

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 709**

21 Número de solicitud: 201600924

51 Int. Cl.:

B27K 3/40 (2006.01)

B27K 3/38 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

03.11.2016

43 Fecha de publicación de la solicitud:

07.05.2018

71 Solicitantes:

UNIVERSIDADE DE VIGO (100.0%)

Campus Universitario s/n

36310 Vigo (Pontevedra) ES

72 Inventor/es:

MOLDES MOREIRA, Diego;

DOMÍNGUEZ REPRESAS, Alberto ;

OTHMAN MOSTAFA, Abdelmageed Mohamed y

SANROMÁN BRAGA, María Ángeles

54 Título: **Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática**

57 Resumen:

Se describe un procedimiento para conseguir la unión permanente de ciertos retardantes de llama a madera y/o productos madereros mediante un tratamiento químico enzimático. Para ello se utilizan enzimas oxidativos, que son capaces de actuar sobre algunos compuestos que se emplean como retardantes de llama, en concreto compuestos orgánicos halogenados. Al poner en contacto la madera a tratar, algunos retardantes de llama específicos en medio acuoso y los enzimas comentados, se crean las condiciones para que se generen enlaces químicos estables entre los retardantes de llama y la madera. Esto proporciona una unión permanente de los retardantes de llama a la madera y/o productos madereros, lo que impide su liberación y lixiviación durante la puesta en servicio de la madera tratada, lo que elimina el principal problema de la aplicación de este tipo de retardantes de llama.

ES 2 666 709 A1

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática

5

SECTOR DE LA TÉCNICA

La invención está dirigida al sector de tratamiento de materiales, concretamente a la madera y productos derivados de la misma, con el objetivo de mejorar sus propiedades. De una forma más concreta, la propiedad que se mejora es la resistencia del material frente a la combustión, de modo que la invención está también referida a los tratamientos retardantes de llama.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La madera es un material natural y renovable de estructura compleja. Celulosa, hemicelulosa y lignina son sus principales componentes; en menores cantidades hay otro tipo de compuestos como grasas, extractivos, metales, etc. La celulosa y sobre todo la hemicelulosa son los polímeros que proporcionan a la madera una baja resistencia al fuego. Por el contrario la lignina sí ofrece cierta resistencia a ser carbonizada. Aunque la madera ofrece una cierta resistencia inicial al fuego, debido a su baja conductividad térmica y a la presencia de lignina, esta capacidad depende de las diversas características que tiene el tipo de madera que se considere. Factores como la densidad, permeabilidad, morfología, contenido en humedad o composición química de la madera afectan de forma significativa a las propiedades de resistencia frente al fuego.

La madera, para su uso como material de construcción, transporte o decoración, necesita cumplir unos requisitos de resistencia frente al fuego. Suele ser necesario en tales casos utilizar compuestos que aumenten esa resistencia, son los denominados retardantes de llama. Los retardantes de llama son compuestos químicos que reducen la probabilidad de que se produzca un fuego o que retrasa su propagación una vez se ha iniciado. Existen varios métodos para aplicar estos compuestos: mediante pulverización, a pincel, por inmersión o impregnación a vacío-presión.

Desde el punto de vista químico los retardantes de llama pueden clasificarse en cinco

categorías principales:

1. Compuestos inorgánicos, que a su vez pueden dividirse en compuestos activos y compuestos pasivos. Los primeros actúan liberando agua al calentarse y por lo tanto disminuyendo el calor de la superficie del material que se quema.
5 Ejemplos de compuestos activos serían el trihidróxido de aluminio y el dióxido de magnesio. Los compuestos pasivos funcionan al impedir o dificultar el contacto entre las sustancias combustibles liberadas por el material y la llama, ya sea por reacción con esas sustancias o por la formación de una capa que limite su liberación físicamente. Son retardantes pasivos el borato de zinc o el trióxido de antimonio.
10
 2. Aditivos que contienen silicio, como nanopartículas de dióxido de silicio o arcillas naturales.
 3. Compuestos orgánicos fosforados, como el trifenil fosfato o el polifosfato amónico. Actúan normalmente fomentando la generación de una capa carbonada en la superficie del material, lo que limita la liberación de gases inflamables durante la combustión.
15
 4. Compuestos ricos en nitrógeno como la melamina y sus derivados. Estos compuestos son capaces de reducir la concentración de gases inflamables producidos en la combustión, pero también liberando gases inertes que inhiben las reacciones químicas que se producen durante la misma.
20
 5. Compuestos orgánicos halogenados, ya sean bromados, clorados o fluorados. Actúan directamente en la reacción de combustión parando las reacciones que conducen a la formación de la llama.
- 25 Los compuestos halogenados más utilizados como retardantes de llama son los bifenilos polibromados, los difenileter polibromados y el tetrabromobisfenol A. En un inicio, los bifenilos polibromados se utilizaron en gran medida, pero la preocupación por su impacto medioambiental hizo que se fueran sustituyendo progresivamente por los difenileter polibromados. A su vez estos también han sido sustituidos por el tetrabromobisfenol A, en un intento de reducir el riesgo medioambiental. Todos estos
30 compuestos bromados parecen tener una elevada persistencia en el medioambiente y tienden a acumularse en los tejidos grasos de los animales, pudiendo causar daños para la salud. Estos compuestos están presentes, como retardantes de llama, en multitud de materiales, como plásticos de ordenadores, televisores, asientos de coche y fibras textiles.
35

La utilización de un determinado tratamiento de protección de la madera frente al fuego ha de tener en cuenta, no sólo el resultado de las pruebas una vez aplicado dicho tratamiento, sino también la durabilidad del tratamiento en el tiempo. El lavado
5 de los retardantes de llama en maderas expuestas a condiciones de humedad o intemperie será tanto mayor cuanto mayor sea su solubilidad. Las sales inorgánicas, muy solubles en agua, pueden ser un problema para estos usos. La utilización de retardantes de llama ricos en nitrógeno o fósforo pueden acelerar el crecimiento microbiano sobre la madera, y su degradación. Algunos tratamientos pueden dar
10 colores no deseados, empeorar la aplicación posterior de pinturas o adhesivos, generar corrosión o incluso debilitar la estructura de la madera.

Es importante señalar que no es lo mismo el uso como aditivo de un retardante de llama, que el uso como reactivo. Por ejemplo, el tetrabromobisfenol A se usa como
15 reactivo uniéndose mediante un enlace covalente al material plástico al que se le pretende mejorar su resistencia frente al fuego, mientras los difenileter polibromados se quedarían simplemente atrapados en su estructura. Es menos probable que los compuestos reactivos se lixivien o se volatilicen, mientras que los aditivos son liberados más fácilmente.

20 Por lo tanto, en el caso de la madera y derivados madereros, lo ideal sería encontrar un retardante de llama que pudiera unirse de forma covalente a dichos materiales, para que se mantuviese durante su uso en servicio, sin que le aportase propiedades indeseables como color, fomento de crecimiento microbiano, debilidad estructural, etc.

25 Un retardante de llama con estas características evitaría también los problemas ambientales y sanitarios derivados de la liberación de los mismos con el paso del tiempo. Este problema es uno de los principales inconvenientes de estos compuestos, de modo que la unión estable de los retardantes de llama a la madera evitaría este tipo
30 de inconvenientes.

Algunas enzimas oxidasas, como peroxidasas, lacasas, tirosinasas, etc., presentan la capacidad de unir algunos compuestos fenólicos a materiales lignocelulósicos. Así, se
35 ha descrito la modificación de la celulosa en pastas de papel o incluso la modificación de la madera, con el objetivo de modificar sus propiedades, sobre todo para mejorar la

hidrofobicidad. Estas enzimas son capaces de realizar, utilizando el oxígeno del aire, un acoplamiento radicalario de compuestos fenólicos a las fibras lignocelulósicas, de forma similar a como sucede en la naturaleza en la polimerización de la lignina en las paredes celulares de las plantas. Además, estas enzimas pueden usarse en medios
5 acuosos que contienen altos porcentajes de algunos disolventes orgánicos, por lo que podrían emplearse sustratos muy poco solubles en agua.

De entre las oxidasas, las que más interés despiertan, aunque no de forma excluyente, por su mayor facilidad de aplicación industrial son las lacasas, que son capaces de
10 actuar ante algunos compuestos fenólicos y aminas aromáticas. La reactividad de las lacasas depende de las particularidades del enzima (potencial redox, organismo productor) y de su sustrato. Así, los compuestos fenólicos reaccionarán con las lacasas, en función de su estructura química, y generarán sus correspondientes radicales fenoxi, los cuales podrán reaccionar de diversas formas. Una de estas
15 posibles formas es la unión a determinados materiales, como por ejemplo, la madera. De este modo las lacasas presentan la capacidad de promover la unión estable de algunos de sus sustratos a determinados materiales.

Lo que se pretende es utilizar estas enzimas para hacer una unión permanente entre
20 la madera y un retardante de llama, que debe ser de naturaleza fenólica. Esto limita el ámbito de esta aplicación a los retardantes orgánicos halogenados. Las ventajas de este tratamiento serían:

- Una mayor duración de la protección frente al fuego al no perderse el retardante por lixiviación o volatilización, ya que el enlace entre el retardante de llama y el
25 material maderero es de naturaleza covalente, por tanto estable.
- Un producto más seguro desde el punto de vista sanitario, por el mismo motivo que el explicado en el punto anterior, ya que se limita el lavado y/o volatilidad de los compuestos. De este modo el contacto directo de los retardantes de llama con los seres vivos se elimina, ya que los retardantes de llama no están libres, sino
30 unidos covalentemente a la madera tratada.
- Un rango de condiciones (T, pH) de aplicación ajustables mediante la elección de la enzima, pero siempre en condiciones suficientemente suaves para no dañar significativamente la madera o material maderero a tratar.
- La aplicación del tratamiento en condiciones y con materiales convencionales.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

La presente invención consiste en un procedimiento mediante el cual se consigue unir compuestos retardantes de llama halogenados, los cuales contienen grupos fenólico y/o amino en su estructura química, a madera o productos derivados de la madera, mediante la acción de enzimas oxidasas tales como catecol oxidasas, tirosinasas o lacasas. La enzima empleada promueve la unión estable entre el retardante de llama y la madera, de modo que el retardante de llama se mantiene unido al material tratado tras el procedimiento y no se volatiliza ni lixivía.

Los compuestos empleados como retardantes de llama según este procedimiento, tienen inconvenientes medioambientales significativos debido a determinados efectos biológicos y sobre la salud. Los peligros de los materiales convencionalmente tratados con estos compuestos son aquellos derivados de su volatilización y su lixiviación al medioambiente. El procedimiento propuesto evita estos procesos de liberación de los retardantes de llama al medioambiente, eliminando así el problema de los efectos biológicos y sobre la salud, gracias a la promoción de la unión covalente de dichos retardantes de llama a los materiales madereros tratados.

El procedimiento consta de las siguientes etapas principales:

- a) un acondicionamiento previo del material que comprende acciones de limpieza y/o lavado, mecanizado (descortezado, incisionado, corte a medida) y secado que variará según el tipo de madera;
- b) un tratamiento químico enzimático del material de madera con una disolución de un compuesto o una mezcla de compuestos retardantes de llama orgánicos halogenados de tipo fenólico activados por una enzima del tipo oxidasa;
- c) un secado del material maderero tratado y,
- d) un lavado para retirar los subproductos generados en el tratamiento anterior y/o los compuestos retardantes de llama no unidos a la madera

La madera o productos madereros a tratar se deben acondicionar para que el tratamiento químico enzimático propuesto sea lo más efectivo posible. El acondicionamiento consiste en la realización de diversas etapas de mecanizado de los materiales a tratar para darles su dimensión y textura superficial finales, tales como

descortezado, posible incisionado si la permeabilidad de la madera es muy baja, corte a medida de las piezas, lijado y secado, debido a que la humedad de la madera no debe ser elevada (preferiblemente no superior al 20%) para favorecer la penetración de la solución de tratamiento. Se deben minimizar en lo posible los tratamientos mecánicos posteriores al tratamiento químico enzimático, ya que podrían erosionar el material tratado y afectar al resultado del mismo.

Tras el acondicionamiento de los materiales madereros, se lleva a cabo el tratamiento químico-enzimático que consiste en la reacción enzimática entre una enzima del tipo oxidasa y una disolución de compuestos retardantes de llama, preferentemente compuestos orgánicos halogenados del tipo fenólico o una mezcla de los mismos. Esta reacción activa a los retardantes de llama de tal forma que se unen a la madera de forma estable, si ésta está presente. Este tratamiento, consiste inicialmente en la preparación de la disolución de compuestos retardantes de llama y la enzima oxidasa a emplear, y posterior impregnación de la madera acondicionada. Dicha preparación e impregnación variará según la modalidad de adición de la enzima:

- 1) enzima en disolución: en este caso las disoluciones de retardante de llama y enzima se pueden adicionar separadas o previamente mezcladas al material maderero a tratar, aunque se recomienda este último tipo de aplicación. El medio acuoso, con la enzima y el compuesto retardante de llama, se tiene que poner en contacto con la madera, para que se inicie la unión "retardante de llama-madera", de tal modo que haya líquido libre sobre la superficie de la madera para que el retardante de llama oxidado pueda alcanzar un punto de unión en la madera.
- 2) enzima inmovilizada: en este segundo caso, el enzima se deberá previamente inmovilizar a un soporte sólido, ya sea mediante adsorción o enlace covalente, o bien encontrarse confinado mediante encapsulación o similar. En esta modalidad de tratamiento, dicho enzima no se pone en contacto con la madera de forma directa, sino que hay una etapa de preactivación del retardante de llama en la que el compuesto retardante de llama y enzima inmovilizada seleccionados se ponen en contacto. Tras este contacto entre enzima y disolución de retardante de llama, la disolución resultante, que incluye el retardante de llama activado por el enzima, se pone en contacto con la madera o producto maderero. Esta modalidad de utilización del enzima en estado inmovilizado permite la reutilización del enzima de modo sencillo.

En cualquier caso, independiente de las modalidades anteriores, la adición de la disolución de retardante de llama activado a la madera a tratar, es compatible con cualquiera de los métodos y equipamientos convencionales empleados en el tratamiento de la madera, como los tratamientos de modo superficial (pulverización, pincelado, inmersión breve) o en profundidad (inmersión prolongada, impregnación a vacío-presión). El tratamiento finaliza, en todos los casos, dejando actuar a los retardantes de llama activados durante un tiempo recomendado de unas 2 horas al aire. De todos modos, este tiempo puede variar entre 1 minuto y 20 horas en función del tipo y cantidad de enzima, el tipo de madera y el modo de aplicación

10

En una realización preferente, la concentración de los compuestos activos será variable en función de la madera a tratar, la enzima empleada, el resultado esperado y el compuesto o compuestos empleados como retardantes de llama. De modo orientativo, la actividad enzimática a emplear debe ser del orden de 0.1 a 100 U/g de madera seca para la enzima en disolución, mientras que en el caso de enzima inmovilizada la concentración podría ser menor, entre 0.01 y 100 U/g de madera seca, considerando las particularidades del tratamiento. Por su parte, la concentración del retardante de llama estará comprendida entre 0.1 y 10 mM.

En una realización preferente, pueden añadirse, en función de las necesidades, algunos compuestos que mejoren el tratamiento tales como:

- a) surfactantes o disolventes orgánicos para favorecer la disolución del retardante de llama; los disolventes orgánicos preferencialmente en una proporción no superior al 40% en volumen.
- b) soluciones ácidas, básicas o reguladoras, para mantener el pH de la disolución dentro del rango adecuado para el correcto funcionamiento del enzima, siendo preferentemente el disolvente de reacción un medio acuoso con pH entre 4 y 10, preferentemente tamponado con tampón citrato/fosfato.

En una realización preferente, en un principio son susceptibles de ser usados como compuestos retardantes de llama, aquellos compuestos que posean dos características:

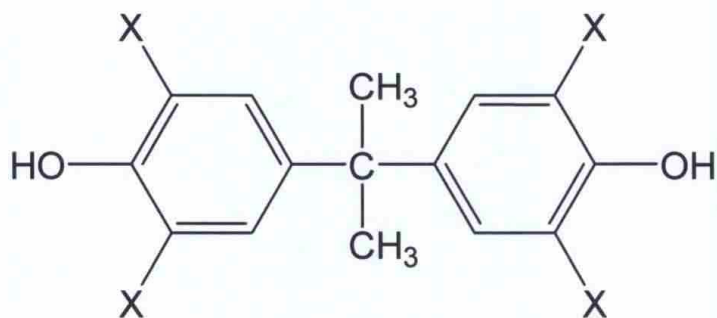
- 1) que tengan en su estructura química grupos en los que las enzimas oxidasas pueden actuar y activar de tal modo que se pueda producir su unión estable a la madera.

2) que posean algún elemento halógeno, fundamentalmente cloro (Cl) o bromo (Br) en su estructura química

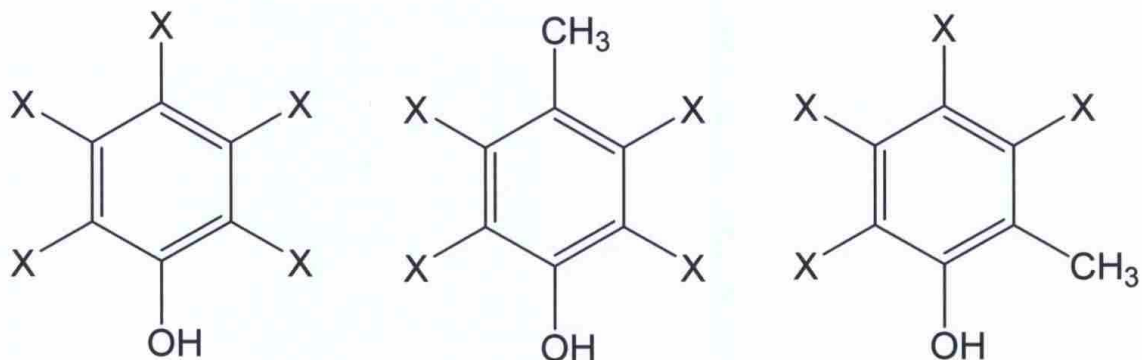
Estos compuestos son fundamentalmente los denominados compuestos orgánicos de tipo fenólico y halogenados (el elemento halogenado está denotado por "X" en las siguientes estructuras de dichos compuestos químicos), tales como:

5

a) Estructuras basadas en el Tetrabromo bisfenol A

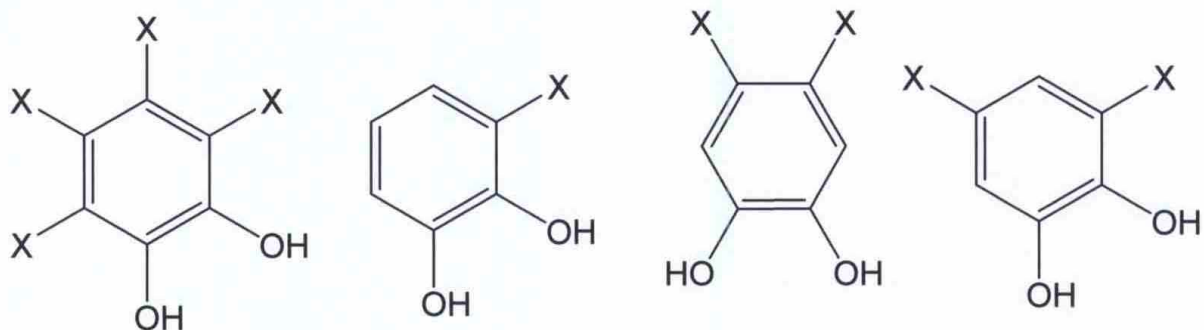


b) Fenoles halogenados con un solo grupo fenólico y un solo anillo aromático



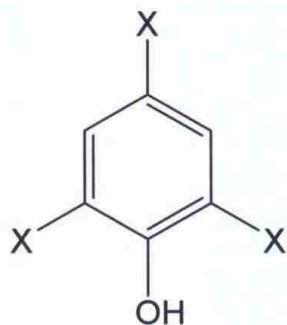
10

c) Catecoles halogenados

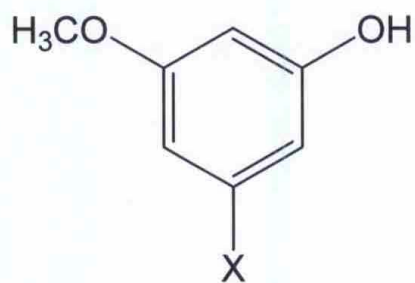
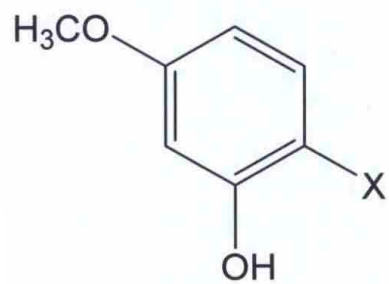
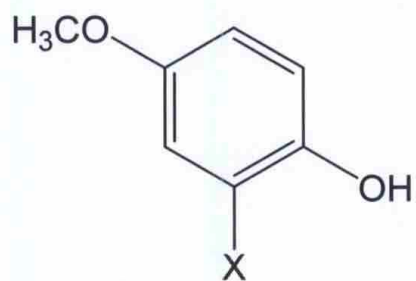
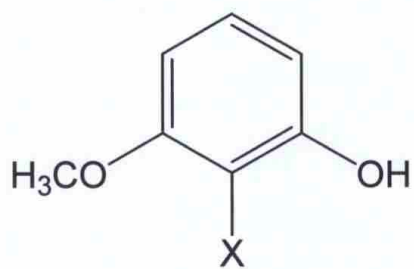
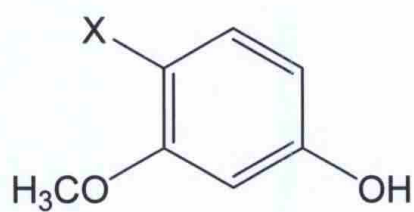
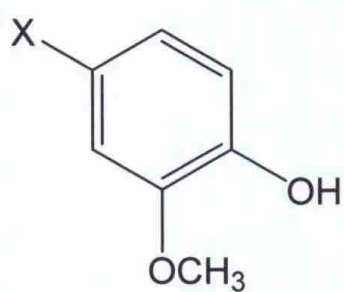


15

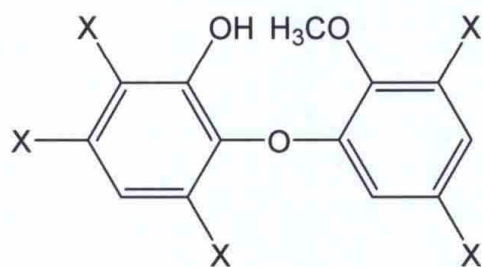
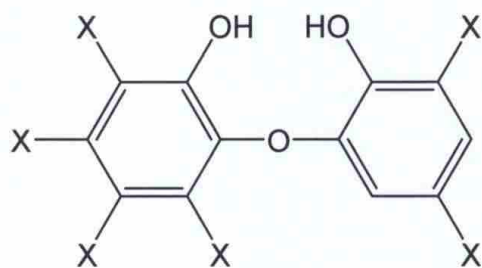
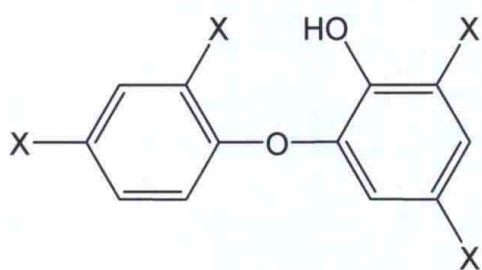
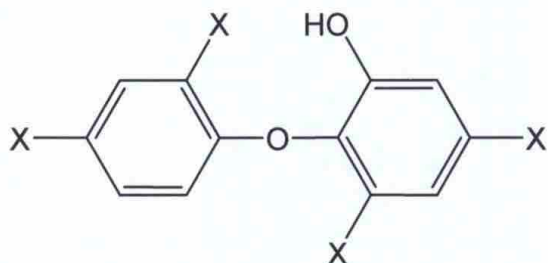
d) Fenol trihalogenado



e) Metoxi fenoles halogenados



f) Difenil éteres polihalogenados



En una realización preferente, el tipo de enzima se puede emplear diversas oxidasas tales como fenoloxidasas (tirosinasas), catecol oxidasas o lacasas, que pueden proceder de diversas fuentes microbianas, o bien ser producidas ya sea mediante

organismos naturalmente productores de estos enzimas, o mediante organismos modificados. Las condiciones de operación óptimas variarán según el tipo de enzima y compuesto retardante de llama a emplear.

5 Tras el tratamiento químico-enzimático, ya sea con enzima inmovilizado o con enzima en disolución (con mezcla previa con el retardante de llama, o no), se procede al secado del material maderero tratado hasta un valor próximo o inferior al 18% de humedad; este secado se puede hacer a temperatura ambiente o bien a temperaturas mayores, preferiblemente no superiores a 95°C, mediante secado natural o artificial.

10

De modo preferente la madera se ha de someter, finalmente, a un lavado para retirar los compuestos no unidos de forma covalente, si la normativa medioambiental exige que no haya liberación de este compuesto durante el uso en servicio de la madera. Este lavado se puede realizar con disoluciones acuosas, disolventes orgánicos o mezclas de ellos, con el objetivo de eliminar los retardantes de llama no unidos covalentemente a la madera. Realizando este lavado se elimina una futura lixiviación de los mismos durante la madera puesta en servicio. Se debe tener en cuenta que las aguas de lavado pueden contener retardantes de llama, de modo que han de ser gestionadas de modo adecuado.

20

El procedimiento especificado para unir compuestos retardantes de llama puede ser aplicado a maderas de diversos tipos y orígenes (de angiospermas, de gimnospermas, tropicales, de latitudes medias, etc.). Además también es aplicable a todo tipo de productos derivados de las mismas o de sus componentes mayoritarios (celulosa y lignina), tales como tableros de madera (de partículas, de fibras, contrachapados, laminados, etc.), pastas de papel (químicas o mecánicas), composites de plástico y madera, corcho, cartón.

25

30

La aplicación del procedimiento en cada caso particular puede requerir leves modificaciones en las condiciones de reacción, considerando las características de cada material. En el caso de composites de plástico y madera, así como en tableros de fibras o partículas, se recomienda, aunque no se limita, realizar el tratamiento antes del proceso de elaboración de dichos composites o tableros.

35

Por tanto, el procedimiento descrito presenta las siguientes ventajas respecto a los

procedimientos más convencionales:

- Unión estable de los retardantes de llama y la madera, de forma que se evita su lixiviación y/o volatilización, eliminando así los riesgos medioambientales y sobre la salud humana.
- 5 • Durabilidad del tratamiento, debido a la ausencia de fugas del retardante de llama del material maderero tratado.
- Adaptabilidad de aplicación a los sistemas convencionales de tratamiento de madera.
- 10 • Condiciones de tratamiento suaves: componentes químicos no abrasivos con el material a tratar, temperaturas suaves (recomendado no superior a 70°C), medio acuoso, pH no extremo (entre 4 y 9; preferencialmente pH neutro).
- Posible reutilización del enzima en caso de utilizar enzima inmovilizado.

15 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

La descripción se complementa con un juego de dibujos o figuras que ilustran los potenciales resultados del tratamiento:

20 **Figura 1.** Resultados de la evolución temporal de los ángulo de contacto de gotas de agua en la superficie de muestras de madera de haya, resultantes de dos tipos de experimentos: tratamiento con Tetrabromocatecol (TBC) y enzima inmovilizada en la etapa 1 y por otra parte "tratamiento control" (TBC pero sin enzima inmovilizada).

25 **Figura 2.** Fotografías de la evolución de una gota de agua en el tiempo para muestras de madera de haya tratada (TBC y enzima inmovilizada en etapa 1) y muestras control (TBC sin enzima en la etapa 1).

30 **REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION**

Una manera preferente de llevar a cabo el procedimiento para unir de forma estable retardantes de llama a productos madereros incluye las siguientes etapas:

35 1) acondicionamiento del material a tratar: descortezado, limpieza, mecanizado de las

piezas para darles la dimensión, forma y textura deseadas y secado.

2) preparación de las disoluciones para el tratamiento de la madera acondicionada: disolución del enzima y disolución de retardante de llama, esta última con una
5 concentración de disolventes orgánico (por ejemplo acetona) del 20% en volumen.

Como enzima se pueden emplear diversas oxidasas tales como fenoloxidasas (tirosinasas), catecol oxidasas o lacasas, producidas ya sea mediante organismos naturalmente productores de estos enzimas, o mediante organismos modificados, si
10 bien en los ejemplos que se muestran a continuación se utilizarán lacasas (que pueden ser de diversas fuentes microbianas, cada una con su actividad específica sobre el sustrato fenólico utilizado y condiciones óptimas de operación). Destacan por su mayor disponibilidad comercial en la actualidad las lacasas de los hongos *Trametes villosa* y *Myceliophthora thermophila*.

15 Para asegurar la buena disolución del sustrato empleado se puede añadir acetona al medio acuoso, hasta un máximo del 40% para asegurar la viabilidad enzimática. El tampón utilizado será citrato/fosfato con un valor de pH entre 4 y 9, ya que otros ácidos orgánicos pueden inhibir a la enzima. La temperatura de reacción podrá estar
20 entre 20 y 70 °C, el valor óptimo dependerá del tipo concreto de enzima. En el ejemplo que se detalla a continuación, en el que se produce la inmersión de muestras de madera en la disolución de tratamiento, la dosis de enzima lacasa en la disolución acuosa estará entre 0,1 y 50 U/mL, y la de retardante de llama entre 0,1 y 5 mM. Si se pretende hacer un tratamiento en profundidad, mediante el cual la disolución ha de
25 penetrar de forma significativa en la madera (a partir de 3 mm), de forma que el tratamiento no se considere superficial, la dosis de lacasa debe referirse a la cantidad de madera a tratar, y debe ser de 1 a 100 U/g de madera seca a tratar.

En este caso, se define una unidad de actividad lacasa como aquella cantidad de
30 enzima que es capaz de oxidar 1 μmol de 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS) por minuto. Esta cantidad se puede determinar mediante espectrofotometría UV-Vis midiendo la oxidación del sustrato en unas condiciones determinadas (pH 7 fijado mediante tampón fosfato 0.1 M, 23°C y utilizando el coeficiente de absortividad molar del ABTS $\epsilon_{436}=29300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

3) impregnación de la madera con la solución mezcla. Para ello se pueden emplear cualquiera de las metodologías convencionales, requiriendo cada una de ellas condiciones y tiempos de aplicación también convencionales; por ejemplo, el pincelado requiere de dos o tres manos de aplicación permitiendo el secado a temperatura ambiente entre cada una de las aplicaciones. Se deben tener en cuenta las dosis de componentes activos especificados anteriormente.

4) secado del material maderero tratado hasta niveles del 18% de humedad o inferiores. Se puede realizar secado mediante métodos naturales o artificiales a temperatura ambiente o a altas temperaturas, pero se recomienda no superar los 95°C.

5) lavado del material con disolución de acetona en agua (acetona al 20% en volumen) y posteriormente con agua.

Ejemplos

Con la intención de mostrar la presente invención de un modo ilustrativo aunque en ningún modo limitante, se muestran las condiciones específicas empleadas para llevar a cabo el tratamiento de láminas de madera de haya (*Fagus sylvatica*) de 5x1 cm, con lacasa de *Myceliophthora thermophila* para la unión de tetrabromobisfenol A y tetrabromocatecol, en dos modalidades, con la enzima en disolución e inmovilizada.

Ejemplo 1: tratamiento con enzima en disolución

Las láminas de madera de haya son previamente lavadas con acetona en un Soxhlet según la norma TAPPI T-264, para eliminar posible impurezas y agentes que puedan interferir. Las muestras de madera se colocaron dentro del Soxhlet en un cartucho de celulosa y la extracción se realizó a reflujo durante 8 horas. Después las láminas fueron lavadas con agua y se completó su lavado sumergiéndolas en agua destilada a 100°C durante 1 hora.

Las láminas lavadas fueron sumergidas en un medio acuoso que contiene uno de los dos retardantes de llama seleccionados, tetrabromobisfenol A o tetrabromocatecol, y enzima lacasa comercial de *Myceliophthora thermophila*. La concentración de retardante de llama fenólico en el medio de reacción fue de 1 mM, y la enzima lacasa se añadió a razón de 25 U/mL. Esta disolución acuosa para tratar la madera se ajustó

previamente a pH 8,0 con un tampón cítrico/fosfato (concentración final 50 mM) y que contiene acetona (proporción 25% en volumen). El contacto entre la madera y la disolución tuvo lugar a 50 °C durante 2 horas. A modo de control se realizaron dos tipos de tratamientos en idénticas condiciones; en uno de ellos no se añadió retardante de llama alguno, mientras que en el otro no se añadió el enzima lacasa.

Una vez transcurrida la reacción, las láminas de madera se someten a un nuevo lavado similar al inicial, es decir, un lavado con acetona en Soxhlet y otro con agua destilada en caliente. De este modo se elimina el retardante de llama que no se ha unido de forma estable a la madera.

Las láminas de madera, una vez secas fueron sometidas a una técnica de análisis elemental de superficie mediante espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS). Esta técnica permite detectar los elementos presentes en la superficie de la madera y su proporción relativa. Por lo tanto sirve para detectar, o no, en la superficie de la madera los retardantes de llama bromados que se pretendía unir. La medida se ha realizado en tres puntos de cada lámina para corregir la heterogeneidad de la madera. Los resultados obtenidos se pueden ver en la siguiente tabla:

Lámina de madera tratada:	Punto	% de C	% de O	% de Br
Sin compuesto fenólico y con lacasa	1	65,62	30,47	n.d.
	2	65,55	29,30	n.d.
	3	64,28	29,61	n.d.
Con tetrabromocatecol y sin lacasa	1	64,10	32,99	n.d.
	2	65,16	33,28	n.d.
	3	65,67	31,90	n.d.
Con tetrabromobisfenol A y sin lacasa	1	63,89	33,98	n.d.
	2	64,19	33,99	n.d.
	3	64,95	32,76	n.d.
Con tetrabromocatecol y con lacasa	1	65,45	30,88	0,21
	2	63,93	31,25	0,55
	3	63,97	31,74	0,46
Con tetrabromobisfenol A y con lacasa	1	66,02	30,13	0,40
	2	66,39	29,30	0,57
	3	64,53	31,45	0,38

Por tanto, en este ejemplo, es evidente que cuando se ponen en contacto la madera con los retardantes de llama (pero sin enzima), o bien la madera con enzima (pero sin retardantes de llama) no se produce unión entre el retardante de llama y la madera, ya que el elemento bromo no se detecta por XPS. Mientras que cuando sí están
5 presentes la lacasa y un retardante de llama al mismo tiempo, en los dos casos ensayados, los retardantes de llama quedan unidos a la lámina de madera, lo que se observa gracias a la detección de bromo en la madera aún después de hacer un intenso proceso de lavado de la madera tratada.

10 Ejemplo 2: tratamiento con enzima inmovilizada.

Se emplearon láminas de hayas que fueron lavadas y acondicionadas del mismo modo que en el ejemplo anterior.

15 El tratamiento químico enzimático en este caso se llevó a cabo en dos etapas diferenciadas:

Etapa 1: se preparó una mezcla de reacción de 20 mL con tampón fosfato pH 7,0 (0,1M), 5mM de tetrabromocatecol (TBC), 40% (v/v) de acetona y 12U de lacasa inmovilizada covalentemente en el soporte sólido comercial Immobead 150P. La
20 mezcla de reacción se incubó durante 2 horas a 50°C con agitación (75rpm). Se separó posteriormente la mezcla líquida del soporte comercial con enzima inmovilizado.

Etapa 2: se impregnaron las muestras de madera con el líquido resultante de la
25 reacción de la etapa anterior, en la que no hay enzima alguno. El tiempo de impregnación fue de 20 horas a 50°C y con agitación (75rpm). Posteriormente las muestras de madera se dejaron secar a temperatura ambiente durante 1h, se lavaron en un baño con agua destilada a 80°C durante 2 horas y con agitación (75rpm). Tras este lavado las muestras de madera fueron lavadas con agua destilada a temperatura
30 ambiente y secadas a 60°C durante 1 hora.

Para analizar la efectividad del tratamiento se midió la hidrofobicidad de las muestras tratadas y se compararon con las muestras control, que se trataron de igual modo pero sin adición de enzima inmovilizado en la etapa 1. Es conocido el efecto hidrofóbico que
35 aportan los compuestos halogenados, como los compuestos bromados utilizados en

los ejemplos aportados, a los materiales a los que se les aplican. De este modo, en este caso la hidrofobicidad de la madera está relacionada directamente con la unión de los compuestos bromados a la misma. La hidrofobicidad se midió midiendo el ángulo de contacto de gotas de agua con la superficie de las muestras.

5

Se puede apreciar claramente en la Figura 1, como con el paso del tiempo tras la adición de agua, el ángulo de contacto en las muestras tratadas se reduce en menor cantidad que en las muestras control, lo que indica la unión del TBC en la madera y que este compuesto está unido de tal forma que permanece en la madera aunque se realice un lavado agresivo. Este efecto es también claramente apreciable en la Figura 2, en la que se observa el aumento de hidrofobicidad, debida a la presencia de bromo, de las muestras tratadas en la etapa 1 con TBC y lacasa inmovilizada.

10

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, caracterizado por comprender las siguientes etapas:

- 5 a) un acondicionamiento previo del material que comprende acciones de limpieza y/o lavado, mecanizado (descortezado, incisionado, corte a medida) y secado que variará según el tipo de madera;
- b) un tratamiento químico enzimático del material de madera con una disolución activada por una enzima de tipo oxidasa, conteniendo esta
- 10 disolución un compuesto retardante de llama orgánico de tipo fenólico y halogenado, o una mezcla de varios de estos compuestos retardantes de llama;
- c) un secado del material maderero tratado y;
- d) un lavado para retirar los subproductos generados en el tratamiento anterior
- 15 y/o los compuestos retardantes de llama no unidos a la madera.

2. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicación 1, caracterizado porque el tratamiento químico-enzimático según la etapa b) consiste en la preparación previa de

20 la disolución de compuesto retardante de llama y la enzima oxidasa a emplear, y posterior impregnación de la madera acondicionada, que varía según modalidad de adición de la enzima:

- a) enzima en disolución, en este caso las disoluciones de retardante de llama y enzima se pueden adicionar separadas o previamente mezcladas al material
- 25 maderero a tratar;
- b) enzima inmovilizada, la enzima se deberá previamente inmovilizar en un soporte sólido, a continuación se pone en contacto la disolución de retardante de llama, o mezcla de retardantes, con la enzima inmovilizada a fin de preactivarlo, y
- otra etapa en la que la disolución de retardante de llama activado se emplea para
- 30 tratar la madera;

en ambos casos, la impregnación de la disolución de retardante de llama activado al material maderero no puede superar las 2 horas antes de su aplicación al material maderero a tratar.

3. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicación 2, caracterizado porque la inmovilización de la enzima a un soporte sólido, puede ser mediante adsorción o enlace covalente, o bien encontrarse confinado mediante encapsulación o similar.

5

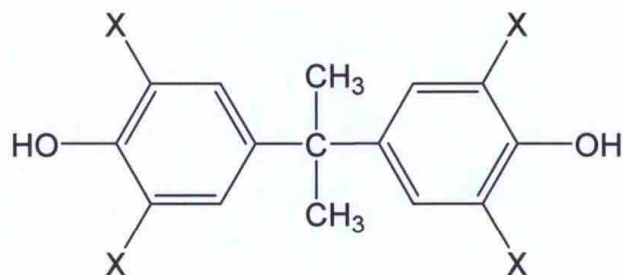
4. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque la enzima oxidasa a emplear según la etapa b) se selecciona entre fenoloxidasas (tirosinasas), catecol oxidasas o lacasas, que pueden proceder de diversas fuentes microbianas, o bien producidas ya sea mediante organismos naturalmente productores de estos enzimas, o mediante organismos modificados.

10

5. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque el retardante de llama orgánico halogenada de tipo fenólico es una molécula seleccionada de las siguientes fórmulas, en la que "X" representa un elemento del grupo de los halógenos tales como Flúor (F), Cloro (Cl), Bromo (Br) y/o Iodo (I):

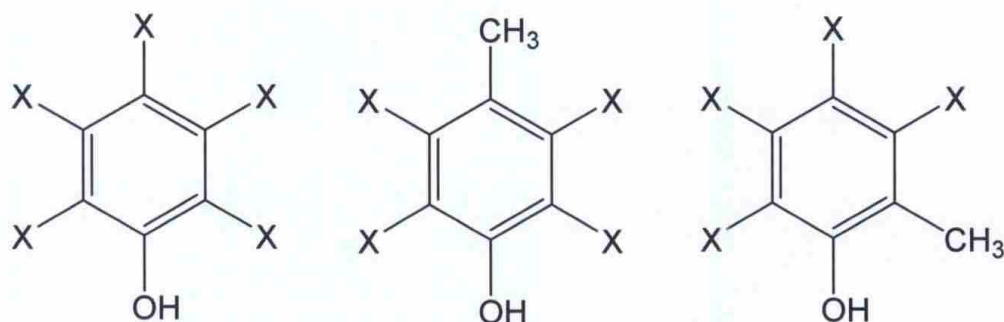
15

a) Estructuras basadas en el Tetrabromo bisfenol A

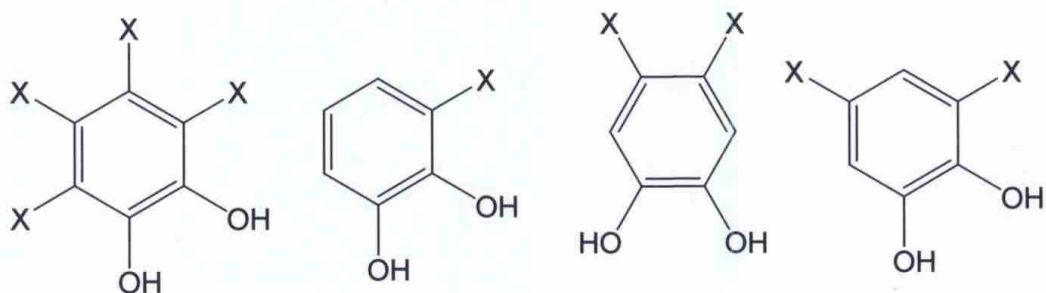


20

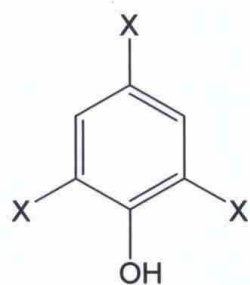
b) Fenoles halogenados con un solo grupo fenólico y un solo anillo aromático



c) Catecoles halogenados

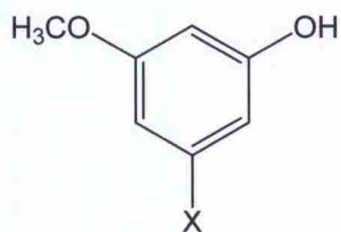
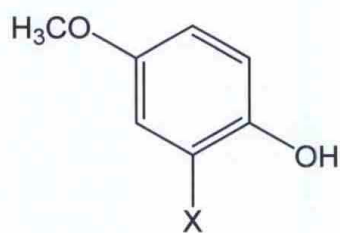
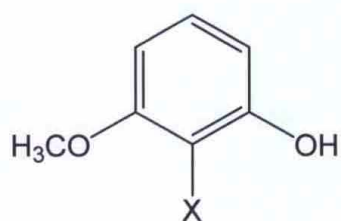
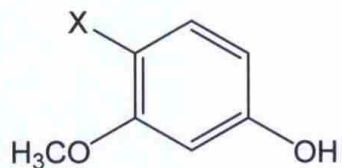
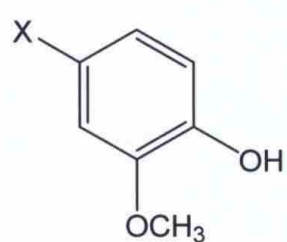


d) Fenol trihalogenado

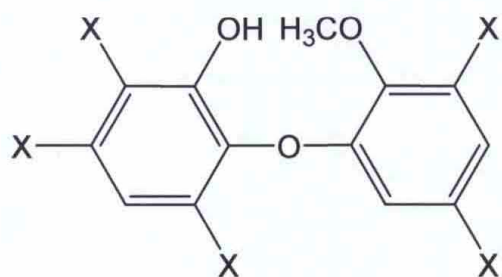
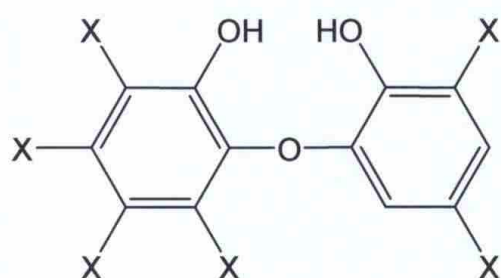
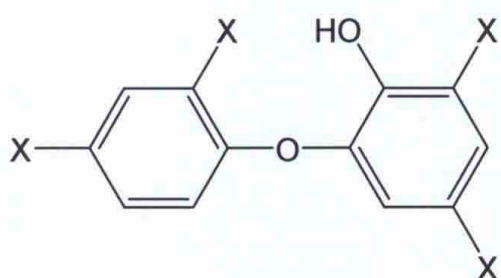
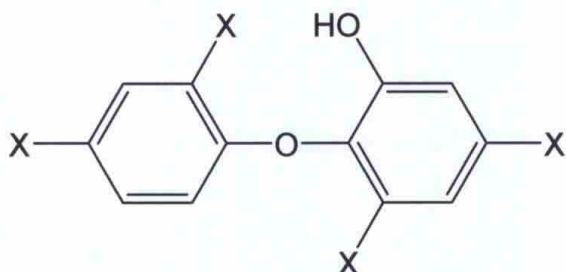


5

e) Metoxi fenoles halogenados



f) Difenil éteres polihalogenados



- 5 6. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque el tratamiento químico-enzimático se aplica mediante operaciones de pulverización, pincelado o inmersión o se aplican por medio de sistemas de aplicación de

impregnación a vacío-presión.

7. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque la disolución empleada para el tratamiento químico enzimático comprenden una concentración de retardante de llama entre 0.1 mM y 10 mM.

8. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque la cantidad de enzima empleado en el caso de modalidad de enzima en disolución está comprendida entre 0.1 a 100 U/g de madera seca, y en el caso de modalidad de enzima inmovilizada comprende una concentración entre 0.01 a 100 U/g de madera seca.

9. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 a 8, en que el medio disolvente de reacción es un medio acuoso con pH entre 4 y 10, preferentemente tamponado con tampón citrato/fosfato, y a fin de favorecer la disolución del retardante se puede adicionar algún disolvente orgánico en una proporción no superior al 40% en volumen.

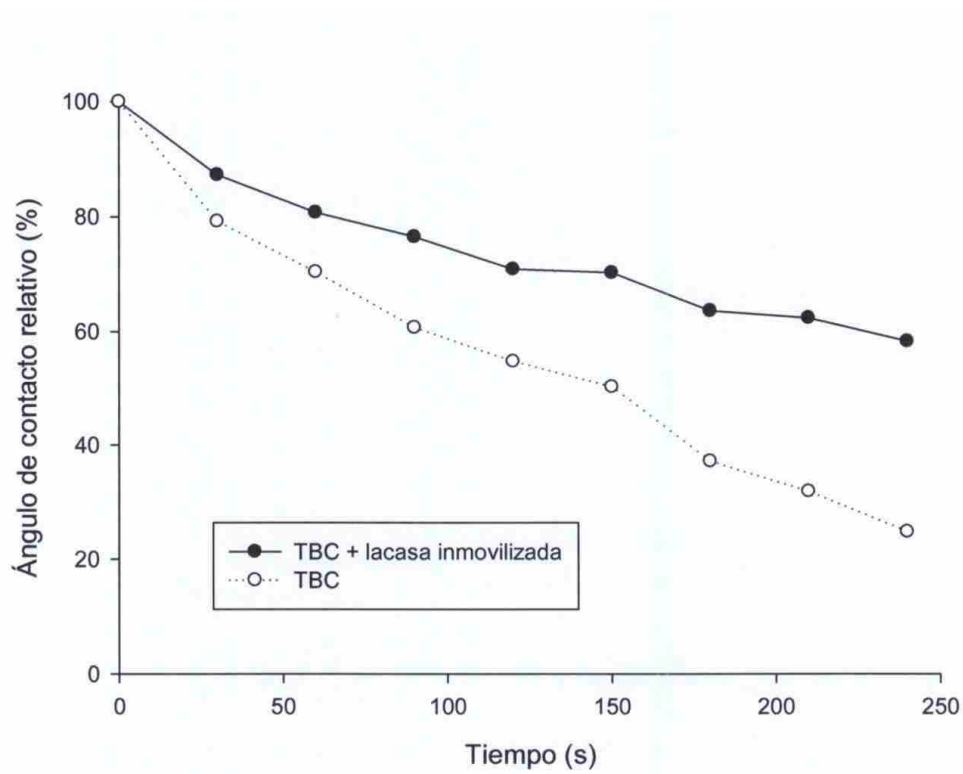
10. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque la temperatura de reacción de la etapa de tratamiento enzimático b) está comprendida entre 20 y 70°C.

11. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicaciones 1 a 10, en el que el tiempo de impregnación de la disolución de retardante de llama activada con la madera a tratar de la etapa b) está comprendida entre 1 minuto y 20 horas, en función del tipo y cantidad de enzima, tipo de madera y modo de aplicación.

12. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicación 1, en el que la etapa de secado etapa c) se realiza por métodos convencionales (natural, artificial o mixto) hasta alcanzar niveles de humedad del 18% o inferior.

13. Procedimiento para la unión estable de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática, según reivindicación 1, en el que el lavado o extracción de la etapa a y d) se realiza con un disolvente o con agua, o bien con
5 mezcla de ambos componentes.

14. Uso del procedimiento, según reivindicaciones anteriores, caracterizado porque puede emplearse para tratar maderas de diversos tipos y orígenes, así como todo tipo de derivados de las mismas o de sus componentes mayoritarios (celulosa y lignina)
10 tales como tableros de madera, pastas de papel, composites de plástico y madera, corcho y cartón.

**Figura 1**

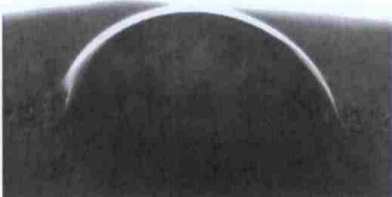
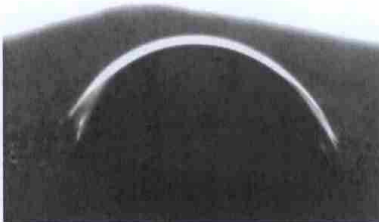
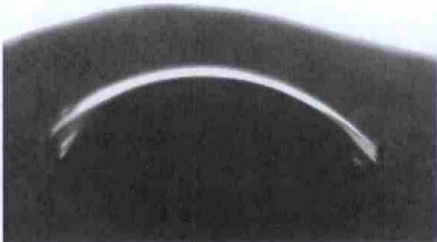
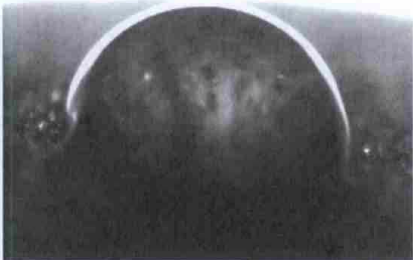
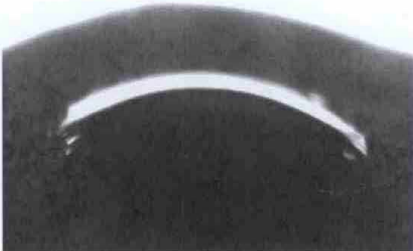
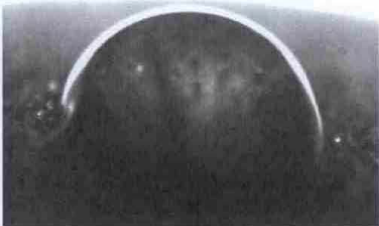
Tiempo (segundos)	Tratamiento control (TBC sin lacasa inmovilizada en etapa 1)	Tratamiento de grafting (TBC + lacasa inmovilizada en etapa 1)
0	 A circular cross-section of a control TBC sample at 0 seconds, showing a dark, uniform surface.	 A circular cross-section of a grafted TBC sample at 0 seconds, showing a dark, uniform surface.
60	 A circular cross-section of a control TBC sample at 60 seconds, showing a dark, uniform surface.	 A circular cross-section of a grafted TBC sample at 60 seconds, showing a dark, uniform surface.
120	 A circular cross-section of a control TBC sample at 120 seconds, showing a dark, uniform surface.	 A circular cross-section of a grafted TBC sample at 120 seconds, showing a dark, uniform surface.
180	 A circular cross-section of a control TBC sample at 180 seconds, showing a dark, uniform surface.	 A circular cross-section of a grafted TBC sample at 180 seconds, showing a dark, uniform surface.
240	 A circular cross-section of a control TBC sample at 240 seconds, showing a dark, uniform surface.	 A circular cross-section of a grafted TBC sample at 240 seconds, showing a dark, uniform surface.

Figura 2



- (21) N.º solicitud: 201600924
(22) Fecha de presentación de la solicitud: 03.11.2016
(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) Int. Cl.: **B27K3/40** (2006.01)
B27K3/38 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M. et al. "Potential of laccase for modification of Eucalyptus globulus wood: a XPS study". Wood Science and Technology, 2014, vol. 48, num. 1, páginas 151–160. Ver resumen; página 153, materiales y métodos.	1-14
A	WO 9816357 A1 (NOVO NORDISK AS et al.) 23/04/1998, Reivindicaciones 1-9.	1-14
A	EP 1034903 A1 (SHOWA DENKO KK SDS BIOTECH CORP) 13/09/2000, Párrafos 16, 17, 49 y 51.	1-14
A	CHANDRA, R. P. et al. "Evaluating laccase-facilitated coupling of phenolic acids to high-yield kraft pulps". Enzyme and Microbial Technology, 2002, vol. 30, páginas 855-861. Ver resumen; apartado 2.	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
16.03.2017

Examinador
N. Martín Laso

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

B27K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, DB-TXT, NPL, XPESP, CAS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 08.03.2017

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-14	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-14	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M. et al. "Potential of laccase for modification of Eucalyptus globulus wood: a XPS study". Wood Science and Technology, 2014, vol. 48, num. 1, páginas 151–160.	22.10.2013

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud se refiere a un procedimiento para la unión de retardantes de llama a productos madereros mediante catálisis enzimática.

El documento D01 divulga un procedimiento de unión del compuesto fenólico halogenado 4-cloro-2-metoxifenol a madera en presencia de la enzima lacasa. El procedimiento comprende el acondicionamiento de la madera mediante mecanizado, seguido del tratamiento de las muestras de madera con una mezcla que contiene 4-cloro-2-metoxifenol (10mM), la enzima lacasa (20U/g de madera) y tampón fosfato (pH 7,3) mediante inmersión de las muestras en dicha solución. El tratamiento enzimático se lleva a cabo a 50°C durante 2 horas tras lo cual las muestras son lavadas con acetona y secadas (resumen; página 153, materiales y métodos).

Dado que el compuesto 4-cloro-2-metoxifenol se encuentra entre los compuestos retardantes de llama definidos en la solicitud, la invención definida en las reivindicaciones 1-14 de la solicitud se encuentra recogida en dicho documento D01, careciendo por tanto de novedad (Art. 6.1 LP 11/1986).

En consecuencia, la invención definida en las reivindicaciones 1-14 no satisface los requisitos de patentabilidad recogidos en el art. 4.1. LP 11/1986.