9	NR	46,1	Polpa de bagaço de cana-de-açúcar	MANIMARAN, *et al,* 2008.
Trichoderma longibrachiatum	5	7	50	4	4,3	36,32	71,6	Polpa kraft de celulose de *Eucalyptus*	MEDEIROS, *et al,* 2007.
Trichoderma viride	10	6	60	1	12,99	11,7	NR	Polpa Kraft de *Eucalyptus*	FORTKAMP, *et al,* 2014.

NR: Não reportado.

Pode-se observar na tabela 2 os resultados obtidos sobre branqueamento de polpa de celulose/Kraft de *Eucalyptus* ou de palha de trigo realizados com xilanases obtidas de origem fúngicas (mesofílicos e termofílicos). A polpa de *Eucalyptus* está entre uma das matérias-primas mais empregadas na produção de papel e celulose, enquanto a palha de trigo representa uma fonte de matéria-prima alternativa, sendo uma opção economicamente interessante e de fácil obtenção. Ainda, Manimaran e colaboradores (2008) utilizaram a polpa de bagaço de cana-de-açúcar em seu experimento. Para o estudo realizado com a palha de milho e com a polpa de bagaço de cana-de-açúcar, observa-se a necessidade de maiores concentrações de enzimas (40 e 50 U/g polpa, respectivamente), entretanto em relação à concentração de enzimas utilizada nos diferentes estudos, não foi possível estabelecer uma ligação entre este parâmetro e demais características obtidas no produto final.

Observa-se ainda que algumas xilanases produzidas por fungos mostraram atividade enzimática ótima em temperaturas mais elevadas, como as dos fungos *Thermomyces lanuginosos* (70 -75 ºC) e *Aspergillus fumigatus* (70 ºC), porém a maioria das xilanases de fungos mesofílicos apresentaram temperatura na faixa de 50 a 55 ºC.

Verificou-se que temperaturas mais elevadas estão associadas a tempos menores (01 hora) de tratamento com xilanases, o que representa processos mais rápidos de branqueamento, conforme resultados descritos por Li *et al*. (2005), Peixoto-Nogueira *et al.* (2009), Bokhari *et al.* (2010). Tempo de tratamento menores, associados ao desempenho enzimático desejável (temperatura e pH elevados), podem representar a otimização de recursos à indústria, e consequentemente, economia. Em oposição, atividades de xilanases com temperaturas mais baixas (50 – 55 ºC) e pH entre ácidos e neutros (5,0 - 6,5), necessitaram de mais tempo de tratamento enzimático (2 a 4 horas) para atingir um valor razoável de brilho ou para alcançar número kappa menor.

De acordo com as propriedades da enzima, o pH neutro ou alcalino influenciou na melhoria do branqueamento da polpa de celulose, pois resultaram no aumento do brilho, conforme exibido nos resultados de Medeiros *et al.* (2007) com brilho de 70,8 % em pH 7,0. Do mesmo modo, as xilanases com pH ótimo 7,0 oriundas do fungo *Penicillium corylophilum* e *Trichoderma longibrachiatum*, apresentaram brilho de 73 e 71,6 % respectivamente (Medeiros *et al.*, 2007). Segundo estes mesmos autores o valor para o parâmetro brilho representa a qualidade do produto obtido, pois quanto maior este índice, maior o valor agregado ao produto final.

Portanto, a xilanase que atenda os processos desse segmento industrial, deverá apresentar atividade enzimática em temperaturas elevadas e pH neutro ou alcalino, para obter um alto valor de brilho e redução do kappa. Associado a isso ainda, menor tempo de tratamento e concentrações de xilanase representam uma condição ideal de aplicação dessa enzima no tratamento de polpa na indústria de papel e celulose.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários estudos têm sido conduzidos nas últimas décadas em busca de alternativas viáveis, do ponto de vista econômico, tecnológico e ambiental, para substituir ou minimizar o uso de produtos químicos pela indústria papeleira, em especial na etapa de branqueamento convencional. A utilização de substâncias organocloradas neste processo, embora já estabelecida, gera resíduos altamente tóxicos e contaminantes ao meio ambiente, trazendo prejuízos aos ecossistemas. Diante disso, o emprego de tecnologia enzimática tem se apresentado como uma alternativa promissora às questões ambientais relacionadas às tecnologias convencionais. Vários estudos têm demonstrado resultados significativos devido a ação de enzimas xilanolíticas isentas de atividade celulásica na etapa de branqueamento de polpa celulósica, kraft ou palha de resíduos agrícolas. Embora o mecanismo de ação das xilanases ainda não esteja completamente elucidado, é constatado que o teor de lignina da polpa foi diminuído durante os tratamentos com essas enzimas, o que torna esta enzima uma ferramenta interessante a ser implementada para obtenção de polpa celulósica. As características bioquímicas de atividade enzimática das xilanases como estabilidade ao pH neutro ou alcalino e temperaturas elevadas influenciaram no aumento do brilho, eficiência kappa das polpas de celulose obtidas na etapa de branqueamento da polpa kraft. Assim, estudos que exploram e acrescentam melhorias na cadeia produtiva para obtenção de polpa kraft pela indústria, através do uso de processos enzimáticos, serão sempre relevantes principalmente pela redução da descarga de material contaminante em efluentes.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, M.; SREEKRISHNAN, T. R. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. **Advances in Environmental Research**, v. 5, n. 2, p. 175-196, 2001.

ALVES-PRADO, H. F.; PAVEZZI, F. C.; LEITE, R. S. R.; OLIVEIRA, V. M.; SETTE, L. D.; Da SILVA, R. Screening and production study of microbial xylanase producers from Brazilian Cerrado. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 161, p. 333-346, 2010.

ANBU, P.; GOPINATH, S. C. B.; CHAULAGAIN, B. P.; TANG, T. H.; CITARTAN, M. Microbial enzymes and their applications in industries and medicine 2014. [Editorial]. **BioMed Research International**, v. 2015, p.1-3, 2015.

ANDREAUS, J.; FILHO, E. X. F.; BON, E. P. D. S. Biotechnology of Holocellulose-Degrading Enzymes. In: HOU, C. T. e SHAW, J. (Ed.). **Biocatalysis and Bioenergy**: John Wiley & Sons, Inc., p.195-229, 2008.

BAJPAI, P.; ANAND, A.; BAJPAI, P. K. Bleaching with lignin-oxidizing enzymes. **Biotechnology Annual Review**, v. 12, p. 349-378, 2006.

BAJPAI, P. Basic overview of pulp and paper manufacturing process. **Green chemistry and sustainability in pulp and paper industry.** Springer International Publishing Switzerland, p. 11-39, 2015.

BALAT, M.; BALAT, H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Applied Energy**, n. 86, p. 2.273-2.282, 2009.

BAYER, E. A.; SHOHAM, Y.; LAMED, R. Lignocellulose-decomposing bacteria and their enzyme systems. In: **The Prokaryotes**. Springer Berlin Heidelberg,p. 215-266, 2013.

BEG, Q. K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 3-4, p. 326-338, 2001.

BETINI, J. H. A.; MICHELIN, M.; PEIXOTO-NOGUEIRA, S. C.; JORGE, J. A.; TERENZI, H. F.; POLIZELI, M. L. T. M. Xylanases from *Aspergillus niger*, *Aspergillus niveus* and *Aspergillus ochraceus* produced under solid-state fermentation and their application in cellulose pulp bleaching. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 32, n. 6, p. 819-824, 2009.

BOKHARI, S. A. I.; RAJOKA, M. I.; JAVAID, A.; SHAFIQ UR, R.; ISHTIAQ UR, R.; LATIF, F. Novel thermodynamics of xylanase formation by a 2-deoxy-d-glucose resistant mutant of *Thermomyces lanuginosus* and its xylanase potential for biobleachability. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 8, p. 2800-2808, 2010.

BOSE, S. K.; FRANCIS, R.C.; GOVENDER, M.; BUSH, T.; SPARK, A. Lignin content versus syringyl to guaiacyl ratio amongst poplars. **Bioresource Technology**, Essex, n. 100, p. 1628–1633, 2009.

BRACELPA. **Conjuntura**. v. 793, n. 1, p. 1–5, 2014.

BRAND, M. A. Energia de biomassa florestal. Rio de Janeiro: **Interciência**, 131p., 2010.

BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J. L.; PILÓ-VELOSO, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 819-829, 2001.

BUCHERT, J.; RANUA, M.; KANTELINEN, A.; VIIKARI, L. The role of two *Trichoderma reesei* xylanases in the bleaching of pine kraft pulp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 6, p. 825–929, 1992.

BUDZIAK, C. R.; MAIA, C. M. B. F.; MANGRICH, A. S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. **Química Nova**, *27*(3), 399-403, 2014.

CARVALHO, M. E. A. **Produção de Lignina Peroxidase e sua Aplicação no Biobranqueamento de Pasta de Celulose.** Tese (Doutorado em Bioquímica), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

CASTRO SILVA, A.; AGUIAR, I. J. A. Micromorfologia da degradação da madeira da espécie mazônica *Hura crepitans L.* por fungos lignolíticos pertencentes à classe *Hymenomycetes*. **Acta Amazônia**, v. 31, n. 3, p. 397 – 418, 2001.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xilanases. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 1, p. 3-23, 2005.

D'ALMEIDA, M. L. O. Composição Química dos Materiais. **Celulose e Papel – Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica**. v. 1. Edição IPT – São Paulo, 1988.

D'ALMEIDA, M.L.O. Tecnologia de fabricação de pasta celulósica, 2ª Ed., Vol1, SP, SENAI-IPT, 2013.

DA SILVA, R.; FRANCO, C. M. L.; GOMES, E. Pectinases, Hemicelulases e Celulases, Ação, Produção e Aplicação no Processamento de Alimentos: Revisão. **Boletim da SBCTA**, v. 31, n. 2, p. 249 – 260, 1997.

DE ALENCAR GUIMARAES, N.; SORGATTO, M.; PEIXOTO-NOGUEIRA, S. D.; BETINI, J. H.; ZANOELO, F.; MARQUES, M. Bioprocess and biotecnology: effect of xylanase from *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* on pulp biobleaching and enzyme production using agroindustrial residues as substract. **Springer Plus**, v. 2, n. 1, 2013.

DEMUNER, B. J.; JUNIOR, N. P.; ANTUNES, A. M. S. Technology prospecting on enzymes for the pulp and paper industry. **Journal Technology Management Innovation**, v. 6, n. 3, p. 148-158, 2011.

DIOGO, S. C. B. S. A. **Modelação e previsão da performance e das propriedades do papel.** Tese (Doutorado), Instituto Superior de Educação e Ciências, 2012.

DHIMAN, S. S.; SHARMA, J.; BATTAN, J. Industrial applications and future prospects of microbial xylanases: a review. **Bioresources**, v. 3, n. 4, p. 1377-1402, 2008.

FOELKEL, C. Individualização das fibras da madeira do eucalipto para a produção de celulose kraft. **Eucalyptus Online Book & Newsletter**, 107, 2009.

FORTKAMP, D.; KNOB, A. High xylanase production by Trichoderma viride using pineapple peel as substrate and its apllication in pulp biobleaching. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 22, p. 2248-2259, 2014.

GANGWAR, A. K.; PRAKASH, N. T.; PRAKASH, R. Applicability of microbial xylanases in paper pulp bleaching: A review. **Bioresources**, v. 9, n. 2, p. 3733-3754, 2014.

GARG, S. K.; TRIPATHI, M. Strategies for decolorization and detoxification of pulp and paper mill effluent. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 212, p. 113-36, 2011.

GOMES, E.; GUEZ, M. A. U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova,** p. 136-145, 2007.

IBÁ – Indústria Brasileira de Árvores. **Cenários IBÁ: Estatísticas da indústria brasileira de árvores.** Brasília, v. 20, 2016. Disponível em: http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2016_.pdf

IPPC – Integrated Pollution Prevention and Control. Best Available Techniques (BAT) Reference I for the production of pulp, paper and board. Industrial Emissions Directive. Joint Reserch Centre: Institute for Prospective Technological Studies, Sustainable Production and Consumption. **Unit European Commission Bureau**. Bruxelas, 2015. Disponível em: http://eippcb.jrc.ec.europa.eu/reference/BREF/PP_revised_BREF_2015.pdf
KLOCK, U. **Polpa e Papel,** Universidade Federal do Paraná, 3ª Edição. Curitiba, 2013.

KUMAR, D.; KUMAR, S. S.; KUMAR, J.; KUMAR, O.; MISHRA, S. V.; KUMAR, R.; MALYAN, S. K. Xylanases and their industrial applications: a review. **Biochemical and Cellular Archives,** v. 17, nº. 1, p. 353-360, 2017.

LANGARICA-FUENTES, A.; HANDLEY, P. S.; HOULDEN, A.; FOX, G.; ROBSON, G. D. An investigation of the biodiversity of thermophilic and thermotolerant fungal species in composts using culture-based and molecular techniques. **Fungal Ecology,** 11:132-44, 2014.

LI, X.T.; JIANG, Z.Q.; LI, L.T.; YANG, S.Q.; FENG, W.Y.; FAN, J.Y.; KUSAKABE, I. Characterization of a cellulase-free, neutral xylanase from CBS 288.54 and its biobleaching effect on wheat straw pulp. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 12, p. 1370-1379, 2005.

LIN, X. Q.; LIANG, S. L.; HAN, S. Y.; ZHENG, S. P.; YE, Y. R.; LIN, Y. Quantitative iTRAQ LC-MS/MS proteomics reveals the cellular response to heterologous protein over expression and the regulation of HAC1 in *Pichiapastoris*. **Journal of Proteomics**, Elsevier B.V., v. 91, p. 58 - 72, 2013.

LINO, A. G. **Composição química e estrutural da lignina e lipídios do bagaço e palha da cana-de-açúcar.** Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, 2016.

MANDAL, A. Review on microbial xylanases and their applications. **Cellulose**, *42*(2), 45-2, 2015.
MANIMARAN, A.; KUMAR, K. S.; PERMAUL, K.; SINGH, S. Hyper production of cellulase-free xylanase by *Thermomyces lanuginosus* SSBP on bagasse pulp and its

application in biobleaching. ***Applied Microbiology and Biotechnology***, v. 81, n. 5, p. 887-893, 2008.

MARINS, G. **Caracterização do licor negro de eucalipto para avaliação do potencial de incrustação em evaporadores.** Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas - SP, 2012.

MARINHO, N. Characteristics of the Kraft Pulp Extracted from Black-Wattle Species in Papermaking. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017.

MARTINEZ, A. T.; SPERANZA, M.; RUIZ-DUENAS, F. J.; GUILLÉN, C. F.; MARTÍNEZ, M. J.; GUTIÉRREZ, A.; RÍO, J. C. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. **International Microbiology**, v. 8, n.3, p. 195-204, 2005.

MARTINS, L.O.; DHIMAN, S.S.; GARG, G.; SHARMA, J.; KALIA, V. C.; KANG, Y. C.; LEE, J. Reduction in acute ecotoxicity of paper mill effluent by sequential application of xylanase and laccase.**PLOS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.

MEDEIROS, R.G.; da SILVA, F. G.; BÁO, S. N.; HANADA, R.; FERREIRA FILHO, E. X. Application of xylanases from Amazon Forest fungal species in bleaching of eucalyptus kraft pulps. **Brazilian Archives of Biology and Technology,** vol. 50, no. 2, pp. 231-238, 2007.

MICHELIN, M.; PEIXOTO-NOGUEIRA, S. C.; BETINI, J. H. A.; DA SILVA, T. M.; JORGE, J. A.; TERENZI, H. F.; POLIEZI, M. L. T. M. Production and properties of xylanases from *Aspergillus terricola* and *Aspergillus ochraceus* and their use in cellulose pulp bleaching. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 33, n. 7, p. 813-821, 2009.

MOTTA, F. L.; ANDRADE, C. C. P.; SANTANA, M. H. A. A review of xylanase production by the fermentation of xylan: classification, characterization and applications. **Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass-Techniques, Applications and Commercialization**. Intech, 2013.

NASCIMENTO, M. B; ALVES, E. M. H. M; TAKAKI ,C. M. G.; SILVA, A. A. C; OKADA,K. Utilização de resíduos agroindustriais para a produção de Tanase por A*spergillus* sp isolados do solo da Caatinga de Pernambuco, Brasil. **E-xacta**, 7 , 95-103, 2014.

NGUYEN, D.; ZHANG, X; JIANG, Z. H.; AUDET, A.; PAICE, M. G.; RENAUD, S.; TSANG, A. Bleaching of kraft pulp by a commercial lipase: Accessory enzymes degrade hexenuronic acids. **Enzyme Microbial Technology**, v. 43, n. 2, p. 130-136, 2008.

PAICE, M. G.; GURNAGUL, N.; PAGE, D. H.; JURASEK, L. Mechanism of hemicellulose-directed prebleaching of kraft pulps. **Enzyme Microbial Technology**, v. 14, n. 4, p. 272-276, 1992.

PEIXOTO-NOGUEIRA, S. D.; MICHELIN, M.; BETINI, J. H. A.; JORGE, J. A.; TERENZI, H. F.; POLIZELI, M. D. T. D. Production of xylanase by *Aspergilli* using alternative carbon sources: application of the crude extract on cellulose pulp biobleaching **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 1, p.149-155, 2009.

POKHREL, D.; VIRARAGHAVAN, T. Treatment of pulp and paper mill wastewater- a review. **Science of the Total Environment**, v. 333, n. 1-3, p. 37-58, 2004.

POLIZELI, M. L. T. M.; RIZZATTI, A. C. S.; MONTI, R.; TERENZI, H. F.; JORGE, J. A.; AMORIM, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 67, n. 5, p. 577-591, 2005.

RITTER, S. K. Lignocellulose: A Complex Biomaterial. **Chemical and Engineering News**, v. 86 (49), p.15, 2008.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 279-291, 2003.

SILVA, N. F. S., SIMÕES, M. R., KNOB, A., MORAES, S.S., HENN, C., SILVA, J.L.C., SIMÃO, R.C.G., MALLER, A., KADOWAKI, M.K., Improvement in the bleaching of kraft pulp with xylanase from FP 11 isolated from the Atlantic forest, ***Biocatalysis*** **and** ***Biotransformation.*** Early Online: 1 – 9, 2016.

SINGH V., PANDEY V. C., AGRAWAL S. Potential of *Laceyella sacchari* strain B42 crude xylanase in biobleaching of kraft pulp. **African Journal of Biotechnology,** 12(6):570–579, 2013.

SKALS, P. B.; KRABEK, A.; NIELSEN, P.H.; WENZEL, H.Environmental assessment of enzyme assisted processing in pulp and paper industry. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 13, n. 2, p. 124-132, 2008.

SOCCOL, C. R. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, 2017.

TERRASAN, C. R. F.; TEMER, B.; SARTO, C.; SILVA JUNIOR, F. G.; CARMONA; E. C. Xylanase and β-xylosidase from *Penicillium janczewskii*: Production, physico-chemical properties, and application of the crude extract to pulp biobleaching. **Bioresources**, v. 8, n. 1, p. 1292-1305, 2013.

TUTUS, A.; ATES, S.; DENIZ, I. Pulp and paper production from Spruce wood with kraft and modified kraft methods. **African Journal of Biotechnology**, Quênia, v. 9, n. 11, p. 1648-1654, 2010.

VENTORIM, G.; José C. Caraschi, J. C.; Colodette, J. L.; Gomide, J. L.; A influência dos ácidos hexenurônicos no rendimento e na branqueabilidade da polpa kraft. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 373-377, 2009.

DIOGO, S. C. B. S. A. **Modelação e previsão da performance e das propriedades do papel** (Tese de Doutorado). ISEC Lisboa - Instituto Superior de Educação e Ciências, 2012.

VIIKARI, L.; RANUA, M.; KANTELINEN, A.; SUNDQUIST, J.; LINKO, M. **Bleaching with enzymes.** In: 3rd International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry in Stockholm,1986.

VIIKARI, L.; KANTELINEN, A.; SUNDQUIST, J.; LINKO, M. Xylanases in bleaching: from an idea to the industry. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 13, n. 2-3, p. 335-350, 1994.

WALIA, A.; MEHTA, P.; GULERIA, S; SHIRKOT, C. K. Modification in the properties of paper by using cellulase-free xylanase produced from alkalophilic *Cellulosimicrobium cellulans* CKMX1 in biobleaching of wheat straw pulp. **Canadian Journal of Microbiology**, 2015.

WONGWISANSRI, S. High-level production of thermotolerant β-xylosidase of *Aspergillus* sp. BCC125 in Pichiapastoris: Characterization and its application in ethanol production. **Bioresource technology**, v. 132, p. 410-413, 2013.

ZHANG, F.; HU, S. N.; CHEN, J. J.; LIN, L. B; WEI, Y. L.; TANG, S. K., XU, L. H.; LI, W. J. Purification and partial characterisation of a thermo-stable xylanase from salt-tolerant *Thermobifida halotolerans* YIM90462T. **Process Biochemistry**, 47:225–228, 2012.