ENZIMAS ESPECÍFICAS IMPLICADAS EN LA BIODEGRADACIÓN DE LA CELULOSA

Las enzimas que se consideran de mayor importancia y especificidad para la descomposición enzimática de la celulosa son las siguientes:

1. **La 1-4-beta-d-glucanglucanohidrolasa** (son las mismas endogluconasas), estas enzimas actúan sobre el sustrato insoluble y rompen las cadenas de celulosa para producir diversos oligómeros: celobiosa, celotriosa, celotetrosa y hasta glucosa.

2. **La 1-4-beta-d-glucancelobiohidrolasa** (exoglucanasa) ataca los enlaces beta 1-4 de los finales (extremos) no reductores, dando celobiosa como producto principal.

3. **La beta glucosidasa** que no es estrictamente una celulosa, no puede actuar sobre la celulosa nativa, sino que actúa principalmente sobre sustratos solubles especialmente celobiosa, para dar glucosa. La Fig. 10.11 ilustra un esquema relacionado con eventos importantes en la biodegradación enzimática de la celulosa, con la participación conjunta de diversas enzimas tipo celulasas, necesarias para la conversión total del polímero a glucosa (Balbás, 2002) ; (González y et al, 1990).

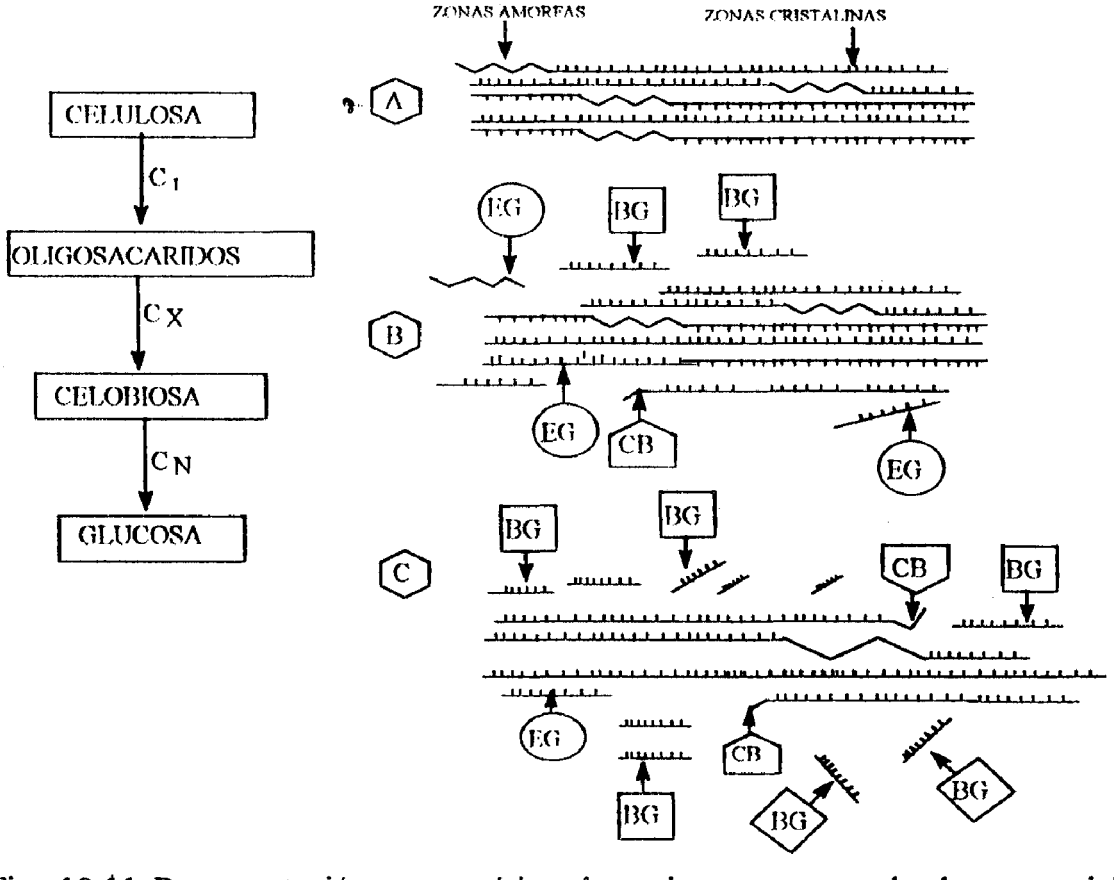

Fig. 10.11 Representación esquemática de varias etapas en la descomposición de la celulosa a glucosa. Los símbolos EG, BG, CB, representan a las enzimas tipo endoglucanasas, beta-glucosidasas y celobiosa hidrolasas respectivamente (González y et al, 1990)

NATURALEZA DE LAS CELULASAS

Las celulasas son usualmente glicoproteínas o glucoproteínas que consisten en un cuerpo proteico asociado con un componente de bajo peso molecular que puede ser una molécula de carbohidrato, esta asociación ocurre mediante un proceso llamado glicoxilación, realizado en el retículo endoplasmático rugosos y en el aparato reticular de Golgi de las células. La función del carbohidrato enlazado a la enzima es importante, porque al parecer permite la unión de la enzima con el sustrato proporcionando al mismo tiempo especificidad. El azúcar tiene capacidad antioxidante que estabiliza el biocatalizador.

Glicoxilación es un proceso por el cual un carbohidrato se une a otra molécula, p. ej. una proteína, para dar una glicoproteína , este proceso ocurre en el retículo endoplasmático rugoso y el aparato de Golgi de las células (Angenault, 1999).

Glicoproteínas son estudiadas por la glicobiología la ciencia que estudia los carbohidratos y sus complejos (Diccionarios Oxford-Complutense, 2001).

Las glicoproteínas son sustancias formadas por un carbohidrato unido mediante enlaces covalentes a una proteína, muchos receptores de hormonas de las superficies de las células son glicoproteínas, estos complejos forman parte de los sistemas de ataque de diferentes organismos y entes biológicos como los virus, donde pueden actuar como marcadores para los receptores de células sujetas a diferentes ataques biológicos; las glicoproteínas pueden actuar como moléculas blanco, ayudando a los virus, y a otros agentes depredadores, a localizar los receptores que presentan cierto tipo de células susceptibles al ataque de los agente patógenos (Highley, 1992).

ENZIMAS OXIDATIVAS IMPLICADAS EN LA DEGRADACIÓN DE LA CELULOSA

Además de las enzimas hidrolíticas antes mencionadas, hay otras categorías de enzimas que participan en la degradación del β-glucano celulosa, entre ellas se pueden citar: la celobiasa, la glucosa oxidasa y una enzima tipo redox, como la celobiosa deshidrogenasa, conocida también como celobiasa quinona oxidoreductasa.

Deshidrogenasa: Una de las funciones adicionales de la celobiasa deshidrogenasa es evitar la repolimerización de la lignina degradada (Comm y Stump, 1984).

En hongos como los de la pudrición blanca como el *P. chrysosporium*, las enzimas oxidasas y deshidrogenasas sirven para evitar la acumulación de los productos finales de la hidrólisis que en altas concentraciones inhibirían la síntesis enzimática posterior (Highley, 1977).

Las enzimas celobiasas-oxidasas producidas por el organismo *P. chrysosporium* son proteínas con grupo hemo; la molécula hemo contiene hierro que se une a la proteína, actuando como cofactor o grupo prostético para formar las hemoproteínas. La molécula de hemo consta de una porfirina con cuatro átomos de nitrógeno unidos a un átomo de hierro (II), formando un compuesto tipo quelato, que implica la participación de enlaces

covalentes de coordinación, o sea donde los dos electrones son aportados por un solo átomo(el nitrógeno en este caso). El hierro puede unirse al oxígeno de forma reversible o conducir electrones (Fig. 10.12) (Eaton y Hale, 1993)

Porfirinas: Compuestos que pertenecen a un grupo de pigmentos orgánicos caracterizados por poseer un grupo cíclico formado por cuatro anillos de nitrógeno unidos a núcleos tetrapirrólicos. Los átomos de nitrógeno suelen estar coordinados a iones metálicos. Son porfirinas: la hemoglobina que contiene hierro, la clorofila que contiene magnesio. (Dergel, 1998)

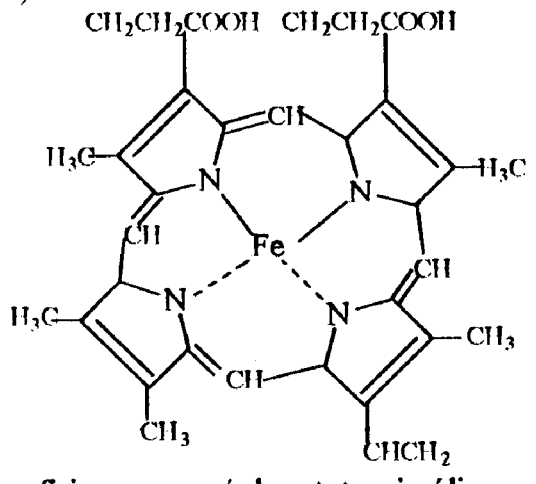

Fig. 10.12 Representación del grupo hemo, una porfirina, con núcleo tetrapirrólico y cuatro átomos de nitrógeno que actúan en la quelación del átomo clave central: el metal de transición hierro (Fe) (Sax y Lewis, 1993).

La actividad de las glucosasoxidadas está asociada con la degradación de la lignina, ya que origina peróxido que es incorporado a la ligninperoxidasa que puede atacar a la lignina. También se han reportando enzimas producidas por hongos como *Chrysosporium versicolor* y *Chrysosporium pulvurentum*, que catalizan la oxidación de celobiosa con simultánea reducción de quinonas. Como la enzima utiliza un compuesto derivado de la celulosa, y un fenol oxidado proveniente de la lignina, se estima que enzimas de este tipo deben estar relacionadas tanto con la descomposición de la celulosa como de la lignina, la Fig. 10.13 muestra la acción de la celobiosa deshidrogenasa.

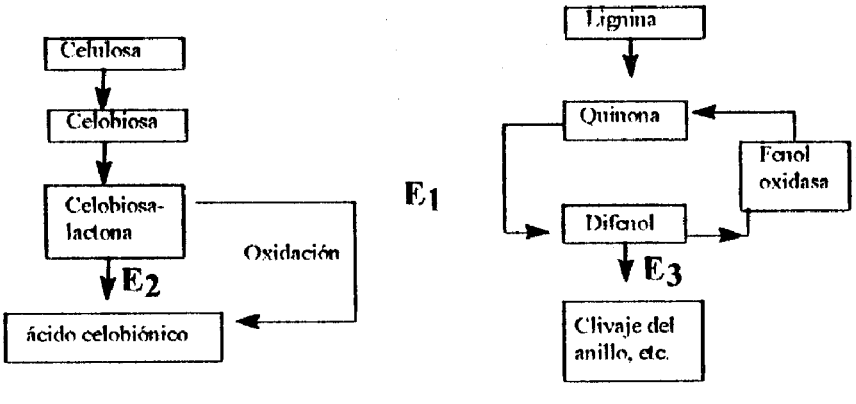

Fig. 10.13 Mecanismo de acción de la enzima oxidativa celobiosa deshidrogenasa, sobre la celulosa y la lignina E_1, E_2 y E_3 representan diferentes complejos enzimáticos (Reese, 1977).

Las celulasas de naturaleza oxidativa actúan sobre la celulosa cristalina, produciendo derivados ácidos de carbohidratos monosacáridos como ácido glucónico y celobiónico (dos ácidos urónicos), sin embargo, los azúcares neutros son los productos predominantes. La acción de las enzimas sobre los grupos reductores de la celulosa

puede resultar en la producción de grupos ácidos, permitiendo la formación de microcristalitos de celulosa (Jeffries, 1987).

MECANISMOS DE CONTROL ENZIMÁTICO

Los mecanismos de control enzimático son diferentes en función del tipo de biodegradación. En general, las enzimas son mantenidas en rangos apropiados mediante inducción, represión o por inhibición de sus actividades. La síntesis de muchas celulasas de hongos son inducidas por la presencia de celulosa o celobiosa; sin embargo, puede haber otros componentes del complejo carbohidrato y sus derivados metabólicos que también pueden influir en la síntesis enzimática.
En el caso de la biodegradación por microorganismos, una espora germinada no puede seguir creciendo si se terminan sus reservas alimenticias, por lo que debe existir una economía en la síntesis de las enzimas. En presencia de alimento soluble las enzimas deben ser sintetizadas para catalizar la hidrólisis de un substrato insoluble. ¿Cómo hacen los organismos para reconocer el tipo de sustrato a fin de producir las enzimas apropiadas. En el caso de los hongos lo más probable es que inicialmente, los mismos ensayen simultáneamente todos los tipos de enzimas solubilizantes, pero en cantidades muy pequeñas. Aquellas enzimas secretadas que no encuentran un sustrato adecuado envían al hongo un mensaje negativo y su síntesis posterior es inhibida. Las enzimas que se encuentran con el sustrato adecuado producirán substancias solubles que entran en la célula, notificándola sobre la efectividad de una enzima dada, esto estimula a la maquinaria celular del hongo a producir más enzimas del tipo indicado. Para las polisacaridasas, los compuestos que inducen la producción de enzimas son usualmente productos tipo dímeros y trímeros que pueden derivar de la acción enzimática.
En los hongos de la pudrición marrón, las celulasas son constitutivas y son producidas en presencia del producto final: glucosa. En otros tipos de degradación, la producción de enzimas es controlada tanto por productos finales como intermedios, lo cuales pueden actuar para inducir o reprimir la síntesis de enzimas. En algunos hongos, se ha demostrado que ciertos compuestos fenólicos producidos durante la biodegradación, pueden reprimir la síntesis tanto de celulasa como de xilanasa (Eaton y Hale, 1993).

OBTENCIÓN DE CELULASAS

Hay muchos organismos con capacidad para desarrollarse rápidamente a expensas del sustrato celulosa; sin embargo, sólo algunos de ellos pueden producir celulasas extracelulares capaces de convertir la celulosa en glucosa en el exterior de los organismos. Las celulasas más activas y estudiadas han sido las obtenidas del hongo *Trichoderma viride* que fue identificado en la década de los '40 del siglo XX a causa del ataque que experimentaron los uniformes de los soldados. En 1977 se aisló el hongo *Trichoderma logigranchiatum* que resultó aún más eficiente para producir celulasa, junto con la especie *Trichoderma reessei*.
A partir de estas cepas, se han desarrollado diversos mutantes con altas capacidades para producir celulasas en una proporción de hasta 20 veces mayor que las cepas originales

(Eaton y Hale, 1993). El *Trichoderma reessei* presenta como ventaja poseer una dotación enzimática completa para realizar la hidrólisis total de la celulosa a glucosa, permitiendo obtener una proporción significativa de enzimas tipo celulasas a partir del medio donde se realiza su desarrollo.

Una de las características específicas de este hongo es su baja eficiencia en la producción de β-glucosidasa asociada con una baja actividad específica (unidades de actividad/mg de proteína). La producción de celulasas por el *Trichoderma* se realiza en cultivo sumergido en presencia de celulosa como fuente de materia orgánica. Las celulasas de *Trichoderma* son enzimas inducidas ya que no se producen cuando se utiliza como sustrato celobiosa o glucosa, esto implica la necesidad de emplear celulosa sólida en concentraciones de 5 - 6 en peso La enzima es un metabolito secundario, de modo que cuando se ha consumido de 80% a 100% del sustrato, tan sólo se ha alcanzado un 20% de transformación de celulosa a glucosa.

Para la producción de celulasas, también se pueden usar como sustratos celulosa de sistemas lignocelulósicos, madera pretratada, bagazo y residuos de trigo. De este modo, el costo de la fuente de carbono orgánico disminuye notablemente. Los resultados obtenidos en éste ultimo caso son comparables o incluso superiores a los obtenidos con sustratos sintéticos. El nivel de síntesis enzimática es influenciada por el tipo de sustrato sobre el cual crece el hongo; en este sentido, se ha observado que cuando el organismo crece en residuos de tallos de trigo, éste no solo presenta una mayor actividad sino que incrementa la producción β-glucosidasa. La Fig.10.14 muestra un esquema de obtención de glucosa y productos obtenidos por fermentación, mediante degradación enzimática de la celulosa realizada por el *trichoderma viride* (González y et al, 1990)

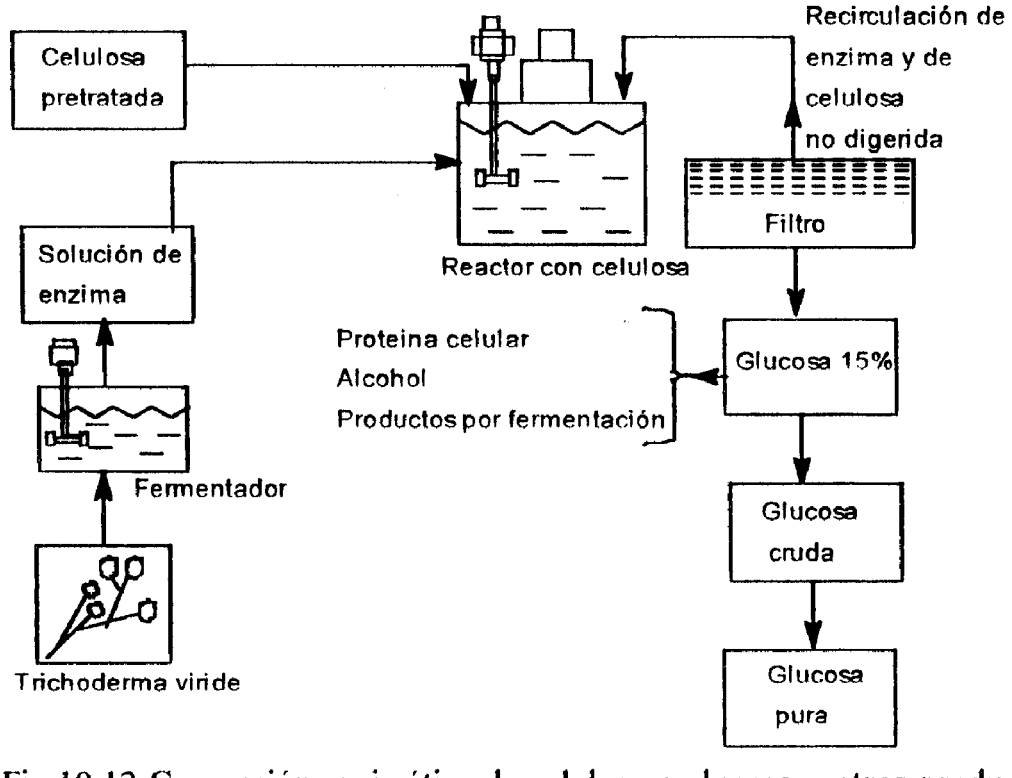

Fig.10.12 Conversión enzimática de celulosa a glucosa y otros productos obtenidos por fermentación (González y et al, 1990).

BIODEGRADACIÓN DE HEMICELULOSAS

Las hemicelulosas de mayor interés en la pared celular son carbohidratos tipo heteropolímero presentes en la matriz de la capa S2 de la pared celular. Estas hemicelulosas envuelven la lignina y están asociadas con las zonas amorfas y cristalinas de la celulosa (con la pared más externa de los cristalitos); es por esto que se debe entender que para que las celulasas puedan actuar sobre sus sustratos antes se debe atacar a los componentes de la matriz.

En el caso de la madera, las hemicelulosas predominantes incluyen 1,3 y 1,4 B-Dglucogalactano, 1,4,B-D-xilano. Estos carbohidratos son heteropolímeros ramificados de cadena corta unidos a una cadena principal, parte sustancial de estos biopolímeros (Dekker, 1985). La Fig. 10.15 muestra la fórmula estructural simplificada de un xilano.

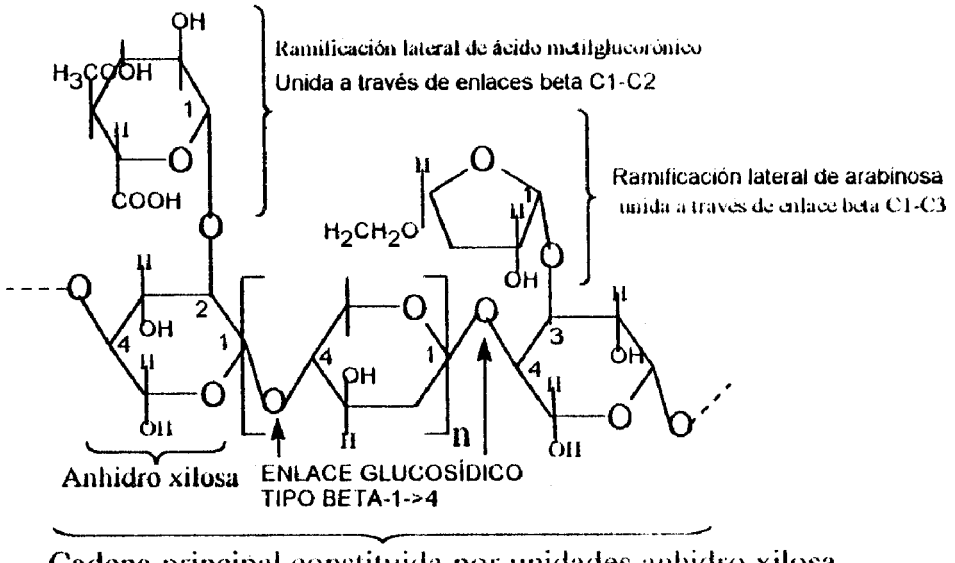

Fig.10.15 Fórmula estructural simplificada de un xilano de coníferas (Kooch, 1972).

Las hemicelulasas son enzimas de naturaleza hidrolítica, siendo similares a las celulasas; existiendo tanto exo como endo enzimas.

Las xilanasas han sido clasificadas como β-xilosidasas y endo β-xilanasas. Las de tipo endo se puede considerar como las más comunes y pueden ser divididas en:

1. Aquellas que causan el clivaje de las ramificaciones laterales constituidas por arabinosa para producir xilo-oligosacáridos. Estas endo enzimas rompen los enlaces actuando a lo largo del polímero tipo xilano, dando residuos xilobiosil y acilotriosil unidos a unidades de L-arabino furanosa.
2. Las exo enzimas exhiben una acción similar, pero han sido menos reportadas. Es interesante hacer notar que algunas xilanasas han mostrado actividad sobre la celulosa (Dekker, 1985).

DEGRADACIÓN DE LA LIGNINA

INTRODUCCIÓN

La lignina es un constituyente importante de las plantas vasculares, enlazada químicamente con componentes tipo carbohidratos con los cuales forma una matriz que rodea a las microfibrillas de celulosa, actuando como un protector de este carbohidrato. En la madera, este heteropolímero suele representar del 17 al 33% del peso seco de la pared celular, alcanzando su mayor concentración en la lámina media. El aprovechamiento químico de los sistema lignocelulósicos requiere, en variadas ocasiones, la eliminación o modificación de la lignina, sin embargo, este polímero presenta una gran resistencia a la conversión química, de modo que el proceso de extracción implica el uso de potentes reactivos químicos, que además de ser poco selectivos hacia la lignina, frecuentemente, son una fuente de contaminación ambiental (Casey, 1990). La deslignificación enzimática tiene muchas ventajas que incluyen una mayor selectividad, un aumento del rendimiento y calidad de los productos y una disminución del impacto ambiental ; sin embargo, a pesar de esto, la lignina es considerada como uno de los compuestos naturales más resistentes, con respecto a su susceptibilidad hacia la biodegradación, debido a una serie de consideraciones que se tratarán brevemente durante el desarrollo de este tema.

Las investigaciones sobre la biodegradación de la lignina recibieron un impulso extraordinario en el año 1983, con el descubrimiento de enzimas que degradan la lignina como las llamadas ligninasas o ligninas peroxidasas (L-peroxidasas).
Las L-peroxidasas con poder oxidativo más potente fueron descubiertas en el hongo basidiomiceto *Phanerochaete chrysosporium* que se convirtió en el hongo con acción lignolítica más estudiado.

La biodegradación de la lignina presenta diversas rutas incluyendo el clivaje de las uniones inter-monoméricas y del núcleo aromático del polímero(Kirk y Shimada, 1985).

La degradación biológica de la lignina se caracteriza por complejos requerimientos enzimáticos implícitos en el fenómeno bioquímico, debido a factores como : a) el polímero presenta una gran variedad de enlaces entre la unidades monoméricas; b) la lignina tiene múltiples grupos funcionales y ; c) este polímero fenólico se caracteriza por la ausencia de unidades repetitivas simples, lo que en conjunto confiere una alta heterogeneidad, que se traduce en una gran resistencia hacia la degradación química y enzimática (Villar, 2003).

Biodegradación y biosíntesis : La biodegradación de la lignina, es en cierto modo similar al proceso biosíntesis ya que ambos procesos implican la participación de radicales libres (Karr, 1976)

Otros aspectos que contribuyen a hacer aún más complejos e interesantes los procesos de biodegradación de la lignina son las diferencias apreciables que existen en la degradación microbiana de los diferentes tipos de lignina que caracterizan los diversos tipos de materia prima (gimnospermas, dicotiledóneas y monocotiledóneas), la variabilidad de la lignina registrada en las células de una misma planta, según su especialización, e incluso

la heterogeneidad del polímero entre los estratos de la pared celular de una misma célula (Eaton y Hale, 1993).

DEGRADACIÓN POR PUDRICIÓN BLANCA

Los fenómenos que implican la degradación por pudrición blanca son los que han recibido más atención, debido a su relación con procesos industriales de pulpificación para obtener pulpa para papel y derivados (Hortal, 1983).

Aquí se debe decir, que aunque los seres utilizados en este tipo de degradación atacan con cierta selectividad a la lignina, los organismos que realizan la pudrición blanca normalmente cuentan con un sistema enzimático con capacidad para descomponer todos los componentes estructurales de la pared celular (celulosa, hemicelulosas y lignina), dejando luego de cierto período de ataque enzimático, un residuo de color blanquecino enriquecido en carbohidratos.

La actividad de estos organismos se puede caracterizar por una alta producción de fenol oxidasa, que faltan en otros tipos de pudrición como en la pudrición marrón, aunque esta enzima también es producida por hongos que participan en la pudrición blanda (Jeffries, 1987).

Las enzimas tipo fenol-oxidasa producidas por los hongos responsables de la pudrición blanca, tienen enzimas en cuya composición interviene el elemento de transición cobre; estas enzimas también reciben el nombre de lacasas, siendo producidas por el hongo *Phanerochaete chrysosporium*. Las lacasas por sí mismas no pueden causar la despolimerización completa de la lignina; éstas enzimas se caracterizan por atacar con cierta preferencia la lignina y las hemicelulosas en fases tempranas de su actividad; la producción de lacasa por parte de este hongo y su acción sobre la lignina, explica el porqué este organismo ha sido seleccionado para realizar acciones degradativas tendientes a la obtención de biopulpas (Eaton y Hale, 1993).

ACTUACIÓN DE ENZIMAS LIGNOLÍTICAS

Al igual que en el caso de las celulasas, se considera que las ligninasas son demasiado grandes para moverse libremente por los capilares de la estructura celular, debido al gran tamaño relativo de las enzimas lignolíticas y a las restricciones espaciales asociadas con los microporos de la pared celular. Como ya se ha mencionado, algunas enzimas pueden adoptar arquitecturas moleculares particulares para alcanzar el sustrato. En la biodegradación de la lignina también se han propuesto la actuación de sistemas no enzimáticos, de dimensiones moleculares reducidas, que incluyen agentes como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y cationes metálicos (Fe^{2+}), esto ha sido evidenciado por diversos investigadores que han detectado este tipo de componentes no enzimáticos, mediante técnicas del ultrafiltración de membranas. También se ha detectado la participación de

otras especies no enzimática que complementan la acción de los biocatalizadores, como es el caso del ácido oxálico, que podría actuar junto con metales de transición, produciendo radicales libres enérgicos, como el radical hidroxil (HO·). Además, existen agentes quelantes con un PM de 500 a 1000 Dalton que forman compuestos que facilitan reacciones cíclicas del tipo redox (Kirk y Farrel, 1987).

DEGRADACIÓN DE CELULOSA Y HEMICELULOSAS POR EL HONGO LIGNOLÍTICO *Phanerochaete chrysosporium*

Como se mencionó, el *Phanerochaete chrysosporium*, además de biodegradar componentes como la lignina también ataca, aunque con una menor intensidad, los carbohidratos como la celulosa y las hemicelulosas. En este caso la degradación enzimática de los polisacáridos estructurales se realiza a través de enzimas de naturaleza hidrolítica como :

a) Diferentes endoglucanasas atacan al azar los enlaces β-1→4 a través de la cadena de celulosa, exponiendo o generando grupos terminales adicionales para ser degradados por exoglucanasas. La 1,4 β- glucosidasa es una glicoproteína que puede asociarse con varios sustratos y que tiene un tamaño molecular de 3 a 35 Kdalton (Eriksson, 1978).

Dalton: Es una unidad de masa atómica, u.m.a., usada para expresar masas atómicas relativas. Es 1/12 la masa de un átomo de carbono 12 igual a 1.66033×10^{-27} Kg. Esta unidad reemplazó tanto a la unidades de masa física como química, basadas en el oxígeno 16. El Dalton, en algunas ocasiones es conocido como unidad de masa unificada. El Kdalton equivale a 1000 Dalton o 1000 u.m.a (Philips y et al, 1999).

b) La exo 1,4-betaglucosidadsa, la cual libera unidades de celobiosa o de glucosa a partir del extremo terminal no reductor de la celulosas ; esta enzima no contiene carbohidrato teniendo un tamaño molecular de 50 Kdalton.
c) Enzimas del tipo 1,4 betaglucosidasa hidrolasas : las celobiosas y dextrinasas que son solubles en agua, y que también pueden hidrolizar ácido celobiónico y gluconalactana a glucosa. Las enzimas responsables de estas transformaciones se caracterizan por ser relativamente grandes (182 Kdalton).

La sinergía entre la endoglucanasas y exoglucanasa ha sido reportada en varios hongos. Es importante resaltar que, en el caso de la biodegradación de los polisacáridos, además de las enzimas hidrolíticas también se han reportado diversas enzimas oxidativas que pueden actuar asociadas con factores no enzimáticos (Eriksson, 1978).

CONTROL DE LA SÍNTESIS DE CELULASAS DURANTE LA PUDRICIÓN BLANCA POR ACCION DE ENZIMAS LIGNOLÍTICAS

El control de la síntesis de celulasas durante la acción del organismo Phanerochaete chrysosporium parece producirse a través de un sistema de represión por productos finales.

Cantidades tan pequeñas como 50 ppm (0.28 mM/L) de productos monoméricos reprimen la formación de enzimas, mientras que el disacárido de la beta glucosa : la celobiosa, induce la síntesis de la enzima a concentraciones tan bajas comprendidas entre 1 mM/L a 3 mM/L.

mM/L : mili moles por litro. Un mili mol, es una unidad de masa que equivale a la milésima parte de una mol (Eriksson, 1978) .

La síntesis de enzimas degradativas no sólo está controlada por la presencia de los productos finales, que pueden reprimir la síntesis enzimática, sino también por la presencia de inhibidores enzimáticos .

La presencia de la glicoproteína, producida por las oxidaciones relacionadas con la glucosa oxidasas o por el clivaje del ácido celobiónico, causa una fuerte represión en la síntesis de la enzima tipo beta-glucosidasa. Esto da como resultado una acumulación de la celobiosa, compuesto que si está presente en exceso, conduce a reacciones en reversa como la repolimerización dando como resultando celodextrinas que pueden ser insolubles en un medio acuoso, pudiendo de esta manera, precipitarse. (Eriksson, 1978). La Fig. 10.16 representa la generación de celodextrinas a partir de la hidrólisis incompleta de la celulosa.

La celodextrina es un producto intermedio de la hidrólisis de la celulosa. Puede contener oligosacáridos con más de cuatro moléculas de glucosa (Dergel, 1998)

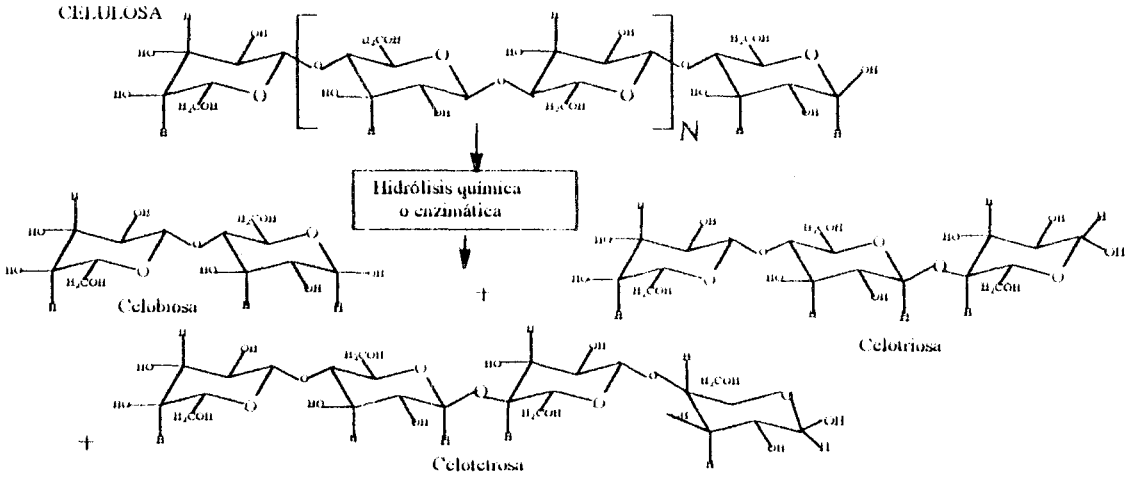

Fig. 10.16 Obtención de oligosacáridos tipo celodextrinas por hidrólisis parcial de la celulosa (Dergel, 1998)

La acción enzimática de Phanerochaete chrysosporium es resumida en la Fig. 10.17.

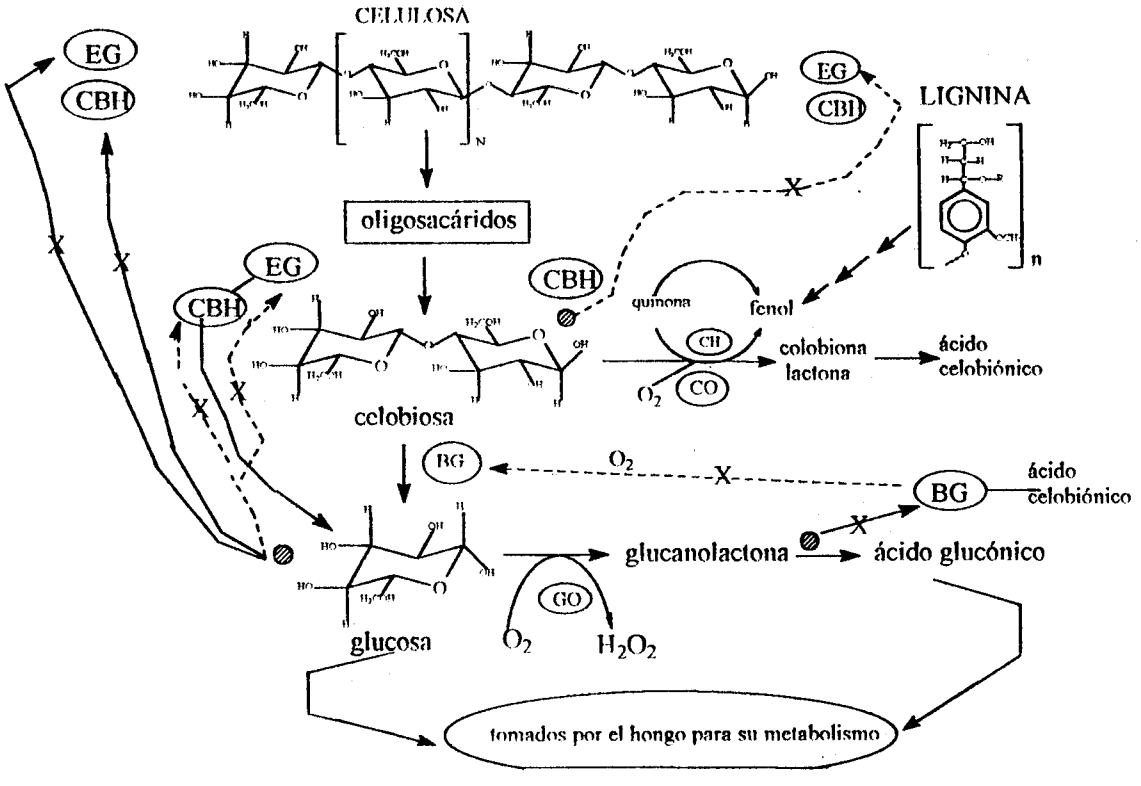

Fig. 10.17 Degradación de la celulosa y regulación de enzimas degradativas en *Phanerochaete chrysosporium*. Nomenclatura : EG = endo glucanasas, CBH= celobiosa hidrolasas, BH = β-glucosa oxiidasas, GO = glucosa oxidasas, CO =Celobiosaoxidasas, CH = Celobiosa deshidrogenasa. X = Regulación de la actividad enzimática por los productos (los puntos indican productos que sirven de precursores a la síntesis de enzimas (Erikson, 1978).

BIODEGRADACIÓN DE HEMICELULOSAS POR *Phanerochaete chrysosporium*

Aunque la biodegradación de las hemicelulosas fue tratada con anterioridad, se cree necesario volver sobre el tema, ya que en este caso el evento se estudiará como un efecto secundario a la degradación de la lignina producida por el hongo *Phanerochaete chrysosporium*. Este fenómeno ocurre de un forma similar a la de la celulosa, aunque ha sido menos estudiado. Este evento biodegradativo de las hemicelulosas por el organismo *Phanerochaete chrysosporium* parece menos complejo que el que se realiza con la celulosa, lo que se puede explicar por el carácter amorfo de estos heteropolímeros que facilita una mayor accesibilidad por parte de las enzimas (Eaton, 1993).

DEGRADACIÓN DE LA LIGNINA POR EL *Phanerochaete chrysosporium*

Como se esbozó anteriormente, a diferencia de los polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos que presentan enlaces covalentes relativamente sencillos entre sus unidades repetitivas, la lignina no posee enlaces que sean fácilmente rotos por acción de enzimas oxidativas o hidrolíticas; además, las investigaciones sobre biodegradación, se dificultan por el hecho de que la estructura de la lignina nativa aún no es conocida con todo detalle (Loewus y Runeckles, 1977)

El sistema para degradar la lignina por acción de los hongos de la pudrición blanca ha sido intensamente estudiado en los hongos *Phanerochaete chrysosporium* y *T. versicolor,* demostrando que la degradación enzimática de la lignina presenta una alta complejidad, debido a la naturaleza de los componentes a degradar, su organización a nivel de la ultraestructura y a factores de naturaleza topoquímica.

En condiciones de laboratorio. la degradación de la lignina es favorecida cuando el pH presenta valores cercanos a 4.5, en un medio sin agitación, presencia de glucosa y una presión de oxigeno alta, mientras que las concentraciones de nutrientes como azufre y especialmente nitrógeno deben ser bajas, ya que estos elementos inhiben la síntesis enzimática de estos organismos, sin embargo, las relaciones definitivas relativas al agotamiento del nitrógeno y el incremento de la actividad lignolítica no han sido establecidas de forma definitiva. En algunos hongos como el *L. Thobromae* existen indicios de un eficiente aprovechamiento por el organismo de pequeñas cantidades de nitrógeno presentes en la madera del pino caribe (0.034% en relación al peso seco), (Encinas, 1996)

Estudios bioquímicos, han puesto en evidencia que los procesos degradativos de la lignina son inducidos cuando el crecimiento del hongo comienza a ser más lento, es decir, entra en la fase estacionaria de crecimiento. En síntesis, las condiciones bajo las cuales se favorece la actividad enzimática de las enzimas tipo ligninasas son :

1. pH entre 4 y 4.5 y temperatura adecuada .

2. Altos contenidos de humedad (entre 30 y 60% en base al peso húmedo de la materia prima lignocelulósica).

3. Presencia de ciertos elementos minerales y vitaminas.

4. Bajo porcentaje de nitrógeno.

5. Altas concentración de oxigeno, ya que se trata de procesos aeróbicos (Loewus y Runeckles, 1977).

La toma y utilización de los carbohidratos por parte de hongos es activa y necesaria, con el fin de mantener su metabolismo primario dentro de la hifa. Cuando el hongo entra en la fase metabólica secundaria, el sistema enzimático para degradar la lignina es liberado junto con ciertos compuestos de bajo peso molecular (metabolitos), como el alcohol veratrílico sintetizado por el hongo a partir de compuestos aromáticos como la fenilalanina.

Metabolito es un factor activo de crecimiento en síntesis orgánicas : incluye vitaminas, enzimas, proteínas y otros sistemas de compuestos. Las sustancias que pueden inhibir la actividad de los metabolitos, por poseer una configuración molecular parecida, son llamados antimetabolitos (Ruiz y et al, 2000).

Un aspecto importante a resaltar en relación a la producción de enzimas lignolíticas, es que aunque la lignina por sí misma no actúa como inductor de la síntesis de estos catalizadores, ha sido observado sin embargo, que la síntesis de compuestos aromáticos de bajo peso molecular, como alcohol veratrílico y aldehído veratrílico, pueden estimular la producción de enzimas lignolíticas, también puede ser estimulado el sistema lignolítico cuando existe presión de oxigeno, lo cual resulta indispensable para que el organismo pueda entrar y realizar la fase metabólica secundaria. Los metabolitos como los de la Fig. 10.18, son sustancias que se producen como consecuencia de la biodegradación de la lignina, la importancia de los mismo, radica en su participación para que ocurra la síntesis de ligninasas (Eaton y Hale, 1993).

Metabolismo secundario : Por metabolismo intermediario o secundario se entiende a la totalidad de las reacciones metabólicas desde la recepción de materias alimenticias hasta la eliminación de los productos finales. Sirve a la constitución, transformación y desaparición de los componentes celulares y a la obtención de energía (Diccionarios Oxford-Complutense, 2001).

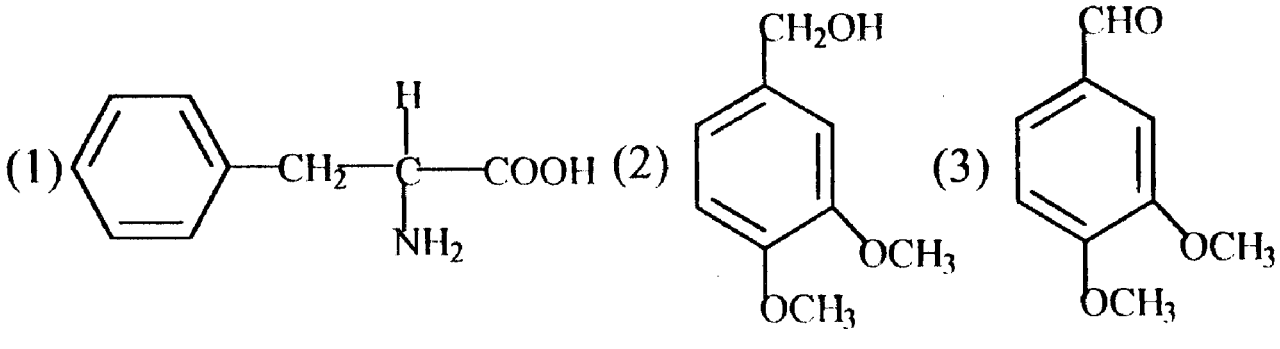

Fig. 10.18 Representación de compuestos tipo metabolito, relacionados con actividad enzimática. (1) Fenilalanina (un aminoácido aromático); (2) alcohol veratrílico y (3) aldehído veratrílico, metabolitos participantes en los procesos de biodegradación de la lignina (Rogalski y et al, 1992).

CARACTERÍSTICAS DISTINTIVAS ASOCIADAS A LA BIODEGRADACIÓN DE LA LIGNINA

La biodegradación de la lignina se produce por un mecanismo diferente, al de los carbohidratos, la actividad lignolítica no es inducida por la presencia del sustrato, es decir, la lignina. Por otra parte, la lignina degradada es todavía polimérica en etapas tempranas de la descomposición. La biodegradación de la lignina requiere de la presencia de carbohidratos que son indispensables para que ocurra la modificación enzimática del polímero fenólico. De este modo, la degradación de la lignina se caracteriza por presentar un catabolismo negativo, por lo que para sustentar su degradación es necesario la presencia y asimilación de sustancias ricas en energía como los carbohidratos, de esta forma se permite al hongo superar el déficit energético implícito en este tipo de biodegradación, ya que la lignina por sí sola no puede servir como fuente para su catabolismo (Kirk y Farrel, 1987).

Catabolismo es el conjunto de fenómenos metabólicos que tienen lugar en los seres vivos con el fin de transformar grandes moléculas en otras más pequeñas, con la liberación de energía, la respiración es un ejemplo de catabolismo (Barceló, 1976).

QUÍMICA DE LA BIODEGRADACIÓN DE LA LIGNINA

La lignina biodegradada por hongos como los que causan la biodegradación blanca, se caracterizan por contener proporciones menores de carbono, hidrógeno y grupos metoxilos, aunque puede resultar más oxigenada por la presencia de grupos funcionales carbonilos y carboxilos, los carbonilos se pueden localizar tanto en la cadena alifática, a nivel de los carbonos α y β, como en el anillo aromático de la lignina.

La mayoría de las modificaciones enzimáticas de la lignina implican reacciones de naturaleza oxidativa, tanto en el núcleo aromático como en el componente lateral propílico (Fig.10.16). El sistema biodegradativo lignolítico muestra una gran especificidad en relación con el tipo de lignina, de este modo, las ligninas de angiospermas usualmente son biodegradadas con mayor facilidad que las de gimnospermas (Illman y Higley, 1989).

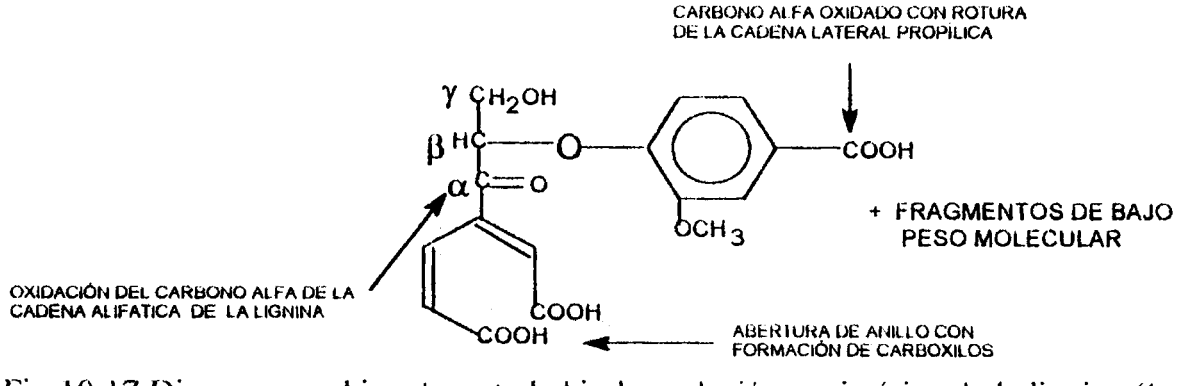

Fig.10.17 Diversos cambios durante la biodegradación enzimática de la lignina (Loewus y Runeckles, 1977).

Durante la biodegradación de la lignina se produce una gran variedad de sustancias de bajo peso molecular a partir de la misma, como el ácido vainillínico, que representa el 20% de la fracción acídica junto con otros compuestos como 2,6-dimetoxi-p-benzoquinona, el ácido isovainillinico, el ácido isohemipínico entre otros.

Entre las reacciones claves en la degradación de la lignina están las relacionadas con el clivaje de enlaces entre los carbonos de la cadena lateral (Cα-Cβ, Cβ-Cδ), así como las implicadas en el clivaje oxidativo del anillo aromático. El clivaje del anillo aromático se facilita por la presencia de grupos hidroxilos adyacentes, uno con respecto al otro, unidos al anillo aromático, que facilitan la activación del componente bencénico.

ENZIMAS ESPECÍFICAS IMPLICADAS EN LA BIODEGRADACIÓN DE LA LIGNINA

Diversas enzimas han demostrado ser importantes en la descomposición de la lignina, como aquellas con capacidad para generar peróxido, las lignina-peroxidadas (Li-P), las lacasas, la lignina-manganeso peroxidasas (LiMn-P) y desmetilasas. La biodegradación enzimática además implica la acción de otras oxidasas como las deshidrogenasas peroxidasas, además del ácido vainillínico-peroxidasas y la trihidroxibenceno peroxidasas. También están implicadas en la biodegradación de la lignina, reacciones reductivas.

Se estima que las enzimas decisivas en la biodegradación de la lignina son las Li-P y las LiMn-P junto con las lacasas. Las Li-P son hemoproteínas capaces de oxidar los anillos aromáticos en unidades no fenólicas a través de un radical tipo catión (Shimada y et al 1992).

Las lacasas, enzimas ampliamente estudiadas, son del tipo oxidasas que catalizan la oxidación de un amplio grupo de compuestos fenólicos a p-benzoquinona en presencia de oxígeno; se caracterizan por ser compuestos que no presentan el grupo hemo. Las lacasas, comúnmente llamadas polifenoloxidasas, son capaces de oxidar un amplio grupo de compuestos fenólicos incluyendo el alcohol coniferílico, ácido vainillínico, ácido gálico y otros compuestos ácidos como el ácido ascórbico (Eaton y Hale, 1993).

Las lacasas son enzimas que oxidan fenoles y p-quinonas. Estas enzimas se encontraron primariamente en el árbol de la laca y de allí su nombre (Parker, 1991).

REACCIONES CLAVES EN LA BIODEGRADACIÓN DE LA LIGNINA

Las típicas reacciones fundamentales en la degradación de la lignina son de carácter oxidativo e incluyen eventos como :

a) Desmetilación de las unidades tipo guayacilo de la lignina a ortoquinonanas con la liberación de metanol.
b) Deshidrogenación del carbono alfa con la formación de un grupo aldehído.

c) Clivaje de la cadena lateral para formar metoxibenzoquinona y gliceraldehído en las unidades aromáticas ya desmetiladas. Se pueden formar uniones covalentes intermoleculares para formar enlaces tipo bifenilo, una característica distintiva que forma parte de los fenómenos oxidativos de la lignina (Lackner y et al, 1992).

Un evento importante en la degradación enzimática de la lignina es la extracción de electrones, de modo de formar agentes altamente reactivos como lo son los radicales libres tipo fenoxi que detoxifican los productos fenólicos liberados durante la pudrición blanca en ausencia de peróxido (H_2O_2).
La enzima llamada lignina-peroxidasa es una glicoproteína con un 13% de carbohidratos, contiene un grupo hemo y un tamaño molecular de 43 kdalton, actuando de forma óptima a un pH 2-3. Esta enzima fue descrita inicialmente como una oxigenasa. La Fig. 10.17 muestra algunas de las etapas biodegradativas de la lignina atribuidas a las reacciones de oxidación de las lacasas sobre los grupos fenólicos de la lignina (Shimada e Higuchi, 1991)

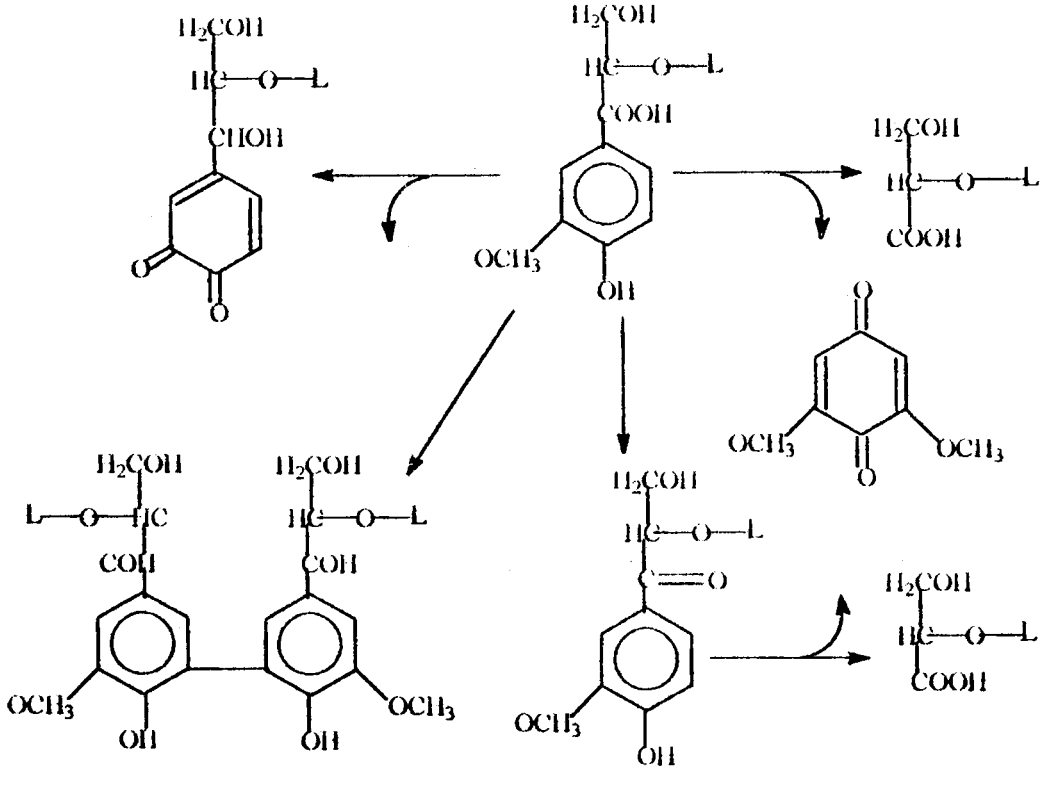

Fig. 10.17 Algunas de las etapas degradativas de la lignina atribuidas a las reacciones de oxidación de las lacasas sobre los grupos fenólicos de la lignina, nótese que algunas reacciones pueden conducir a un aumento de la masa molecular, con la formación de nuevos enlaces carbono-carbono. L = lignina (Shimada. e Higuchi, 1991).

Además de las reacciones mencionadas, Otros importantes eventos químico ocurren en la biodegradación de la lignina, que incluso pueden superponerse a las nombradas en : a, b

y c, para lograr el desmontaje del polímero fenólico, algunas de estas reacciones son son :

a) Clivaje de los enlaces β-O-4
b) Clivaje de los enlaces Cα-Cβ
c) Clivaje de los enlaces Cβ-Cδ
d) Clivaje oxidativo del anillo aromático
e) Clivaje oxidativo del enlaces C1-Cα
f) Descarboxilación oxidativa del ácido 5-aroxivinillínico (Lackner y et al, 1992)

Clivaje Cα-Cβ : Las reacciones el clivaje de los enlaces Cα-Cβ y el enlace tipo éter B-O-4 son consideradas de carácter específico (Shimada e Higuchi, 1991).

Es de observar que diversas reacciones biodegradativas no son específicas.
La acción de la ligninperoxidasa se caracteriza por su relativa simplicidad, pudiendo describirse como sigue :

Radicales catiónicos altamente reactivos e inestables son producidos a partir de la extracción de un electrón del anillo aromático. Los cationes arílicos inestables pueden actuar como mediadores en una gran cantidad de reacciones químicas que incluyen :

1) Ataque nucleofílico por parte del agua a un grupo hidroxilo interno.
2) Pérdida de protones acídico con clivaje de enlaces Cα- Cβ, Cβ-Cδ.
3) Adición de oxigeno molecular (dioxígeno) al carbono situado en el centro de los radicales.
4) Oxidación o reducción por electrón solitario.
5) Reacciones de acoplamiento de radicales formados.

Los radicales generados pueden iniciar otras reacciones con participación de enzimas en un ciclo catalítico redox en donde se incluye la generación de peróxido con varias etapas oxidativas de la porción hemo. El resto de la enzima es oxidada por la remoción de dos electrones por acción de H_2O_2 para formar compuestos tipo I (Fig. 10.8). Los compuestos tipo I oxidan entonces a la lignina por la vía de la participación de dos electrones solitarios vía compuestos tipo de II o por una etapa de un par de electrones libres(Lackner y et al, 1992).

Las enzimas dependientes de las peroxidasas como las manganeso-peroxidasas (Mn-p) también han sido aisladas a partir de los hongos que producen pudrición blanca. Estas biocatalizadores son glicoproteínas con un grupo hemo con un tamaño molecular de 46 Kdalton y requieren de la presencia de peróxido (H_2O_2) para su actividad.

Las enzimas tipo Mn-P son capaces de oxidar el manganeso Mn^{2+} a Mn^{3+}, modificando los fenoles a radicales tipo fenoxi. Estudios microscópicos con ligninasas marcadas han mostrado que éstas son expulsadas al medio extracelular durante la madurez del hongo, lo que concuerda con la observación de que la actividad de las ligninasas está asociada con la ocurrencia del metabolismo secundario. La Fig.11.18, muestra algunos aspectos del ciclo catalítico de la enzima lignina peroxidasa (Kirk, 1987).

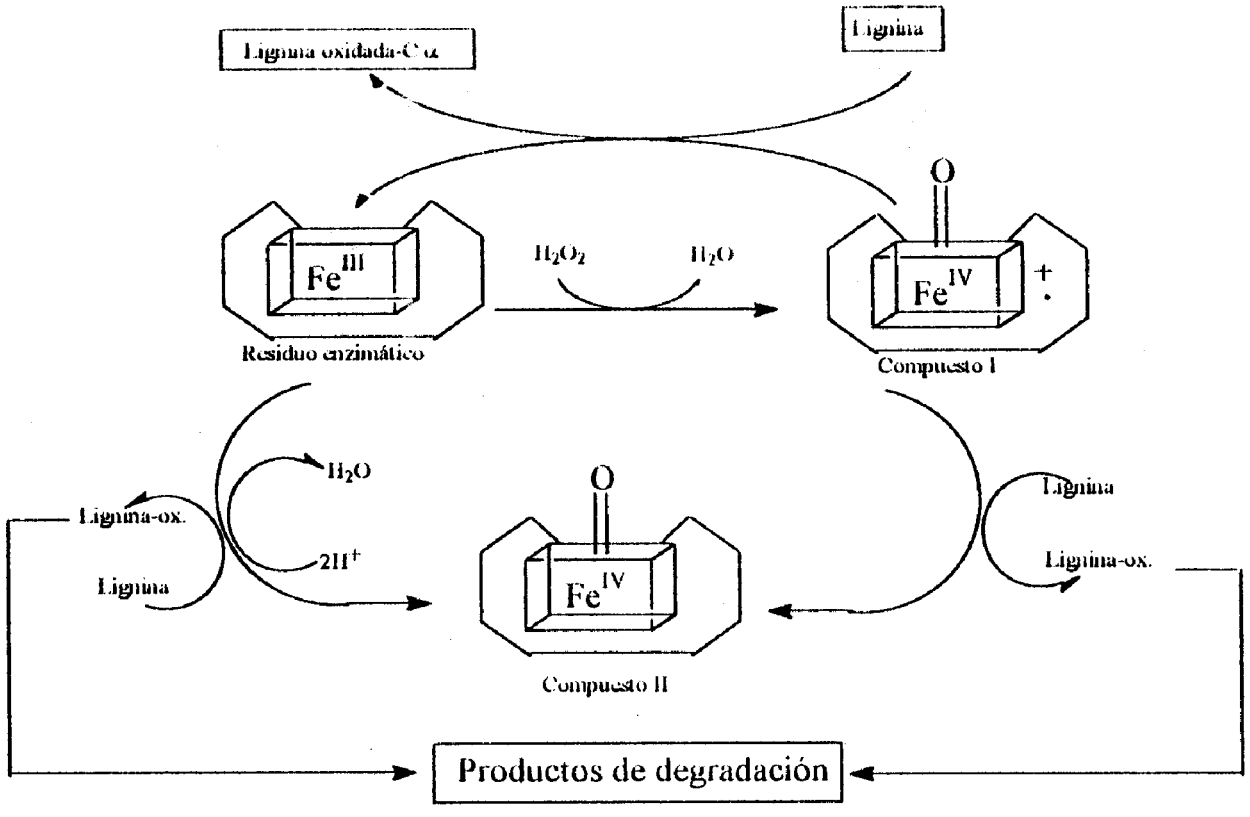

Fig.10.18. Ciclo catalítico redox de la enzima ligninaperoxidasa. El residuo enzimático es oxidado por el peróxido (H_2O_2) un compuesto tipo I. Por lo tanto, la enzima procede a oxidar la lignina en compuestos tipo I, usando como intermediarios, compuestos del tipo II, mediante etapas con la participación de dos electrones libres, simultáneamente o de una forma alternativa, con la participación de dos electrones libres (Kirk, 1987).

OTROS ORGANISMOS CAPACES DE DEGRADAR A LA LIGNINA

Bacterias como pseudomonas y actinomycetes también poseen el equipo enzimático para romper los enlaces covalentes entre las unidades de la lignina, degradando el polímero en último término a dióxido de carbono y agua, aunque con una intensidad menor que los hongos.

Los actinomycetos son bacterias filamentosas, grampositivas, anaeróbicas, no móviles. Son importantes tanto desde el punto de vista biotecnológico como epidemiológico. Las pseudomonas son un género particular de la familia *Pseudomonadaceae*, un grupo de organismos importantes empleados en el tratamiento de problemas de polución ambiental, la mayoría de las especies son aerobios con la capacidad para atacar a los polisacáridos. Algunas organismos de esta especies son patógenos para los animales y el hombre (Balbás, 2002).

RESISTENCIA A LA BIODEGRADACIÓN DE LA LIGNINA GUAYACIL/SIRINGIL

Es bien conocido el hecho de que los hongos de pudrición blanca degradan con mayor facilidad las materias primas provenientes de las angiospermas que la de las gimnospermas, este hecho ha sido atribuido a la composición química de la pared celular y al tipo de lignina presente. Diversos estudios han indicado que la tasa degradativa depende tanto de la cantidad de lignina como de la proporción específica de unidades monoméricas presentes en cada tipo de lignina. Las especies de plantas ricas en guayacilo pertenecientes a coníferas y ciertas angiospermas han demostrado una alta resistencia hacia la biodegradación en relación a las materias primas ricas en siringilo. Este comportamiento diferente entre unidades guayacílicas y siringílicas, relacionado con la susceptibilidad hacia la biodegradación, también explica porque el mayor ataque que reciben las fibras ricas en unidades tipo siringilo, en relación con los vasos xilemáticos, que presentan altas proporciones de unidades del tipo guayacilo con una mayor estabilidad molecular, debido a una mayor relación carbono/oxígeno (Faix, 1985).

Los estudios muestran evidencias de que los núcleos siringílicos, son centros ricos en electrones por la presencia de dos grupos metoxilos, de modo que tienen un menor potencial redox en relación con los núcleos de unidades guayacílicas. Lo anterior determina que sea más fácil que un electrón libre sea transferido a la ligninasa oxidada - compuestos tipo I y II mostrados en la Fig. 10.8 - y a otros oxidantes menos potentes. De este modo, el número de metoxilos afecta la tasa de oxidación. Existe también un tercer grupo de electrones donados por el carbono 4 del anillo aromático, que puede incrementar aún más la tasa de biodegradación (Faix y et al, 1985).

APLICACIONES ESPECIFÍCAS DE LA BIOTECNOLOGÍA AL SECTOR DE LA FABRICACIÓN DE LA PULPA Y PAPEL

La biotecnología aplicada al sector forestal para el mejoramiento genético, ha introducido importantes avances, provocando cambios fundamentales en la industria forestal, especialmente en las áreas relacionadas con el procesamiento de la madera y otros SLC para la obtención de pulpas para papel, elaboración de nuevos productos de interés comercial y el tratamiento de vertidos tóxicos.

Las aplicaciones de la biotecnología en el sector de la pulpa y papel se basan en la naturaleza de la materia prima lignocelulósica que, bajo ciertas condiciones, es un sustrato que puede sustentar de forma exitosa el desarrollo de muchos microorganismos capaces de realizar modificaciones químicas útiles a nivel de la pared celular. Los campos más prometedores en el sector de la producción de pulpa y papel abarcan : el tratamiento de la madera para facilitar su digestión, fabricación de pastas celulósicas, ennoblecimiento de fibras secundarias (papelote), destintado, obtención de energía y tratamiento de efluentes (González y et al, 1990).

CONTROL DEL PROBLEMA DE "PITCH" EN LA MATERIA PRIMA

En vez de proceder a madurar la materia prima como antes, para eliminar extractivos indeseables responsables del fenómeno de los grumos o "pitch", actualmente se están utilizando en el control de las masas pegajosas presentes en algunas pulpas, enzimas del hongo Cartapip 58 que produce lipasa y hemicelulosas, pero no enzimas que ataquen la celulosa. Se cree importante resaltar que la eliminación de los grumos está asociada con un incremento de la porosidad de la pared celular, con lo que se facilita la impregnación de productos químicos o acciones enzimáticas posteriores en el interior de la pared celular, disminuyendo, de esta manera, los tiempos de digestión química o enzimática, con ahorro de tiempo y energía (Paricio, 1994).

DESCORTEZADO ENZIMÁTICO O BIODESCORTEZADO

Con la aplicación de la biotecnología se puede favorecer el descortezado, logrando un ahorro de energía por el orden de 80%, lo que es especialmente útil para ciertas especies de angiospermas del género eucaliptos. Para el biodescortezado se han utilizado combinaciones de enzimas como xilanasa, pectinasa y poligalactouranasa. Se ha podido observar que este tratamiento enzimático ahorra energía y permite incrementar la capacidad de las instalaciones existentes en la fábrica (Paricio, 1994).

FABRICACION DE PASTA PARA PAPEL MEDIANTE BIOPULPEO ("BIOPULPING")

Los procesos para producir pulpa y papel suministran la mayor cantidad de sustrato para ser degradado por enzimas del tipo ligninasas.

La biotecnología aplicada a la industria de la pulpa y papel está relacionada particularmente con la acción de los microorganismos y sus enzimas sobre los componentes de materias fibrosas vegetales. Como es conocido, existe una serie de organismos entre los que destacan los hongos, que a través de sus enzimas, pueden causar diferentes cambios químicos en la pared celular en los SLC de una forma más selectiva que los agentes químicos empleados tradicionalmente. Los agentes bioquímicos como la ligninasa o lignina-peroxidasa, que degradan la lignina, dejando a la celulosa con poca modificación, para facilitar la obtención de pulpas de alta

Organismos con potencial biotecnológico: Entre los seres vivos que causan modificaciones de los componentes químicos de la pared celular de los SLC se tienen: 1) Hongos de pudrición blanda que digieren lignina, celulosa y hemicelulosas dejando el tejido celular como un residuo blando. 2) Hongos de pudrición parda, los cuales degradan con preferencia a la celulosa dejando un residuo enriquecido de lignina. 3) Hongos de pudrición blanca. Son los de mayor interés para la industria ya que degradan principalmente y con cierta selectividad al polímero lignina. Entre las enzimas fúngicas más destacadas se tienen: a) Celulasas, b) Ligninasas y c) Hemicelulasas del tipo xilanasas (Shimada e Higuchi, 1991).

calidad. El descubrimiento y el uso de esta enzima en los '80 se considera como un punto de referencia de alta importancia para las técnicas de las pulpificaciones biológicas. Uno de los inconveniente del uso de estos organismos es el tiempo de contacto prolongado con la materia prima necesario para obtener el producto. Sin embargo, es posible superar este inconveniente, con un transporte adecuado y un período de almacenaje de la materia prima troceada logrando reducir el tiempo de tratamiento desde días hasta horas. (Kirk, 1983).

Uno de los hongos que se destaca en la producción de ligninasas, y por lo tanto, tiene interés para la producciónde pulpas biotecnológicas, es el *Phanerochaete chrysosporium*, aún cuando este organismo, necesite varios días para disminuir de forma apreciable, la cantidad de lignina presente en la pared celular. Con la ayuda de la ingeniería genética, se espera lograr generaciones de microorganismos modificados genéticamente, logrando en un futuro próximo individuos que actúen con una mayor rapidez, eficiencia y selectividad en la degradación de la lignina (Paricio, 1994).

En la industria forestal de pulpa y papel, uno de los campos más susceptibles en la aplicación de la biotecnología para la obtención de biopulpas. La atención se ha centrado en la producción de pulpas mecánicas, termomecánicas o incluso en la modificación de varios tipos de pulpas químicas, usando hongos altamente eficientes con el propósito de disminuir los tiempos de tratamiento, lo anterior implica la producción de enzimas vía ADN recombinante, desarrollando para ello, un sistema enzimático que duplique in vitro la biodegradación de la lignina.

Estímulo a la biodegradación se logra añadiendo nutrientes con nitrógeno, p. ej., en forma de L-glutamato se han producido modificaciones de los componentes de la pared celular por acción enzimática logrando incrementos por concepto de rendimiento y ahorro de energía durante el proceso de refinación (Buswell y et al, 1984). También se ha puesto de manifiesto la beneficiosa acción sobre el blanqueo de la pulpa que resulta de la participación degradativa simultánea de diferentes especies de hongos sobre un mismo sustrato, de este modo se han utilizado en conjunto los hongos *P. chrysosporium* y el *P. subvermispora* habiéndose obtenido resultados alentadores (Villar, 2003).

Es importante resaltar, que aunque en las pulpas mecánicas no se realiza la operación de deslignificación, ya que la lignina va a ser parte del rendimiento, la aplicación del hongos y sus enzimas puede implicar una leve degradación de la lignina (3-5%), de este modo se logra una acción similar a la que producen los reactivos químicos en los procesos quimiotermo-mecánicos (CTMP). La pequeña pérdida del rendimiento estaría bien compensada por el ahorro energético entre el 22 y 66% durante el desfibrado y refinación. Además existe un incremento de las propiedades fisico mecánicas de la pulpa, para propiedades como la tracción y el rasgado, que pueden aumentar entre un 10 y 60% y entre 10 y 50% respectivamente (Villar, 2003).

Uno de los efectos indeseables del tratamiento biotecnológico sobre la materia prima fibrosa consiste en una disminución de la blancura debido a sustancias de color excretadas por los hongos; sin embargo, se considera que éste es un problema de poca

importancia, debido a la facilidad para remover estos compuestos, lo que permite que las pulpas biotecnológicas sean fácilmente blanqueadas con agentes como el peróxido, para alcanzar una blancura final de hasta 4 puntos superior en relación con las derivadas de métodos convencionales (Aster y et al, 1988).

Otra área donde la aplicación de métodos biotecnológicos ha tenido resultados prometedores se relaciona con la producción de pulpas mediante el proceso kraft, en donde la deslignificación se realiza por medios netamente químicos. En este caso tratando a las astillas con el hongo como *Phanerochaete chrysosporium*, se puede obtener una pulpa más limpia y económica, disminuyendo los costos por concepto de funcionamiento y por carga de reactivos que implica la operación de una planta kraft (Villar, 2003).

Como se mencionó con anterioridad, aunque el hongo ataca principalmente a la lignina, también degrada celulosa, por lo que se hace necesario utilizar hongos con alta selectividad hacia la lignina, permitiendo que el organismo ejerza su acción por el tiempo suficiente, para que degrade una cantidad considerable de lignina con efectos mínimos sobre la celulosa. Hasta el presente, el tiempo que permite la actividad enzimática del hongo ha sido de unas tres a cuatro semanas, lo que coincide con el periodo de permanencia de las astillas en espera de proceso de pulpación, con el fin de disminuir el problema de "pitch." En los experimentos realizados, durante el periodo de espera, se han observado una reducción de la lignina entre 0.3% y 0.6% asociados con una disminución del tiempo de cocción entre 15 y 30% y con un incremento del rendimiento entre 3-5% .

La reducción del tiempo de cocción es un factor de importancia económica, ya que implica un aumento de productividad de la fábrica, sin dejar de tomar en cuenta la materia prima a procesar, ya que la misma influye en los resultados finales obtenidos. Hasta el momento, entre las materias primas que han dado mejores resultados y una mejor respuesta en experimentos biotecnológicos de carácter enzimático, se ha encontrado en las angiospermas, en especial la madera de eucaliptos. (Villar, 2003).

FABRICACIÓN DEL PAPEL Y BIOREFINO

En relación con la fabricación de papel y biorefino, las celulasas y hemicelulasas son las principales enzimas empleadas en la modificación de las fibras celulósicas. La aplicación de estas enzimas ya se había patentado en 1942, cuando se utilizaban para favorecer el refino realizando mejoras en el tratamiento de batido mediante un incremento de capacidad de hidratación de las fibras. Uno de los objetivos del biorrefino es el de incrementar las posibilidades de establecer enlaces interfibras que, de otro modo sólo se pueden obtener mediante un tratamiento mecánico enérgico que conlleva a un gasto notable de energía.

La aplicación de aditivos durante la fabricación del papel, también se está realizando con la aplicación la biotecnología. Actualmente está extendido el uso de la amilasa para controlar enzimáticamente el grado de polimerización (GP) del aditivo almidón, un mejor control la viscosidad facilita la aplicación de encolantes en masa o superficial.

En el momento del refino, el uso combinado de celulasas y hemicelulasas a pulpas químicas del tipo kraft, realizan en la fibra una trabajo de superficie que aumenta la eficiencia del proceso, permitiendo preparar las fibras para fases posteriores. En algunos casos, con este tratamiento enzimático puede omitirse el refino o, de ser necesario, realizarlo a un menor costo energético (Paricio, 1994).

BIOBLANQUEO

Cuando se somete una pasta previamente deslignificada a la acción de alguna enzima como hemicelulasa (tipo endoxilanasa), se facilita enormemente el blanqueo, ya que propicia la extracción posterior de los fragmentos de la lignina de la pared celular. Esto se puede explicar por el hecho de que la enzima provoca discontinuidades entre las uniones de lignina con las hemicelulasas, al mismo tiempo que se produce un agrandamiento de los poros de la pared celular que facilitan el movimiento de especies enzimáticas o químicas a través de la pared celular.

Se ha comprobado que la respuesta a la acción enzimática es más efectiva en las pulpas de angiospermas que en las coníferas, debido al mayor contenido de xilanos en las primeras. La aplicación de bioblanqueo implica el uso de menos agentes químicos, esto se traduce en una menor producción de contaminantes como las dioxinas que se originan durante el blanqueo con cloro o sus compuestos. En algunas ocasiones, incluso se puede trabajar con secuencias del tipo TCF (totalmente libre de cloro) y ECF (libre de cloro elemental).

Trabajos realizados en Japón han puesto en evidencia la validez del bioblanqueo al lograr, partiendo de pastas kraft de frondosas con blancuras de 47% ISO, llevarlas a blancuras de 85% ISO, empleando una secuencia OFEP (O= oxígeno, F= hongo, E= extracción alcalina, P= peróxido de hidrógeno.
Los ensayos realizados han demostrado que el uso de xilanasas es necesario, ya que se mejora el acceso hacia la lignina y además que permite reducir el consumo de cloro y de hipoclorito hasta cerca del 40% (Trotter, 1990).

En algunos procesos de bioblanqueo, se ha observado que es mejor aplicar las enzimas necesarias que usar al organismo que produce estas biomoléculas; esto se explica tomando en cuenta que se trata de seres vivos cuyas actividades metabólicas, incluyendo la producción de enzimas se ven afectadas si en el medio de reacción existen sustancias tóxicas.

Además, cuando el hongo está frente a un sustrato heterogéneo como la fibra, no sólo produce enzimas que degradan la lignina, sino también aquellas que degradan la celulosa, por esto, en diversas ocasiones puede ser más ventajoso aplicar de una forma selectiva las enzimas deseables, con el fin de disminuir el daño sobre los carbohidratos. Actualmente, se están usando enzimas que hacen un trabajo semejante al dióxido de cloro para blanquear la pulpa, con un costo ambiental menor que en el caso de aplicar únicamente blanqueo químico.

Un aspecto importante en relación con el bioblanqueo, es que si bien se pueden presentar incrementos aparentes de los índices de contaminación ambiental, tal como la demanda química de oxigeno (DQO), la misma tiene exigencias enzimáticas menores, por estar constituida por sustancias más susceptibles a la degradación biológica y química en relación con aquellas provenientes del blanqueo tradicional.

En el caso de pulpas de coníferas se ha ensayado el uso de mananasas ; sin embargo, hasta ahora, los resultados indican que las xilanasas funcionan mejor que aquéllas (Sánchez, 1993).

El bioblanqueo, al igual que el biopasteado, confronta dificultades, ya que los requerimientos para que ocurra la acción enzimática son muy complejos. En este sentido, un obstáculo relacionado con el bioblanqueo es que enzimas deslignificantes como las lacasas necesitan para su actividad la presencia del hongo, ya que la enzima por si misma no degrada la lignina, habiéndose demostrado que estas enzimas necesitan asociarse con sustancias de bajo peso molecular, que funcionan como mediadores, formando un sistema lacasa-mediador, que permite que la enzima relativamente grande tenga acceso a regiones muy reducidas.

Mediador enzimático es un complejo químico mediador que permite a las enzimas con un gran tamaño molecular hacer contacto con lugares que inicialmente serían inaccesibles para ellas (Smith y Wood, 1998).

Una de las sustancias que se ha empleado como mediador es el HBT (Hidroxi dibenzo triazol) y el alcohol veratrílico. Otro aspecto interesante relativo al bioblanqueo de pulpas con participación de lacasa, es la conveniencia de someter a la pulpa a una previa extracción alcalina, ya que esta operación incrementa la efectividad de la enzima deslignificante. Este situación podría explicarse tomando en cuenta que estas enzimas ampliamente difundidas entre los seres vivos, no solo pueden realizar degradaciones sino que también participan en ensamblajes o polimerización de grandes polímeros como la lignina. De modo que la extracción alcalina actuaría para impedir el efecto secundario de las lacasas de producir la repolimerización de los fragmentos de lignina liberados en el medio (el efecto contrario al deseado) (Villar, 2003) ; (Eaton y Hale, 1993)

TRATAMIENTO DE CONTAMINANTES SUBPRODUCTOS DE LA FABRICACIÓN DE PULPA Y PAPEL

La biotecnología es desde hace muchos años la herramienta preferida en la depuración de los efluentes de la industria de la pulpa y el papel, tanto en las lagunas de oxidación como en lechos de lodos activados. En estas actividades se emplean poblaciones de microorganismos, en algunas ocasiones modificadas genéticamente, para eliminar la toxicidad de los agentes contaminantes presentes. Algunos organismos se han usado en efluentes provenientes de extracciones alcalinas, las cuales son altamente coloreadas, lográndose en muchos casos la desaparición del color.

En el tratamiento de los efluentes, la industria de la celulosa y el papel depende en gran medida de la biotecnología. Mediante el uso de los lodos activados, zanjas de oxidación y otros métodos, es posible depurar el agua de sustancias tóxicas, usando en muchos casos microorganismos no específicos. Sin embargo, se impone el uso de microorganismos más específicos y eficientes para determinadas sustancias contaminantes que son resistentes a los tratamientos normales, por ejemplo : derivados de lignina, y sustancias ligno-cloradas de alto peso molecular (Yang y et al, 1992).

Los residuos de las fábricas de pulpa contienen derivados coloreados, los cuales son resistentes a la descomposición, además de ser altamente contaminantes. Estos residuos a menudo son concentrados y quemados para obtener energía y recuperar químicos constituyentes del licor de cocción. Sin embargo, una parte de los residuos descarga a través de los efluentes, pudiendo ser depuradas en lagunas aireadas con la ayuda de lodos activados, ricos en microorganismos productores de enzimas. Las fracciones de contaminantes de alto peso molecular, provenientes de la lignina son las más dañinas para el ecosistema, ya que son tóxicas y difíciles de descomponer, cuando su degradación ocurre se liberan sustancias de bajo peso molecular muchas de ellas cloradas que incluyen compuestos aromáticos sustituidos por cloro, como dioxinas y bifenilos policlorados todos ellos altamente contaminantes (Fernández y et al,1996).

Un proceso aplicado que se destaca por su rapidez en la depuración de los efluentes con el fin de separar las impurezas es la ultrafiltración, seguida de un tratamiento biotecnológico con hongos que produzcan ligninasas. Después de que el microorganismo ha realizado cierta depuración, los compuestos de alto peso molecular resistentes a la biodegradación son separados y quemados para obtener energía.

Los grupos cromóforos provenientes del blanqueo además de ser tóxicos interfieren con la fotosíntesis de las plantas acuáticas, porque al disminuir su tasa fotosintética contribuyen a crear un mayor déficit de oxígeno en el agua, incrementando de esta forma la demanda química de oxígeno y alargando el tiempo para que el líquido recupere su capacidad de uso. En la decoloración de los efluentes, se han utilizado diferentes tipos de microorganismos que incluyen el hongo *P. chrysosporium* y el AOX es reducida en un bioreactor que puede contener más de un hongo .

Para la remocion del color de los efluentes han sido utilizadas lacasas y peroxidasas, capaces de degradar diversos xenobióticos, incluyendo los dañinos bifenilos policlorados, DDT, Benzopireno, pentaclorofenol, ácido 2,4,5-triclorofenoxiacetico, etc. que son contaminantes tanto del agua como del suelo (Vidal y et al, 1996).

La lignina peroxidasa oxidaría los compuestos aromáticos no fenólicos por la transferencia de un único electrón por un radical tipo catión. Las reacciones posteriores de este radical incluyen clivaje de enlace Cα-Cβ, desmetilación e hidroxilación de grupos bencénicos metilénicos, además de la oxidación del alcohol bencílico, formación de quinonas y abertura del anillo aromático.

De aquellas reacciones con participación de radicales con oxigeno, puede resultar la incorporación de oxígeno formándose por reducción un anión superóxido (Eaton y Hale, 1993).

La formación de un radical catión en el alcohol bencílico sustituido conducen a disminución de la masa molecular mediante oxidaciones del Cα clivaje del enlace Cα-Cβ. La activación del oxígeno puede ocurrir por intermedio del radical bencílico hidroxisustituido con oxígeno sobre el cual son formados el anión superóxido y el correspondiente aldehído o cetona.

BIODESTINTADO

La biotecnología presenta muchas aplicaciones en el uso de fibras secundarias, mejorando tanto las características de las fibras como su aptitud hacia el destintado. En este caso, las enzimas mejoran las caracteristicas del drenado o desgote de las pulpas. De este modo, se tiene que aunque haya un ataque sobre la celulosa, no se presenta disminución de la longitud de las fibras, debido a que la acción se concentra sobre los finos que presenta la materia prima a causa de su gran superficie específica. Así, la acción de las celulasas permite obtener una pulpa más limpia y de mayor calidad sin que se cause interferencias inesperadas e indeseables en la máquina papelera (Paricio, 1994).

Desgote es un término que se refiere al conjunto de fenómenos de los cuales depende la eliminación del agua contenida en la pulpa en la mesa plana de la máquina continua de papel desde la caja de entrada hasta el cilindro aspirante (Asenjo y et al, 1992).

DESVENTAJAS DE LA BIOTECNOLOGÍA APLICADQS A LA INDUSTRIA DE PULPA Y PAPEL

Hay la certeza de que nos acercamos a pasos agigantados a una verdadera revolución en la industria celulósica , sin embargo, a corto plazo no se verán aplicaciones generalizadas

de la biotecnología en el sector celulósico, esto lo podemos explicar con base a los siguientes criterios :

1. Conocimiento incompleto en relación con los microorganismos, detalles de su metabolismo y con la forma exacta de cómo actúan sus enzimas.
2. La velocidad de las reacciones enzimáticas son aún muy lentas.
3. Liberación de sustancias inhibidoras por parte de los microorganismos que limitan la posterior actividad enzimática.
4. Poco interés por el sector industrial en relación con la descontaminación ambiental, de modo que se hace necesario ser estricto en el cumplimiento de las ordenanzas legales existentes así como, implementar nuevas leyes que obliguen legalmente a los industriales a la aplicación de técnicas menos contaminantes.
5. Dificultad para ejercer control sobre las patentes industriales asociadas con procesos biotecnológicos (Schoemaker y et al., 1991).

VENTAJAS DE LA BIOTECNOLOGÍA APLICADOS A LA INDUSTRIA DE PULPA Y PAPEL

A pesar de las limitantes y desventajas esbozadas en el desarrollo del capítulo 10, es seguro que considerando las ventajas que presentan los procesos biotecnológicos, al final, este nuevo tipo de aprovechamiento se aplicará a gran escala en la industria química forestal tomando como base las siguientes consideraciones :

1. Obtención de mayores rendimientos, lo que implica un uso más racional de los recursos naturales potencialmente renovables.
2. Logro de productos de mayor calidad que los obtenidos mediante otros procedimientos, debido en parte a la mayor especificidad de los componentes biológicos sobre los componente a degradar.
3. Obtención de pulpas celulósicas sin usar reactivos químicos, o usando cantidades menores, causando en una menor contaminación ambiental, tanto hídrica como del aire.
4. Menor consumo de energía, en las operaciones de digestión, refinación y batido, un factor muy importante relacionado con la economía y rentabilidad de los procesos, así como con la polución ambiental.
5. Posibilidad de elaborar una gama más amplia de productos que los obtenidos mediante los procesos químicos tradicionales (Scragg, 1996) ; (Balbás, 2002).

BIBLIOGRAFÍA

Adams, T.N.1996. En Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of The paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal ,Quebec. Canadá. 637 p.

Aguilera, A. 2001. Comunicación personal.Universidad de Los Andes. Facultad del Ciencias Forestales y Ambientales. Mérida Venezuela.

American Chemical Society. 1998, QuimCom: Química para la comunidad. Addison-Wesley Iberoamaericana. Dubuque. Iowa. USA. 571 p.

Amidon, G. G. ; Earle, T. W. ; Herr, C. S., Livingston P. 1983. Abastecimiento y preparación de la madera. En : Libby, C. E. 1983. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. CIA. Vol.1. Editorial Continental. S.A. De C.V. México. México D. F. México. 534 p.

Angenault, J. 1999. Diccionario enciclopédico de química. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. México D.F. México. 567 p.

Asenjo, J. ; Barbadillo, P. Monfort, P. 1992. Diccionario terminológico Iberoamericano de celulosa, papel y cartón y sus derivados. Editorial Quinto Centenario. Madrid. España. 809 p.

Ashby, J. D.; Lumb, P. J.; Tring, J.L. 1983. Química biológica. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 206 p.

Aster, M. Corrior, G., Odier E. 1988. Strategies to enhanced ligninase production by *Phanerochaete chrysosporium*. En Biochemistry and Genetic of cellulose degradation. Academic Press Limited pp. 333- 366.

Aubert, J.P. Beguin, P. Millet, J. 1988. Biochemistry and genetics of cellulose degradation. Academic Press. Institut Pasteur, Paris, France. 415 p.

Baird, C. 2001. Química Ambiental. Editoria Reverté S.A. Barcelona. España. 622 p.

Balbás P. 2002. De la biología molecular a la biotecnología. Editorial Trillas. México D.F. 324 p.

Barceló, J. 1976. Diccionario terminológico de química. Albambra. Madrid. España. 779 p

Berti, N.B. 1979. La Structura Del Legno. Contributi Scientifico-Pratici. Instituto Del Legno. Firenze. Italia. 155 p.

Betts, W.B. 1991. Bioderadation : natural and sinthetic materials. Springer Verlag. Berlin. Germany. 237 p.

Biermann, C. 1988. Hydrolisis and other cleavages of glycosidic linkages in polisaccharides. En Advanced in carbohydrate chemistry and biochemistry.Vol. 46. Academic Press INC. San Diego California. USA . pp. 251-271.

Bloomlfield, M. 1993. Química de los seres vivos. Editorial Limusa. México D.F. México. 767 p.

Bodenheimer, V. ; Smith, J. 1966. Principles of pulp bleching. En : Southtern Ppulp and paper manufacture. (2), 10 pp. 48-71.

Bourges, H. ; Buitrille, D. Villaseñor, J.P. ; Villareal, F.1985. Química de La Vida. Editorial Trillas. México D.F. México. 160 p.

Bryce, J. R. 1990. Producción de pulpa alcalina. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.2. Editorial Limusa. México D. F. México. 757 p.

Bryce, J. R. 1990. Producción de pulpa al sulfito. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.2. Editorial Limusa. México D. F. México. 757 p.

Brown, T. ; Lemay, E. 1987. Química la ciencia central. Prentice Hall Hispanoamericana S.A. México D. F. México. 893 p.

Browning, B. 1967. Methods of wood chemistry. Vol.2. Interscience Publisher. New York. USA. 498 p.

Browning, B. 1967. Methods of wood chemistry. Vol.1. Interscience Publisher. New York. Usa.384 p.

Browning, B.L. 1963. The Chemistry Of Wood Interscience Publishers. New York. U.S.A. 689 p.

Browwning, B.L. 1967. Methods of wood chemistry. Vol.1. Interscience Publishers. Mew York. U.S.A. 384 p.

Bryce, J.R. 1990. Sulfite Pulping. 291-376. Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.2. Editorial Limusa. México D. F. México. 757 p.

Bublitz, W.J. Pulpa de madera. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.1. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

Buswell, J. A. ; Mollet, B. ; Odier, E. 1984. Lignolytic enzyme production under condition of nitrogen sufficiency. FEMS. Microbila. Lett 2 :. pp. 295-299.

Cardello, S. ;Uribe, R. D.1998. La carboximetil celulosa y su aplicación en la industria papelera. En VI Congreso técnico venezolano de celulosa y papel. Hotel Intercontinental. Valencia. Venezuela. 27 p.

Correa, J.; Rivacoba R.; Penichet, L. 1990. Almacenamiento de bagazo y Pre-Secado en Cuba. Análisis comparativo. Sub-Dirección de Ingeniería ICIDCA. La Habana Cuba. 19 p.

Coughlan, M.P. Ljungdahl, L.G. 1988. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzime systema 11-31 En Aubert, J.P. Beguin, P. Millet, J. 1988. Biochemistry and genetics of cellulose degradation. Academic Press. Institut Pasteur, Paris, France. 415 p.

Daintith, J. ; Deeson, E. 1984. Diccionario de Física. Editorial Norma. Colección llave de la ciencia. Santa Fe de Bogotá. Colombia. 238 p.

Daintith, J. 1997. Diccionario de Química. Editorial Norma. Colección llave de la ciencia.Santa Fe de Bogotá. Colombia Santa Fe de Bogotá. Colombia. 256 p.

Daintith, J.; Tootill, E. 1983. Diccionario de Biología. Editorial Norma. Colección llave de la ciencia. Santa Fe de Bogotá. Colombia Santa Fe de Bogotá. Colombia. 342 p.

D'almeida, M.L.; Otero, L. 1981. Celulosa e papel. Tecologia de faabricacao de pasta celulosica, cap. 7- Popacao de alto rendimento, Vol. 1. 485 p.

Daniell, W. F., 1990. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.1. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

De Pedro, J. 1981. Proceso al sulfato. Ingeniería Química. Madrid. España. (315) pp. 65-72.

Dekker, R. F. 1985. Biodegradation of hemicelluloses : Their occurrence, purification, propieties and mode of action, (ed. Higuchi T). Advances in carbohydrates Chemistry an Biochemistry. 32, pp. 277-352

Delmer, D.P. 1977. The Biosynthesis of Cellulose another plant cell wall polysaccharides.En Loewus, A.F. y Runeckles, V.C. 1977. Recents advances in phytochemistry. Volume 11. The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood.

Dence, C. ; Reeve, D. 1996. Pulp bleaching, principles and practice. TAPPI Press. Atlanta. USA. 225 p.

Dergel, S. 1998. Diccionario de tecnología de los alimentos. Alahambra Mexicana. México D. F. 300 p.

Díaz, E. J. 1982. Deslignificación alcalina con antraquinona. Universidad de Los Andes. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Tesis de grado. Mérida. Venezuela. 87 p.

Diccionario de Química. 1988. Editorial Ediplesa. Bogotá Colombia. 265 p.

Diccionarios Oxford-Complutense 1999. Química. Editorial Complutense. Madrid . España. 632 p.

Diccionarios Oxford-Complutense 2000. Ciencias. Editorial Complutense. Madrid . España. 1064 p.

Diccionarios Oxford-Complutense 2001. Diccionario de Biología. Editorial Complutense. Madrid . España. 661 p.

Diccionarios Oxford-Complutense 2001. Ciencias. Editorial Complutense. Madrid España. 1240 p.

Domínguez, X. 1980. Química orgánica fundamental. Editorial Limusa. Ciudad de México. México. 473 p.

Donofrio, C. P., 1983. Introducción a la producción de pulpas celulósicas. En : Libby, C. E. 1983. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. CIA. Vol.1. Editorial Continental. S.A. De C.V. México. México D. F. México. 534 p.

Durán, J. A. 2000. Comunicación personal. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Mérida. Venezuela.

Durán J.A. 1999. Manual de experimentos para física de la madera. Universidad de Los Andes. Consejo de Publicaciones. Mérida. Venezuela 273 p.

Durán, J.A. 2003. Influencias de las punteaduras sobre la permabilidad de la madera. comunicación personal. Laboratorio Nacional de productos Forestales. Mérida Venezuela

Eaton, R. ; Hale, M. 1993 Wood, decay, pests and protection. Chapman & Hall. Cambridge Great Britain. pp. 1-205 .

Egas, A.; Ferreira, L.; Carvalho C. 2003. Alternatives to acidic chelatión (Q) : impact of a stabilazer on bleaching sequence with oxygen and peroxide. Pulp and Paper Science and Tchnology : Papermaking Science Technology. Chemical Tecnology. Wood Pulp Paper. Natural. Renewable. Biocompatible. Bratislava, Slovak Republic. pp. 190-193.

Encinas, O. 1996. Development and significance of attack by *Lasiodiplodia theobromae* (Pa.T) Griff & Maubl. In caribean pine wood and some other wood species. Departament of Forest Products. Uppsala. Sweden. Doctoral thesis pp. 1-43.

Encinas, O. 1996. ; Geoffrey D.1996. Wood cell wall biodegradation by blue stain fungus *Botryodiplodia theobromae* Pa.t.. Departament of Forest Products. Uppsala. Sweden. pp. 255-272.

Encinas, O. 1996.; Geoffrey D. 1996. Decay capacity of different stains of the blue stain fungus *Lasiodiplodia theobromae* on varius species. Departament of Forest Products. Uppsala. Sweden. 20 p.

Encinas, O. 1996. ; Geoffrey D.1996 Degradation of the gelatinous-layer in apen and rubber wood by the blue stain fungus *Lasiodiplodia theobromae*. . Departament of Forest Products. Uppsala. Sweden.10 p.

Encinas, O. 1996. ; Geoffrey D.1996. Depletion of non-structural compunds during attack *Lasiodiplodia theobromae*. Departament of Forest Products. Uppsala. Sweden.13 p.

Encinas, O; Geoffrey D.1996. Changes and fracture characteristics of wood attacked by the blue stain fungus *Lasiodiplodia theobromae*. Departament of Forest Products. Uppsala. Sweden.10 p.

Ericsson, E. O. ; McCarthy, J. L. Pearson, D. A. 1983. Obtención de pulpas al sulfito. En : Libby, C. E. 1983. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. CIA. Vol.1. Editorial Continental. S.A. De C.V. México. México D. F. México. 534 p.

Eriksson, K. E, 1978. Enzyme mechanism involved in cellulose hydrolysis by the rot fungus Sporotrichum pulvurentum. European journal of Biochemistry. (90). pp 183-190.

Eriksson, K. E. 1990. Biotechnology in the pulp and paer industry. Wood Sci. Technol. 24 : pp. 79-101.

Erikson, K. E En : Eaton, R. ; Hale, M. 1993. Wood, decay, pests and protection. Chapman & Hall. Cambridge. Great Britain. pp. 1-205

Espasa, M. K. ; Villaba, P. 1997. Evaluación del impacto ambiental de la industria papelera. Revista Ingeniería Química. Madrid España. (4) 334 pp. 61-66.

Faix, O.1978. Las hemicelulosas en la madera. I (generalidades), aislamiento y purificación. En : Instituto de madera celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera. Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Faix, O. 1978. Los polísacáridos, las reservas de energía y las materias primas del futuro. En : Instituto de madera, celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera. Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Faix O. 1982. Mecanismos de reacción del cloro y dióxido de cloro con la pulpa. En : Patt, R.; Faix O; Ramirez F.;Vásquez H.; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Faix O.1982. Química del blanqueo con oxígeno. En : Patt, R.; Faix O; Ramirez F., Vásquez H.; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Faix, O.1982. Química del blanqueo con ozono. Mecanismos de reacción con la pulpa. En : Patt, R.; Faix O; Ramirez F.; Vásquez H.; Meier D. 1982. En : Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Faix, O.; Ramirez C. Vásquez H ; Meier D. 1982. En : Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Instituto de Madera, Celulosa y Papel. Universidad de Guadalajara. México. 201 p.

Faix, O. 1978. Importancia de las hemicelulosas en la producción de celulosa y papel. En la producción de tableros de fibras. En : Instituto de madera celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera. Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Faix, O.; Mozuch, M.; Kirk, T. 1985. Degradation of gymnosperm (Guacyl) vs. Angiosperm (syringil/guacyl/siringyl) lignins by Phanerochaete chrysosporium. Holzforschung. 39 (4). pp. 203-208

Fengel, D.; Wegener, G. 1984. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter. Berlin. Germany. 613 p.

Fernández, M..; Asaste, A. Sanz, F. 1996. Dioxinas y dibenzofuranos en el medio ambiente. Revista ingeniería química. (4) 323. pp. 83-87.

Fleming, B.I.. 1978. Soda pulping with antarquinone mechanism. Tappi. 61 (6) pp. 43-46.

Flower, M. W. 1996. En Scragg, A. 1996. Biotecnología para ingenieros. Editorial Limusa. México D.F. México 410 p.

Foelkel, C.F. Cabrera, A. C. 1988. Ensaios de laboratorio para se optimizar a sequencia CD1HD1E2D2, no branquemiento de celulosa kraft do Eucalipto. O papel, 38. Pp. 85-97.

Font Quer, P. 1975. Diccionario De Botánica. Editorial Labor S.A. Barcelona. España. 1244 p.

Frobisher, M. 1974. Microbiología. Salvat Editores, S.A. Barcelona España. 657 p.

Galindo, A. 1990. La importancia de los enlaces químicos en los procesos de fabricación de papel. Revista Ingeniería Química. (259). pp. 197-204

García, J. ; Vidal, T. 1984 Blanqueo de pastas en la industria papelera. E .T.S.I.I. de Terrasa. Universidad Politécnica de Cataluña. España.143 p.

García, J.1991. Química de las cocciones alcalinas. Universidad Politécnica de Cataluña. España 72 P.

García, S.; Pérez R. 1990. Pulpeo de bagazo de caña por el proceso soda-antraquinona. Monografía sin publicar. Valencia. Venezuela 21 p.

García, J. 1984. Blanqueo de pulpa en la industria papelera. E.T.S.I.I. Universidad Politécnica de Cataluña. España. 356 p.

Garcidueñas, M. 1985. Fisiología vegetal. Libros McGrawHill. Madris España. 253 p.

Garritz, A.; Chamizo, J. 1994. Química . Addsion Wesley Iberoamericana. Welmington. Delaware. USA. 854 p.

Gaytán, P. ; Janknecht, S.; Barbe M; Valade, J. 1992. Comparación de las propiedades de las pastas mediante los procesos RMP, TMP y CTMP, en *Pinus caribaea var. Hondurensis Hondurensis* provenientes de una plantación y una mezcla de especies del bosque natural. Celulosa y papel de Venezuela. Organo divulgativo oficial de la Asociación Venezolana de Técnicos en Celulosa y papel AVTCP. Mérida. Venezuela. pp. 23.

Geffertova, J.; Geffert, A.; Cunderlik, I. 2003. The bark an its influence on character of dirt in pulp. Pulp and Paper Science and Tchnology : Papermaking Science Technology. Chemical Tecnology. Wood Pulp Paper. Natural. Renewable. Bicocompatible. Bratislava, Slovak Republic. pp. 226-230

Gellersted, G. 2003. Feature of kraft pulping. Pulp and Paper Science and Tchnology : Papermaking Science Technology. Chemical Tecnology. Wood Pulp Paper. Natural. Renewable. Bicocompatible. Bratislava, Slovak Republic. pp. 35-39.

Gierer, J. 1985. Chemistry of delignification. Part 1 : general concept and reaction during pulping. Wood Sci. Technol. 19 : pp. 289-312.

Gierer, J. 1986. Chemistry of delignification. Part 2 : reaction of lignin during bleching. Wood Sci. Technol. 20 : pp. 1-33.

Gilabert, E. ; Rodríguez B ; García E. 1991. Blanqueo de pulpas mecánicas con peróxido de hidrógeno. Revista Ingeniería Química. 334. Madrid España. P 129-134

Giordano, G. 1951. Il legno e le sue carcacteristiche. Ulrico-Hoe PLT. Milano. Italia. 759 p.

Giordano, G. 1971. Tecnología del legno. Unione Editrice Torinese. Torino. Italia. 1086 p.

Glasser ; W.G. 1990. Lignina. En Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.2. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

Glynn, H.; Heinke, G. 1996. Ingeniería ambiental. Pearson Educación. Naucalpan de Juárez. México. 778 p.

Goldstein, I. 1977. Wood Technology: Chemical aspects. acs symposium series 43. American Chemical Society. USA. 372 p.

Goldstein, I. S. 1977. Productos Químicos Derivados de La Madera. Unasylva. Vol. 31. N° 125: pp. 2-9.

Goldstein, I.S. 1977. Wood Technology: Chemical Aspects. ACS Symposium Series No 43. American Chemical Societi. Washington. U.S.A. 372 p.

González, G.; Caminal ; C. Lopez-Santin, J. 1990. Bioconversión de materiales lignocelulósicos: perspectivas y limitaciones del proceso. Revista Ingeniería Química. 334. Madrid. España. pp. 645-654

Goodwin, T.; Mercer, E. 1983. Introduction to plant biochemistry. Pergamon Press. Oxford. Great Britain. 677 p.

Gordon, A. N.1982. An interpretative view of refiner pulping. Wood Science and Technology. Vol. 4. pp. 292-300.

Grace, T. G.1996. Overview of kraft recovery. En : Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal, Que Canadá. 637 p.

Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal ,Que. Canadá. 637 p.

Gross, G.G. 1978. Biosynthesis of lignin an related monomers. En Loewus, A.F. y Runeckles, V.C. 1977. Recents advances in phytochemistry. Volume 11 The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood. Plenun Press. New York. U.S.A. 369- 404. 527 p.

Gullichsen, J.; Paulapuro, H. 2000. Chemical Pulping. Book 6A. Published in cooperation with the Finnish Paper Engineers' Association and TAPPI. Helsinki. Finland. 693 p.

Gupta, S.R.; Karira, B. G., 1984. Production of semichecal pul for linearboard and corrugates medium. Holzverwert. 36. N°. 6. pp. 10-122

Hagglund, E. 1951. Chemistry of wood. Swedish Forest Products Research Laboratory, Stokholm. Academic Press INC Publisher. New York. USA. 631 p.

Hamilton, D. ; Howatd M. 1974. A kraft mill cost procedure based on kappa number. Appita. USA Vol. 27. No.5. pp. 334-340

Hampel, C. ; Hawley, G. 1986. Diccionario de química. Grijalbo/Referencia. Barcelona. España. 350 p.

Hardman, J. G. ; Limbird, L. E. 1996. Bases farmacológicas de la terapéutica. Vol. 1. Novena edición. MCGrawHill Interamericana. México D.F. México. 1015 p.

Hart, D. ; Craine. O. 1996. Química Orgánica. Editorial McGraw Hill. Neucalpan de Juarez.. México. 578 p.

Hartler, N. 1979. Chipper design and operation for optimun chi quality. Series Join Textboox Committe of paper industry. U.S.A. N°. 5. 273 p.

Hawley, G. 1991. Diccionario de química y de productos químicos.Ediciones omega. S.A. Barcelona. España. 968 p.

Herman, H. 1976. Manual de tratamiento de aguas negras. Editorial Limusa. México DF. México. 303 p.

Herrick, W.F.; Herbert H. L 1977. Utilization of chemicals from wood: retrospect and prespect. En : Recents advances in phytochemistry. Volume 11 .Loewus, A.F. y Runeckles, V.C. 1977. The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood. Plenun Press. New York. U.S.A. pp. 443-515. 527 p.

Highley, T. et al. 1993. Research on biodeterioration of wood, 1987-1992. United States Speratment of Agriculture. Forest Service. Research paper 7 p.

Higuchi, T. 1981. lignin structure and morphological distribution in plant cell wall. En Kirk, T. Higushi, T. Chang, H.-M. 1981. Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry, And Potential Applications. Vol. No1. CRC Press. Florida. U.S.A. pp. 2-20. 341 p.

Higuchi, T. 1985. Biosynthesis and degardation of wood components. AP Academic Press, INC. Orlando, Florida. USA. 679 p.

Higuchi, T. 1987. Biochemistry of lignin and its potential apllication. Wood Research Institute,. Kioto Universty. Japan. On fourth international symposium on wood an pulping chemistry. Abril; 27, 30. 1987. Paris.

Highley, T. ; Clausen, C. ; Croan, S. ; Lliman B. ; Micales, J- 1992. Research on biodederioration of wood, 1987-1992. United States Departament of Agriculture. Forest Service. Forest Product Laboratoy. USA 16 p.

Hillis, W. 1971. Distributión, propieties and formation of some wood extractives. Forest Producto Laboratory, Division Applird Chemistry, CSIRO, South Melbourbe, Australia. Wood Science and Tecnology Vol. 5 N. 4. pp. 272-289.

Hillis, W.E. 1962. Wood extractives and their significance to the pulp and paper industries. New York Academic Press. 513 p.

Hillis, W.E. 1980.Some characteristcs affecting wood quality. APPITA (3). pp.339-344

Hulum, J. R. 1971. Fisicoquímica, Química Orgánica y Bioquímica. Editorila Limusa - Wiley S. A. México D F. México. 789 p.

Hortal, G.; Pastor C. 1996. Avances recientes en la tecnología de pastas químicas. Revista Ingeniería Química. 323. Madrid España. pp. 143-153.

Hortal, G.; Vidal L.1984. Blanqueo de pastas en la industria papelera. E.T.S.I.I. de Terrassa.. Publicaciones de la Universidad Politécnica de Cataluña.. España. 361 p.

Hortal, G. 1983. Química de la cocciones alcalinas. E.T.S.I. Publicaciones de la Universidad de Cataluña. Terrassa. España. 84 p.

Hooper, A. A.1996. The screening of chemical pulp. En : Malcon, E. 1996. En Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal ,Que. Canadá. 637 p.

http ://www.aga.como.ec/Web/Web2000/EC/WPP.nsd/EC/WPP.nsf/pages/aplic_pc_ oxigeno #Blanqueo. Recuperado el 31-11-2003.

Illman, B. L. ; Higley, T. L , 1989. Descomposition of wood by brown rot fungi. Biodeterioraton Research, (2). pp. 465-484.

Ingruber O. V. 1996. Alkaline digester system. En : Malcon, E. 1996. En Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal ,Que. Canadá. 637 p.

Instituto Papelero Español. 1991. Relación de nuevos términos del diccionario papelero. Asociación de Investigaciones Técnicasa de la Industria papelera. Madrid. España. 201 p.

Instituto de Pesquisas Tecnológicas de Estado de Sao Paulo.1979. Pulpas de alto rendimiento. S/A-IPT. Centro Técnico em Cellulose e Papel. Brasil. . 8 p.

Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPP). 1988. Celulosa e papel. Vol. 1 Instituto de Pesquisas Tecnológicas de Sao Pablo. Brasil. 599 p.

Irvine, G. 1985. The significance of the glass transition of lignin in thermomechanichanical pulping. Wood Science and Technology. Springer Verlarg. 19. pp.139-149. U.S.A.

Iversen, T. 1985. Lignin-carbohidrate bondes in a lignin-carbohidrate complex isolated for spruce. Wood Science and Technology. Springer Verlarg. 19. pp.243-251. U.S.A.

Javillier, M. Lavollay, J. 1971. La química de los seres vivientes. Oikos-tau, s.a. Ediciones. Barcelona. España. 125 p.

Jeffries, T. W. 1987. Physical, chemical and biochemical considerations in biological degradation of wood). In : Kennedy, . F. Philips, G. o. ; Willians, P. A. eds. Wood an cellulosics : Industrial utilization, biotechnology, structure an propieties. Chichester, West Sussex. England. Chapter 24. pp. 213-229.

Jiménez, J.; Navarro, E; De la Torre M. J.1997. Blanqueo de pastas con oxígeno. Ingeniería Química. Madrid. España. (4) 334, pp. 79-84.

Johnson, W. ; Campbell, J. 1868. US aptent. No. 66. 353. Citado en : Gullichsen, J. ; Paulapuro H. 2000. Chemical Pulping. Book 6A. Published in cooperation with the Finnish Paper Engineers' Association and TAPPI. Helsinki. Finland. 693 p.

Kachel, P.; Ralston, G.; 1994. Bioquímica general. Mcgraw Hill. México D.F. México pp. 35- 328.

Karr, A.L. 1976. cell wall biogenesis. En Plant Biochemistry. 3er, edición. Edited by James Bannet an Joseph E. Varness. Academic Press N.Y. pp. 405-427.

Espasa, M.L ; Kennerknecht, N. ;Villalba P.1997. Evaluación del impacto de la industria papelera. Ingeniería Química. N°.33. pp.61-66.

Keepple, T.K. 1970. Kraft pulping. Feature review. Tappi, Vol. 53 (1) pp. 629-634

Kirk, T. K. 1987. Lignin-degarding enzymes. En : Eaton, R. ; Hale, M. 1993 . Wood, decay, pests and protection. Chapman & Hall. Cambridge Great Britain. 1-205 p.

Kirk K.; Farrel R. 1987. Enzimatic combustion : the microbial degradation of lignin. Ann Rev Microbial. USA. pp. 465-505.

Kirk, T.K. 1988. Lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. ISI Atlas of Science: Biochemistry. 1(1): pp. 71-76;

Kirk, T. K.; Shimada, M. 1985. Lignin biodegradation: the microorganism involved and the physiology and biochemistry of degardation by white-rot fungi, in Biosinthesis and biodegradation of wood components. Academic Press. London,. pp. 233-245.

Kirk, T.K. ; Farrel, R L. 1987. Enzimatic "combustion": the microbial degradation of lignin. Ann. Rev. Microbiol. 1987. 41. pp. 465-505.

Kirk, T. K.; Jeffries, T. W.; Leathman, G. 1983. Biotechnology : application and implication for the pulp and paper industry. Tappi Journal, 5 pp. 45.

Kline, J. 1982. Paper and paperboard. Miller Freeman Publications, INC. San Francisco. USA :231 p.

Kollman, F. 1959. Tecnología de la madera y sus aplicaciones. Madrid Instituto de Investigaciones y Experimentos. 877 p.

Kollman, F.P. ; Cot,, W. Jr. 1968. Principle of wood science technoloy. Vol.I Tomo I. Solid wood. 592 p.

Kocurek, M. 1983. Introduction to pulp and paper technology . El Departamento de Ciencias e Ingenieria de la Universidad de Wisconsisin. USA. 148 p.

Kocurek, M. 1983. Introduction to alkaline pulping. Capítulo II. realizado por el Departamento de Ciencias e Ingenieria de la Universidad de Wisconsisin. USA. 137 p.

Kocurek, M. 1984. Introduction to bleaching technology. Capítulo III. realizado por el Departamento de Ciencias e Ingenieria de la Universidad de Wisconsisin. USA. 240-280 p.

Kocurek, M. 1983. Propiedades de la fibra. Capítulo I. Departamento de Ciencias e Ingenieria de la Universidad de Wisconsisin. USA. 56 p.

Kooch, P. 1972. Utilization of southern pines. Vol 1. U :S. Department of Agriculture Forest Service. Southern Forest Experiment Station. Wshignglon D.C. U.S.A. 734 p.

Kooch, P. 1972. Utilization of southern pines. Vol 2. U. S. Department of Agriculture Forest Service. Southern Forest Experiment Station. Wshignglon D.C. U.S.A. 924 p.

Krilow, A. 1983. Debarking of fibrous-barked hardwood by ultra-hight pressure water jets. Springer-Verlag. Wood Science and Technology. pp. 145-158

Kurdin, J. A., 1990.Producción de pulpas con refinador de disco y termomecáncias. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.2. Editorial Limusa. México D. F. México. 757 p.

Lachanel, D. C .1980. Chemical pulping without sulphur. Tappi. Vol. 63. N° 11. pp. 59-62.

Lai, Y. Z. 1992. Recents advances in high-yeld pulping. Faculty of Paper Science an Engineering. New York. USA. pp.1-15.

Lackner, R. ; Strebotnik, E. ; Messner, E. 1992. Localization of extracellular ligninase of Phanerochaete chrysosporium in lignocellulosic : science tecnology, develpment and use. Eds J.F. Kennedy, G.O. Philips and P.A Williams). Ellis Horwood, Chichester. England. pp. 41-44.

Lathrop, E. ; Aronosky, S., 1954. The contribuition that sugarcaine bagasse can make to paper and board industries. Tappi. USA. 37 (12) ; p. 24

Leach, J.M; Chung, L.T. 1982. GAS concentrations an occupational healt in kraft mills. Tappi. Vol.63. nº 11. 95-98.

Libby, C. E. 1983. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel.. Vol.1. CIA Editorial Continental. S.A. De C.V. México. México D. F. México. 534 p.

Libby, C. 1983. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. Vol.2 CIA. Editorial Continental. S.A. De C.V. México. México D. F. México. 514 p.

Lin, S. ; Dence, C. 1992. Methods in lignin chemistry. Springer Verlag. New York. USA. 578 p.

Loewus, A.F. y Runeckles, V.C. 1977. Recents advances in phytochemistry. Volume 11. The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood. Plenun Press. New York. U.S.A. 527 p.

La Rosa, C. L., 2001. Comunición personal. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Departamento de Quimica.. Mérida. Venezuela.

La Rosa, C. L., 2002. Comunición personal. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Departamento de Quimica.. Mérida. Venezuela.

Ludwing, L. 1992 Lignins : ocurrence, formation, structure and reaction. John Wiley & Sons, New YorK USA. P. 165-230.

Landucci, L. 1980. Quinone in alcaline pulping. Characterization pf antrahidroquinone-quinone methide intermediates. Tappi (63). n. 7. pp. 95-99.

Leask, R. A.1987. Mechanical pulping. The Joint Textbook Commitee of The Paper Industry. Uneted States of Canada. 284 p.

Little, B.F.1991. Commercial Aspects of Bioconversion technology. En Betts, W.B. Bioderadation : natural and sinthetic materials. Springer Verlag. Berlin. Germany. 237 p.

Lombardo, C.; Padilla A.1998. Manual Teórico Practico de Conversión Química de la Madera y Química Ambiental. Universidad de los andes Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. 168 p.

Loras V. 1990. Blanqueo. Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.1. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

Macarulla,G. ; Goñi, F.1978. Biomoléculas. Editorial Reverté S.A. Barcelona. España. 179 p.

Malcon, E. 1996.Chemical reactions of wood constituyents. En Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1995. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal ,Quebec. Canadá. 378 p.

Marison, (I. W., 1996. Cinética enzimática. En Scragg, A. 1996. Biotecnología para ingenieros. Editorila Limusa. México D.F. México 410 p.

Marteny W. W., 1990.Producción de pulpa semiquímica : Proceso semiquímico al sulfito neutro o proceso NSSC. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.1. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

Martí, A. 2002. Principios de Ecotoxicología : diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente. Mc-Graw Hill/Interamericana de España, S.A.U. Aravaca, Madrid. España. 313 p.

Martino, M. ; Diez F. 1996. Dioxinas y dibenzofuranos en el medio ambiente. Revista Ingeniería Química. 324. pp. 83-87.

Macdonald, R. ; Franklin, J. 1969. The pulping of wood. Vol. 1 McGraw-Hill Book Company. New York. USA. 769 p.

Macdonald, R. ; Franklin, J. 1969. Bleach. Vol. 1 McGraw-Hill Book Company. New York. USA. 813 p.

Mauranen, P. ; Kirjasniemi, M. ; Vanharanta, H. Termomechanical pulp or stone groundwood. Economics in the manufacture of differents paper grades. Proc. 1977 IMPC, Vol. 3, (23) : pp. 1-17

McGinnis, G.D. ; Shafizadeh., F. 1990. F.Celulosa y hemicelulosas. En Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.1. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

McGovern, J.N.1990. Introducción a la producción de pulpas. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.1. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

McGovern, J.N.1990.Productos químicos silvícolas.En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y Tecnología Química. Vol.2. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

Maclean, D. ; Stack K. ; Richadson D. 2003. Wood pitch deposition versus compostion. Pulp and Paper Science and Tchnology : Papermaking Science Technology. Chemical Tecnology. Wood Pulp Paer. Natural. Renewable. Biocompatible. Bratislava, Slovak Republic. p. 190-193.

Melo, R. ; Paz, J.1981. Texto sobre celulosa y papel. Universidad Concepción. Santiago de Chile. Chile. 316 p.

Melo, R.S. ; Paz, J.P. 1980. Texto sobre celulosa y papel. volumen I. fisicoquímica de la madera. Universidad Concepción de Chile. Santiago de Chile. Chile. 127 p.

Menguer, F. ; Goldsmith D. ; Mandel L. 1976. Química orgánica. Fondo educativo Latinoamericano S :A :. Impreso en U. S. A. pp. 392

Metcalf, E. 1977. Tratamiento y depuración de aguas residuales. Editorial Labor, S.A. Barcelona España. 837 p.

Misra, D.K. 1990. Producción y blanqueo de pulpa de fibras no leñosas. En : Casey, J. 1990. Pulpa y papel. Química y tecnología química. Vol.1. Editorial Limusa. México D. F. México. 950 p.

Mogollón, G. 2002. El cálculo del número kappa en relación a algunas latifoliadas. *comunicación Personal*. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Mérida. Venezuela.

Mogollón, G. 1980. Definicón del hidromódulos o relación licor:madera. *comunicación Personal*. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Mérida. Venezuela.

Mogollón, G. 1988. Guías en tecnología de la pulpa. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Mérida. Venezuela. 100 p.

Monsalve, A. 1986. Lignina y lignosulfonatos. Características obtención y aplicaciones. Informe técnico FIRP. Publicaciones del laboratorio de fenómenos Interfaciales y recuperación de petróleo (FIRP). Escuela de Ingeniería Química. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela 10 p.

Monzón, J. R.1994. Curso de actualización sobre tecnología de pulpa y papel. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Facultad de ciencias Forestales y Ambientales. Mérida. Venezuela 45 p.

Monzón, J. R. 1994. Celulosa de bagazo, materia prima para la síntesis de materiales de purificación en fluidos químicos y bioquímicos Grupo de matrices cromatográficas. Apartado 8. Química. La Habana. Cuba. 15 p.

Moore, J. W.; Stanisky, C. L; Wood, J. L.; Katz, J. C.; Jesten, M. D. 2000. El mundo de la Química. Addison Wesley Longman. Neucalpan de Juarez, edo México. México. 906 p.

Morrison, R. ; Boyd, R. 1990. Química orgánica. Addison Wesley Iberoamericana. Wilmigton. Delawere.USA. 1474 p.

Morrison, R.T. ; Boyd, R. 1993. Química orgánica. Addison Wesley Iberoamericana. San Marcos. México. 1375 p.

Mortiner, C. 1983. Química. Grupo Editorial Latinoamérica. México D. F. México.767 p.

Niemeyer, H. 1984. Bioquímica. Volumen I. 2da edición. Inter Médica Editorial. Buenos Aires. Argentina. 164 p.

Navarro, J. ; De La Torre M., 1997. Blanqueo de pastas con oxigeno. Revista Ingeniería Química. (334) pp. 79-84.

Neish, A : C. 1964. En : Formatio of wood in forest trees. M. H. Ediciones Academic Zimmerman. New York U.S.A. 219 p

Neves, J. M. 1987. Processos de alto rendimento e suas características primcipais. Preseantacao para técnicos do proyecto ja Corporación Venezolana de Guyana Pulpa Orinoco. Caracas. Venezuela

Nimz, H.H. 1987. Perspective of the chemical processing o lignoceluloses. Institute of wood chemistry, BHF. D-2050. Hamburg. Federal Republic of Germany. On fourth international symposium on wood an pulping chemistry. Paris.France. Abril; 27, 30 p.

Noller, C. 1980. Química de los compuestos orgánicos. Editorial Médica Quirúrgica. Buenos Aires Argentina pp. 484- 557.

Nuñez, M. ;Chamy, R. ;Videla. 1989.Impacto de la biotecnología en la indutria celulósica. Ingeniería Química. Madrid. España. (11), 248 pp. 110-114.

Otuño, A.V. 1979. El árbol como fuente de materias primas. En : Curso de introducción a la química industrial. Editorial Alambra. Madrid España. 505 p.

Ottocar, P.1973. Diccionario Rioduero. Química. Ediciones Rioduero. Madrid. España. 265 p.

Palazzi, F. 1998. Pulpas CTMP. Fabricación de papeles sanitarios de alto rendimiento mezcladas con otras pastas. Celulosa y Papel de Venezuela. Nov. 88. pp 13-16

Panitz, F. 1988. El bagazo y las pulpas químicas de bagazo. Trabajo presentado en las primeras jornadas Técnicas papeleras Venezolanas. AVTCP, Valencia. Venezuela. 12 p.

Panitz, F. 1992. Extracción Oxidativa en el Blanqueo de pulpas químicas de bagazo. Celulosa y papel de Venezuela. Organo divulgativo oficial de la Asociación Venezolana de Técnicos en Celulosa y paple AVTCP. Mérida. Venezuela. pp. 20-24.

Paricio, M. 1994. La Biotecnología en la industria papelera : aplicaciones y perspectivas. Revista Ingeniería Química. 301. Madrid España. pp. 69-73.

Parker, S. 1991. Diccionario McGraw-Hill de Biología.. Tomo I. MCGraw-Hill. México D.F. México.335 p.

Parker, S. 1991. Diccionario McGraw-Hill de Biología.. Tomo II. MCGraw-Hill. México D.F. México.284 p.

Parker, S. 1991. Diccionario McGraw-Hill de Química. Tomo I. MCGraw-Hill. México D.F. México.184 p.

Parker, S. 1991. Diccionario McGraw-Hill de Química. Tomo II. MCGraw-Hill. México D.F. México.200 p.

Parker, S. 1994. Diccionario McGraw-Hill de Física. Tomo I. MCGraw-Hill. México D.F. México.286 p.

Parker, S. 1994. Diccionario McGraw-Hill de Física. Tomo II. MCGraw-Hill. México D.F. México.286 p.

Patt, R. 1982. Significado y problemas del blanqueo. En : Patt, R. ; Faix O ; Ramirez F. ;Vásquez H. ; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Patt, R. 1982. Aplicación de peróxidos en el blanqueo de la celulosa. En : Patt, R. ; Faix O ; Ramirez F. ;Vásquez H. ; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Patt, R. 1982. Blanqueo de pulpas alcalinas, con álcali oxígeno. En : Patt, R. ; Faix O; Ramirez F.; Vásquez H.; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Patt R. 1982. Substitución parcial y total del cloro por dióxido de cloro en el blanqueo de la celulosa. En: Patt, R.; Faix O Ramírez F.; Vásquez H.; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Patt, R. ; Faix O ; Ramirez F. ;Vásquez H. ; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Patt ,R. ; Faix O. Ramirez F. ;Vásquez H. ; Meier D. 1979. Química y tecnología de la lignina: Número Kappa de la pulpa. Instituto de madera celulosa y papel. Guadalajara. México. 286 p.

Patt, R.1982. Blanqueo de la pulpa con ozono/NOx. En : Patt, R. ; Faix O ; Ramirez F. ;Vásquez H. ; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Peña, V. M. 2002. Introducción a la tecnología de pulpa y papel. Corporación Centro de Capacitación y Desarrollo. Tecnológico para la industria papelera. Cali. Colombia 198 p.

Peña, V. M. 1988. Apuntes de conversión química de la madera. Universidad de los Andes Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Mérida Venezuela 75 p.

Peña, V.; Rojas O. 1993. Curso Sobre Tecnología de Pulpa y Papel. AVTCP. Universidad de Los Andes. Escuela de Ingeniería Química. Mérida. Venezuela. 115 p.

Perdomo, A. G. 1988. Manual de laboratorio Química Orgánica. Forestal-Educación-Ciencias. Extracción y síntesis de compuestos orgánicos. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Mérida Venezuela. 85 p.

Philips, J.S. ;Strozk. ; Cheryl, W.1999. Química. McGrawHill. México. D.F. México. 857 p.

Philip, P.; Otero, L. 1988. Celulosa e Papel. Tecnología de Fabricasao de Pasta Celulosica. Vol. I. Sao Pablo. Brasil. 599 p.

Pickering, W. 1976.Química analítica Moderna. Editorial Reverté S.A. Barcelona. España. 688 p.

Quesada, J.; Rubio, M.;Gómez D. 1998. El ozono y sus aplicaciones industriales. Revista Ingeniería química. Madrid. España. pp. 231-237.

Quintero, R. R. 1981. Ingeniería bioquímica. Alhambra Mexicana. México D.F. México. 332 p.

Rapson, W. 1969. Mechanism of groundwood pulping. Appita. 23 (2). pp. 102-114.

Reese, E.T. 1977. Degradation of polimeric carbohydrate by microbial enzimes. En: Loewus, A.F. y Runeckles, V.C. 1977. Recents advances in phytochemistry. Volume 11. The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood. Plenun Press. New York. U.S.A. 527 p.

Reeve, D.W. 1996. Bleaching technology. Malcon, E. 1996. En: Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal, Quebec. Canadá. 637 p.

Ribas, J.; Fonfrías R. 1999. Ingeniería Ambiental. AlfaOmega. Marcombo. Madrid. España. 143 p.

Richardson, M. 1979. Translocación en las plantas. Editorial Omega. Barcelona. España. 73 p.

Roberts, J.D. Stewart, R. Caserio M.C. 1974. Quimica orgánica: de metano a macromoléculas. Fondo Educatico Interamericano, S.A. Impreso en E.U.A. 787 p.

Rodríguez, J. J.; Solbes, A. 1989. Utilización de los subproductos agrícolas como materia prima celulósica,. Revista Ingeniería Química. España. (241) ; pp.113-

Rodríguez, J.R. 1979. Proceso al Sulfato. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Laboratorio Nacional de Productos Forestales. Mérida. Venezuela. 7 p.

Rodríguez, J.; R. 1977. Procesos semiquímicos y quimicomecánicos. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida. Venezuela. 5 p. s.p.

Rodríguez, J. R. 1978. Procesos de alto rendimento. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida. Venezuela. 8 p. s.p.

Rodríguez, J. R 1977. Proceso al sulfito. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida. Venezuela. 8 p. s.p.

Rodríguez, J. R. 1980. Apuntes de Conversión Química de la Madera. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida. Venezuela. 87 p.

Rodríguez, J. R. 1979. Blanqueo de pulpas celulósicas. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida. Venezuela. 12 p.

Rodríguez, J. R. 1965. Consideraciones sobre la producción de pulpa para papel a partir de madera de especies latifoliadas venzolanas. Separata de la revista forestal Venzolana. Facultad de Ciencia Forestales de la Universidad de los Andes. Nos.12-13. Mérida venezuela pp. 19-37.

Rodríguez, L. ;Cáceres, H.1986. Influencia de la antraquinona en la producción de pulpas alcalinas a partir de *Leucaena leucocephala*. Centro de investigaciones en celulosa pulps y pspel. Bucaramanga. Colombia. 94 p.

Rojas, O. 1992. Curso sobre pulpa y papel. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Química. Mérida. Venezuela. 120 p.

Rojas, J. 1996. Acuiquímica. Editorial Presencia. Santafé de Bogotá. Colombia. 226 p.

Romero, L. 1991. Agentes dispersante a partir de ligninas recuperadas de los licores residuales de pulpeo a la soda de bagazo. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias forestales y Ambientales. Mérida Venezuela. Seminario de tesis. S.P. 81 p.

Rowell, R. 1984. The chemistry of the solid wood. Advances chemistry series. American society. Washington D.C. U.S.A. 614 p.

Rowell, R. 1990. Materials science of lignocelulosics. Materials Research Society symposium, 1990 April 18-20. Vol 197. San Franciso. USA. pp. 3-9

Ruiz, J.P.; Rodríguez, A.F.; Ruiz, P.V. 2000. Alimentos transgénicos. La nueva revolución verde. McGrawHil. Barcelona. España. 230 p.

Sachs, I.; Leatham, F.; Myers, G. Wegner, R. 1990. Biomechanical pulping of aspen chips : fungal growth pattern and effect on cell wall, fiver, and pulp morfology. En KirK T. y Goum-Min C. 1190. Biotechnology in pulp and paper maufacture. Applications and fundamental investigation. Stoneham, MA ; Butterworth-Heinemann. Capítulo 3. pp. 27-46

Saka, S.; Gratzel, T.; Abson, D. 1982. Topochemistry of delignification in douglas fir wood with soda, soda-antraquinona on kraft pulping as determined by sem-dedxa. Wood Sci. Technol. (16). pp 139-153.

Sakakibara, A. 1977. Degradation products of protolignin and the structure of lignin. En Loewus, A.F. y Runeckles, V.C. 1977. Recents advances in phytochemistry. Volume 11 The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood. Plenun Press. New York. U.S.A. pp 1-44. 527 p.

Santos, M.A. ; Temes, S.B. 1989. Análisis comparativo del contenido de ácidos fenólicos libres en las hojas y horizonte Ao de suelo de *Eucalyptus globulus*, *Pinus pinaster* y *Quercus robur*. Comunicaciones I.N.I.A. N. 49. Departamento Forestal de zonas húmedas. Madrid. España. 47 p.

Sánchez, F. Utilización de enzimas en el blanqueo de la pasta al sulfato de eucalipto. Actas del Congreso Forestal Esoañol. Lourizán. Pontevedra. España. Pp.227.

Schweers, W ; Faix, O. 1978. Introducción a la química de los carbohidratos. En : Instituto de madera celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera. Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Schweers, W. 1978. Oligosacáridos, polisacáridos y estructura de la celulosa. En Instituto de madera celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera. Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Shimada, M., et al 1992. En : Eaton, R. ; Hale, M. 1993 . Wood, decay, pests and protection. Chapman & Hall. Cambridge Great Britain. pp. 1-205.

Shimada, M. ; Higuchi, T.1991. Microial, enzymatic , an biomemetic degradation of lignin, in Wood an cellulosic chemistry, (Eds D.N.S. Hon and N. Shiraishi), Mrercel Dekker, New York. USA. pp. 557-619.

Silverio, H. N. 1990. Manual de derivados de la caña de azúcar. Insituto cubano de los derivados de la caña de azúcar (ICIDCA). Colección GEPLSCEA.México D.F. México 447 p.

Smoog, G.A.1990. Manual pare técnicos papeleros: pulpa y papel. Tappi Press. Atlanta USA.

Swartz, J. N. ; MacDonald, R. C., 1983. Obtención de pulpas alcalinas. En : Libby, C. E. 1983. Ciencia y tecnología sobre pulpa y papel. CIA. Vol.1. Editorial Continental. S.A. De C.V. México. México D. F. México. 534 p.

Sawyer, C.;. McCarty, P.; Parkin G. 2000. Química para ingenieros ambientales. McGraw Hill. Bogotá D.C. Colombia. 713 p.

Sax, I. N. ; Lewis, R. J. 1993. Diccionario de Química y de productos químicos. Ediciones Omega. Barcelona España. 1175 p.

Schafer, E ; Hyttinen, A.. 1950. TMP precess. Tappi. 33 (7) pp. 335.

Schoemaker, H. E. ; et al. 1991. En : Betts, W.B. 1991. Bioderadation : natural and sinthetic materials. Springer Verlag. Berlin. Germany. 237 p.

Schroeder, H. 1977. Chemical pulp form hardwood native to the south; review tecniques, propieties, and markets. Forest Producto Journal. Wisconsis. USA. P. 25-27.

Scragg, A. 1996. Biotecnología para ingenieros. Editorial Limusa. México D.F. México 410 p.

Siau, J. 1984. Transport Process in Wood. Springer Series in Wood Science. Heidelberg. Munich. Germany. 245 p.

Sims, P. Brown, A. James, C. Raeder, U. Scrank, A. Broda, P. 1988. 364-363. En Aubert, J.P. Beguin, P. Millet, J. 1988. Biochemistry and genetics of cellulose degradation. Academic Press. Institut Pasteur, Paris, France. 415 p.

Smith, C. A. ; Wood, E. J. 1998. Biologia molecular y Biotecnologia. Addison-Wesley Iberoamericana. Washington, Delawere, E.U.A. 247 p.

Sjostrom, E. 1981. Wood Chemistry, fundamentals and applications. Academic Press. N.Y. U.S.A. 223 p.

Sjostrom, E. 1993. Wood chemistry. Academic Press INC. San Diego. California. USA. 293 p.

Skoog, D.; West, D.1993. Quimica analitica. McGraw-Hill.Madrid. España. 725 p.

Smith C. ; Wood E. 1997. Moléculas Biológicas. Addison Iberoamericana S.A. Wilmington. Delawere. E.U.A. 205 p.

Smook, G. 1990. Manual para técnicos de pulpa y papel. Tappi Press. Atlanta., GA.USA.396 p.

Stamm, A.J. 1964. Wood and cellulose science. The Ronald Press Company. New York.U.S.A. 549 p.

Stanley, R.G. 1969. Extractives of Wood, Bark, and Needles of the Southern Pines. Forest Product Journal. Vol 19. No.11. 50-56.

Suchek, V. I. ; Silva, C.A ; Martins, C.. 1983. Fábrica de celulose para o mercado internono TMP/CTMP para celulosa kraft. : Sominario N°.. I de pasta de alto rendimento. Lages. S.C. pp. 38-45

Swain, T. Hillis, W.E. Larson, P.R. 1981. Wood chemistry. En Age and growth rate of tropical trees: new direction research. New Haven: Yale University: Shcool of Forestry and Environmental Studies. Bulletin N..94. 55-82.

Timell, T. 1982. Recent progress in the chemistry an topochemistry of compression wood. Wood Sci. Techno. 16: 83-122.

Timell, E. 1965. Laboratory Instruction. Syracuse University. New York USA. 57 p.

Timell, E. 1965. Wood Chemistry. Syracuse University. New York USA. 179 p.

Timell, T.E. 1965. Laboratory instruction in cellulose and wood chemistry. Second. edition. 57 p.

Timell, T.E. 1982. Recent progress in the chemistry and topochemistry of compression wood. Wood Sci. Technol. 16:83- 122(1982).

Torregrosa J. A. ; De Heredia, B. ; Gonzalez, M.S. ; Merino, F. 1994. Aplicaciones industriales del dióxido de cloro. Revista Ingeniería Quimica. Madrid. España. (5) 266, pp. 195-198.

Trotter, P.C. 1990. Biotechnology in pulp and paper industry : a review. Tappi Journal. P. 198-201.

Tsoumis, G. 1968. Wood as raw material. Pergamon Press. First edition. London. 276 p.

Turbok, A.F. 1975. Cellulose technology research. A.C.S. Symposium Series. 10. Washington D.C. 200 p.

University of New York. College Environmentes. Science and Forestry. Syracuse, NY 13210. U.S.A. 245 p.

Van Fleet, S.1996. Digester Optimization and control. En : Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M.1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal ,Que. Canadá. 637 p.

Vásquez, H. R. 1982. Estudio de pulpas alcalinas de encino con la secuencia de blanqueo CE/HD. En : Patt, R. ; Faix O ; Ramirez F. ;Vásquez H. ; Meier D. 1982. Química y tecnología del blanqueo moderno de pulpa celulósica. Universidad de Guadalajara. México. 286 p.

Vidal, G. ; Mendez, R; Lema J.M.1996. Efluentes en el procseo kraft. Ingeniería Química. (4) 322 p.

Vidal, T; Colom J. 1997. Blanqueo de pastas con ozono. Revista Ingeniería Química. 334. Madrid España. pp. 69-75.

Vidal T. ;Colom J. ; Torres, A. L. 1996. A medium consistency ozone bleaching of euculiptus kraft pulp. The 8 tH International Symposium on wood an pulping chemistry. Helsinki. pp 335-360.

Villaquirán A. 1987. Pulpeo del bagazo de caña por el proceso soda-antraquinona. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias forestales y Ambientales. Mérida Venezuela. Tesis de Postgrado S.P. 54 p.

Villalvazo, J. 1978. Procedencia y distribución de los carnohidratos en las plantas. En : Instituto de madera celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera. Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Villalvazo, J. 1978. Ferementación butanol-acetona. En : Instituto de madera celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera. Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Villalvazo, J.; Hosaka, I. 1979. Lignosulfonatos. En Química y tecnología de la lignina. Instituto de madera celulosa y papel. Universidad de Guadalajara. México. 185 p.

Villar, C. 2003. Diversos aspectos relativos a la elaboración de pulpa para papel mediante aplicación de la biotecnología. Conferencia de dos horas de duración dictada en octubre de 2003. En Laboratorio Nacional de productos Forestales. Mérida Venezuela.

Vogel, A. 1970. A text-book of practical organic chemistry. Longman. London Great Britain. 1188 p.

Vercoe, D. ; Stack, K. Blackman, A. ; Richardson, D. 2003. En : Chemical tecnology of wood pulp paper. Septemebre 17-19, 2003. Bratislava, Slovak Rupublic. pp. 128-133

Wenzel, H. 1970. The chemical technology of wood. Academic Press. New York USA. 692 p.

Westermark, U.1985. The ocurrence of p-hidroxiphenylpropane units in the middle-lamella lignin of spruce (*Picea abies*). Wood Science and Technology. Springer Verlarg. 19. pp.223-232. U.S.A.

Wikdhahl, B. Centrifugal cleaning. Malcon, E. 1996. En : Grace, T.; Leopold B.; Malcolm E.; Kocurek M. 1996. Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping. Vol. 5. The Joint Textbook Committee of Ther paper Industry. TPPI & CPPA. Atlanta, GA, U.S.A. & Montreal ,Oue. Canadá. 637 p.

Willard, H.; Merrit, Jr.; Dean, J. 1991. Método instrumentales de análisis químico. Grupo Editorial IberoAmérica. México D.F. méxico. 879 p.

Yang, K. Lou; G. Eriksson, K.E.1992. The impacto of xilanase on bleanching of Kraft Pulps. Tappi Journal 12 ppp.95.

Zimmerman, W. 1989. The lignin biopolymer: products and potential applications of lignin biodegrading system. Chimia 43 (1989) pp. 396-403.

Zlatkis, A. ; Breitmaier, E. 1978. Introduccióna la Química Orgánica. Libros McGraw-Hill Naulcalpan de Juarez, Edo de México. México. 660 p.

Zuñiga, V.1978. Posibilidades técnicas de obtención de alimentos a partir de la madera. En : Instituto de madera celulosa y papel. Química y tecnología de los carbohidratos de la madera Universidad de Guadalajara. México. 191 p.

Zurita, M. 1978. Química Orgánica. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Departamento de Ouímica. Mérida. Venezuela. 170 p.