

UNIVERSIDAD NACIONAL

Campus Omar Dengo

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE QUÍMICA

Tesis de graduación

Nanofibrilación de celulosa extraída a partir del rastrojo de la piña
(*Ananas comosus*)

Estudiante:

Kenly Araya Chavarría

Tutora:

Msc. Marianelly Esquivel Alfaro

Asesoras:

Dra. Belkis Coromoto Sulbarán Rangel

Lic. Karla Ramírez Amador

Heredia, Costa Rica

Abril, 2021

"Este trabajo de graduación fue _____ por el Tribunal Examinador de la Escuela de Química de la Universidad Nacional, como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Química Industrial"

Miembros del Tribunal Examinador del Trabajo Final de Graduación:

FIRMA

Decano de la
Facultad de Ciencias
Exactas y Naturales

Dr. Manuel
Sandoval Barrantes

—

Director de la
Escuela Química

PhD. Esteban
Picado Sandí

Tutor

M.Sc. Marianelly
Esquivel Alfaro

Asesora

Dra. Belkis
Sulbarán Coromoto
Rangel

Asesora

Lic. Karla Ramírez
Amador

Lector

Dr. Giovanni
Sáenz-Arce

Proponente

Bach. Kenly Yoel
Araya Chavarría

RESUMEN

El sector agroindustrial ha tenido un crecimiento considerable en Costa Rica durante los últimos años alcanzando los primeros lugares en los productos de mayor exportación, ejemplos de esto son la piña y el banano, estas ocupan grandes extensiones de cultivo a nivel nacional y son la fuente de ingreso para muchas familias en las zonas rurales del país. Pero este aumento productivo también conlleva una responsabilidad ambiental que no ha sido considerada derivando en problemas de contaminación de tierras y mantos acuíferos con agroquímicos, proliferación de agentes infecciosos tanto para el ganado como para el ser humano y una muy problemática disposición de los desechos. Por lo tanto, en este trabajo se busca estudiar la posibilidad de aprovechar el rastrojo que es un residuo proveniente de la industria piñera y de esta manera disminuir su impacto en el ambiente.

El rastrojo de la piña está compuesto por el tallo y las hojas, de las últimas se pueden obtener sus fibras, al remover las capas superficiales. Este material usualmente recibe el nombre de PALF (por sus siglas en inglés, Pineapple Leaf Fiber) y su composición química es principalmente celulosa, lignina y hemicelulosa, donde la primera es el componente más aprovechado ya que se encuentra en mayor proporción y muestra propiedades físicas y químicas con distintas aplicaciones industriales. Su utilidad puede ser ampliada y optimizada si a partir de la celulosa se extraen nanoestructuras de mayor valor agregado como lo son CNC (Cellulose Nanocrystal o Celulosa Nanocristalina) o CNF (Cellulose Nanofibers o Celulosa Nanofibrilar). Por lo tanto, se buscó extraer y caracterizar la CNF a partir de la PALF para generar propuestas de uso y estudios posteriores que las amplíen o mejoren.

En este estudio se comparará la CNF extraída de PALF blanqueada y sin blanquear, para evaluar cómo la presencia de lignina afecta las propiedades del material y su efecto sobre el pretratamiento oxidativo mediado por un agente oxidante selectivo (TEMPO) el cual convierte una porción de los alcoholes presentes en la celobiosa, unidad repetitiva de la celulosa, en carboxilatos y/o aldehídos con el fin facilitar el proceso de deestructuración mecánica. Además, se prepararán películas a partir de la CNF obtenida, las cuales son conocidas como nanopapel debido a que están conformadas por nanoestructuras cuya composición mayoritaria es celulosa.

RECONOCIMIENTOS

Al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Polímeros de la Universidad Nacional (POLIUNA) por facilitarme los equipos, los reactivos y las instalaciones para concretar la mayor parte de la investigación.

A la Escuela de Ingeniería Forestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica por ayudarnos con el préstamo de instrumentos y la obtención del material de partida para iniciar la investigación.

A la Universidad de Guadalajara en México y al Departamento de Física de la Universidad Nacional por los análisis realizados en dichas instituciones.

Importante resaltar el apoyo de los departamentos, y todo el excelente personal que los conforma, de Movilidad Estudiantil y Fortalecimiento de las Capacidades Estudiantiles en Extensión (FOCAES) de la Universidad Nacional de Costa Rica al brindarme la ayuda económica necesaria para la compra de reactivos, consumibles y poder realizar una pasantía internacional para trabajar con el grupo de investigación Biobased Colloids and Materials (BiCMat) de la Universidad Aalto en Finlandia quienes me recibieron como un compañero más y me ayudaron con todo lo necesario para el cumplimiento de los objetivos planteados.

Por último, pero no menos importante reconocer a la empresa Piñales de Santa Clara por recibirnos amablemente en sus instalaciones y ayudarnos con la recolección de la materia prima.

DEDICATORIA

Es difícil escoger una única persona por lo que me gustaría mencionar a todos mis hermanos y hermanas, Yulissa, Jeremy, Jonathan, Andrey, Kimberly, José, Hazel, Yeimy y Rossy, a quienes quiero infinitamente. Ellos y ellas siempre velan por que yo sea cada día una mejor persona y me dan su apoyo incondicional a pesar de mis errores. Considero que la más importante de esta sección es mi madre Ana Chavarría, a quien le dedico este trabajo como reconocimiento a todo el esfuerzo, cariño y dedicación que tuvo con nosotros para que nunca nos faltara nada y pudiéramos terminar nuestros estudios, quiero resaltar el gran amor y admiración que le tengo por ser siempre un ejemplo por seguir.

AGRADECIMIENTOS

Durante el desarrollo de este trabajo final de graduación fueron muchas las personas involucradas y aún más en mi formación como profesional. Para evitar dejar a alguien sin mencionar, quiero agradecerles a mis compañeros y compañeras, a mis mejores amigos y amigas y a cada uno de mis profesores y profesoras que compartieron su sabiduría conmigo. Cada uno de ellos me hizo disfrutar de esta etapa, me motivaron a seguir adelante en los tiempos difíciles y sobre todo contribuyeron a desarrollar mi amor por la química.

Quiero mencionar a la Universidad Nacional que, mediante su sistema de becas, administrado por el departamento de Bienestar Estudiantil, me permitieron estudiar en esta gran institución sin preocuparme por el gran costo económico que eso implica, esto contribuyó enormemente a enfocar la totalidad de mi tiempo en estudiar para obtener el título de bachiller en Química Industrial. Me gustaría agregar a la Unidad de Éxito Académico y Enlace Profesional por permitirme formar parte de su grupo y ayudar como tutor a otros estudiantes, pero por el gran cariño que les tengo y sus invaluable consejos me gustaría destacar a dos mujeres ejemplares que son la coordinadora Xinia Vargas y la directora Kathia Salas.

Muchos fueron los académicos que con su sabiduría, experiencia y consejos me motivaron a concluir el estudio que con tanto cariño guardo en estas páginas, por todo su apoyo merece ser nombrado en esta sección: el Dr. Giovanni Sáenz-Arce del Departamento de Física donde a pesar de su ajetreada agenda dedicó parte de su tiempo a obtener las imágenes de AFM necesarias para llevar a cabo la caracterización y contribuyo a mejorar la redacción del manuscrito, la Lic. Karla Ramirez y la Dr. Belkis Sulbarán quienes fueron mis asesoras a través de este proyecto y siempre estuvieron dispuestas a ayudarme para mejorar la calidad del mismo, el Dr. Tero Kämäräinen y la M.Sc. Ling Wang quienes se encargaron de darme soporte para analiza las muestras obtenidas en Aalto, el Ph.D Orlando Rojas y la Ph.D Imani Monireh excelentes personas, investigadores y tutores que me compartieron toda su experiencia y ampliaron las posibilidades para esta investigación.

Para finalizar me gustaría destacar a dos personas que me acompañaron en la culminación de esta tesis, la M.Sc. Marianelly Esquivel quien fue más que una tutora, las palabras se quedan cortas para expresar el cariño y admiración que le tengo, solo puedo decir que sin ella esta

experiencia no sería la misma y este trabajo no tendría la misma calidad. La segunda es la Bach. Ruth Rojas con quien realice la pasantía internacional y gracias a su apoyo logramos terminar los objetivos que nos planteamos previamente, una excelente compañera y persona con quien guardo recuerdos muy especiales e inolvidables.

También debo mencionar a Diego Carballo, Isaac Paniagua, Esteban Maroto y David Carranza cuatro grandes amigos que me dejó mi vida universitaria, los aprecio por apoyarme y estar siempre en cada momento tanto en los buenos como en los malos. Por último agradecer a mis compañeros tesarios y estudiantes asistentes Jeffrey Badilla, Marco Alfaro, Jossette Araya, Ricardo Araya, Marcela Ortiz e Isabel Carvajal, quienes siempre me brindaron su ayuda desinteresadamente.

INDICE GENERAL

RESUMEN	I
RECONOCIMIENTOS.....	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
INDICE GENERAL.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
INDICE DE ANEXOS.....	5
LISTA DE ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS.....	6
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	1
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 PIÑA (<i>ANANAS COMOSUS</i>).....	3
2.1.1 <i>Taxonomía de la piña y características morfológica de la piña.</i>	3
2.1.3 <i>Generalidades del cultivo de piña y problemática asociada.</i>	4
2.1.5 <i>Composición de las hojas del rastrojo de piña.</i>	5
2.2 ESTRUCTURA QUÍMICA Y BIOSÍNTESIS DE LA CELULOSA EN LAS PLANTAS.....	9
2.2.1 <i>Polimorfismo de la celulosa</i>	11
2.2.2 <i>Jerarquía en los niveles estructurales de la celulosa</i>	13
2.3 CELULOSA NANOFIBRILAR (CNF).....	14
2.3.1 <i>Pretratamientos existentes para facilitar la nanofibrilación de celulosa</i>	15
2.3.2 <i>Métodos para la nanofibrilación de celulosa</i>	19
2.3.3 <i>Propiedades morfológicas y térmicas de la CNF.</i>	20
2.3.4 <i>Aplicaciones de la celulosa nanofibrilar</i>	21
CAPÍTULO III: OBJETIVOS.....	23
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	24
4.1 MATERIALES.....	24
4.2. DESESTRUCTURACIÓN DE LAS HOJAS DEL RASTROJO DE PIÑA PARA LA OBTENCIÓN DE PALF Y FIBRAS DE CELULOSA.....	24
4.3 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA CNF, SIN MICROFLUIDIZADOR.....	24
4.4 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA CNF, CON MICROFLUIDIZADOR	26
4.5 CARACTERIZACIÓN DE LA CNF OBTENIDA	26
4.6 PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE CNF.....	28
4.7 CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS PREPARADAS.....	29
CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
5.1 EXTRACCIÓN DE CNF	31

5.2 CARACTERIZACIÓN DE LA CNF	32
5.3 PREPARACIÓN DE PELÍCULAS	40
5.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS PRODUCIDAS A PARTIR DE CNF	42
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
6.1 CONCLUSIONES	50
6.2 RECOMENDACIONES	51
CAPÍTULO VII: REFERENCIAS	53
ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de la piña (ananas comosus var comosus).....	4
Figura 2. Proceso de formación de puentes de hidrógeno producto de la hornificación ¹⁹	6
Figura 3. Esquema resumido de un modelo estructural de la lignina ²⁶	8
Figura 4. Numeración de átomos para la unidad repetitiva de celulosa ²⁷	9
Figura 5. Diagrama esquemático del complejo de celulosa sintasa (CSC) dentro de la membrana plasmática ²⁸	10
Figura 6. Polimorfismos de la celulosa y sus transiciones ²⁴	11
Figura 7. Esquema general de la jerarquía estructural para las fibras de celulosa ³⁴	14
Figura 8. Sitios de reacción con hidróxido de sodio de los compuestos lignocelulosicos presentes en la pared celular de las plantas ³⁶	15
Figura 9. Ecuación química de la carboximetilación de celulosa ³⁸	17
Figura 10. Oxidación regioselectiva, de hidroxilos primarios C6 de la celulosa a grupos carboxilatos, mediada por TEMPO / NaBr / NaClO en agua a pH 10-11 ⁴⁰	18
Figura 11. Etapas de obtención de CNF a partir del rastrojo de piña: (a) hojas del rastrojo de piña, (b) PALF, (c) mezcla de micro y nanofibrillas sin blanquear, (d) suspensión de CNF-SB, (e) celulosa, (f) mezcla de micro y nanofibrillas blanqueadas y (g) suspensión de CNF-B.....	25
Figura 12. Etapas de obtención de CNF a partir del rastrojo de piña utilizando microfluidización: (a) PALF, (b) celulosa, (c) Masuko grinder (d) microfibras sin blanquear (arriba) y microfibras blanqueadas (abajo), (e) Microfluidics M-110P ⁴⁸ y (f) CNF-SB-MF (arriba) y CNF-B-MF (abajo).....	26
Figura 13. Etapas para la obtención de películas a partir de suspensiones de CNF: (a) suspensión de CNF-SB (izquierda) y suspensión de CNF-B (derecha), (b) equipo de microfiltración, (c) película de CNF-B (d) película de CNF-SB.....	29
Figura 14. Imágenes de 5x5 µm en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de: a) CNF-B-MF y b) CNF-SB-MF.....	33
Figura 15. Imagen de 10x10 µm en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de CNF-B-MF.....	35
Figura 16. Posibles grupos funcionales generados durante la reacción de oxidación mediada por TEMPO/NaClO/ NaBr en la celobiosa.....	36
Figura 17. Películas obtenidas mediante filtración utilizando filtros de 0,2 µm, a) CNF-B, b) CNF-SB, c) CNF-B-MF y d) CNF-SB-MF.....	40
Figura 18. Imágenes en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de: a) 5X5 µm CNF-B-MF y b) 1X1 µm CNF-B-MF.....	42
Figura 19. Espectroscopía FTIR de a) CNF-SB, CNF-SB-MF y PALF; y b) CNF-B, CNF-B-MF y celulosa.....	44
Figura 20. Termogramas TGA (a) y curvas DTG (b) de PALF, celulosa, CNF-B-MF y CNF-SB.....	45
Figura 21. Termogramas (DSC) de la PALF, Celulosa, CNF-SB-MF, CNF-B-MF, CNF-B y CNF-SB.....	48
Figura 22. Titulaciones conductimétricas del contenido de carboxilatos en las muestras de PALF.....	62
Figura 23. Titulaciones conductimétricas del contenido de carboxilatos en las muestras de a) CNF-B, b) CNF-SB, c) CNF-B-MF y d) CNF-SB-MF.....	63
Figura 24. Titulaciones conductimétricas del contenido de aldehídos en las muestras de a) CNF-B, b) CNF-SB, c) CNF-B-MF y d) CNF-SB-MF.....	64
Figura 25. Imágenes de 5x5 µm en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las suspensiones de: a) CNF-B y b) CNF-SB.....	64
Figura 26. Imágenes en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las películas de: a) 5X5 µm CNF-B, b) 1X1 µm CNF-B, c) 5X5 µm CNF-SB, d) 1X1 µm CNF-SB, e) 5X5 µm CNF-SB-MF y f) 1X1 µm CNF-SB-MF.....	65
Figura 27. Termogramas TGA (a) y curvas DTG (b) de celulosa, TEMPO, CNF-B-MF y CNF-B.....	66
Figura 28. Termogramas TGA (a) y curvas DTG (b) de PALF, TEMPO, CNF-SB-MF y CNF-SB.....	66
Figura 29. Difractogramas de rayos X de las muestras obtenidas de a) PALF, CNF-SB, CNF-SB-MF y b) celulosa, CNF-B y CNF-B-MF.....	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la piña ¹⁴	3
Cuadro 2. Técnicas de tratamiento mecánico para la nanofibrilación de celulosa ⁸	20
Cuadro 3. Composición química de las fibras de hojas del rastrojo de piña (PALF) ⁸	31
Cuadro 4. Determinación dimensional de las nanofibras obtenidas a partir de PALF.....	33
Cuadro 5. Determinación del grado de oxidación y la eficiencia de la reacción en la obtención de CNF a partir de PALF utilizando un pretratamiento químico con TEMPO.....	36
Cuadro 6. Determinación del índice de cristalinidad (Ic) de las muestras obtenidas en el proceso de extracción de CNF a partir del rastrojo de piña.....	38
Cuadro 7. Determinación del potencial zeta de las muestras obtenidas en el proceso de extracción de CNF a partir del rastrojo de piña.....	39
Cuadro 8. Características físicas de las películas obtenidas a partir de CNF.....	41
Cuadro 9. Rugosidad media de cada una de las muestras de CNF medida a partir de las imágenes de 5x5 µm y 1x1 µm obtenidas con el AFM.....	43
Cuadro 10. Resultados de TGA de las muestras obtenidas en la producción de CNF a partir del rastrojo de piña.....	46
Cuadro 11. Determinación del porcentaje de sólidos del rastrojo de piña.....	60
Cuadro 12. Determinación del porcentaje de sólidos de la celulosa extraída a partir de PALF.....	60
Cuadro 13. Determinación del porcentaje de sólidos en los precipitados obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB) oxidadas por TEMPO y homogeneizadas con el Ultra-Turrax ®.....	60
Cuadro 14. Determinación del porcentaje de sólidos en los precipitados obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-SB-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB-MF) oxidadas con TEMPO y homogeneizadas mediante el microfluidizador.....	61
Cuadro 15. Determinación del porcentaje de sólidos en los sobrenadantes obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB) oxidadas por TEMPO y homogeneizadas con el Ultra-Turrax ®.....	61
Cuadro 16. Determinación del porcentaje de sólidos en los sobrenadantes obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB-MF) oxidadas con TEMPO y homogeneizadas mediante el microfluidizador.....	62

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Determinación del porcentaje de sólidos del rastrojo de piña y de la celulosa extraída. ..	60
Anexo 2. Determinación del porcentaje de sólidos en los precipitados obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B/CNF-B-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB/CNF-SB-MF) con oxidación mediada por TEMPO y tratamientos con el dispersor de alto rendimiento.	60
Anexo 3. Determinación del porcentaje de sólidos en los sobrenadantes obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B/CNF-B-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB/CNF-SB-MF) con oxidación mediada por TEMPO y tratamientos mecánicos.	61
Anexo 4. Valoración conductimétrica para determinar el contenido de carboxilatos en las muestras de PALF.	62
Anexo 5. Valoración conductimétrica para determinar el contenido de carboxilatos y aldehídos en las muestras de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF Y CNF-SB-MF.	63
Anexo 6. Imágenes de 5x5 μm en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las suspensiones de: a) CNF-B y b) CNF-SB.	64
Anexo 7. Imágenes en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las películas de: a) 5X5 μm CNF-B, b) 1X1 μm CNF-B, c) 5X5 μm CNF-SB, d) 1X1 μm CNF-SB, e) 5X5 μm CNF-SB-MF y f) 1X1 μm CNF-SB-MF.	65
Anexo 8. Termogramas TGA y curvas DTG obtenidos para la celulosa, TEMPO, CNF-B-MF, CNF-B, PALF, CNF-SB-MF y CNF-SB.	66
Anexo 9. Difractogramas de rayos X de las muestras obtenidas de PALF, CNF-SB, CNF-SB-MF, celulosa, CNF-B y CNF-B-MF.	67

LISTA DE ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS

CNC Celulosa Nanocristalina

CNF Celulosa Nanofibrilar

CNF-B Celulosa Nanofibrilar Blanqueada

CNF-SB Celulosa Nanofibrilar Sin Blanquear

CNF-B-MF Celulosa Nanofibrilar Blanqueada y Tratada con el Microfluidizador

CNF-SB-MF Celulosa Nanofibrilar Sin Blanquear y Tratada con el Microfluidizador

DMA Análisis Mecánico Dinámico

DRX Difracción de Rayos X

DTG Primera derivada de la curva del análisis termogravimétrico

FTIR Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

GP Grado de Polimerización

Ic Índice de Cristalinidad

PALF Fibras de las Hojas de Piña (del inglés “Pineapple Leaf Fiber”)

SD Desviación Estándar

SEM Microscopía Electrónica de Barrido

T Temperatura

TEM Microscopía Electrónica de Transmisión

Tg Temperatura de Transición Vítrea

TGA Análisis Termogravimétrico

ua Unidad Arbitraria

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

En Costa Rica se ha dado un crecimiento en el sector agroindustrial, principalmente en productos como el banano y la piña, dando como resultado la ubicación del país como el principal productor de piña a nivel mundial en 2018, alcanzando un valor de producción promedio alrededor de 3,5 millones de toneladas. En este mismo año la piña fue el tercer producto de principal exportación en el país, ocupando aproximadamente 45 mil hectáreas del territorio nacional para su producción ¹.

Los datos reportados para Costa Rica por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) muestran que los desechos de la producción de piña como el rastrojo, el cual corresponde al material vegetal de la planta, alcanzaron aproximadamente 13,5 millones de toneladas de residuos en el 2018, esto considerando que se generan cerca de 300 toneladas de hojas y tallo por hectárea de cultivo ².

Los desechos de las hojas de piña son un problema ambiental debido a su volumen y su lenta degradación, por lo que se recurre al uso de herbicidas tóxicos como el dicloruro de dimetil-4,4'-bipiridilo (Paraquat) para secarlo y posteriormente incinerarlo ². La toxicidad del Paraquat es acumulativa, contamina los suelos, amenazando el uso futuro de los mismos y al mismo mercado de la agroindustria ². Por dicha razón en Costa Rica se han buscado metodologías para utilizar este residuo y se ha encontrado que puede aplicarse en la obtención de pulpa con el objetivo de producir papel o como refuerzo para resinas de poliéster ^{2,3}. Siguiendo esta línea de investigación se planea aprovechar la celulosa presente en las hojas del rastrojo de piña para extraer nanofibras, con el fin de darles futuras aplicaciones.

Se han realizado distintas investigaciones a nivel internacional para la utilización de residuos vegetales con el fin de obtener celulosa nanofibrilar (CNF) de bajo costo, como lo son: el tallo del kenaf, los residuos del bambú, los racimos de la palma de aceite y las hojas de piña (agregar hojas de piña) ⁴⁻⁷. Por su parte en Costa Rica únicamente se ha reportado la extracción microcristales de celulosa (CMC) a partir del rastrojo de piña, a través de un tratamiento químico que consiste en tratar el residuo con hidróxido de sodio, luego secar y poner en reflujo con ácido clorhídrico para al final filtrar y

neutralizar ⁸. Si la CMC se sigue tratando con ácido sulfúrico en reflujo se puede obtener celulosa nanocristalina (CNC) ⁸.

Como se ha mencionado la biomasa generada en la producción de piña es una fuente de materia prima que puede generar productos de mayor valor agregado con diversas aplicaciones, uno de ellos es la obtención de CNF ⁹. Para esto después de la reacción con hidróxido de sodio y el blanqueo de las fibras se realiza un tratamiento mecánico de alta fuerza de cizallamiento con el fin de dispersar las nanofibras de celulosa, esto requiere un alto consumo energético porque se necesitan varios ciclos que pueden degradar la CNF, afectando sus propiedades mecánicas, térmicas y morfológicas ⁹.

En este trabajo se propone utilizar la oxidación mediada por 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo (TEMPO) como pretratamiento para minimizar los consumos de reactivos y facilitar la nanofibrilación de celulosa a través de un dispersor mecánico ¹⁰. La principal ventaja de esta oxidación controlada es que afecta levemente, o no genera cambios del todo, a la morfología ni la cristalinidad de las fibras ya que la reacción se lleva a cabo en la superficie, principalmente en el grupo hidroxilo del carbono 6 de la glucosa ¹⁰. Esto potencia la posibilidad de poder dispersar las nanofibras porque se repelen entre ellas gracias a la repulsión electrostática generada por la formación de grupos aniónicos carboxilatos en la superficie ¹⁰. Cabe resaltar que esta técnica se ha aplicado con éxito en matrices como la celulosa bacteriana, fibras de algodón y pulpa de madera blanqueada con sulfito ¹⁰.

Se han reportado diferentes estudios para identificar usos de la CNF, entre las aplicaciones están: utilizarlas en forma de películas para la liberación controlada de fármacos, desarrollo de materiales nanocompuestos como posibles sustitutos de tendones o ligamentos y en películas funcionalizadas como plataformas para inmunoensayos o diagnósticos ¹¹⁻¹³. Por lo tanto, la obtención de este material a partir de un residuo como el rastrojo de piña es una forma de minimizar el impacto ambiental generado por el cultivo, promoviendo el desarrollo de nuevas tecnologías en el país que hasta el momento no han sido exploradas.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Piña (*Ananas comosus*)

2.1.1 Taxonomía de la piña y características morfológicas de la piña.

Ananas comosus, comúnmente conocida como piña, es una herbácea perenne de *Liliopsidae* (monocotiledóneas), que pertenece al orden *Bromeliales*, específicamente a la familia *Bromeliaceae* y subfamilia *Bromelioideae*¹⁴. En la Cuadro 1 se muestra un resumen de su taxonomía. El género *Ananas* posee dos especies, *macrodon* y *comosus*, esta última posee cinco variedades: *ananassoides*, *erectifolius*, *parguazensis*, *bracteatus*, *comosus*¹⁴. Por lo tanto, el nombre científico específico de la piña es *Ananas comosus var. comosus*, y se diferencia de las demás variedades por poseer una fruta de mediana a grande, una disposición circular de hojas a la misma altura muy densa, hojas anchas y un amplio tallo¹⁴.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la piña¹⁴.

Categoría	Clasificación
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsidae
Subclase	Commelinidae
Orden	Bromeliales
Familia	Bromeliaceae
Subfamilia	Bromelioideae
Género	Ananas
Especie	comosus

Una característica de suma importancia de la piña es que la planta adulta tiene de 1-2 m de alto y 1-2 m de ancho, lo que determina que se requiera de un espacio considerable para poder cultivar dicha fruta¹⁴. De las principales estructuras morfológicas (tallos, hojas, pedúnculo, fruta múltiple, corona, brotes y raíces) el fruto es aprovechado por el ser humano, considerando las demás estructuras como residuo¹⁴. En términos generales, la planta de la piña posee un tallo con forma de maza con una parte aérea recta y otra porción enterrada, hojas sésiles (carecen de unión con el tallo) con márgenes espinosos cuya cantidad puede variar de 40 a 80 por planta, raíces adventicias que generan un sistema corto y compacto en la base del tallo, y la fruta que está compuesta por diferentes secciones (corteza,

ovarios, bases de sépalos) que le proveen una forma ovalada y gruesa ¹⁴. En la Figura 1 se puede observar una imagen con fines ilustrativos.



Figura 1. Planta de la piña (*ananas comosus var comosus*).

2.1.3 Generalidades del cultivo de piña y problemática asociada.

El cultivo de la piña requiere que el terreno posea poca inclinación y que proporcione condiciones óptimas de agua (5 cm de agua/mes), pH (ácido o neutro), nutrientes y oxígeno a las raíces de las plantas ¹⁵. Además, la temperatura ambiente debe rondar los 25 °C y la planta debe recibir mucha luz solar para generar las reservas adecuadas de carbohidratos ¹⁵. Todos estos factores propician el desarrollo de la planta por lo que se puede afirmar que en Costa Rica, al ser una zona tropical, se encuentra en su hábitat natural ¹⁵. La producción de piña en el país se da específicamente en la región Huetar Norte y Huetar Atlántica ¹⁶.

La piña es una planta de crecimiento relativamente lento, proyecta poca sombra y puede ser rápidamente ahogada por malezas ¹⁶. Para el control de las plantas que compiten con la piña por agua y nutrientes, se utilizan herbicidas como: Ametrina[®], Paraquat[®], Bromacil[®] y Quizalofop-p-ethyl[®] ¹⁶. También el cultivo requiere de una gran cantidad de nutrientes para crecer adecuadamente por lo que se da el uso intensivo de fertilizantes ¹⁵.

El ciclo comercial de la piña es poco eficiente ya que tarda 27 meses para generar dos cosechas de dicho producto ³. La primera producción se recolecta a los 15 meses y la segunda, 12 meses después ³. Una vez transcurrido este ciclo, debe eliminarse la biomasa para poder iniciarlo de nuevo, lo cual

genera grandes cantidades de residuos pertenecientes a las hojas y el tallo, que son poco aprovechados en la zona de cultivo, generando diferentes impactos ambientales ³.

Los principales retos que se presentan cuando se lleva a cabo la eliminación del rastrojo de piña es el gran volumen, ocasionado por la proliferación de tallos incorporados al suelo, y la lenta degradación producto de su morfología y de los altos contenidos de silicio y de fibras de celulosa ³. Por tanto, el método más utilizado consiste en cortar el rastrojo, luego utilizar herbicidas para desecarlo y finalmente quemarlo en caso de ser necesario ³. El uso de agroquímicos genera un impacto negativo sobre el ambiente ya que producen contaminación de mantos acuíferos, suelos y aire ¹⁶. En un estudio realizado por el Instituto Regional de Estudios en Toxicología (IRET) de la Universidad Nacional se demostró la presencia de herbicidas (Bromacil), el cual es tóxico para el ser humano, en las nacientes de agua que abastecen distintos pueblos del cantón de Siquirres (Limón) ¹⁶.

Otro de los problemas ocasionados por la producción de piña es la proliferación de la mosca de los establos (*Stomoxys calcitrans*), generalmente asociada a un mal manejo de los desechos del cultivo, debido a que son enterrados para promover su descomposición y esto lo aprovecha dicho insecto para completar su ciclo biológico ¹⁷. Este artrópodo estresa al ganado, disminuyendo así su producción de leche y carne, si este tiene heridas pueden contagiarse de enfermedades como resultado del ingreso de virus y bacterias portados por las moscas ¹⁷. Esta situación puede afectar a cualquier mamífero, incluyendo personas ¹⁷.

2.1.5 Composición de las hojas del rastrojo de piña

En los países tropicales como Costa Rica, la agroindustria produce plantas fibrosas disponibles en grandes cantidades donde sus hojas son un producto de desecho. Por lo tanto la PALF se puede obtener para fines comerciales con un bajo costo en cuanto a materia prima ⁷.

La PALF es una fibra natural importante, que exhibe una alta resistencia específica y rigidez ⁷. Estas tienen una estructura alargada y consisten en un sistema de haces vasculares presentes en forma de conglomerados de células fibrosas ⁷. Las fibras se pueden obtener por la eliminación mecánica de todos los tejidos epidérmicos y se caracterizan por ser muy higroscópicas, relativamente baratas,

abundantemente disponibles y tener propiedades mecánicas superiores ⁷. Estas últimas están asociadas a un alto contenido de celulosa y un ángulo microfibrilar comparativamente bajo (14°) ⁷.

Las PALF poseen características muy prometedoras al estar húmedas pero si se secan, proceso denominado hornificación, al igual que cualquier otro material vegetal se vuelven rígidas, con una capacidad de retención de agua pobre, baja capacidad de dispersión y propiedades mecánicas reducidas ¹⁸. Los efectos de este fenómeno se reflejan en cambios morfológicos en la distribución del tamaño de los poros, debido al colapso y cierre de los mismos, por lo que se ha reportado que esta transformación es irreversible y el procedimiento de re-humedecer no restaura todas las propiedades iniciales ¹⁸. Las razones químicas subyacentes radican en la formación de enlaces de hidrógeno entre las superficies de celulosa, lo que mejora la unión entre sus partes y provoca esta modificación estructural, ver Figura 2 ¹⁸. Esto ocasiona que sea mejor realizar cualquier extracción sin exponer el material a altas temperaturas.

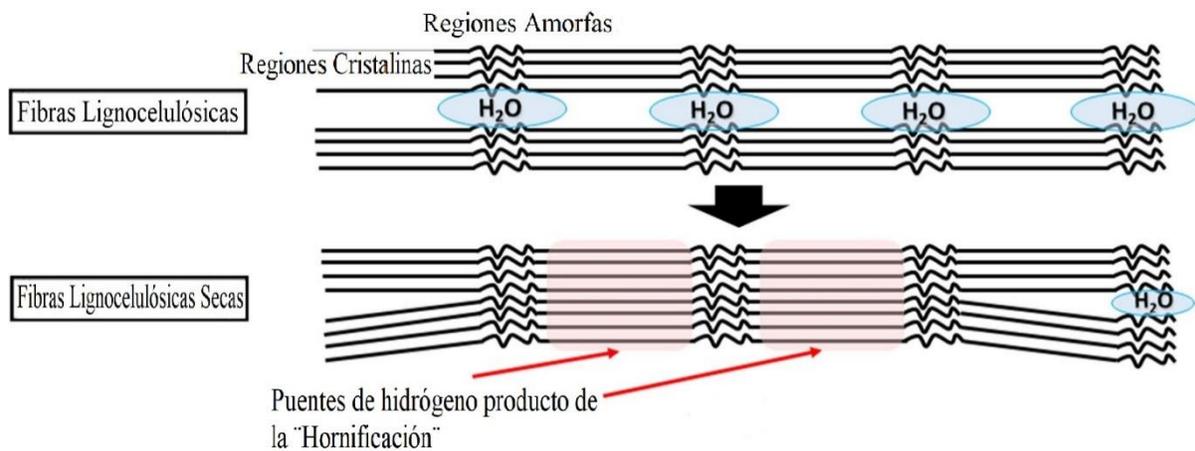


Figura 2. Proceso de formación de puentes de hidrógeno producto de la hornificación ¹⁹.

Los componentes generales de las fibras naturales son la celulosa, las hemicelulosas, las ligninas, pectinas, ceras y sustancias solubles en agua ²⁰. Es necesario definir las primeras tres ya que son las que se encuentran en mayor proporción dentro de la PALF, son los materiales con mayor aprovechamiento si se extraen y determinan la mayoría de sus propiedades ²⁰.

2.1.5.1 Celulosa

La celulosa es un homopolisacárido no ramificado constituido por unidades de β -D-glucopiranosas, es insoluble en agua y se encuentra en la pared celular de las plantas ²¹. Se considera la biomolécula

orgánica más abundante en la superficie del planeta Tierra, ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre, estando presente en plantas, bacterias, hongos, algas e incluso animales ²¹. El primero en descubrir, aislar y nombrar dicho homopolisacárido fue Anselme Payen, lo hizo a través de una extracción con amonio, para remover las hemicelulosas, posterior a un tratamiento ácido que elimina los componentes no celulósicos del tejido vegetal proveniente de algodón ²². Como es el componente de mayor interés se detallará su información en la sección 2.2.

2.1.5.2 Hemicelulosa

Las hemicelulosas son definidas como polisacáridos de bajo peso molecular que contienen comúnmente D-xilosa, D-manosa, D-galactosa, D-glucosa y L-arabinosa, donde su estructura amorfa y altamente ramificada le permite una fácil conversión en diferentes compuestos ^{23,24}. La hemicelulosa es uno de los componentes más abundantes de la biomasa lignocelulósica, después de la celulosa, produciendo alrededor del 15 al 35% de ella ²⁴. Por sus propiedades no requiere de condiciones tan extremas, en comparación a la celulosa y la lignina, para degradarse ²⁴.

El xilano es la hemicelulosa más abundante en la naturaleza y consiste en residuos de α -D-xilopiranosas (xilosa) unidos mediante enlaces glucosídicos -1-4. También podrían unirse otras unidades químicas como arabinosa o ácido glucurónico a la cadena principal del xilano produciendo subcategorías como el homoxilano, arabinoxilano, glucuronoxilano y arabinoglucuronoxilano ²⁴. La extracción de estos componentes se puede llevar a cabo a través de un tratamiento en medio básico, donde la ruptura de la pared celular por hidrólisis de los enlaces éster entre las hemicelulosas y la lignina, genera la formación de grupos carboxilatos en las primeras y promueve la ionización de grupos fenólicos en la segunda, aumentando la solubilidad de estas moléculas, hinchando las fibras y por consiguiente disminuyendo la cristalinidad de la celulosa ²⁴.

Se ha reportado que las cáscaras de piña pueden ser utilizadas para la producción de xilooligosacáridos (XOS) si son expuestas a un tratamiento con ácido nítrico diluido, esto con el fin de generar productos de mayor valor agregado como el xilitol y el etanol ²⁴. Cabe mencionar que no es de extrañar que tanto esta como otras estructuras morfológicas de la piña posean xilano como principal hemicelulosa en su composición.

2.1.5.3 Lignina

La lignina consiste en heteropolímeros aromáticos complejos que endurecen y fortifican las paredes celulares gracias a que generan una matriz densa que une las fibras de celulosa, está presente en las plantas vasculares y como muchos componentes de la biomasa se forma durante las reacciones producidas por la fotosíntesis ^{25,26}. El término lignina (derivado del latín *lignum* = madera) fue implementado la primera vez por el botánico suizo A.P. Candolle (1778-1841), posteriormente en 1865 Schulze y colaboradores utilizaron el término para describir la parte disuelta de madera cuando se trata con ácido nítrico ²⁶. Estructuralmente la lignina no se ha definido claramente porque su estructura variable y compleja afecta su aislamiento y caracterización, ver esquema general en la Figura 3 ²⁶. La naturaleza de sus múltiples unidades constituyentes, las cuales no suelen repetirse de forma regular, afecta su estructura generando variaciones que dependen de su origen y el método de extracción o purificación utilizado ²⁶.

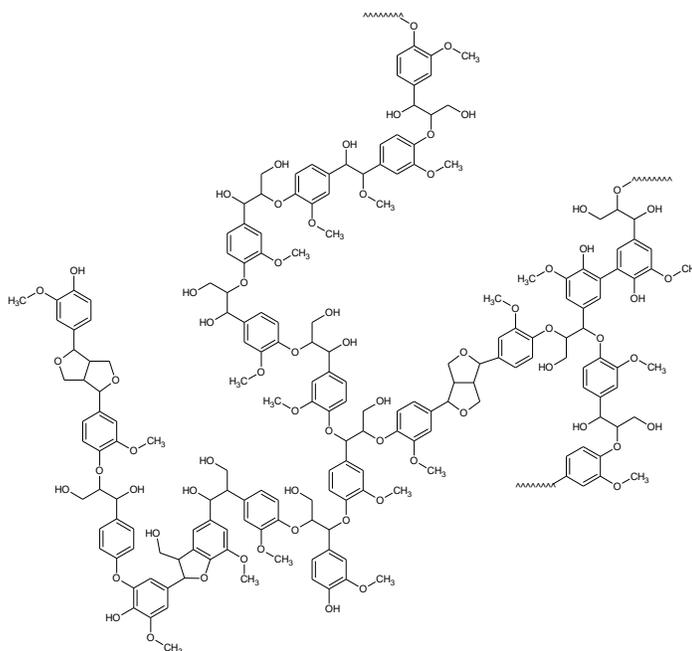


Figura 3. Esquema resumido de un modelo estructural de la lignina ²⁶.

La definición más aceptada es la realizada por Brauns quien se basa en las siguientes características: (1) Son polímeros vegetales contruidos a base de unidades derivadas del fenilpropano; (2) Presentan la mayor parte de los grupos metoxilo contenidos en la madera; (3) Son resistentes a la hidrólisis ácida, fácilmente oxidables, solubles en bisulfito o álcalis caliente y fácilmente condensables con fenoles o tioles ²⁶. En general las ligninas se pueden describir como un copolímero que se derivan

principalmente de tres unidades monoméricas procedentes del fenilpropano (monolignoles): alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico ²⁶. Cuando se ha realizado análisis a este polímero natural, después de su extracción, se han encontrado diversos fragmentos diméricos tales como (±)-pinoresinoles y (±)-siringoresinoles los cuales evidencia la presencia de mezclas racémicas ²⁶.

Dentro de las plantas los monolignoles son dirigidos a regiones de la pared celular, donde se convierten en biopolímeros con propiedades características, estos en conjunto sirve de refuerzo al recubrir las fibras de celulosas, compactarlas y proteger otras biomoléculas de fácil degradación como las hemicelulosas ²⁶. Dicha característica de la lignina produce que en la extracción de celulosa se deba llevar a cabo un proceso de deslignificación en donde se utilizan agentes oxidantes posterior a un tratamiento alcalino a altas temperaturas, esta reacción resulta en un intermediario reactivo que se sigue oxidando hasta el ácido maleico generando una desestructuración en el polímero natural ²⁶.

2.2 Estructura química y biosíntesis de la celulosa en las plantas

Desde que iniciaron las investigaciones con respecto a la ciencia de los polímeros, la estructura de celulosa ha sido de interés científico debido a su abundancia y propiedades químicas definidas ²⁷. Se ha logrado establecer que esta macromolécula consiste en la unión (C₁-O-C₄) de múltiples anillos de β-D-glucopiranososa rotados uno con respecto al otro, según se muestra en la Figura 4 ²⁷. Respecto a la conformación de este ciclo numerosos análisis de difracción de rayos X y otros estudios fisicoquímicos proporcionan evidencia suficiente para establecer que este adopta una conformación de silla específica, con los grupos hidroxilo en posición ecuatorial ²⁷.

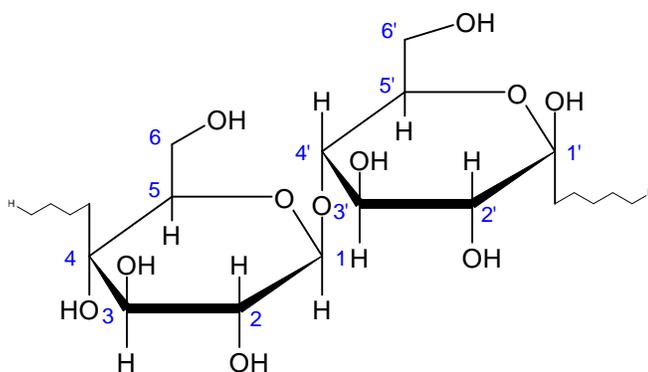


Figura 4. Numeración de átomos para la unidad repetitiva de celulosa ²⁷.

En la naturaleza, las unidades de celobiosa (unidad repetitiva de la celulosa) se unen covalentemente para formar una cadena recta, insoluble y extendida de homopolímero lineal que puede

tener de 2000 a 27000 monómeros ²¹. El grado de polimerización (DP) depende de la fuente (5000 unidades repetitivas en la madera y 7500 en el algodón) y de la estructura morfológica de la planta, ya que generalmente en las paredes celulares primarias hay un menor grado de polimerización que en las secundarias ²¹. Cabe resaltar que es difícil medir la longitud de cadena de la celulosa, debido a la degradación enzimática y mecánica que puede ocurrir durante su extracción ²¹.

Una característica de suma importancia para la celulosa es su capacidad de formar puentes de hidrógeno, sus monómeros contienen tres grupos hidroxilo, que genera cierto empaquetamiento en sus cadenas para dar altos grados de cristalinidad, los cuales controlan las propiedades físicas del polímero ²⁷.

La biosíntesis de la celulosa en las plantas se puede dividir en dos pasos fundamentales: la formación de cadenas de celobiosa mediante la polimerización de la β -D-glucopiranososa y la organización de estas cadenas, al interactuar unas con las otras, en conglomerados altamente orientados para generar estructuras cristalinas alargadas, conocidas comúnmente como microfibrillas ^{9,21}. Este proceso, que en resumen consiste en la polimerización de la glucosa, se da gracias a un sistema enzimático cuya familia principal se denomina celulosa sintasa (CS) ²⁸. Cabe resaltar que el complejo enzimático está compuesto por muchas subunidades, donde cada una alarga solo una cadena a la vez ²⁸. Es así como se explica que cada microfibrilla tenga entre 30 y 200 cadenas en la sección transversal, Figura 5 ²⁸.

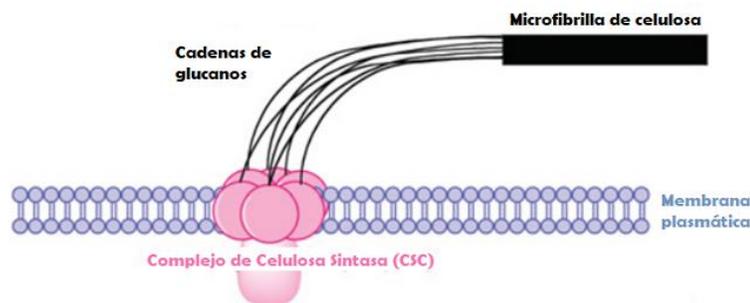


Figura 5. Diagrama esquemático del complejo de celulosa sintasa (CSC) dentro de la membrana plasmática ²⁸.

La evidencia disponible sugiere que la celulosa se sintetiza fuera o en la membrana plasmática, ya que en las plantas se debe generar cerca de la pared celular para asegurar la protección y el soporte de las células ²⁸. Debido a la forma y el lugar en que se da la síntesis el complejo enzimático adquiere una conformación específica que proporciona las estructuras cristalinas de las microfibrillas ²⁸. La proteína

superior, que acompaña a la celulosa sintasa, también ayuda en el proceso de cristalización por lo que se cree que este sigue muy de cerca la adición de residuos de glucosa a las cadenas ²⁸.

2.2.1 Polimorfismo de la celulosa

El polimorfismo de un material está asociado a su capacidad de existir en más de una estructura cristalina ²⁷. En el caso de la celulosa su estructura química le permite formar diferentes puentes de hidrógeno, ya sea intra o intermolecularmente, esto produce que los anillos de glucopiranososa puedan adquirir diferentes disposiciones en el espacio, según la naturaleza de dichas interacciones, y por consiguiente exhibir diferentes empaquetamientos cristalinos. Se conocen varios polimorfos de celulosa, tales como celulosa I, II, III, IV y sus variedades I α , I β , III_I, IV_I, III_{II} y IV_{II} ²⁷. Las transiciones entre los principales polimorfos de este polímero natural pueden observarse esquemáticamente según la Figura 6.

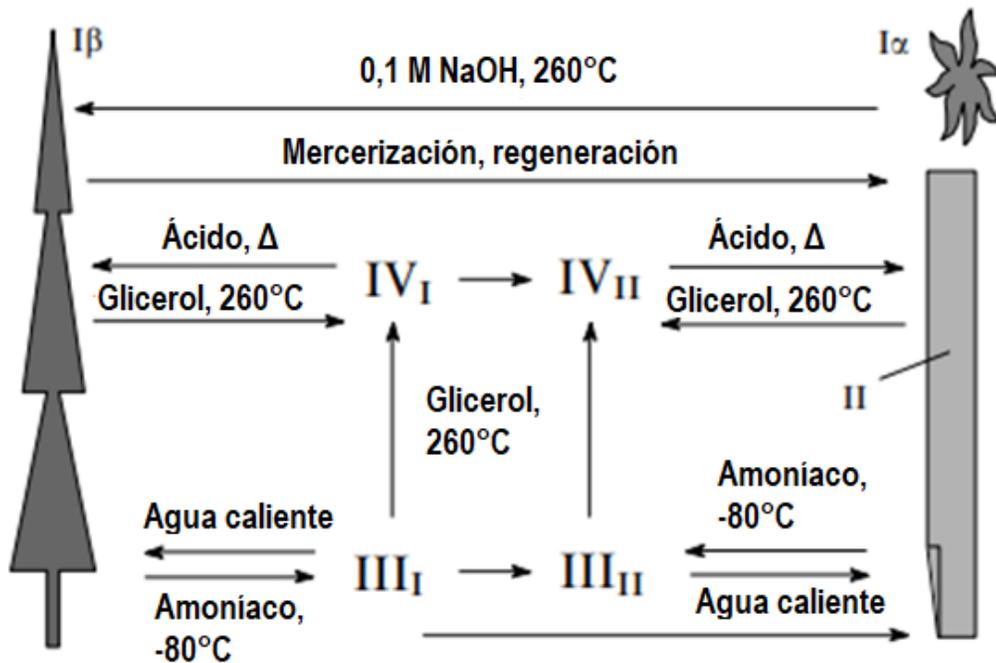


Figura 6. Polimorfismos de la celulosa y sus transiciones ²⁴.

a. Celulosa I

La celulosa conocida como nativa es la que se encuentra en la naturaleza y está presente en una estructura cristalina del tipo I²⁹. En los primeros estudios realizados sobre la misma, se determinó por medio de difracción de rayos X, que dicho polimorfismo estaba definido por un sistema cristalino monocíclico que contenía dos cadenas de celulosa²⁹.

En la actualidad se sabe que la celulosa I presenta dos variaciones (I α y I β) y estas, aunque tienen la misma conformación del esqueleto de celobiosa y coexisten en el mismo medio, presentan diferencias en su celda unitaria por tener conformaciones distintas producto de la formación de puentes de hidrógeno²⁹. En el caso de la celulosa I α la celda unitaria es triclinica con una cadena por celda, mientras que la forma I β representa una fase monoclinica con dos cadenas por celda²⁹.

La relación de las dos variaciones de la celulosa I, difiere mucho según la especie, por ejemplo la I α se encuentra en mayor cantidad en organismos primitivos (algas o bacterias), mientras que para la celulosa producida por plantas superiores y algunos animales la forma I β presenta mayor proporción³⁰.

b. Celulosa II

La celulosa nativa I se puede convertir en el polimorfo de celulosa II hinchando las cadenas con disoluciones acuosas de hidróxido de sodio concentrado y eliminando dicho reactivo posteriormente, este método se conoce como mercerización²⁷. La transición de celulosa I a la II es un proceso irreversible debido a que hay un cambio en la disposición de las cadenas celulósicas, de paralelas a antiparalelas, esto propicia que se genere una mayor cantidad de puentes de hidrógeno intermoleculares entre ellas y por ende la celulosa II sea más estable termodinámicamente, a pesar de que su celda unitaria también sea monoclinica como la de la celulosa I β ²⁷.

c. Celulosa III

El tratamiento de la celulosa I con amoníaco líquido desplaza las cadenas adyacentes unas con respecto a las otras en una estructura estable de mayor energía que se conoce como celulosa III_I, esta puede volver a su estado original si se calienta en presencia de agua²⁷. Una estructura muy similar, celulosa III_{II}, se obtiene mediante el mismo método pero utilizando como material de partida la

celulosa II ²⁷. Por lo tanto se establece que la diferencia entre las variaciones de la celulosa III es la disposición de sus cadenas, paralelas para III_I y antiparalelas para III_{II}, donde ambas presentan una celda unitaria hexagonal ³¹.

d. Celulosa IV

El tratamiento de la celulosa III con glicerol a altas temperaturas produce que se transforme en celulosa IV. Por lo tanto existen dos variaciones posibles, IV_I y IV_{II}, obtenidas de celulosa III_I y III_{II} respectivamente ²⁷. Las conversiones nunca son totalmente completas, por lo que existen complicaciones al realizar estudios por difracción de rayos X para determinar su sistema cristalino, aun así se cree que ambas variaciones del polimorfismo de celulosa IV cristaliza en una celda unitaria ortogonal ³¹.

2.2.2 Jerarquía en los niveles estructurales de la celulosa.

Cuando se habla de la organización estructural de la celulosa obtenida a partir de material vegetal, se debe resaltar la existencia de varios niveles jerárquicos. Está el nivel macroscópico (fibras naturales, paredes celulares, microfibrillas) y el nanoscópico (microfibrillas, nanofibras, nanocristales) ³². Este segundo nivel es de mayor importancia debido a que es el que define las propiedades físicas y químicas de interés con respecto a la celulosa, independientemente de su origen ³².

La microfibrilla de celulosa (CMF) es una unidad supramolecular que consta de una cantidad considerable de cadenas poliméricas paralelas ³³. La anchura de su sección transversal puede variar, pero usualmente tiene un diámetro medio de aproximadamente 100 nm o más ³³. Otro aspecto de estas estructuras es la longitud, la cual no tiene un valor definido, ya que depende de la fuente donde se haya extraído la celulosa, pero generalmente es más grande que la sección transversal y supera las decenas de micrómetros ³³.

La CMF posee dominios cristalinos, regiones donde las cadenas poseen un orden específico, y zonas amorfas, donde las cadenas se acomodan aleatoriamente sin seguir un patrón ³³. El porcentaje de las partes cristalinas varían con la fuente de donde se obtuvo la celulosa, ya que si es partir de

bacterias y algas puede alcanzar el 100%, mientras que en el caso de las plantas superiores es menor debido a que contiene regiones amorfas ³³.

Se ha reportado que la CMF está compuesta de estructuras de celulosa aún más delgadas de unos cuantos nanómetros, ver Figura 7, por lo que estas últimas se consideran nanocelulosa, presentan una mayor relación de aspecto (largo/diámetro) y reciben el acrónimo CNC o CNF, dependiendo del método de extracción, del índice de cristalinidad y de sus dimensiones ³².

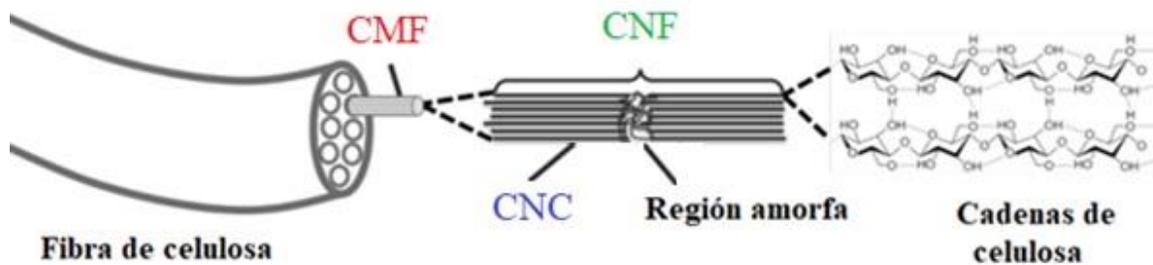


Figura 7. Esquema general de la jerarquía estructural para las fibras de celulosa ³⁴.

Los nanocristales de celulosa (CNC) poseen forma de aguja de 10 nm a 20 nm de ancho y varios cientos de nanómetros de longitud. Se pueden producir a partir de las nanofibras de celulosa (CNF), mediante un tratamiento ácido que se encarga de eliminar la mayoría de la celulosa amorfa para obtener cristales de alta pureza ³². Por otra parte, la CNF forma redes largas flexibles, con un diámetro de fibrilla similar o más grande que los CNC y la principal diferencia entre ambas estructuras es que la CNF contiene celulosa amorfa por lo que no es tan altamente cristalina como la CNC ³². Aspectos como la morfología y dimensiones de la CNF pueden variar sustancialmente, ya que ambas características dependen del método utilizado para obtenerlas, de la fuente de donde se extraen y de la aplicación de pretratamientos ³².

2.3 Celulosa nanofibrilar (CNF)

La estructura jerárquica de la celulosa se puede desestructurar utilizando una estrategia de nanofibrilación, que consiste en extraer los componentes que forman las microfibrillas. Este proceso se logra al someter mecánicamente suspensiones de fibras de celulosa a altas fuerzas de cizallamiento, permitiendo la purificación de CNF ³². Estas al poseer muy buenas propiedades mecánicas son

utilizadas en diferentes aplicaciones como por ejemplo la elaboración de materiales compuestos o películas de nanocelulosa ^{32,35}.

Es importante resaltar que la CNF es usualmente producida a partir de fibras que nunca fueron secadas por qué se ha reportado que el proceso de hornificación para la celulosa produce efectos negativos en la fabricación de nanoestructuras ¹⁸.

2.3.1 Pretratamientos existentes para facilitar la nanofibrilación de celulosa

Los métodos de nanofibrilación mecánica para la celulosa presentan inconvenientes, ya sea por problemas en la dispersión de las fibras, altos consumos energéticos o utilización de disolventes poco amigables con el ambiente ⁹. Por esta razón se han investigado y utilizado diferentes pretratamientos para buscar solventar dichos problemas, donde se ha comprobado la disminución en los consumos energéticos y mejoras en la dispersión de las fibras ⁹.

Es importante resaltar que los pretratamientos químicos promueven el hinchamiento de la pared celular en las fibras y reducen la formación de puentes de hidrógeno entre las nanoestructuras, contrarrestando los efectos de la hornificación ¹⁸. Pero usualmente lo más recomendable es utilizar el material lignocelulósico húmedo para que de esta manera se conserven sus propiedades.

Con el fin de aislar celulosa y posteriormente nanocelulosa desde un acercamiento de desestructuración, la lignina y otros compuestos como las proteínas y hemicelulosas se deben eliminar de la matriz, una opción para lograrlo es la utilización de hidróxido de sodio y temperatura. En la Figura 8 se muestra los sitios susceptibles a reaccionar de las secciones lignocelulósicas dentro de las fibras cuando entran en contacto con una solución básica ³⁶.

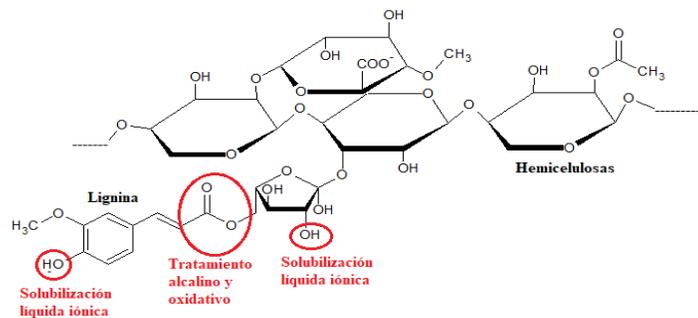


Figura 8. Sitios de reacción con hidróxido de sodio de los compuestos lignocelulósicos presentes en la pared celular de las plantas ³⁶.

Se puede observar que el enlace éster de lignina podría romperse y los grupos -OH se oxidarían a -COO⁻ lo que generaría repulsión electrostática y un debilitamiento de las interacciones por puentes de hidrógeno dentro de su estructura, finalizando en una despolimerización de la misma ³⁶. Este proceso permite remover dicho heteropolímero aromático mediante un posterior tratamiento de blanqueo que consiste en la utilización de hipoclorito de sodio, el cual elimina los compuestos fenólicos o moléculas que contienen grupos cromóforos generando que las fibras se tornen blancas ²⁶.

a. Pretratamiento enzimático

La utilización de enzimas para llevar a cabo la hidrólisis de la celulosa es un proceso complejo, ya que existe la participación de tres tipos diferentes de actividades enzimáticas que funcionan sinérgicamente en un mismo sistema ³⁷. Estas proteínas son conocidas como celulasas y se diferencian en tres grupos según sean sus propiedades catalíticas ³⁷.

- Endoglucanasas: hidrolizan aleatoriamente enlaces 1,4-glucosídicos intramoleculares, por lo que generan oligosacáridos de longitudes variables y nuevos extremos de cadena ³⁷.
- Exoglucanasas: actúan sobre los extremos de la cadena para liberar celobiosa o glucosa como productos principales ³⁷.
- β -glucosidasas: hidrolizan la celobiosa en glucosa ³⁷.

Otras de las enzimas que se utilizan usualmente para el procesamiento de fibras, son las que se encargan de degradar o modificar las hemicelulosas y las ligninas, sin afectar o interactuar con la celulosa presente ⁹. Estas proteínas realizan una hidrólisis más controlada y efectiva, en comparación con las disoluciones ácidas, facilitando la nanofibrilación de la celulosa al lograr una mayor dispersión de las fibras, y se ha reportado CNF con diámetros de 5 nm a 6 nm ⁹. Las ventajas de este pretratamiento es ser muy efectivo en la producción de nanofibras y que puede compensar los efectos de la hornificación en la muestras lignocelulosicas ¹⁸.

b. Carboximetilación

Existe un proceso en el cual se sustituyen algunos grupos hidroxilo de los monómeros que forman la cadena principal de la celulosa, por grupos carboximetilo conocido como carboximetilación ³⁸. Esta modificación química se lleva a cabo cuando se suspende el material en una disolución de ácido

monocloroacético en presencia de hidróxido de sodio ³⁸. Este último reactivo incrementa la accesibilidad a las fibras por parte de los productos químicos, demostrándose que el grupo hidroxilo de la celulosa adquiere una mayor reactividad bajo estas condiciones ³⁸.

La modificación por carboximetilación requiere dos pasos consecutivos de reacción: el primero consiste en alcalinizar la celulosa con hidróxido de sodio (NaOH) y el segundo en la eterificación por medio del monocloroacetato (ClCH₂COONa), ver Figura 8 ³⁸. Dependiendo de cuantos grupos hidroxilo reaccionen, se puede obtener altos grados de sustitución, lo cual ocasiona que la celulosa sea soluble y químicamente reactiva ³⁸.

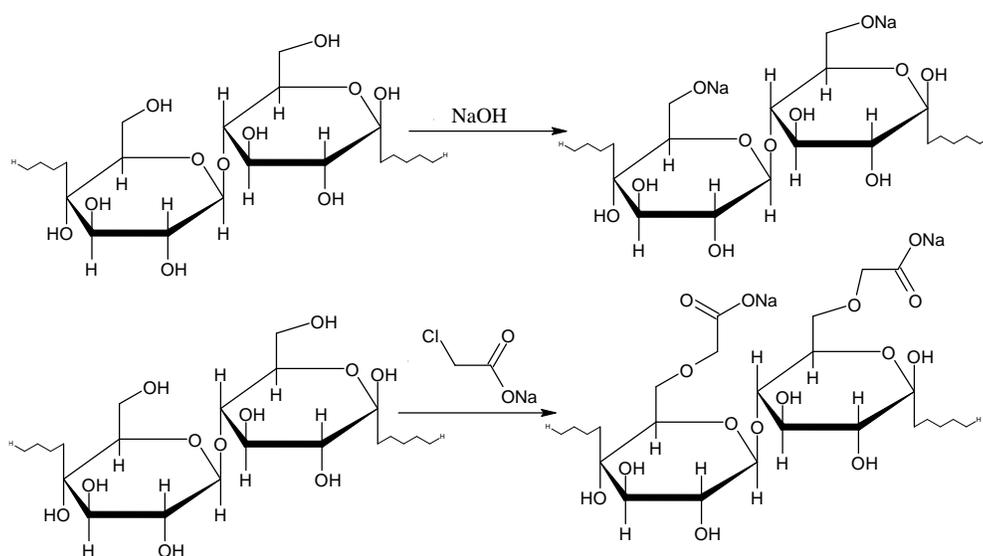


Figura 9. Ecuación química de la carboximetilación de celulosa ³⁸.

Se ha comprobado que el pretratamiento por carboximetilación genera mayores rendimientos en la nanofibrilación de la celulosa al generar cargas en las nanofibrillas, por lo que es más fácil dispersarlas ³⁸. Se ha reportado que la aplicación de la homogeneización a alta presión posterior a este pretratamiento, ha generado suspensiones de CNF claras con una concentración de 1 g/L a 2 g/L de nanofibrillas, que poseen una sección transversal de 5 nm a 15 nm y una longitud de más de 1 μ m ³⁹.

c. Pretratamiento de oxidación mediado por TEMPO

El pretratamiento más utilizado en la actualidad para preparar CNF es la oxidación mediada por 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo (TEMPO) ⁴⁰. Este consiste en disolver cantidades específicas de TEMPO y bromuro de sodio (NaBr) en disoluciones de polisacáridos a pH 10-11, para luego iniciar la

reacción al agregar hipoclorito de sodio (NaClO) como oxidante, esto ocasiona que los grupos hidroxilos primarios se transformen en aldehídos (-CHO) y posteriormente en grupos carboxilato (-COO⁻) si la condiciones son las indicadas ⁴⁰. Para comprobar que la modificación química se llevó a cabo con éxito se pueden realizar dos análisis, el primero es la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), con la cual se observa la presencia del grupo carbonilo en la estructura y entre más efectiva sea la oxidación mayor será la absorbancia; y el segundo es la titulación conductimétrica que genera un dato cuantitativo del contenido de grupos carboxilatos y carbonilos de aldehídos ¹⁰.

Para el caso de la celulosa, la reacción es selectiva ya que se lleva a cabo sólo en los hidroxilos del carbono 6 de los monómeros que se encuentran en la superficie de las nanofibrillas, ver Figura 9 ⁴⁰. El proceso de oxidación se puede controlar a partir del consumo de hidróxido de sodio, que se agrega reiteradamente a la mezcla de reacción para mantener un pH de 10 durante la modificación química ⁴⁰.

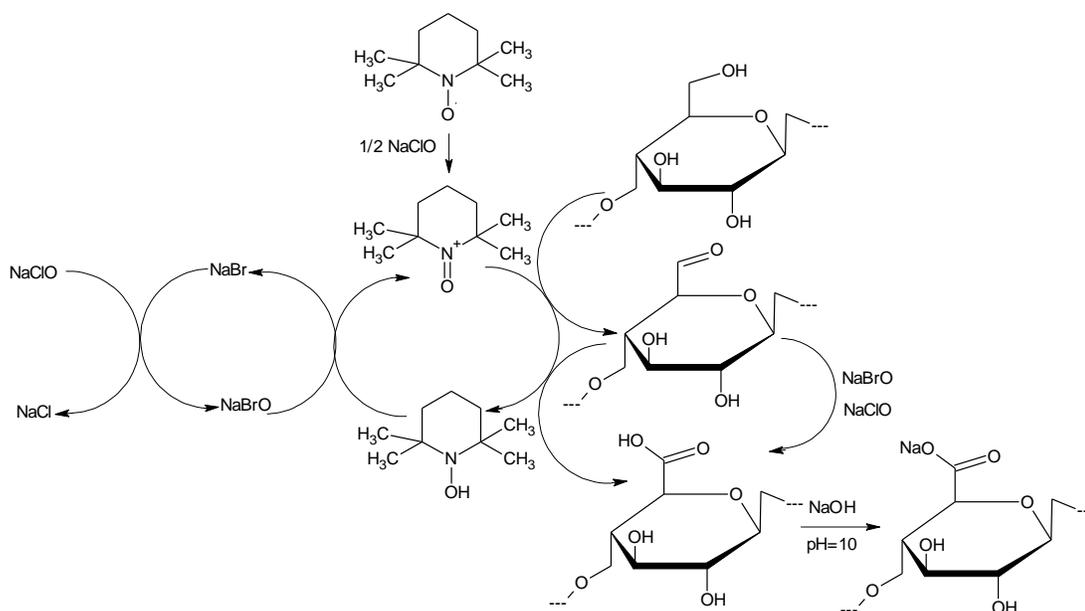


Figura 10. Oxidación regioselectiva, de hidroxilos primarios C6 de la celulosa a grupos carboxilatos, mediada por TEMPO / NaBr / NaClO en agua a pH 10-11 ⁴⁰.

Un aspecto muy importante del pretratamiento de oxidación mediada por TEMPO es que la morfología de las fibras de celulosa se mantiene inalterada por que la reacción se lleva a cabo sobre la superficie, esto ocasiona que se carguen negativamente, generando repulsión electrostática y facilitando su nanofibrilación mecánica ¹⁰. Se ha demostrado que cuando el pH de la suspensión alcanza valores cercanos a 10 se dan las condiciones óptimas para obtener nanofibras con anchos de 3

nm a 5 nm y pocas micras de longitud, facilitando la remoción de hemicelulosas que se oxidan en fracciones pequeñas más solubles ¹⁰.

Por último se ha reportado que la celulosa que nunca fue secada y la que se expuso a un proceso de hornificación producen CNF similar en la oxidación mediada por TEMPO, esto si la densidad de carga producto de los grupos carboxilatos en ambas es lo suficientemente alta ¹⁸. La mayor diferencia recae en que tratar las muestras húmedas genera que sea más fácil dispersar las nanofibras obtenidas, aun si estas cuentan con una menor cantidad de grupos oxidados ¹⁸.

2.3.2 Métodos para la nanofibrilación de celulosa

Para lograr la obtención de celulosa a partir de material vegetal, primero se debe desestructurar para obtener fibras, por ejemplo: las hojas del rastrojo de piña se deben decorticar para lograr dicho objetivo, estas se dispersan en una disolución de hidróxido de sodio con calentamiento, posteriormente el sólido obtenido se filtra y se lava con agua para eliminar los polisacáridos solubles ⁴¹. El blanqueo se realiza con una disolución que contiene clorito de sodio y un buffer, mientras se agita mecánicamente ⁴¹. Con este tratamiento se eliminan la mayoría de las ligninas, otros polifenoles, hemicelulosas y proteínas, obteniendo fibrillas individualizadas de las cuales se puede extraer CNF a partir de alguno de los métodos mecánicos existentes, mencionados en la Cuadro 2 ^{9,41}.

En los tejidos vegetales las nanofibrillas están fuertemente unidas entre sí por múltiples enlaces de hidrógeno, por lo que su extracción ha demostrado ser extremadamente difícil y solamente con la ayuda de un fuerte tratamiento mecánico, es posible desintegrar las fibras de pulpa de la madera para obtener CNF ¹⁰. Estudios anteriores han demostrado que una forma más sencilla es la modificación química en la superficie de las fibrillas para generar repulsión electroestática entre ellas y desintegrarlas en nanofibras individuales con un tratamiento de homogeneización simple, como puede ser la utilización de un dispersor de alto rendimiento o una licuadora doméstica ¹⁰.

Cuadro 2. Técnicas de tratamiento mecánico para la nanofibrilación de celulosa ⁸.

Técnica	Descripción	Inconvenientes
Homogeneización a alta presión	Bombee con una alta presión las suspensiones de fibras individualizadas a través de dos placas que se abren y cierran con gran velocidad donde el material vegetal está expuesto a una gran caída de presión, con fuerzas de cizallamiento e impacto muy altas, ocasionando su hinchamiento y desestructuración. Este es el método más utilizado por su alto rendimiento y también se conoce como microfluidización.	Se requieren muchas repeticiones para obtener CNF. Altos consumos de energía. Puede degradar las fibras.
Molienda	La materia prima se coloca en una tolva cuyo final llega a dos discos de molienda, superior e inferior, y mientras que el primero está fijo la otra gira a alta velocidad para someter las fibras a una alta fricción.	Degradación de las fibras de la pulpa. Se genera una gran cantidad de CMF (funciona como pretratamiento).
Crio-trituración	Se sumerge una solución de fibras en nitrógeno líquido para congelar el agua, la muestra congelada se tritura posteriormente con un mortero de hierro fundido, lo que produce que los cristales de hielo ejerzan la presión suficiente para provocar la liberación de fibrillas.	El diámetro de las fibrillas obtenidas oscila entre 0,1 y 1 micrómetro (CMF), pero se puede utilizar como tratamiento previo.
Ultrasonido de alta intensidad	Se genera electrónicamente una alta frecuencia, esta se transforma en energía mecánica gracias a una sonda de metal que oscila a altas velocidades. La sonda se coloca en la muestra y al oscilar produce una alta presión localizada, gracias a fenómenos de cavitación, formación, expansión e implosión de burbujas de gas microscópicas por la absorción de energía de las moléculas del líquido.	Generación de calor. Altos niveles de ruido. Variabilidad del rendimiento. Generación de radicales libres. Siempre se obtiene una mezcla de fibrillas a nano y microescala.

2.3.3 Propiedades morfológicas y térmicas de la CNF.

La CNF puede prepararse a partir de diferentes materiales naturales cuya composición posea fibras celulósicas como lo es la madera, cultivos agrícolas o residuos de plantas ⁴². La diferencia de cada matriz es el porcentaje de sus componentes donde entre mayor sea la cantidad de lignina y hemicelulosa más difícil será obtener nanofibras, esto ocasiona que sus dimensiones puedan variar en la longitud desde unos cuantos nanómetros hasta 12 μm o más y en el diámetro de pocos nanómetros a 80 nm ⁴². Estos valores pueden ser calculados a partir de imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica (AFM) y por microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando una herramienta de procesamiento de imágenes ⁴².

La cristalinidad de la CNF es generada por los puentes de hidrógeno entre las moléculas, estos promueven un sistema regular y ordenado ⁴². Las unidades fibrilares individuales consisten en períodos largos de regiones cristalinas interrumpidas por zonas amorfas ⁴². En la celulosa nativa, la longitud de los cristales puede ser de 100 nm a 250 nm con secciones transversales de 3 nm a 10 nm ⁴². Los tratamientos químicos y mecánicos afectan la cristalinidad de las fibras celulósicas, por ejemplo, las regiones cristalinas resisten el ataque del ácido diluido mientras que las zonas amorfas se desestructuran ⁴². Se ha reportado que a menor contenido de hemicelulosas y lignina se aumenta la cristalinidad de las fibras ⁴². El índice de cristalinidad se puede determinar por difracción de rayos X ya que las zonas cristalinas, al estar más ordenadas, generan una mayor dispersión que las amorfas y producen señales que se pueden cuantificar y correlacionar ⁴².

Las propiedades térmicas de las fibras naturales sirven para medir su aplicabilidad en el procesamiento de biocompuestos, en el que la temperatura de trabajo para los polímeros termoplásticos se eleva por encima de 200°C ⁴². Se ha demostrado a partir de análisis termogravimétrico (TGA) que la nanofibrilación aumenta la estabilidad térmica del material vegetal, por lo que se podría utilizar a altos rangos de temperatura ⁴².

2.3.4 Aplicaciones de la celulosa nanofibrilar

La celulosa posee un amplio consumo a nivel industrial ya que es utilizada en las industrias farmacéuticas, del papel y los textiles, pero su área de aplicación se amplía si consideramos las propiedades químicas y físicas que adquiere a nivel nanométrico, un ejemplo de esto son las propuestas para utilizar las películas de nanocelulosa en pantallas táctiles, paneles solares, nanogeneradores eléctricos y liberación de fármacos ^{11,35}.

Gracias a sus propiedades mecánicas, térmicas y biodegradabilidad, la CNF adquiere un conjunto de características superiores a las que se encuentran en otros materiales. Uno de los ejemplos más destacados es la utilización de celulosa fibrilada como material de relleno, se ha utilizado CMF embebida en una mezcla 50/50 de amilopectina /glicerol, para producir películas homogéneas mostrando que al alcanzar el 70% en masa se aumenta considerablemente la resistencia a la tracción, el módulo y el valor de fractura, considerándose un sustituto biodegradable para algunos plásticos ⁴³. Utilizando colágeno como matriz se ha realizado una reticulación con CNF, donde se encontró una

buena interacción de ambos materiales, optimizando sus propiedades mecánicas para posibles aplicaciones biomédicas ⁴⁴. La CNF también funciona como material de carga para compuestos epoxi donde se requieren pequeñas cantidades de nanofibras para mejorar las propiedades del polímero ⁴⁵.

Otro de los métodos utilizados para aplicar la CNF es la generación de películas, con propiedades mecánicas muy similares a las nanofibras puras, las cuales se pueden modificar para interactuar con diferentes compuestos. Tal es el caso del pretratamiento de oxidación mediado por TEMPO para generar películas con superficies funcionalizadas, inmovilizando inmunoglobulina G antihumana para la detección de enfermedades ¹³. Se ha investigado el uso de películas de CNF para la administración controlada de medicamentos, mostrando resultados muy prometedores ¹¹. Se ha reportado el uso de películas de CNF como matriz para nanopartículas de plata obteniéndose un empaque antimicrobiano con buena actividad contra *Escherichia coli* (Gram-negativas) y *Staphylococcus aureus* (Gram-positivas) ⁴⁶.

CAPÍTULO III: OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el potencial del rastrojo de piña (*Ananas comosus*) como fuente para la obtención de nanofibras de celulosa.

3.2 Objetivos específicos

1. Obtener celulosa nanofibrilar a partir del rastrojo de la piña.
2. Caracterizar la celulosa nanofibrilar proveniente del rastrojo de piña.
3. Elaborar películas de celulosa nanofibrilar obtenida a partir del rastrojo de piña.

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1 Materiales

El hipoclorito de sodio (10-15%), la 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo (TEMPO, 98% m/m), el bromuro del sodio (99%), el ácido clorhídrico (37%), el cloruro de sodio (99%) y el clorito de sodio (80%) fueron adquiridos de Sigma Aldrich (Alemania). El hidróxido de sodio (lentejas, 98%) fue adquirido de Fisher Scientific (EE. UU.). El nitrógeno comprimido (99%) fue adquirido de Praxair (Costa Rica). Se recolectó rastrojo de piña en una plantación localizada en Sarapiquí, Heredia, el material se almacenó a temperatura ambiente en bolsas de plástico negro y se trasladó hasta el Laboratorio de Polímeros (POLIUNA) de la Escuela de Química de la Universidad Nacional, Heredia.

4.2. Desestructuración de las hojas del rastrojo de piña para la obtención de PALF y fibras de celulosa

Las hojas del rastrojo de piña no se secaron y fueron tratadas inicialmente con la decortadora brindada por la Escuela de Ing. Forestal del ITCR la cual permite eliminar mecánicamente la parte externa de la hoja y obtener PALF. El material posteriormente se cortó a un tamaño de menos de 0,5 cm y en una balanza analítica (Mettler, AE200) se pesaron 100 g, se colocaron en un balón de tres bocas (500 mL), se añadió 200 mL de una disolución de hidróxido de sodio al 4% m/m y se inició la reacción a 80 °C durante dos horas con agitación constante utilizando un agitador magnético (Thermo scientific, Cimarec) para obtener las fibras de celulosa ⁴⁷.

4.3 Extracción y purificación de la CNF, sin microfluidizador

En la Figura 11 se puede observar un resumen de las etapas del proceso iniciando desde las hojas del rastrojo de piña (a) que al decortarse pasan a ser PALF (b). Posterior al tratamiento alcalino las fibras se neutralizaron con lavados de agua destilada mediante filtración y se blanquearon con

hipoclorito de sodio al 3% m/m, obteniéndose celulosa (e). Una porción de PALF se separó para poder estudiar el efecto de la lignina en la CNF.

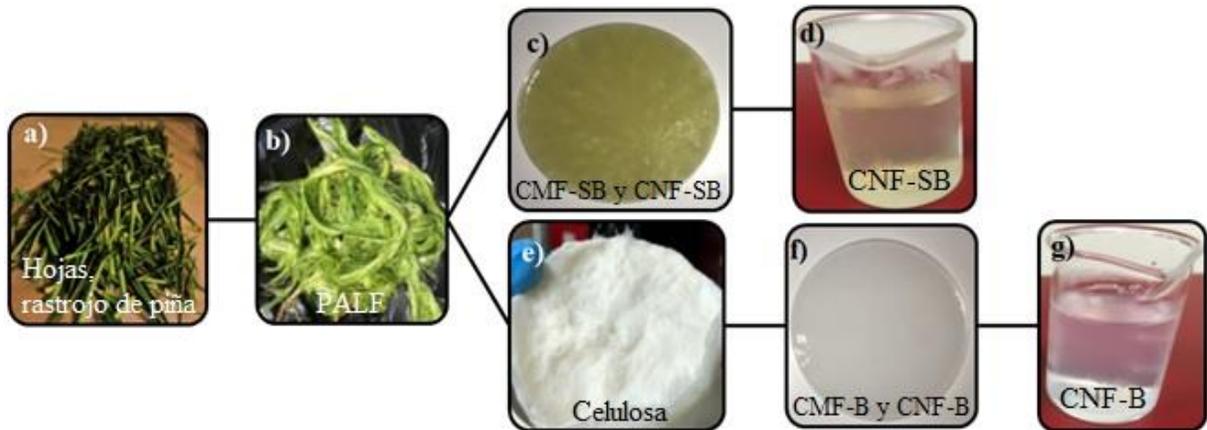


Figura 11. Etapas de obtención de CNF a partir del rastrojo de piña: (a) hojas del rastrojo de piña, (b) PALF, (c) mezcla de micro y nanofibrillas sin blanquear, (d) suspensión de CNF-SB, (e) celulosa, (f) mezcla de micro y nanofibrillas blanqueadas y (g) suspensión de CNF-B.

Se suspendieron 15 g (masa en seco), pesados en una balanza analítica (Mettler, AE200), de celulosa blanqueada (e) y PALF (b) en dos disoluciones acuosas de TEMPO (0,1 mmol/g de fibra) y bromuro de sodio (1 mmol/g de fibra) diferentes hasta alcanzar una consistencia del 1% cada una¹⁰. La oxidación mediada por TEMPO se inició añadiendo hipoclorito de sodio al 7% m/v (12 mmol/g de fibra) con agitación constante mediante un agitador magnético (Thermo Scientific, SP 131325) y se verificó que el pH estuviese entre 10 y 11 con un pH-metro (Sartorius, SAR PP-20). El pH se ajustó con ácido clorhídrico al (0.494±0.008) M o hidróxido de sodio al (0.485±0.004) M hasta alcanzar dicho valor¹⁰. Después de 3 horas de reacción la celulosa y la PALF oxidadas con TEMPO se lavaron tres veces con agua destilada por filtración y se almacenaron a 4°C.

Finalmente, se realizó una desintegración mecánica con el dispersor de alto rendimiento (Ultra-Turrax®, IKA T25) a 17000 rpm durante intervalos de 5 min hasta alcanzar un máximo de 15 min totales, esto produjo suspensiones de CMF y CNF mezcladas por lo que se les asignó el nombre de CMF-SB/CNF-SB (c) por estar sin blanquear y CMF-B/CNF-B (f) por ser blanqueadas. Para aislar la CNF-SB (d) y CNF-B (g) se centrifugaron a 8000 rpm y 20°C durante 10 min con una centrífuga (Eppendorf, 5804 R) para separar partículas grandes de la CMF interferente.

4.4 Extracción y purificación de la CNF, con microfluidizador

En la Figura 12 se muestra un esquema general de cómo las suspensiones de PALF (a) y fibras de celulosa blanqueadas (b), se sometieron a una desestructuración mecánica utilizando un molino de fricción ultrafina (Masuko grinder®: FRIMA-Maschinenbau, KM) con un total de pases de 15 para cada una (c), produciendo CMF-SB (d) y CMF-B (d) respectivamente.

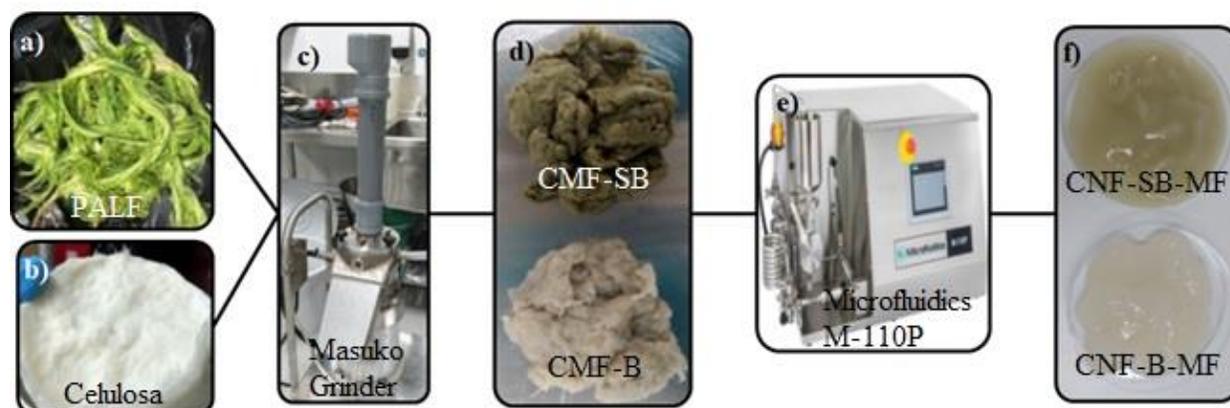


Figura 12. Etapas de obtención de CNF a partir del rastrojo de piña utilizando microfluidización: (a) PALF, (b) celulosa, (c) Masuko grinder (d) microfibras sin blanquear (arriba) y microfibras blanqueadas (abajo), (e) Microfluidics M-110P⁴⁸ y (f) CNF-SB-MF (arriba) y CNF-B-MF (abajo).

Se continuó con la oxidación mediada por TEMPO como se ha descrito en el punto 4.3 de la metodología. Posteriormente, se realizó una desintegración mecánica de las fibras tratadas utilizando un microfluidizador (Microfluidics, M-110P). Para lograr este propósito se pasó en 2 ocasiones utilizando una disposición de cámaras en serie de 400-200 μm , luego se dispersó usando el (Ultra-Turrax®, IKA T25) a 17000 rpm durante intervalos de 5 min hasta alcanzar un máximo de 15 min totales. A las suspensiones obtenidas se les asignó el nombre de CNF-B-MF (f) y CNF-SB-MF (f), se centrifugaron a 8000 rpm y 20°C durante 10 min con una centrífuga (Eppendorf, 5804 R) para separar partículas grandes.

4.5 Caracterización de la CNF obtenida

Se utilizaron distintas técnicas con el fin de dimensionar y estudiar químicamente el material obtenido, para demostrar que este realmente era CNF que fue oxidada por TEMPO. Se preparó CNF-SB con el fin de evaluar el efecto de la lignina sobre la metodología utilizada y por consiguiente en los

resultados. Los procedimientos aplicados fueron la determinación conductimétrica, el análisis del Z-potencial y la microscopia de fuerza atómica, estos se presentaran con detalle a continuación.

En la determinación del grado de oxidación se colocaron 0,3 g, pesados en una balanza analítica (Mettler, AE200), de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF en disoluciones distintas que contenían cada un 110 mL de agua destilada y 10 mL de cloruro de sodio 0,01 M y se dispersaron mediante agitación constante con el agitador magnético (Thermo Scientific, SP 131325). Luego se añadió ácido clorhídrico (0.494±0.008) M hasta alcanzar un pH entre 2,5 y 3,0 medido con un pHmetro (Sartorius, SAR PP-20) y se inició la valoración utilizando un conductímetro (Thermo Scientific, Orion 3 Star) añadiendo 1 mL de una solución de hidróxido de sodio (0.0485±0.0004) M hasta alcanzar conductividad constante. La adición de hidróxido de sodio se continuó hasta alcanzar un pH de 11. El contenido de carboxilato de la muestra se determinó a partir de la curva de conductividad ⁴⁹. Las muestras de CNF se oxidaron con una disolución acuosa de clorito de sodio a pH entre 4 y 5 para la conversión selectiva de los grupos aldehído a carboxilato, los últimos se determinaron mediante el método de valoración de conductividad eléctrica mencionado anteriormente ⁴⁹.

El contenido de carboxilatos (COOH) se determinó mediante la Ecuación 1, donde m es la masa de CNF utilizada, C₁ y C₂ son los milimoles de NaOH agregados en el primer y segundo punto de inflexión respectivamente ⁵⁰:

$$\text{COOH}_{\text{cont}} = \frac{C_2 - C_1}{m} \quad \text{Ec 1.}$$

y el de aldehído (CHO) según las ecuaciones 2 y 3 ⁵⁰:

$$\text{COOH}_{\text{cont}} = k * \alpha \quad \text{Ec 2.}$$

$$k = \frac{1000 * (\alpha - \beta)}{38 * \alpha * \beta - 1000 * \alpha} \quad \text{Ec 3.}$$

Donde α es el contenido de carboxilatos (mmol/g) de la celulosa oxidada mediante TEMPO y β el contenido de carboxilatos (mmol/g) de la celulosa oxidada mediante TEMPO y clorito de sodio ⁵⁰.

$$\%GO_{\text{COOH o CHO}} = \frac{162 (C_2 - C_1)}{m - 36 * (C_2 - C_1)} * 100 \quad \text{Ec 4.}$$

$$\%GO_{\text{Total}} = \%GO_{\text{COOH}} + \%GO_{\text{CHO}} \quad \text{Ec 5.}$$

Para calcular el grado de oxidación total por unidad de anhidroglucosa de celulosa, se utilizaron la ecuación 4 y 5, donde m es la masa de CNF utilizada, C_1 y C_2 son los milimoles de hidróxido de sodio agregados en el primer y segundo punto de inflexión respectivamente ⁵⁰.

$$Eficiencia = \frac{CHO_{cont} + 2COOH_{cont}}{NaClO_{cont}} \quad \text{Ec 6.}$$

En la determinación de la eficiencia se usaron los contenidos de CHO y COOH que equivalen a la cantidad (mmol/g) de grupos aldehído y carboxilato generados, y el contenido de NaClO que fue la cantidad (mmol/g) añadida durante la reacción ⁵⁰.

Para aproximar la carga superficial se verificó que el pH de las suspensiones de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF estuviesen en el rango entre 6-7. Posteriormente se determinó el potencial zeta por medio de dispersión de luz dinámica (DLS) mediante el equipo Zetasizer® (Malvern Instruments, Nano-ZS90) con un ángulo de 90° equipado con un láser He-Ne a una temperatura controlada de 25 °C utilizando cubetas capilares de poliestireno y haciendo 5 repeticiones con 10 corridas cada una. Para el análisis de los resultados se utilizó el software Zetasizer Ultra (Malvern Instruments) midiendo las salidas en términos del Z-potencial en unidades de milivoltios (mV).

En la verificación de la morfología para las suspensiones de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF se tomaron 50 µL de cada una y se vertieron sobre discos de mica diferentes previamente exfoliados. Estos se secaron con nitrógeno comprimido (99%) para remover el exceso del líquido y se procedió a la toma de imágenes mediante el microscopio de fuerza atómica (Park Systems, NX10) con el método de no contacto a 10X10 µm y 5X5 µm. Se utilizaron puntas PPP-NCHR con una frecuencia de resonancia de 330kHz, constante elástica 42 N/m y un radio de punta <10nm. Las imágenes obtenidas fueron procesadas con el software de uso libre Gwyddion y con XEI (Park Systems) midiendo los diámetros en términos de altura relativa al sustrato en unidades de nanómetros (nm) y la longitud en unidades de micrómetros (µm) ⁵¹.

4.6 Preparación de las películas de CNF

Un esquema de la producción de películas se puede observar en la Figura 13, primero se prepararon suspensiones equivalentes a 70 mL al 0,2 % m/v de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF (a), se homogenizaron con el dispersor de alto rendimiento (Ultra-Turrax®, IKA T25) y se filtraron para

eliminar el exceso de agua con filtros hidrofílicos de 0,2 μm de porosidad (Hawach Scientific) al vacío, utilizando un equipo de filtración para cromatografía líquida de alta eficacia (b). Cada material obtenido se colocó en una prensa con calentamiento (CARVER, 4122) a 144 °C y 0,31 toneladas de presión por una hora y posteriormente se dejó enfriar por 15 minutos para producir las películas (c y d). Se midieron los diámetros con una regla, anchos con un micrómetro y masas con una balanza analítica (Mettler, AE200).

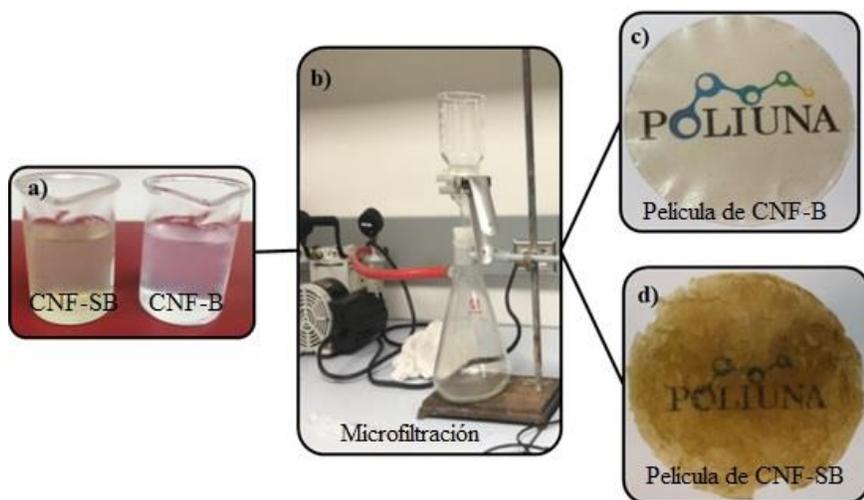


Figura 13. Etapas para la obtención de películas a partir de suspensiones de CNF: (a) suspensión de CNF-SB (izquierda) y suspensión de CNF-B (derecha), (b) equipo de microfiltración, (c) película de CNF-B (d) película de CNF-SB.

4.7 Caracterización de las películas preparadas

Para evaluar los cambios químicos ocurridos durante la obtención de la CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF se utilizó la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier mediante el espectrofotómetro infrarrojo (Thermoscientific, Nicolet IS-50 ATR) aplicando la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) a 25 °C para obtener los espectros de absorción de cada muestra en el rango de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , realizando 20 mediciones por repetición. Las salidas espectrales se registraron en el modo de porcentaje de transmitancia como una función del número de onda.

En el estudio de la cristalinidad de la CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF se utilizó la técnica de difracción de rayos X con el difractor (Malvern Panalytical, Empyrean XRD) aplicando radiación $\text{CuK}\alpha$ (longitud de onda de 0.154 nm) y modo de exploración por pasos (2θ rango: 5° a 50°).

El índice de cristalinidad (C_{I_r}) relativo de los materiales se calculó utilizando el método empírico de Segal, 1959. Este método se basa en la relativa intensidad de dos picos de difracción del espectro de rayos X, utilizándose la siguiente ecuación ⁵²:

$$C_{I_r\%} = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} * 100 \quad \text{Ec 7.}$$

Donde I_{002} es la intensidad máxima del pico de refracción (002) mientras que I_{Am} es la intensidad dispersada por la parte amorfa de la celulosa. El pico de difracción (002) se encuentra en el máximo 2θ entre 22° y 23° para celulosa I y entre 18° y 22° para celulosa II. Mientras que la intensidad de la parte amorfa en el pico mínimo está a 2θ entre 18° y 19° para celulosa I y entre 13° y 15° para celulosa II ⁵².

Para observar la superficie de las películas de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF se utilizó el microscopio de fuerza atómica (Park Systems, NX10), donde pequeños segmentos de cada una se cortaron y se pegaron con cinta de doble cara sobre un disco de mica previamente exfoliado. Posteriormente se tomaron imágenes con el modo no contacto de $5 \times 5 \mu\text{m}$ y $1 \times 1 \mu\text{m}$, mediante puntas PPP-NCHR con una frecuencia de resonancia de 330kHz, constante elástica 42 N/m y un radio de punta $< 10\text{nm}$. Las imágenes obtenidas fueron procesadas y se les midió su rugosidad media en unidades de nanómetros (nm) con el software de uso libre Gwyddion.

La estabilidad térmica de las películas de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF se midió utilizando el análisis termogravimétrico mediante el equipo de TGA (TA Instruments, Q500), con una velocidad de calentamiento variable desde temperatura ambiente hasta los 650°C en un entorno de nitrógeno ⁴². Esto se logró al utilizar el método HR (high resolution por sus siglas en inglés) el cual disminuye la velocidad de calentamiento cada vez que se detecta la degradación de un componente por el aumento repentino de la variación en la pérdida de masa, lo cual permitió identificar señales que de otra manera no aparecerían.

La existencia de transiciones térmicas de los componentes presentes en las películas de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF, CNF-SB-MF se verificó con la técnica de calorimetría de barrido diferencial mediante el equipo DSC (Perkin Elmer, Pyris DSC-6), con una velocidad de calentamiento de $20^\circ\text{C}/\text{min}$ desde temperatura ambiente hasta 250°C en atmósfera de nitrógeno.

CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Extracción de CNF

Las fibras naturales se caracterizan por poseer como componentes principales: celulosa, hemicelulosa y ligninas, pero contiene otras sustancias en menor proporción como las pectinas, ceras y sustancias solubles en agua ⁸. La composición química de la PALF proveniente del rastrojo de la piña, variedad comosus, cultivada en Costa Rica ha sido reportada previamente y como se muestra en la Cuadro 3 la celulosa (45,32 %) y la lignina (25,63 %) son los componentes que se encuentran en mayor proporción.

Cuadro 3. Composición química de las fibras de hojas del rastrojo de piña (PALF) ⁸.

Celulosa (%)	Lignina (%)	Hemicelulosa (%)	Cenizas	Extraíbles con acetona (%)	Extraíbles con agua (%)
45,32	25,63	17,43	4,64	3,85	3,13

Las fibras lignocelulósicas como la PALF, poseen ambos componentes en proporciones considerables y según sean sus porcentajes, la efectividad en la extracción de CNF varía. Un ejemplo de esto fue el resultado al comparar la CNF sin microfluidizar obtenida a partir de celulosa (CNF-B), la cual no contiene lignina, y la que se obtuvo con fibras lignocelulósicas (CNF-SB), cuyos porcentajes de rendimiento en base seca fueron de 2,3% y 4,0% respectivamente. Note que, al remover la lignina la extracción de CNF aumenta.

Resultado similar se obtuvo al comparar la CNF que se produjo utilizando el microfluidizador (MF), donde el porcentaje de rendimiento en la obtención de CNF-SB-MF fue de 10 % y el de CNF-B-MF de 50 %, medido en base seca. Cabe resaltar que la microfluidización aumentó considerablemente la efectividad de la extracción, alcanzando valores de hasta el 50%. Además, el bajo porcentaje de extracción por la presencia de lignina en la CNF-SB-MF muestra nuevamente el efecto de este polímero sobre la desestructuración, donde al rodear la celulosa y producir un efecto pegamento aumenta la fuerza de unión entre las nanofibras.

Es importante resaltar que a través de todos los procedimientos realizados tanto la PALF como las fibras de celulosa no se sometieron a tratamientos de hornificación, esto ocasionó que las muestras al estar húmedas tuviesen que pasar más repeticiones, en comparación a si estuvieran secas, por el molino

ultrafino antes de entrar al microfluidizador, generando una disminución en la eficiencia energética del proceso.

Para llevar a cabo la caracterización de los materiales obtenidos (CNF-SB, CNF-B, CNF-SB-F y CNF-B-MF) la microscopía de fuerza atómica (AFM), la titulación conductimétrica y la medición del Z-potencial se efectuaron con el material disperso en agua.

5.2 Caracterización de la CNF

Una de las características más importante de este trabajo era evaluar si es posible la extracción de CNF por lo que una vez obtenido el material se procedió a dimensionarlo utilizando la técnica de AFM que permite analizar la morfología de nanofibras individuales al tomar imágenes en amplio aumento. El principio de este análisis es la microscopía de efecto túnel, donde una punta de cerámica fina y una sonda metálica son utilizadas para medir la altura entre la punta y la muestra, esto se logra al aplicarse una diferencia de potencial entre ambas superficies ⁵³. La punta se mueve en los ejes x, y y z del plano sobre la superficie utilizando sus elementos actuadores piezoeléctricos, estos crean una contracción o elongación en la estructura cristalina al estar en presencia de campos eléctricos, logrando que se puedan ajustar en diferentes posiciones sobre la muestra, y midiendo distancias en el orden de 0,5 nm ⁵³.

El AFM puede ser utilizado con el modo no contacto, y como bien lo indica su nombre lo que se busca es que la punta no llegue a tocar la muestra. Mediante el uso de este equipo se logró la obtención de imágenes al nivel de micrómetros de la CNF obtenida, ver Figura 14. En estas se puede observar como las nanofibras se dispersan sobre los discos de mica de cerámica, su color claro indica que las dimensiones del material están en el rango de nanómetros.

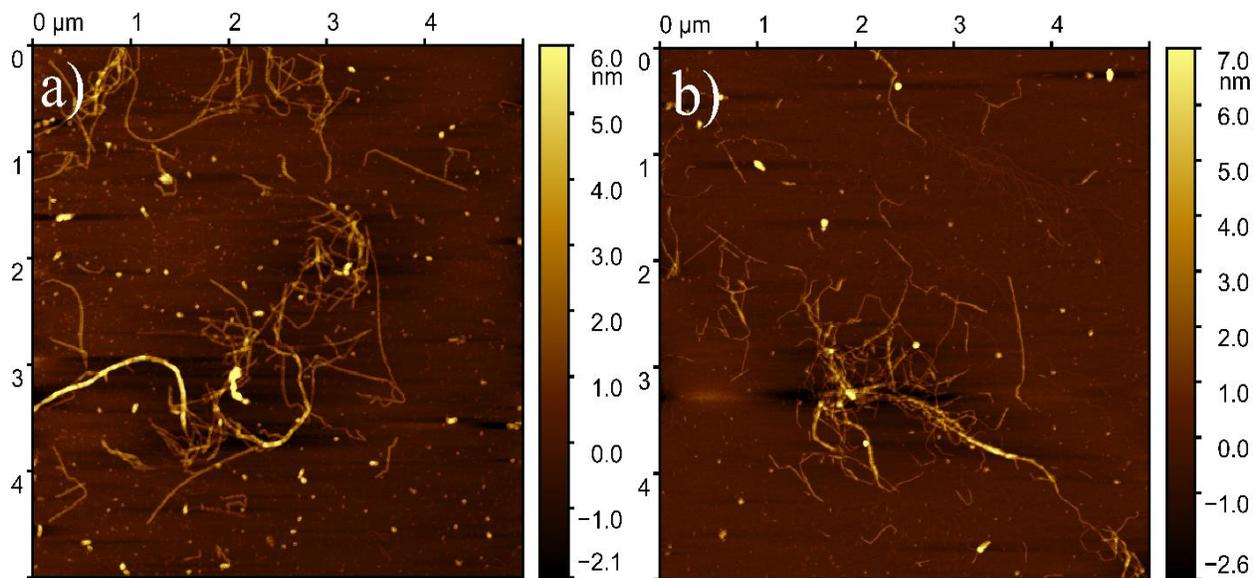


Figura 14. Imágenes de 5x5 μm en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de: a) CNF-B-MF y b) CNF-SB-MF.

La altura de la CNF medida mediante las imágenes se consideró el diámetro y se obtuvieron valores promedios entre 3,2 y 5,2 nm, ver Cuadro 4. A pesar de haber casos donde alcanzaron valores de decenas de nanómetros se demostró que efectivamente todos los tratamientos utilizados aislaron las fibras de PALF a escala nanométrica. Otros autores lo han logrado en diferentes estudios utilizando las misma materia prima y la técnica de explosión de vapor en presencia de hidróxido de sodio, reportando diámetros ponderados de 32,5 nm y de 25 ± 10 nm, siendo mucho mayores a los obtenidos en esta investigación ^{7,54}.

Cuadro 4. Determinación dimensional de las nanofibras obtenidas a partir de PALF.

Muestra	Tamaño de fibra ¹		Relación de aspecto, L/D
	Longitud, L (μm)	Diámetro, D (nm)	
CNF-B	$1,09 \pm 0,37$	$3,2 \pm 1,0$	337
CNF-SB	$1,07 \pm 0,32$	$4,3 \pm 1,6$	249
CNF-B-MF	$0,98 \pm 0,31$	$3,4 \pm 1,9$	288
CNF-SB-MF	$1,13 \pm 0,50$	$5,2 \pm 2,0$	216

Nota: 1. La muestra estadística fue de 10 mediciones por imagen de 10x10, considerando solo CNF cuya longitud se pudiese medir y la desviación estándar como incertidumbre (\pm).

En este estudio se buscó medir la longitud a pesar de la dificultad para obtener imágenes que abarquen fibras enteras, ver Figura 14 y Anexo 6. De las pocas nanofibras que se cuantificaron se encontraron algunas que van desde 0,98 a 1,13 μm aproximadamente. Este resultado fue mayor al reportado previamente para la CNF de PALF (200-300 nm) y similar a los de muestras de madera

blanda ($\geq 1 \mu\text{m}$)^{7,55}. Es importante considerar que en estas investigaciones la precisión para medir la longitud y la distribución longitudinal es muy baja ya que el ancho de fibra es muy pequeño y la longitud es muy grande ocasionando que no se puedan obtener resultados más representativos por no lograr observar una cantidad significativa de nanofibrillas completas a bajo aumento.

La relación de aspecto es uno de los parámetros más importantes para determinar la capacidad de refuerzo, los valores obtenidos (216-337) fueron mucho mayores a los encontrados para la CNF de PALF extraída mediante explosión de vapor (50) y muy similar a la de las nanofibras de madera (30-300), mostrando ser un prometedor recurso para ser aplicado en nanocompositos^{7,56}. Cabe resaltar que en esta investigación y en los estudios mencionados el resultado es una estimación ya que existen fibras muy largas con valores menores que no se pueden medir debido a que en las imágenes aparecen solo secciones de las mismas^{7,56}.

Cabe resaltar la utilización de la microfluidización ya que gracias a dicho tratamiento mecánico se logró observar la desestructuración de fibras en componentes más pequeños, ver Figura 15. Note en la imagen de AFM que de una nanofibrilla de 7,5-10 nm de espesor se desprenden otras más delgadas (1-5 nm) de su superficie. Es de esperar que al aumentar la cantidad de pases a través del equipo estos pequeños aglomerados se logren separar dando lugar a CNF con diámetros menores como se ha reportado al utilizar la molienda de bolas para obtener nanofibras a partir de PALF, donde al desestructurar el material por 1,5 horas se obtuvo un diámetro promedio de 80,5–83,7 nm pero cuando este tiempo aumentó a 3 horas los valores estuvieron alrededor de 32 nm⁵⁷.

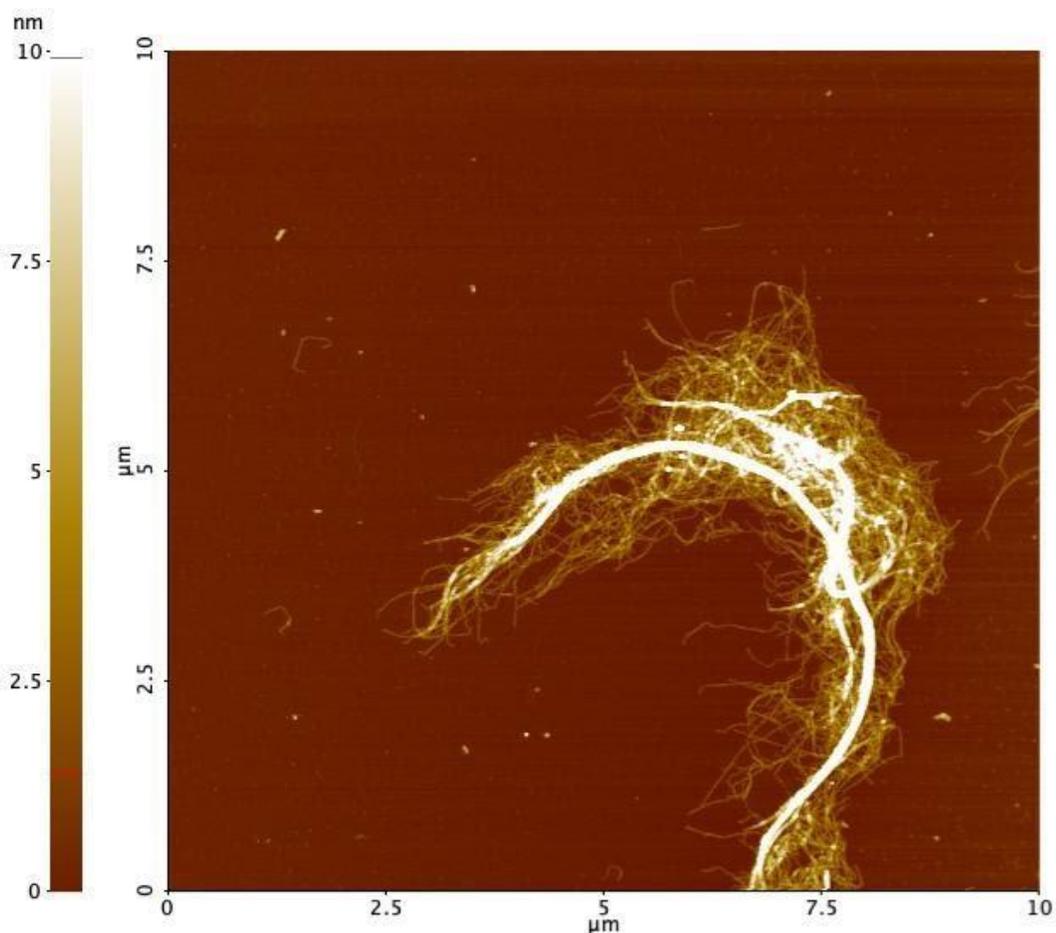


Figura 15. Imagen de 10x10 μm en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de CNF-B-MF.

Con la técnica de AFM se ha logrado analizar la morfología de nanofibras individuales que fueron suspendidas en agua mediante sonicación donde el diámetro promedio reportado a partir de 6 muestras fue de 7,47 nm con una desviación estándar de 0,86 nm, valores que son mayores a los encontrados para la CNF de PALF ⁵⁸. Cabe mencionar que también se han reportado resultados similares al obtenido en este estudio con diámetros de 1-3 nm y longitudes de 0,1-1 μm para nanofibrillas de celulosa extraídas a partir de madera ⁵¹.

Las nanofibras obtenidas atravesaron un proceso oxidativo mediante TEMPO que tiende a ocurrir en las zonas amorfas, secciones no cristalinas, de la celulosa y en las hemicelulosas por ser más accesibles para los reactivos químicos ⁵⁰. Además, la lignina genera un efecto barrera en los materiales lignocelulósicos que disminuye la efectividad de las reacciones ⁵⁰. El producto de este proceso es un material cuyos alcoholes (-OH) del carbono 6 pasan a ser grupos aldehídos (-CHO), y si estos se siguen oxidando forman carboxilatos (-COO⁻), ver Figura 16.

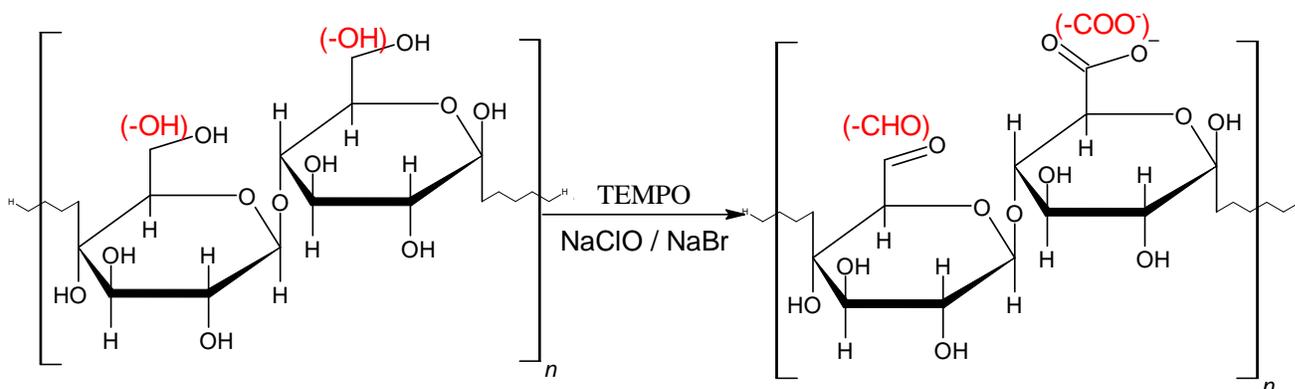


Figura 16. Posibles grupos funcionales generados durante la reacción de oxidación mediada por TEMPO/NaClO/ NaBr en la celobiosa.

La titulación conductimétrica es una técnica analítica basada en la diferencia de movilidad, es decir, como los iones con determinada movilidad son sustituidos por otros que poseen características diferentes ⁵⁹. La utilización de la misma permitió cuantificar la cantidad de grupos carboxilatos y aldehídos que se formaron durante el proceso oxidativo de la celulosa mediante curvas de valoración conductimétricas y cuantificando los dos puntos de inflexión ⁵⁹. Estos se presentan al valorarse las suspensiones con hidróxido de sodio, el primero se da cuando el ácido clorhídrico agregado en exceso se consume y solo quedan los grupos –COOH de las unidades oxidadas. El segundo es producto de la formación de carboxilatos por el aumento del pH, ver las curvas conductimétricas en el Anexo 4 y 5.

En el Cuadro 5 se resumen los datos de las determinaciones conductimétricas para cada una de las muestras de CNF obtenidas. Los contenidos de carboxilato y aldehído indican cuantas unidades de celobiosa fueron oxidadas a anhidroglucuronato por gramo de material y están asociados a la efectividad de la reacción de oxidación mediada por TEMPO. También, son quienes determinan el grado de oxidación y su relación con este valor es directamente proporcional.

Cuadro 5. Determinación del grado de oxidación y la eficiencia de la reacción en la obtención de CNF a partir de PALF utilizando un pretratamiento químico con TEMPO.

Muestra	Contenido de COONa (mmol/g)	Contenido de CHO (mmol/g)	Grado de oxidación (%)	Eficiencia
CNF-B	0,39±0,02	0,39±0,02	20±2	0,98±0,07
CNF-SB	0,36±0,02	0,17±0,01	15±2	0,74±0,06
CNF-B-MF	0,32±0,01	0,19±0,01	12±1	0,69±0,04
CNF-SB-MF	0,21±0,01	0,19±0,01	9±1	0,52±0,04

La CNF-B fue la muestra que presentó una mayor eficiencia, lo que se traduce en una reacción de oxidación más efectiva. Este resultado puede ser producto de dos factores; el primero es alto contenido de celulosa amorfa, como veremos más adelante, y el segundo es la remoción de lignina que permite un mayor acceso a los reactivos.

Para la mayoría de las muestras, la cantidad de unidades repetitivas que se oxidaron hasta aldehído fue menor a las que se oxidaron hasta carboxilato, esto demuestra que la oxidación es difícil de controlar y va a tender hacia el mayor estado de oxidación según las condiciones de reacción. Una excepción fue la CNF-B donde ambos contenidos fueron iguales, esto indica que la mayor parte de la fibra fue oxidada total o parcialmente, generando una elevada eficiencia de la reacción pero poca eficacia en la oxidación selectiva a carboxilato, que es atribuible a que no mantener el pH adecuado (10) durante el procedimiento..

Note que el grado de oxidación es mayor para las muestras blanqueadas si se compara cada una con su contraparte sin blanquear, esto se debe a la presencia de lignina que funciona como barrera, protegiendo el alcohol del carbono 6 e impidiendo su reacción. Además, las muestras que pasaron por el microfluidizador presentaron menores eficiencias por la remoción de segmentos amorfos que se desprendieron producto de la alta fuerza de cizallamiento a la que se sometieron, esto puede ser la causa de los mayores índices relativos de cristalinidad, ver Cuadro 6.

El índice de cristalinidad se midió mediante los difractogramas del Anexo 9, que se obtuvieron con la cristalografía de rayos X, la cual utiliza un haz de esta radiación electromagnética ⁶⁰. Cuando la energía impacta la muestra, parte de la misma es dispersada por los electrones y la intensidad con la que llegan al detector dependerá de la disposición y especies atómicas presentes en la matriz, proporcionando la información requerida para estudiar sus propiedades estructurales ⁶⁰. Las señales del equipo de rayos X que fueron utilizadas para analizar la CNF obtenida se encuentran alrededor a los $2\theta=15^\circ$ y $2\theta=20^\circ$, características de la celulosa II en el plano reticular [101] ⁵².

Cuadro 6. Determinación del índice de cristalinidad (Ic) de las muestras obtenidas en el proceso de extracción de CNF a partir del rastrojo de piña.

Muestra	Índice de cristalinidad (%)
PALF	52
Celulosa	60
CNF-SB	37
CNF-SB-MF	59
CNF-B	53
CNF-B-MF	64

Al compararse la CNF-B y la CNF-SB con sus materiales de partida, celulosa y PALF respectivamente, se observa que el Ic obtenido disminuyó, coincidiendo con lo reportado por otros autores donde la utilización de TEMPO y la homogeneización mecánica puede generar un descenso en la cristalinidad de ciertas fuentes vegetales como lo es el cultivo de arroz, la madera dura y el algodón ^{61,62}. Esto sugiere que dicha reacción también se lleva a cabo en las zonas cristalinas fomentando su desestructuración mecánica.

Es importante resaltar que también se ha reportado que la oxidación mediada por TEMPO no genera cambios significativos en la cristalinidad ⁴⁹. Aunque para dichos estudios no se haya aclarado si se realizó una purificación del material oxidado como se hizo en este caso, no se descarta que haya alguna desviación en la medición por difracción de rayos X.

La remoción de las ligninas y hemicelulosas ocasiona que las muestras blanqueadas tengan un mayor grado de cristalinidad que sus contrapartes sin blanquear, ya que dichos compuestos se caracterizan por su acomodo aleatorio alrededor de la celulosa. Además, se destaca que las muestras sometidas al microfluidizador son las que presentan mayor grado de cristalinidad, dicho comportamiento se ha reportado en la cáscara de banano y el bagazo de la caña de azúcar donde al aumentar la cantidad de pases a través del homogeneizador de alta presión aumentó considerablemente la cristalinidad, lo cual parece indicar que las zonas amorfas son más susceptibles, en comparación a las cristalinas, a desestructurarse si fueron tratadas químicamente con antelación ^{63,64}.

Al usar un procedimiento similar al aplicado en la PALF, pero en madera suave, se reportó una ligera disminución en la cristalinidad, por lo que es importante aclarar que esta prueba no es concluyente y existe la posibilidad de que el acomodo de las cadenas celulósicas dentro del material de partida sea quien promueve la desestructuración de unas zonas por encima de otras ⁵⁵.

Otra característica importante de las CNF obtenida es que la presencia de los grupos carboxilatos sobre su superficie ocasiona que posean una carga superficial negativa. Esta puede ser medida, aproximadamente ya que las partículas no son esféricas como vimos en las imágenes de AFM, mediante su potencial zeta. Esta técnica consiste en someter a la muestra a un haz de luz que será dispersado por una molécula en solución si esta cuenta con propiedades diferentes a la de su entorno ⁶⁵. En este caso, el momento dipolar oscilante inducido por el campo eléctrico de la luz incidente hará que esta última irradie en todas direcciones ⁶⁵.

La intensidad de la luz dispersada está relacionada con la dirección de polarización de la luz incidente, el ángulo de dispersión y los parámetros de la solución, y se puede correlacionar con las características superficiales del sustrato como su carga superficial debido a la propiedades de los campos eléctricos presentes durante el análisis ⁶⁵. Los resultados obtenidos para la CNF extraída se encuentran resumidos en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Determinación del potencial zeta de las muestras obtenidas en el proceso de extracción de CNF a partir del rastrojo de piña.

Muestra	Potencial zeta (mV)
CNF-B	-44,3±6,6
CNF-SB	-36,4±9,3
CNF-B-MF	-39,2±4,6
CNF-SB-MF	-30,7±8,0

Se ha reportado la obtención de valores de Z-potencial muy similares para matrices de origen vegetal diferentes y con grados de oxidación muy distintos ⁶⁶. Dicho resultado es semejante al obtenido en este estudio si se toma en consideración la desviación estándar y se comparan las muestras de CNF blanqueadas por un lado y las sin banquear por otro. Se hace dicha separación porque existe la posibilidad de que la CNF-SB-MF y la CNF-SB muestran una mayor desviación estándar y un menor Z-potencial como resultado de su contenido de lignina que interfiere en la medición al cubrir parte de las fibras oxidadas, disminuyendo la densidad de grupos carboxilatos de unas fibras con respecto a las otras y generando una mayor distribución en las cargas superficiales.

Es posible que la microfuidización al desestructurar y dispersar las fibras ocasione no solo un descenso en la desviación sino también un valor de Z-potencial menor, lo cual explicaría las diferencias entre la CNF-SB-MF y la CNF-SB, y la CNF-B-MF en comparación con la CNF-B. Este resultado no es concluyente y requiere de un análisis estadístico más amplio para ser comprobado. Otro factor a

considerar es que CNF fueron analizadas a un pH entre 6-7, debido a que este parámetro puede generar variaciones en el Z-potencial, y se encontró que los valores para las muestras blanqueadas se asemejan al obtenido en fibras de madera blanda que rondan los -40 mV y a la pulpa kraft de eucalipto blanqueada con valores de -41 ± 4 mV y -46 ± 3 mV ^{67,68}.

Posterior a la caracterización de las fibras se procedió con la preparación de películas, la ventaja de estas es que no se encuentran en suspensión por lo que no existe las interferencias del agua cuando se recurre a la utilización de algún instrumento de medición. Además, sus propiedades térmicas y químicas son equivalentes a la CNF de partida.

5.3 Preparación de películas

Existen diferentes procedimientos para generar películas a partir de CNF como lo son el secado sobre un sustrato impermeable con evaporación de la matriz, el revestimiento sobre sustratos permeables, la extrusión utilizando troqueles definidos y la fabricación de papel que consiste en filtración al vacío con posterior secado. En este estudio se empleó esta última por la disponibilidad de los instrumentos y la simpleza del proceso, donde al aplicarlo a cada uno de los materiales obtenidos (CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF y CNF-SB-MF) se produjeron películas con características diferentes, ver Figura 17.

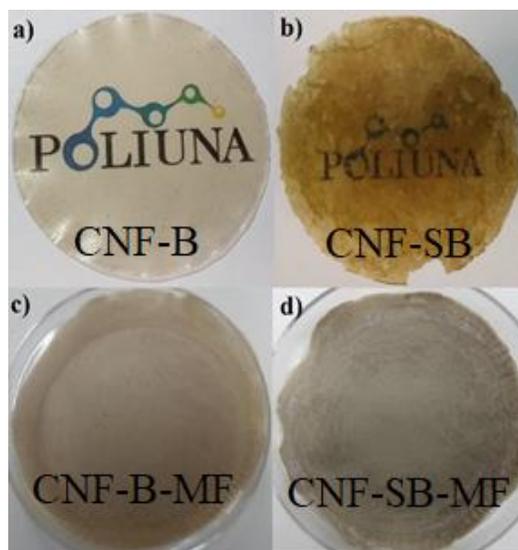


Figura 17. Películas obtenidas mediante filtración utilizando filtros de $0,2 \mu\text{m}$, a) CNF-B, b) CNF-SB, c) CNF-B-MF y d) CNF-SB-MF.

Se destaca como el microfluidizador ayudó a generar un material más homogéneo y mucho más opaco, y la coloración verdosa de las nanofibras lignocelulósicas en las películas de CNF-SB. Las ventajas de sus diferencias es que según la aplicación se podría utilizar un método sobre el otro, por ejemplo, para material de empaque o pantallas táctiles se podría preferir la CNF-B ya que es translúcida y permitiría ver el contenido, pero para nanofiltros podría ser mejor la CNF-MF por su mayor gramaje como veremos más adelante.

Note que, la película de CNF-B es mucho más homogénea y translúcida que la de CNF-SB lo cual podría estar relacionado a la dispersión de las fibras en suspensión y a su composición química. La CNF-SB debido al contenido de lignina, la cual impide una oxidación por TEMPO eficiente, no lograba dispersarse correctamente, provocando que en ciertos sectores de la película las nanofibras se aglomeraban y en otras no, por ejemplo las orillas. El material resultó ser frágil en los bordes, tendía a quebrarse y desprender secciones de su superficie, siendo la película más liviana, ver Cuadro 8.

Cuadro 8. Características físicas de las películas obtenidas a partir de CNF.

Película	Peso ($\pm 0,002$ g)	Diámetro ($\pm 0,1$ cm)	Grosor (± 1 μ m)	Gramaje (± 3 g/m ²)
CNF-B-MF	0,150	4,2	117	108
CNF-SB-MF	0,147	4,0	115	117
CNF-B	0,089	3,9	77	74
CNF-SB	0,051	3,8	109	45

Otro de los parámetros medidos fue el gramaje, sus valores estuvieron entre 45-117 g/m² y fueron ligeramente mayores a los reportados para nanopapeles (10-85 g/m²) que se utilizaron como membranas para la filtración ⁶⁹. En dicho estudio el espesor se controló mediante el gramaje ya que son directamente proporcionales, si se comparan las muestras blanqueadas y las sin blanquear por separado se puede observar que esta relación también se cumplió para la CNF de PALF ya que las muestras microfluidizadas (CNF-B-MF y CNF-SB-MF) presentaron mayor gramaje y grosor que su contraparte sin microfluidizar (CNF-B y CNF-SB) ⁶⁹.

La permeabilidad es inversamente proporcional al gramaje en los nanopapeles, y a pesar de no haber sido medida posiblemente las muestras microfluidizadas presentarían una permeabilidad menor a las sin microfluidizar ⁶⁹. Cabe resaltar que otro factor determinante en esta propiedad es el diámetro de las nanofibras pero como se discutió anteriormente esta característica fue muy similar en todas las muestras de CNF obtenidas ⁶⁹.

Es importante resaltar que el objetivo de esta investigación fue explorar la posibilidad de producir películas de CNF a partir PALF, no darles una aplicación específica. Lo mencionado tampoco impide que la caracterización que se discutirá a continuación y lo que se ha reportado anteriormente puede ser utilizado como primer acercamiento a posibilidades de uso.

5.4 Caracterización de las películas producidas a partir de CNF

Una de las determinaciones más importante es conocer la superficie de las películas preparadas, para entender cómo se formaron y que características adquiere según el proceso aplicado. Se utilizó el AFM para este estudio y las imágenes obtenidas se pueden ver en Figura 18, en ellas el material de partida colapsa en aglomerados produciendo secciones porosas a través del material que a nivel macroscópico son imperceptibles. En el Anexo 7 se pueden observar los resultados para las demás películas, cabe resaltar que la pérdida en calidad de las imágenes se dio por que a pesar de utilizar el método no contacto la celulosa tendía a adherirse a la punta de la sonda.

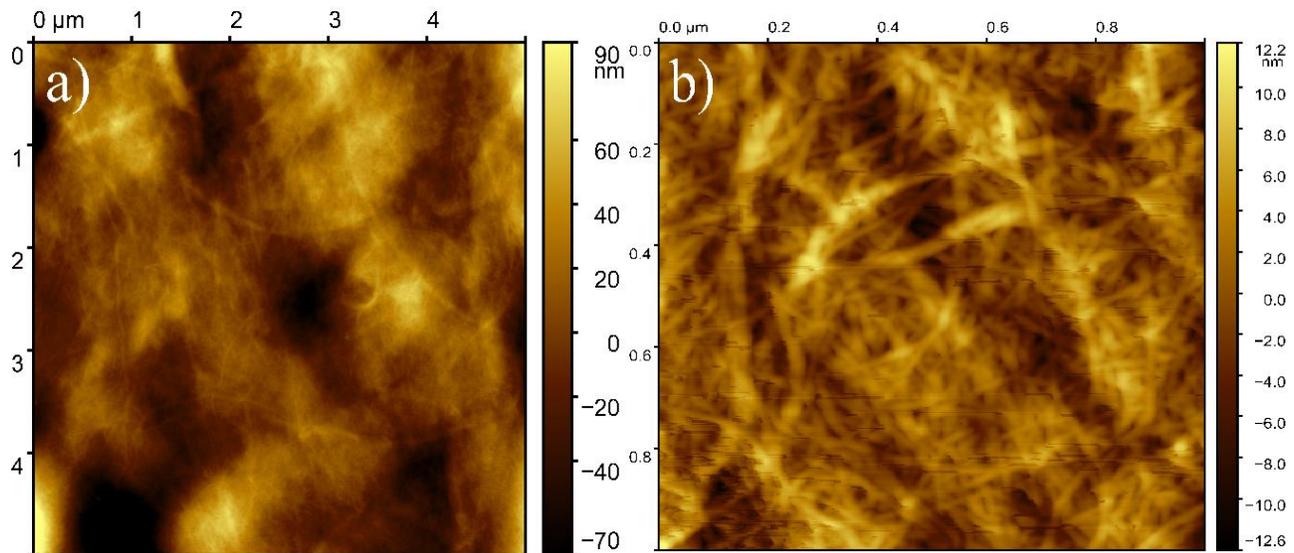


Figura 18. Imágenes en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de: a) 5X5 μm CNF-B-MF y b) 1X1 μm CNF-B-MF.

Las secciones porosas fueron medidas y se encontró que su ancho abarca entre 100 nm a más de 1 μm y su profundidad ronda entre 50 a 400 nm. También se determinó la rugosidad media de manera aproximada para las películas, esta se define como el promedio aritmético de los valores absolutos

para las alturas con respecto al sustrato a partir de una línea horizontal de medición y se calcula mediante el software, ver Cuadro 9.

Cuadro 9. Rugosidad media de cada una de las muestras de CNF medida a partir de las imágenes de 5x5 μm y 1x1 μm obtenidas con el AFM.

Muestra	R_a^1 (nm)	R_a^2 (nm)
CNF-B	$2,7 \pm 0,4$	$0,64 \pm 0,09$
CNF-B-MF	$2,6 \pm 0,3$	$0,79 \pm 0,07$
CNF-SB	14 ± 4	$2,0 \pm 0,4$
CNF-SB-MF	5 ± 1	$1,1 \pm 0,2$

Nota: 1. Rugosidad media medida con imagen de 5x5 μm .

2. Rugosidad media medida con imagen de 1x1 μm .

Se determinó que para estas películas al disminuir el área de análisis en el AFM la rugosidad media (R_a) decrece pasando de valores entre 2,6-14 nm para las imágenes de 5X5 μm a 0,63-2 nm en las de 1x1 μm . Este efecto está asociado a que en las primeras hay una mayor presencia de protuberancias y poros sobre la superficie lo que ocasiona que las alturas del perfil respecto de la línea base sean más altas. Las muestras sin blanquear presentaron un R_a mayor que sus contrapartes blanqueadas en las imágenes 1X1 μm lo cual podría estar asociado al menor diámetro de las nanofibras en estas últimas, que se compactan en la superficie con alturas promedio menores. Cabe resaltar que todos los resultados obtenidos de diámetro, longitud, rugosidad y dimensiones del poro son preliminares debido a la escasez de imágenes que sean lo suficientemente representativas de toda la matriz para poder realizar el análisis estadístico correspondiente, el cual escapa del alcance de este estudio por su complejidad.

Otra técnica aplicada fue la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), utilizada para elucidar la estructura química de las películas producidas a partir de CNF midiendo su absorción de la radiación infrarroja en un rango de longitudes de onda específico ⁷⁰. El método recoge primero la información de intensidad y ángulo de incidencia de una señal de la muestra utilizando un interferómetro como detector, luego realiza una transformada de Fourier (algoritmo matemático) para obtener el espectro infrarrojo ⁷⁰. Los resultados para las muestras sin blanquear se muestran en la Figura 19 (a) y los de las blanqueadas en la Figura 19 (b).

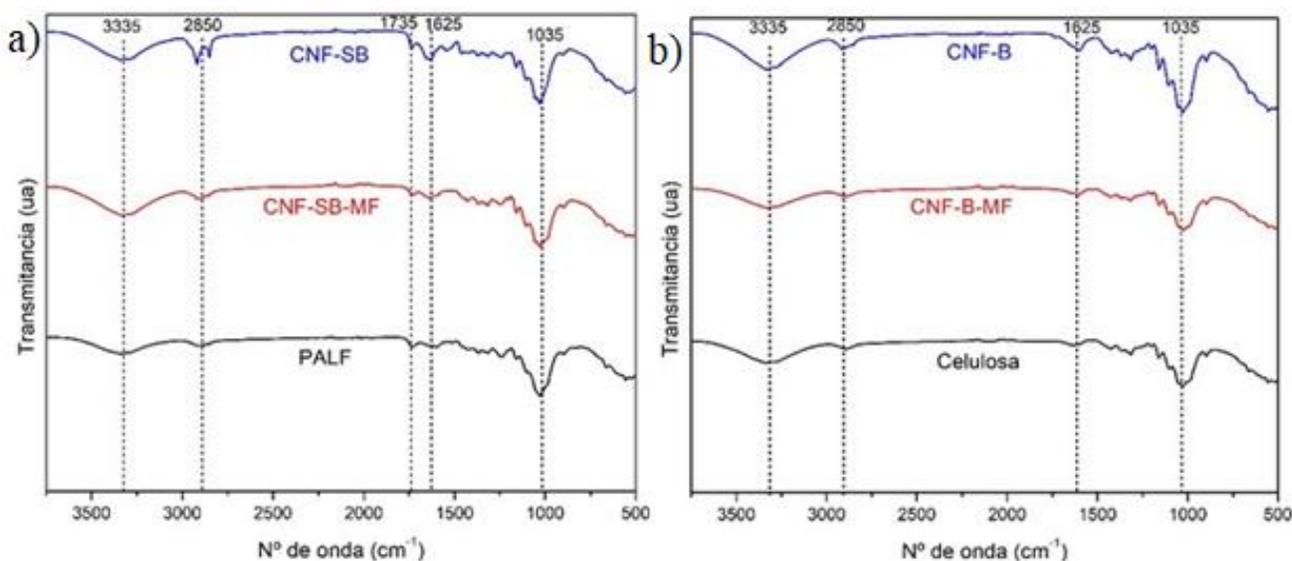


Figura 19. Espectroscopía FTIR de a) CNF-SB, CNF-SB-MF y PALF; y b) CNF-B, CNF-B-MF y celulosa.

En todos ellos se observan señales características que están asociadas al componente en mayor proporción dentro de su composición, la celulosa. Están las bandas anchas a 3335 cm^{-1} que corresponden a grupos OH libres en las unidades de celobiosa, la absorción del estiramiento C–H entre $2900\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ y los picos en la región $1200\text{--}950\text{ cm}^{-1}$ que se deben al estiramiento C–O ⁴².

La señal a 1734 cm^{-1} en los espectros de las muestras sin blanquear está asociado con el estiramiento C=O del grupo acetilo en las hemicelulosas o a los ácidos p-cumarílicos de lignina y/o hemicelulosa ⁴². Es importante indicar que esta señal desapareció completamente de los espectros de las muestras blanqueadas por la ausencia de lignina y probablemente de las hemicelulosas. Como se explicó previamente, el tratamiento con hidróxido de sodio y posterior blanqueo permite una despolimerización de la lignina promoviendo su remoción, a su vez el de las hemicelulosas ya que quedan expuestas por lo que son más sensibles a los tratamientos químicos y mecánicos.

Los cambios estructurales que han ocurrido en la celulosa después de la oxidación mediada por TEMPO pueden ser evaluados con la técnica FTIR, al seguir la señal alrededor de 1605 cm^{-1} en los espectros de las muestras oxidadas (CNF-SB, CNF-SB-MF, CNF-B, CNF-B-MF), cuya absorbancia es mayor que su material de partida (PALF o celulosa) y que corresponde a la sal sódica de los grupos carboxilato, formados durante este tratamiento químico ⁷¹. Se destaca que en el espectro de celulosa la banda mencionada es achatada ya que este material no fue oxidado por lo que no debería tener

transiciones importantes a este número de onda. Para el caso de la CNF-SB, CNF-SB-MF y la PALF dicha señal también puede corresponder a los anillos aromáticos presentes en la lignina, por lo tanto el análisis infrarrojo no es concluyente para estas muestras ⁷². Cabe resaltar que como se mencionó anteriormente, la oxidación se terminó de corroborar con la titulación conductimétrica.

Una vez determinada la composición química, el grado de oxidación, la cristalinidad y las propiedades morfológicas, se procedió a estudiar la estabilidad térmica y la forma en que se descomponen las películas al ser expuestas a altas temperaturas mediante el análisis termogravimétrico. Su fundamento se basa en la variación de peso de la muestra como consecuencia del tratamiento térmico en una atmosfera controlada, por ejemplo nitrógeno para la pirolisis ⁷³. Debido al proceso, se perderá masa en forma de volátiles o descomposición y esta pérdida se medirá mediante una microbalanza ⁷³. La variación de la temperatura se ajusta según un programa de temperatura personalizado y se utilizan termómetros que están en contacto con el recipiente de la muestra para cuantificarla ⁷³.

Los termogramas del análisis TGA mostraron un descenso inicial entre los 25-150 °C correspondiente a la pérdida de humedad absorbida, ver Figura 20. En este rango también se da la descomposición del TEMPO alrededor de los 60 °C, ver Anexo 8, pero por la pequeña cantidad que se agrega en la oxidación y por su remoción con lavados de agua destilada no se espera que esté presente.

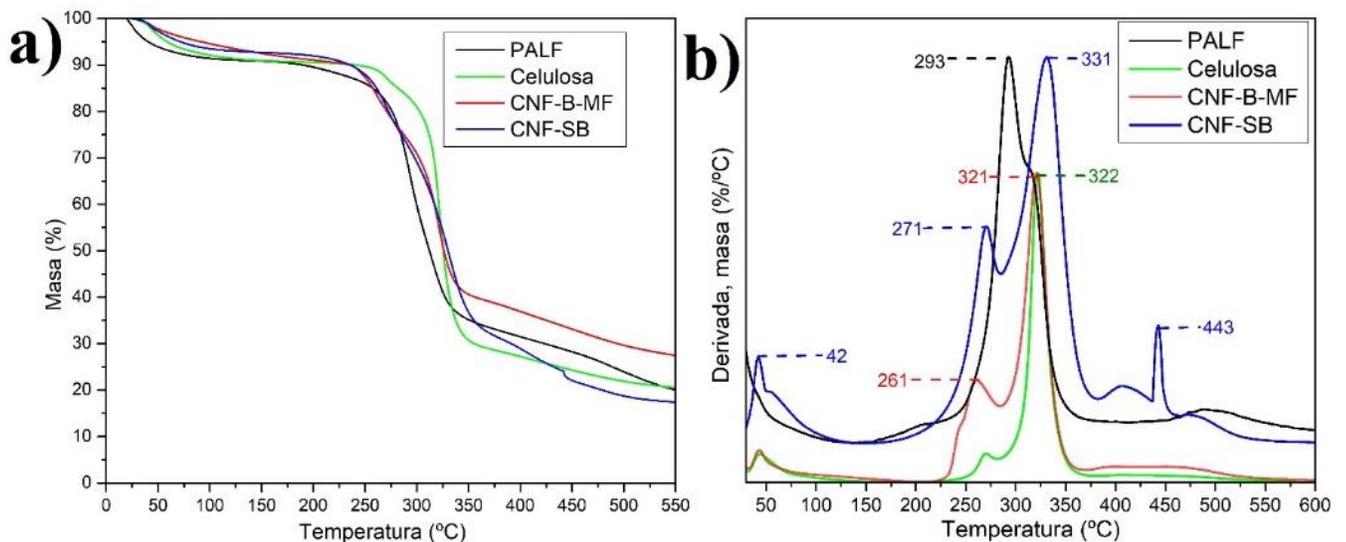


Figura 20. Termogramas TGA (a) y curvas DTG (b) de PALF, celulosa, CNF-B-MF y CNF-SB

La descomposición de la PALF en diferentes etapas indica la heterogeneidad de sus componentes que descomponen a temperaturas distintas, ver Figura 20 (a). De hecho, como se puede observar en el

Cuadro 10 su temperatura de degradación inicial (192 °C), menor a las demás muestras, se da en parte por las hemicelulosas ya que gracias a su composición de azúcares simples (xilosa, manosa, glucosa, galactosa, etc) adquiere una estructura amorfa ramificada fácil de degradar a bajas temperaturas y a la lignina cuya degradación se da lentamente desde 160 °C hasta los 900 °C ⁷⁴. Su DTG dominante se observó alrededor de los 293 °C indicativo de la pirólisis de la celulosa que se da alrededor de los 315 °C, cabe resaltar que dicho valor se asemeja más a su temperatura de degradación con un 50% de pérdida de masa (312 °C) indicando que en este punto principalmente se estaba descomponiendo celulosa ⁷⁴. Por último, su temperatura de degradación final (367 °C) se encuentra dentro del rango en el que se degradan las fibras celulósicas, donde pueden llevar dicho proceso hasta los 400 °C. Su porcentaje de masa residual a 600 °C, a pesar no ser caracterizado, se cree que contiene cenizas y lignina que no se descompuso ⁷⁴.

Cuadro 10. Resultados de TGA de las muestras obtenidas en la producción de CNF a partir del rastrojo de piña

Muestra	Temperatura de degradación inicial (°C)	Temperatura de degradación final (°C)	Temperatura de degradación con un 50% de pérdida de masa (°C)	% de masa residual a 600 °C	DTG T ₁ max (°C)	DTG T ₂ max (°C)
PALF	192	367	312	17,47	293	-
Celulosa	241	360	325	19,65	322	-
TEMPO	59	65	62	0,54	61	-
CNF-B	219	354	316	25,52	252	312
CNF-SB	209	366	330	16,77	271	331
CNF-B-MF	222	361	326	25,83	261	321
CNF-SB-MF	227	365	324	24,48	272	317

Por su parte la celulosa obtenida presentó una temperatura de degradación inicial (241 °C) mayor a la PALF (192 °C) lo cual coincide con otros estudios realizados a esta fibra natural en donde al remover parcialmente las hemicelulosas, ligninas y pectinas dicha temperatura aumenta, como lo hizo también la temperatura de degradación con un 50% de pérdida de masa y su DTG dominante alcanzando valores de 325 °C y 322 °C respectivamente ⁷⁴. Su porcentaje de masa residual fue de 19,65 %, ligeramente mayor al de la PALF.

Las nanofibras blanqueadas presentaron una disminución en la temperatura de degradación inicial con respecto a la celulosa, para CNF-B fue de 219 °C y para CNF-B-MF de 222 °C. Además, apareció una segundo DTG dominante mostrando valores de 252 °C para la CNF-B y de 261 °C en la CNF-B-MF. Estos cambios son resultado de la generación de unidades de anhidroglucuronato de sodio,

producto de la oxidación mediada por TEMPO, que degradan a una menor temperatura al ser térmicamente menos estables que las cadenas de celobiosa ⁷⁵.

Las variaciones en las temperaturas de degradación con un 50% de pérdida de masa, 316 °C para CNF-B y 326 °C para CNF-B-MF, y el DTG dominante característico de la celulosa, 312 °C para CNF-B y 321 °C para CNF-B-MF, se pueden atribuir a una mayor cristalinidad en la CNF-B-MF que genera una mejor compactación al favorecer la formación de puentes de hidrógeno en medio de las fibras las cuales se protegen entre sí y aumentan la energía requerida para su pirolisis. Se ha demostrado que interrupciones físicas o químicas en las regiones cristalinas promueven un debilitamiento en la energía de unión y por consiguiente menores temperaturas en los termogramas, esto concuerda con los resultados obtenidos ⁷⁶.

Las muestras sin blanquear presentaron una temperatura de degradación inicial mayor a la PALF (192 °C), para CNF-SB fue de 209 °C y para CNF-SB-MF de 227 °C, por lo que se establece que una porción considerable de hemicelulosas fue removida en el proceso oxidativo ya que estas son quienes se degradan a menor temperatura. Como se mencionó anteriormente la generación de unidades de anhidroglucuronato de sodio en las muestras de CNF sin blanquear producen un segundo DTG dominante, mostrando valores de 271 °C para la CNF-SB y de 272 °C en la CNF-SB-MF.

El aumento considerable en la temperatura de degradación con un 50% de pérdida de masa y la DTG en las muestras de CNF-SB podría estar relacionado con la señal que se observa a los 443 °C en la Figura 20 (b). Existe la posibilidad de que este sea un subproducto de la lignina generado durante la extracción de las nanofibras, que al interaccionar y cubrir la celulosa alarga su degradación ocasionando señales a temperaturas mayores. Además, se destaca que la presencia del mismo se ve reflejada en el porcentaje de masa residual (16,77 %) porque al degradarse genera que este disminuya. Los resultados para CNF-SB-MF sustentan esta hipótesis ya que la elevada fuerza de cizallamiento del microfluidizador y la alta dispersión de las fibras pudo haber removido dicho subproducto, generando que la masa residual (24,48 %) sea similar a las demás nanofibras, cabe resaltar que se requiere de un estudio químico más detallado para corroborar esta idea. En el Anexo 8 se puede verificar los termogramas de cada una de las muestras.

Posterior a la confirmación de que las nanofibras obtenidas iniciaban su descomposición alrededor de los 220 °C se procedió a aplicar la calorimetría diferencial de barrido. Esta técnica se basa en medir las fluctuaciones en la transferencia de calor que ocurren durante el aumento de temperatura de la

muestra, el intercambio energético puede generar reacciones químicas o transiciones físicas que se detectan por puntos máximos o mínimos presentes en los termogramas ⁷⁷.

Se estudió si las muestras obtenidas de CNF presentaban algún cambio físico; como la transición vítrea, la cristalización en frío o la fusión. Se puede observar en la Figura 21 los picos endotérmicos característicos de la celulosa en el rango de 30-140 °C, donde se da un proceso de deshidratación de la humedad atrapada en las cadenas de polisacáridos ⁷⁸. Cabe resaltar que todas las muestras presentaron dicha transición, pero fue la única presente en el rango de temperatura evaluado.

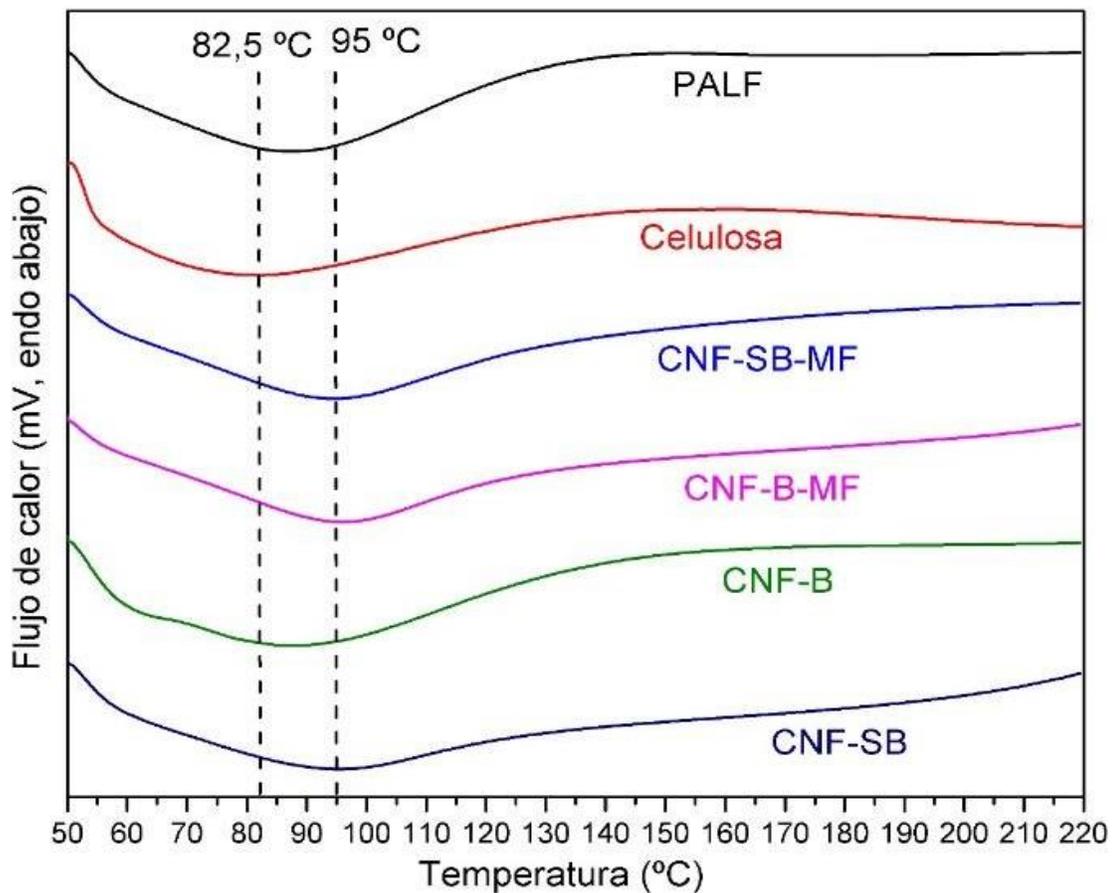


Figura 21. Termogramas (DSC) de la PALF, Celulosa, CNF-SB-MF, CNF-B-MF, CNF-B y CNF-SB.

Se ha reportado que las diferencias en los valores de la temperatura máxima del proceso de deshidratación se deben al peso molecular, la distribución de tamaños de los cristalitos y la cristalinidad de las fibras celulósicas, donde la disminución de los dos últimos parámetros disminuye considerablemente dicha temperatura ⁷⁸. Si bien solo se midió la cristalinidad, la diferencia entre las curvas del flujo de calor mostradas podría estar relacionadas con este efecto.

La otra señal característica se presenta en la región de 250-400 °C y corresponde a la escisión de los enlaces glucosídicos con formación de levoglucosa, dicho comportamiento se explica por la reacción de degradación térmica que comienza en el dominio amorfo de la celulosa lo cual impide que las zonas cristalinas puedan presentar otras transiciones y se terminan degradando antes de que ocurran ⁷⁹. Es de esperar que este efecto también suceda en las muestras de CNF ya que cuentan tanto con secciones amorfas como cristalinas.

Con los análisis realizados se demostró que la remoción de la lignina en la PALF facilita la reacción de oxidación mediante TEMPO alcanzando mayores grados de oxidación y permitiendo una mejor dispersión de las nanofibras que se traduce en mayores rendimientos. Por su parte la microfluidización fue un tratamiento más efectivo que la dispersión de alto rendimiento para aislar la CNF, generando aumentos en la temperatura inicial de degradación inicial y la cristalinidad, la última también se vio favorecida por el blanqueamiento.

Las películas de CNF producidas poseen características similares a las reportadas en otras hechas a partir de pulpa de abeto noruego y de eucalipto donde al aumentar el grado de oxidación de las fibras mostraron mayor transparencia, menor ancho y se rompían más fácil como sucedió con la CNF-B con grado de oxidación del 20 % en comparación a la CNF-B-MF con 12 % y en la CNF-SB con 15 % contra el 9% de la CNF-SB-MF ⁸⁰. Si bien el método utilizado para preparar las películas en dicho estudio fue diferente ya que se secaron las suspensiones en placas Petri, la composición y su estructura se asemejan mucho al material obtenido a partir de la PALF.

Cabe destacar que la oxidación mediada por TEMPO al generar grupos carboxilatos en la superficie de las fibras permite modificar las películas con enzimas para el reconocimiento químico o la inmovilización de agentes peligrosos, convertirlas en materiales completamente hidrofóbicos siendo posible utilizarlas como protectores contra la humedad o por el contrario transformarlas en superabsorbentes.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

La primera conclusión derivada del trabajo efectuado es que fue posible la extracción de CNF de los residuos de la industria piñera mediante dos métodos distintos, donde el pretratamiento oxidativo mediante TEMPO ayudó a promover la desestructuración de las PALF, tanto con el dispersor de alto rendimiento para la CNF-B y CNF-SB como con el microfluidizador para la CNF-B-MF y CNF-SB-MF.

El análisis por AFM permitió observar las morfologías de las nanofibras las cuales son delgadas y alargadas, y forman películas al aglomerarse unas sobre otras como una red. Por su parte los análisis por TGA, FTIR y la titulación conductimétrica permitieron comprobar la oxidación mediada por TEMPO de la CNF y detectar la generación de unidades de anhidroglucuronato, las cuales disminuyeron la temperatura de degradación inicial para las muestras obtenidas si se comparan con su material de partida.

Las nanofibras exhibieron un aumento en la estabilidad térmica, con DTG máximos correspondientes a la descomposición de celulosa mayores en comparación con los aproximados para la PALF. Además, la calorimetría diferencial de barrido demostró que sus transiciones térmicas deben ocurrir por encima de los 220 °C con el inconveniente de que en este rango las muestras inician su degradación por lo que no pudieron ser detectadas.

El método utilizando el microfluidizador mejoró la eficiencia de extracción para la CNF utilizando PALF como material de partida. Los porcentajes de extracción en base seca fueron mayores en la CNF-SB-MF y la CNF-B-MF que en su contraparte sin miclofluidizar CNF-SB y CNF-B. Cabe resaltar que dicho resultado también confirmó que el proceso de blanqueo, el cual se pudo verificar mediante FTIR al desaparecer las señales de la lignina, aumenta la extracción de las nanofibras.

Como era de esperar, para todas las muestras la carga superficial medida mediante el Z-potencial fue negativa, en un rango de -30,7 a -44,3, por estar relacionada con la formación de grupos carboxilatos (mmol/g).

Por medio de la difracción de rayos X se demostró que la oxidación mediada por TEMPO puede disminuir la cristalinidad mientras que la microfluidización más bien aumenta esta propiedad al remover parte de las regiones amorfas.

Se logró la producción de películas de nanofibras de celulosa, para las muestras CNF-B, CNF-B-MF y CNF-SB-MF mostrando gramajes en el rango de 74-117 g/m². En el caso de la de la CNF-SB el material obtenido no fue el deseado ya que tendía a resquebrajarse.

Las muestras de CNF-B, CNF-SB-MF y CNF-B-MF al poseer índices de cristalinidad superiores al 50 %, diámetros de apenas unos cuantos nanómetros, longitudes de un micrómetro o mayores y temperaturas de degradación inicial de alrededor de 220 °C tienen un alto potencial para ser utilizadas como agentes de refuerzo en nanocompositos.

6.2 Recomendaciones

Se podría buscar la optimización de las propiedades de las nanofibras al establecer un balance entre el grado de oxidación y los pases a través del microfluidizador, ya que se observó que ambos factores no afectan en el mismo sentido algunas de ellas como lo son cristalinidad y la temperatura de degradación.

El rendimiento en la extracción de la CNF a partir de PALF se puede mejorar al aumentar la cantidad de pases a través del microfluidizador por lo que se recomienda utilizar esta condición en busca de establecer un proceso más eficiente, el cual podría mejorar las propiedades obtenidas.

La carga superficial de la CNF fue lo suficientemente grande como para estabilizarlas en suspensiones acuosas durante semanas y generar una dispersión adecuada por repulsión electrostática. Esta propiedad podría ser aprovechada para generar compositos con una alta homogeneidad con aplicación como modificadores reológicos en la industria de pinturas o la extracción de petróleo.

La hornificación puede ser utilizada para moler eficientemente las fibras, con el fin de que el tratamiento con el microfluidizador sea más efectivo. Es importante tener en consideración que las propiedades finales podrían verse afectadas por lo que se recomienda estudiar si la oxidación mediada por TEMPO u otro pretratamiento logra contrarrestar eficientemente este factor.

Se recomienda utilizar una bomba de alto vacío o suspensiones con bajo volumen y alta consistencia de CNF en la preparación de películas a partir del método utilizado con el fin de disminuir los tiempos de filtrado, ya que conforme avanza el proceso el gramaje de la membrana también lo hace disminuyendo su permeabilidad. Además, para mejorar las propiedades físicas de la película de CNF-SB se podría aumentar la cantidad de muestra durante el proceso de filtrado o cambiar el método de producción.

Para una mejor propuesta de uso de las películas de CNF obtenidas faltaron ciertos análisis ya que si se desean utilizar como aislante para capacitores faltaría medir su resistencia eléctrica y para material de empaque se debe medir sus propiedades mecánicas y de barrera ante aire, oxígeno y agua.

CAPÍTULO VII: REFERENCIAS

- (1) Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>.
- (2) Araya, R. Utilización Del Rastrojo de Piña (Ananas Comusus) Para La Obtención de Pulpa Para La Producción de Papel, Universidad de Costa Rica, 1998.
- (3) Alvarado, P.; Quesada, K.; Sibaja, R.; Vega, J. Utilización de Las Fibras Del Rastrojo de Piña (Ananas Comusus, Variedad Champaka) Como Material de Refuerzo En Resinas de Poliéster. *Rev. Iberoam. Polímeros* **2005**, *6* (2), 157–179.
- (4) Jonoobi, M.; Harun, J.; Tahir, P. M.; Shakeri, A.; Saifulazry, S.; Makinejad, M. D. Physicochemical Characterization of Pulp and Nanofibers from Kenaf Stem. *Mater. Lett.* **2011**, *65* (7), 1098–1100. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.08.054>.
- (5) Visakh, P. M.; Thomas, S.; Oksman, K.; Mathew, A. P. Crosslinked Natural Rubber Nanocomposites Reinforced with Cellulose Whiskers Isolated from Bamboo Waste: Processing and Mechanical/Thermal Properties. *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* **2012**, *43* (4), 735–741. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2011.12.015>.
- (6) Jonoobi, M.; Khazaeian, A.; Tahir, P. M. .; Saiful Azry, S.; Oksman, K. Characteristics of Cellulose Nanofibers Isolated from Rubberwood and Empty Fruit Bunches of Oil Palm Using Chemo-Mechanical Process. *Cellulose* **2011**, *18* (4), 1085–1095. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10570-011-9546-7>.
- (7) Cherian, B. M.; Leão, A. L.; de Souza, S. F.; Thomas, S.; Pothan, L. A.; Kottaisamy, M. Isolation of Nanocellulose from Pineapple Leaf Fibres by Steam Explosion. *Carbohydr. Polym.* **2010**, *81* (3), 720–725. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.03.046>.
- (8) Moreno, G.; Ramirez, K.; Esquivel, M.; Jimenez, G. Isolation and Characterization of Nanocellulose Obtained from Industrial Crop Waste Resources by Using Mild Acid Hydrolysis. *J. Renew. Mater.* **2017**, 1–8. <https://doi.org/10.7569/JRM.2017.634167>.
- (9) Dufresne, A. Preparation of Microfibrillated Cellulose. In *Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials*; DE GRUYTER: Berlin/Boston, 2012; pp 44–56.
- (10) Saito, T.; Nishiyama, Y.; Putaux, J. L.; Vignon, M.; Isogai, A. Homogeneous Suspensions of Individualized Microfibrils from TEMPO-Catalyzed Oxidation of Native Cellulose. *Biomacromolecules* **2006**, *7* (6), 1687–1691. <https://doi.org/10.1021/bm060154s>.
- (11) Kolakovic, R.; Peltonen, L.; Laukkanen, A.; Hirvonen, J.; Laaksonen, T. Nanofibrillar Cellulose Films for Controlled Drug Delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2012**, *82* (2), 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.06.011>.
- (12) Mathew, A. P.; Oksman, K.; Pierron, D.; Harmand, M. F. Fibrous Cellulose Nanocomposite Scaffolds Prepared by Partial Dissolution for Potential Use as Ligament or Tendon Substitutes. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87* (3), 2291–2298. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.063>.
- (13) Orelma, H.; Filpponen, I.; Johansson, L. S.; Österberg, M.; Rojas, O. J.; Laine, J. Surface

- Functionalized Nanofibrillar Cellulose (NFC) Film as a Platform for Immunoassays and Diagnostics. *Biointerphases* **2012**, 7 (1–4), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s13758-012-0061-7>.
- (14) Morphology, Anatomy and Taxonomy. In *The pineapple: botany, production and uses*; Bartholomew, D. P., Paull, R. E., Rohrbach, K. G., Eds.; CABI: Wallingford, 2003; pp 13–23. <https://doi.org/10.1079/9780851995038.0000>.
- (15) Montero, M.; Cerdas, M. *Guías Técnicas Del Manejo Poscosecha Para El Mercado Fresco Piña (Ananas Comosus)*, 1st ed.; Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG): Costa Rica, 2005.
- (16) Aguirre, D.; Arboleda, E. Impacto Ambiental Del Cultivo de Pina y Características de Éste (Caso Siquirres). *Ambientico* **2008**, 177 (149–214), 3–8. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- (17) Rojas, T.; Porras, S.; Jimenez, L.; Bolaños, A.; Van der Lucht, A. *Plan de Acción Conjunto SFE/SENASA Para El Combate de La Mosca Del Establo (Stomoxys Calcitrans) (L.)*; Comisión Técnica Fitosanitaria / Dirección General SENASA: Costa Rica, 2006.
- (18) Kekäläinen, K.; Liimatainen, H.; Illikainen, M.; Maloney, T. C.; Niinimäki, J. The Role of Hornification in the Disintegration Behaviour of TEMPO-Oxidized Bleached Hardwood Fibres in a High-Shear Homogenizer. *Cellulose* **2014**, 21 (3), 1163–1174. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0210-x>.
- (19) Hiden, A.; Abe, K.; Uchimura, H.; Yano, H. Preparation by Combined Enzymatic and Mechanical Treatment and Characterization of Nanofibrillated Cotton Fibers. *Cellulose* **2016**, 23 (6), 3639–3651. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1075-y>.
- (20) Lopattananon, N.; Panawarangkul, K.; Sahakaro, K.; Ellis, B. Performance of Pineapple Leaf Fiber-Natural Rubber Composites: The Effect of Fiber Surface Treatments. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, 102 (2), 1974–1984. <https://doi.org/10.1002/app.24584>.
- (21) O’Sullivan, A. Cellulose: The Structure Slowly Unravels. *Cellulose* **1997**, 4 (3), 173–207. <https://doi.org/https://doi.org/10.1023/A:1018431705579>.
- (22) Payern, A. Mémoire Sur La Composition Du Tissu Propre Des Plantes et Du Ligneux. *Comptes Rendus* **1838**, 7, 1052–1056.
- (23) Puls, J. Chemistry and Biochemistry of Hemicelluloses: Relationship between Hemicellulose Structure and Enzymes Required for Hydrolysis. *Macromol. Symp.* **2011**, 120 (1), 183–196. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/masy.19971200119>.
- (24) Banerjee, S.; Patti, A. F.; Ranganathan, V.; Arora, A. Hemicellulose Based Biorefinery from Pineapple Peel Waste: Xylan Extraction and Its Conversion into Xylooligosaccharides. *Food Bioprod. Process.* **2019**, 117, 38–50. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.06.012>.
- (25) Martone, P. T.; Estevez, J. M.; Lu, F.; Ruel, K.; Denny, M. W.; Somerville, C.; Ralph, J. Discovery of Lignin in Seaweed Reveals Convergent Evolution of Cell-Wall Architecture. *Curr. Biol.* **2009**, 19 (2), 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.12.031>.
- (26) Domine, M.; Chávez, M. Lignin , Structure and Applications : Depolymerization Methods for Obtaining Aromatic Derivatives of Industrial Interest. *Av. en Ciencias e Ing.* **2013**, 4 (4), 15–

46.

- (27) Kovalenko, V. I. Crystalline Cellulose: Structure and Hydrogen Bonds. *Russ. Chem. Rev.* **2010**, 79 (3), 231–241. <https://doi.org/10.1070/RC2010v079n03ABEH004065>.
- (28) Wightman, R.; Turner, S. Trafficking of the Cellulose Synthase Complex in Developing Xylem Vessels. *Biochem. Soc. Trans.* **2010**, 38 (3), 755–760. <https://doi.org/10.1042/BST0380755>.
- (29) Gardner, K. .; Blackwell, J. The Structure of Native Cellulose. *Biopolymers* **1974**, 13 (10), 1975–2001.
- (30) Belton, P. S.; Tanner, S. F.; Cartier, N.; Chanzy, H. High-Resolution Solid-State Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Tunicin, an Animal Cellulose. *Macromolecules* **1989**, 22 (4), 1615–1617. <https://doi.org/10.1021/ma00194a019>.
- (31) Sarko, A.; Southwick, J.; Hayashi, J. Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. 7. Crystal Structure of Cellulose III and Its Relationship to Other Cellulose Polymorphs. *Macromolecules* **1976**, 9 (5), 857–863. <https://doi.org/10.1021/ma60053a028>.
- (32) Xu, X.; Liu, F.; Jiang, L.; Zhu, J. Y.; Haagenson, D.; Wiesenborn, D. P. Cellulose Nanocrystals vs. Cellulose Nanofibrils: A Comparative Study on Their Microstructures and Effects as Polymer Reinforcing Agents. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, 5 (8), 2999–3009. <https://doi.org/10.1021/am302624t>.
- (33) Dufresne, A. Cellulose and Potential Reinforcement. In *Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials.*; DE GRUYTER: Berlin/Boston, 2012; pp 1–34.
- (34) Gumrah Dumanli, A. Nanocellulose and Its Composites for Biomedical Applications. *Curr. Med. Chem.* **2017**, 24 (5), 512–528. <https://doi.org/10.2174/0929867323666161014124008>.
- (35) Fang, Z.; Hou, G.; Chen, C.; Hu, L. Nanocellulose-Based Films and Their Emerging Applications. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **2019**, 23 (4), 299–320. <https://doi.org/10.1016/j.cossms.2019.07.003>.
- (36) Camacho, M.; Regina, Y.; Ureña, C.; Lopretti, M.; Carballo, L. B.; Moreno, G.; Alfaro, B.; Roberto, J.; Baudrit, V. Synthesis and Characterization of Nanocrystalline Cellulose Derived from Pineapple Peel Residues. *J. Renew. Mater.* **2017**, 5 (July), 271–279. <https://doi.org/10.7569/JRM.2017.634117>.
- (37) Percival Zhang, Y.-H.; Himmel, M. E.; Mielenz, J. R. Outlook for Cellulase Improvement: Screening and Selection Strategies. *Biotechnol. Adv.* **2006**, 24 (5), 452–481. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.003>.
- (38) Yue, L.; Zheng, Y.; Xie, Y.; Liu, S.; Guo, S.; Yang, B.; Tang, T. Preparation of a Carboxymethylated Bacterial Cellulose/Polyaniline Composite Gel Membrane and Its Characterization. *RSC Adv.* **2016**, 6 (73), 68599–68605. <https://doi.org/10.1039/C6RA07646G>.
- (39) Wågberg, L.; Decher, G.; Norgren, M.; Lindström, T.; Ankerfors, M.; Axnäs, K. The Build-up of Polyelectrolyte Multilayers of Microfibrillated Cellulose and Cationic Polyelectrolytes. *Langmuir* **2008**, 24 (3), 784–795. <https://doi.org/10.1021/la702481v>.

- (40) Isogai, A.; Saito, T.; Fukuzumi, H. TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers. *Nanoscale* **2011**, 3 (1), 71–85. <https://doi.org/10.1039/C0NR00583E>.
- (41) Wise, L. E.; Murphy, M.; D'Addieco, A. A. Chlorite Holocellulose, Its Fractionation and Bearing on Summative Wood Analysis and on Studies on the Hemicelluloses. *Pap. Trade J.* **1946**, 122 (2), 35–43.
- (42) Alemdar, A.; Sain, M. Isolation and Characterization of Nanofibers from Agricultural Residues—Wheat Straw and Soy Hulls. *Bioresour. Technol.* **2008**, 99 (6), 1664–1671. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.029>.
- (43) Svagan, A. J.; Azizi Samir, M. A. S.; Berglund, L. A. Biomimetic Polysaccharide Nanocomposites of High Cellulose Content and High Toughness. *Biomacromolecules* **2007**, 8 (8), 2556–2563. <https://doi.org/10.1021/bm0703160>.
- (44) Mathew, A. P.; Oksman, K.; Pierron, D.; Harnad, M. F. Crosslinked Fibrous Composites Based on Cellulose Nanofibers and Collagen with in Situ PH Induced Fibrillation. *Cellulose* **2012**, 19 (1), 139–150. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9624-x>.
- (45) Saba, N.; Safwan, A.; Sanyang, M. .; Mohammad, F.; Pervaiz, M.; Jawaid, M.; Alothman, O. .; Sain, M. Thermal and Dynamic Mechanical Properties of Cellulose Nanofibers Reinforced Epoxy Composites. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, 102, 822–828. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.074>.
- (46) Amini, E.; Azadfallah, M.; Layeghi, M.; Talaei-Hassanloui, R. Silver-Nanoparticle-Impregnated Cellulose Nanofiber Coating for Packaging Paper. *Cellulose* **2016**, 23 (1), 557–570. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0846-1>.
- (47) Gao, T. M.; Huang, M. F.; Li, P. W.; Han, Z. P.; Xie, R. H.; Chen, H. L. Preparation and Characterization Nano-Cellulose and Its Surface Modification by Silane Coupling Agent. *Appl. Mech. Mater.* **2012**, 217–219, 260–263. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.217-219.260>.
- (48) Analytic. M-110P PLUG AND PLAY MICROFLUIDIZER® PROCESSOR <https://analytik.co.uk/product/particle-size-reduction-m-110p-microfluidizer/>.
- (49) Saito, T.; Isogai, A. TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. The Effect of Oxidation Conditions on Chemical and Crystal Structures of the Water-Insoluble Fractions. *Biomacromolecules* **2004**, 5 (5), 1983–1989. <https://doi.org/10.1021/bm0497769>.
- (50) Chen, Y.; Geng, B.; Ru, J.; Tong, C.; Liu, H. Comparative Characteristics of TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers and Resulting Nanopapers from Bamboo , Softwood , and Hardwood Pulps. *Cellulose* **2017**, 24 (11), 4831–4844. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1478-4>.
- (51) Usov, I.; Nyström, G.; Adamcik, J.; Handschin, S.; Schütz, C.; Fall, A.; Bergström, L.; Mezzenga, R. Understanding Nanocellulose Chirality and Structure–Properties Relationship at the Single Fibril Level. *Nat. Commun.* **2015**, 6 (1), 7564. <https://doi.org/10.1038/ncomms8564>.
- (52) Segal, L.; Creely, J. J.; Martin, A. E.; Conrad, C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Text. Res. J.*

- 1959**, 29 (10), 786–794. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>.
- (53) Voigtländer, B. Introduction. In *Atomic Force Microscopy*; NanoScience and Technology; Springer International Publishing: Jülich, Germany, 2019; pp 4–5. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-13654-3>.
- (54) Balakrishnan, P.; Gopi, S.; Geethamma, V. G.; Kalarikkal, N.; Thomas, S. Cellulose Nanofiber vs Nanocrystals From Pineapple Leaf Fiber: A Comparative Studies on Reinforcing Efficiency on Starch Nanocomposites. *Macromol. Symp.* **2018**, 380 (1), 1800102. <https://doi.org/10.1002/masy.201800102>.
- (55) Tanaka, R.; Saito, T.; Isogai, A. Cellulose Nanofibrils Prepared from Softwood Cellulose by TEMPO/NaClO/NaClO₂ Systems in Water at PH 4.8 or 6.8. *Int. J. Biol. Macromol.* **2012**, 51 (3), 228–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.05.016>.
- (56) Iwamoto, S.; Lee, S.-H.; Endo, T. Relationship between Aspect Ratio and Suspension Viscosity of Wood Cellulose Nanofibers. *Polym. J.* **2014**, 46 (1), 73–76. <https://doi.org/10.1038/pj.2013.64>.
- (57) Ravindran, L.; M.S., S.; Thomas, S. Novel Processing Parameters for the Extraction of Cellulose Nanofibres (CNF) from Environmentally Benign Pineapple Leaf Fibres (PALF): Structure-Property Relationships. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 131, 858–870. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.134>.
- (58) Parvej, M. S.; Wang, X.; Jiang, L. AFM Based Nanomechanical Characterization of Cellulose Nanofibril. *J. Compos. Mater.* **2020**, 54 (28), 4487–4493. <https://doi.org/10.1177/0021998320933955>.
- (59) Lavorante, M. J.; Franco, J. I. Conductometric Titration as a Technique to Determine Variation in Conductivity in Perfluorosulfonic Acid Materials for Fuel Cells and Electrolyzers. *Int. J. Energy Environ. Eng.* **2017**, 8 (2), 123–134. <https://doi.org/10.1007/s40095-017-0230-z>.
- (60) Waseda, Y.; Matsubara, E.; Shinoda, K. Scattering and Diffraction. In *X-Ray Diffraction Crystallography*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2011; p 67. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-16635-8>.
- (61) Hai, L. Van; Kafy, A.; Zhai, L.; Kim, J. W.; Mwongeli Muthoka, R.; Kim, J. Fabrication and Characterization of Cellulose Nanofibers from Recycled and Native Cellulose Resources Using Tempo Oxidation. *Cellul. Chem. Technol.* **2018**, 52 (3), 215–221.
- (62) Jiang, F.; Hsieh, Y.-L. Chemically and Mechanically Isolated Nanocellulose and Their Self-Assembled Structures. *Carbohydr. Polym.* **2013**, 95 (1), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.022>.
- (63) Saelee, K.; Yingkamhaeng, N.; Nimchua, T.; Sukyai, P. An Environmentally Friendly Xylanase-Assisted Pretreatment for Cellulose Nanofibrils Isolation from Sugarcane Bagasse by High-Pressure Homogenization. *Ind. Crops Prod.* **2016**, 82, 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.064>.
- (64) Pelissari, F. M.; Sobral, P. J. do A.; Menegalli, F. C. Isolation and Characterization of Cellulose Nanofibers from Banana Peels. *Cellulose* **2014**, 21 (1), 417–432.

<https://doi.org/10.1007/s10570-013-0138-6>.

- (65) Light Scattering Apparatus. In *Dynamic Light Scattering*; Pecora, R., Ed.; Springer US: Boston, MA, 1985; p 11. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-2389-1>.
- (66) Okita, Y.; Saito, T.; Isogai, A. Entire Surface Oxidation of Various Cellulose Microfibrils by TEMPO-Mediated Oxidation. *Biomacromolecules* **2010**, *11* (6), 1696–1700. <https://doi.org/10.1021/bm100214b>.
- (67) Park, J.; Park, C.-W.; Han, S.-Y.; Kwon, G.-J.; Kim, N.-H.; Lee, S.-H. Effects of PH on Nanofibrillation of TEMPO-Oxidized Paper Mulberry Bast Fibers. *Polymers (Basel)*. **2019**, *11* (3), 414. <https://doi.org/10.3390/polym11030414>.
- (68) Gamelas, J. A. F.; Pedrosa, J.; Lourenço, A. F.; Mutjé, P.; González, I.; Chinga-Carrasco, G.; Singh, G.; Ferreira, P. J. T. On the Morphology of Cellulose Nanofibrils Obtained by TEMPO-Mediated Oxidation and Mechanical Treatment. *Micron* **2015**, *72*, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2015.02.003>.
- (69) Mautner, A.; Lee, K.-Y.; Tammelin, T.; Mathew, A. P.; Nedoma, A. J.; Li, K.; Bismarck, A. Cellulose Nanopapers as Tight Aqueous Ultra-Filtration Membranes. *React. Funct. Polym.* **2015**, *86*, 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.014>.
- (70) Berna, F. Encyclopedia of Geoarcheology. In *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*; Gilbert, A. S., Ed.; Encyclopedia of Earth Sciences Series; Springer Netherlands: Burnaby, Canada, 2016; pp 285–286. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4409-0>.
- (71) Coseri, S.; Biliuta, G.; Fras, L.; Stevic, J.; Thomas, P.; Strnad, S.; Kreze, T.; Naderi, A.; Lindstrom, T. One-Shot Carboxylation of Microcrystalline Cellulose in the Presence of Nitroxyl Radicals and Sodium Periodate. *RSC Adv.* **2015**, *5* (117), 85889–85897. <https://doi.org/10.1039/C5RA16183E>.
- (72) Rashid, T.; Kait, C. F.; Murugesan, T. A “Fourier Transformed Infrared” Compound Study of Lignin Recovered from a Formic Acid Process. *Procedia Eng.* **2016**, *148*, 1312–1319. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.06.547>.
- (73) De Blasio, C. Thermogravimetric Analysis (TGA). In *Fundamentals of Biofuels Engineering and Technology*; Springer International Publishing: Vaasa, Finland, 2019; pp 91–92. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11599-9_7.
- (74) Yang, H.; Yan, R.; Chen, H.; Lee, D. H.; Zheng, C. Characteristics of Hemicellulose, Cellulose and Lignin Pyrolysis. *Fuel* **2007**, *86* (12–13), 1781–1788. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2006.12.013>.
- (75) Fukuzumi, H.; Saito, T.; Okita, Y.; Isogai, A. Thermal Stabilization of TEMPO-Oxidized Cellulose. *Polym. Degrad. Stab.* **2010**, *95* (9), 1502–1508. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.015>.
- (76) Veeramachineni, A.; Sathasivam, T.; Muniyandy, S.; Janarthanan, P.; Langford, S.; Yan, L. Optimizing Extraction of Cellulose and Synthesizing Pharmaceutical Grade Carboxymethyl Sago Cellulose from Malaysian Sago Pulp. *Appl. Sci.* **2016**, *6* (6), 170. <https://doi.org/10.3390/app6060170>.

- (77) Höhne, G. W. H.; Hemminger, W. F.; Flammersheim, H.-J. Introduction. In *Differential Scanning Calorimetry*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2003; pp 1–4. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-06710-9>.
- (78) Morán, J. I.; Alvarez, V. A.; Cyras, V. P.; Vázquez, A. Extraction of Cellulose and Preparation of Nanocellulose from Sisal Fibers. *Cellulose* **2008**, *15* (1), 149–159. <https://doi.org/10.1007/s10570-007-9145-9>.
- (79) Ciolacu, D.; Ciolacu, F.; Popa, V. Amorphous Cellulose - Structure and Characterization. *Cellul. Chem. Technol.* **2011**, *45* (1), 13–21.
- (80) Rodionova, G.; Saito, T.; Lenes, M.; Eriksen, Ø.; Gregersen, Ø.; Fukuzumi, H.; Isogai, A. Mechanical and Oxygen Barrier Properties of Films Prepared from Fibrillated Dispersions of TEMPO-Oxidized Norway Spruce and Eucalyptus Pulps. *Cellulose* **2012**, *19* (3), 705–711. <https://doi.org/10.1007/s10570-012-9664-x>.

ANEXOS

Anexo 1. Determinación del porcentaje de sólidos del rastrojo de piña y de la celulosa extraída.

Cuadro 11. Determinación del porcentaje de sólidos del rastrojo de piña.

Parámetro	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Masa de crisol (g) ($\pm 0,0002$)	18,5021	18,8050	18,5346
Masa crisol + muestra (g) ($\pm 0,0002$)	20,1880	20,5680	19,8473
Masa inicial (g) ($\pm 0,0003$)	1,6859	1,7630	1,3127
Masa del crisol + Masa final (g) ($\pm 0,0002$)	18,9126	19,2345	18,8538
Masa final (g) ($\pm 0,0003$)	0,4105	0,4295	0,3192
% de Sólidos ($\pm 0,02$)	24,35	24,36	24,32
Promedio del % de Sólidos ($\pm 0,0004$)	24,34		

Cuadro 12. Determinación del porcentaje de sólidos de la celulosa extraída a partir de PALF.

Parámetro	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Masa de crisol (g) ($\pm 0,0002$)	18,6987	18,7024	18,3548
Masa crisol + muestra (g) ($\pm 0,0002$)	20,1816	20,0334	19,6200
Masa inicial (g) ($\pm 0,0003$)	1,4829	1,3310	1,2652
Masa del crisol + Masa final (g) ($\pm 0,0002$)	18,9775	18,9432	18,5835
Masa final (g) ($\pm 0,0003$)	0,2788	0,2408	0,2287
% de Sólidos ($\pm 0,02$)	18,80	18,09	18,08
Promedio del % de Sólidos ($\pm 0,0004$)	18,32		

Anexo 2. Determinación del porcentaje de sólidos en los precipitados obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B/CNF-B-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB/CNF-SB-MF) con oxidación mediada por TEMPO y tratamientos con el dispersor de alto rendimiento.

Cuadro 13. Determinación del porcentaje de sólidos en los precipitados obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB) oxidadas por TEMPO y homogeneizadas con el Ultra-Turrax®.

Parámetro	CNF-B			CNF-SB		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Masa de crisol (g) ($\pm 0,0002$)	18,2125	18,1982	17,9879	18,5021	18,8050	18,5346
Masa crisol + muestra (g) ($\pm 0,0002$)	20,2966	20,2904	20,0619	19,9836	20,3690	20,1015
Masa inicial (g) ($\pm 0,0003$)	2,0541	2,0922	2,0740	1,4815	1,5640	1,5669
Masa del crisol + Masa final (g) ($\pm 0,0002$)	18,3095	18,2993	18,0871	18,6122	18,9309	18,6559
Masa final (g) ($\pm 0,0003$)	0,0970	0,1011	0,0992	0,1101	0,1259	0,1213
% de Sólidos ($\pm 0,02$)	4,72	4,83	4,78	7,43	8,05	7,74
Promedio del % de Sólidos ($\pm 0,0004$)	4,78			7,74		

Cuadro 14. Determinación del porcentaje de sólidos en los precipitados obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-SB-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-B-MF) oxidadas con TEMPO y homogeneizadas mediante el microfluidizador.

Parámetro	CNF-B-MF			CNF-SB-MF		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Masa de crisol (g) ($\pm 0,0002$)	18,2130	18,1990	17,9882	18,6985	18,7014	18,3529
Masa crisol + muestra (g) ($\pm 0,0002$)	20,3074	20,0804	19,8807	20,3770	20,5003	20,0916
Masa inicial (g) ($\pm 0,0003$)	2,0944	1,8814	1,8925	1,6785	1,7989	1,7387
Masa del crisol + Masa final (g) ($\pm 0,0002$)	18,3678	18,3371	18,1277	18,7601	18,7617	18,4200
Masa final (g) ($\pm 0,0003$)	0,1548	0,1381	0,1395	0,0616	0,0603	0,0671
% de Sólidos ($\pm 0,02$)	7,39	7,34	7,37	3,67	3,35	3,86
Promedio del % de Sólidos ($\pm 0,0004$)	7,37			3,63		

Anexo 3. Determinación del porcentaje de sólidos en los sobrenadantes obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B/CNF-B-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB/CNF-SB-MF) con oxidación mediada por TEMPO y tratamientos mecánicos.

Cuadro 15. Determinación del porcentaje de sólidos en los sobrenadantes obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB) oxidadas por TEMPO y homogeneizadas con el Ultra-Turrax®.

Parámetro	CNF-B			CNF-SB		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Masa de crisol (g) ($\pm 0,0002$)	18,2125	18,1982	17,9879	18,5021	18,8050	18,5346
Masa crisol + muestra (g) ($\pm 0,0002$)	20,1380	20,1179	19,9368	20,4318	20,7252	20,4933
Masa inicial (g) ($\pm 0,0003$)	1,8955	1,9197	1,9489	1,9297	1,9202	1,9587
Masa del crisol + Masa final (g) ($\pm 0,0002$)	18,2445	18,2002	17,9899	18,5037	18,8065	18,5362
Masa final (g) ($\pm 0,0003$)	0,0020	0,0020	0,0020	0,0016	0,0015	0,0016
% de Sólidos ($\pm 0,0004$)	0,1055	0,1042	0,1026	0,0829	0,0781	0,0817
Promedio del % de Sólidos ($\pm 0,0004$)	0,1041			0,0809		

Cuadro 16. Determinación del porcentaje de sólidos en los sobrenadantes obtenidos en la producción de CNF blanqueada (CNF-B-MF) y de la CNF sin blanquear (CNF-SB-MF) oxidadas con TEMPO y homogeneizadas mediante el microfluidizador.

Parámetro	CNF-B-MF			CNF-SB-MF		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Masa de crisol (g) (± 0,0002)	18,2130	18,1990	17,9882	18,6985	18,7014	18,3529
Masa crisol + muestra (g) (± 0,0002)	20,2208	20,3531	20,0629	20,7438	20,7049	20,4629
Masa inicial (g) (± 0,0003)	2,0078	2,1541	2,0747	2,0453	2,0035	2,1100
Masa del crisol + Masa final (g) (± 0,0002)	18,2365	18,2237	18,0111	18,7032	18,7062	18,3575
Masa final (g) (± 0,0003)	0,0235	0,0247	0,0229	0,0047	0,0048	0,0046
% de Sólidos (± 0,0004)	1,1701	1,1463	1,1058	0,2277	0,2412	0,2195
Promedio del % de Sólidos (± 0,0004)	1,1407			0,2295		

Anexo 4. Valoración conductimétrica para determinar el contenido de carboxilatos en las muestras de PALF.

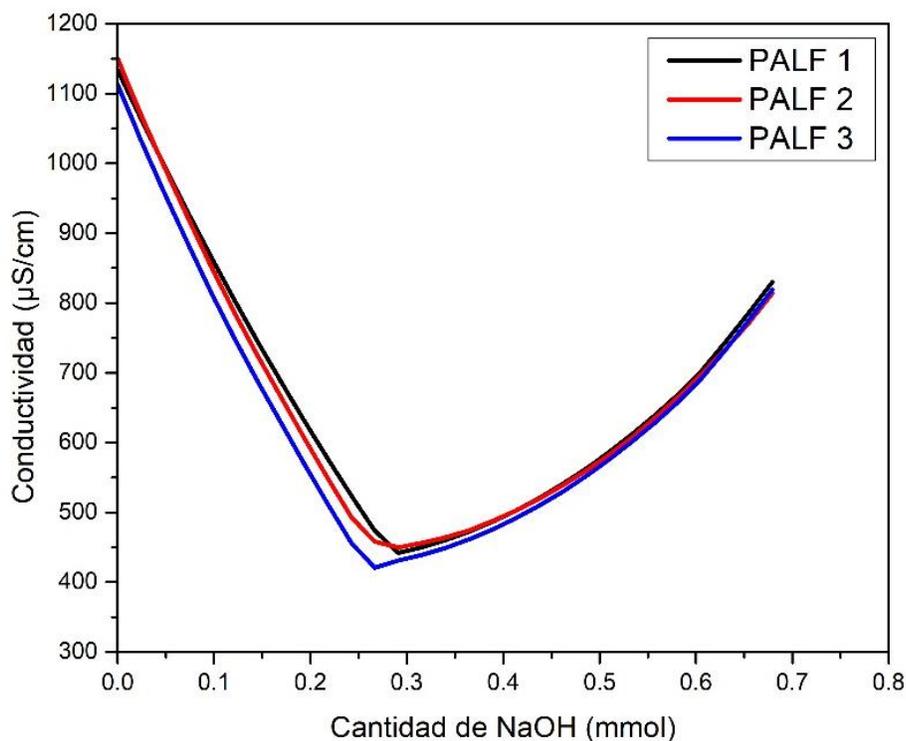


Figura 22. Titulaciones conductimétricas del contenido de carboxilatos en las muestras de PALF.

Anexo 5. Valoración conductimétrica para determinar el contenido de carboxilatos y aldehídos en las muestras de CNF-B, CNF-SB, CNF-B-MF Y CNF-SB-MF.

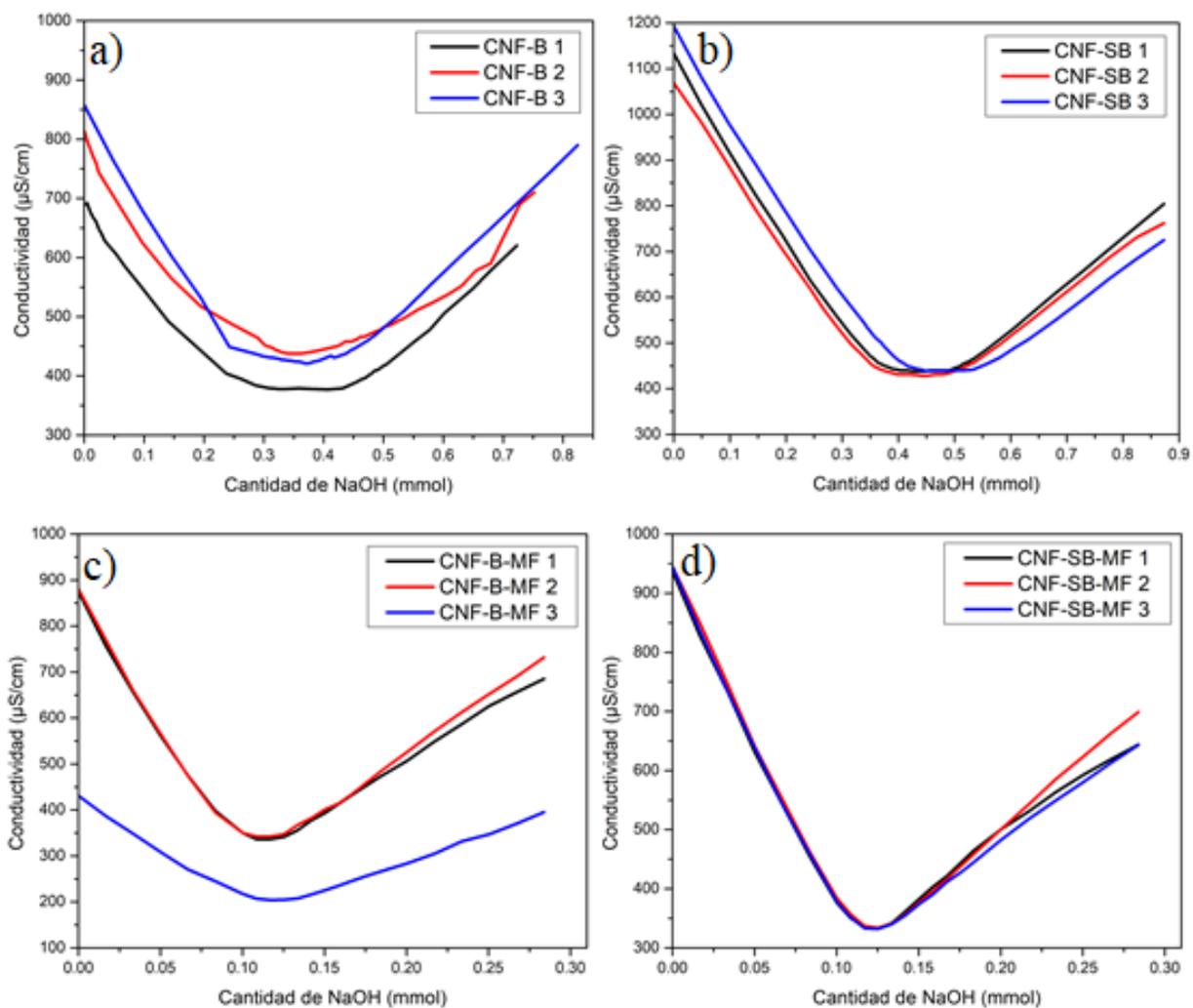


Figura 23. Titulaciones conductimétricas del contenido de carboxilatos en las muestras de a) CNF-B, b) CNF-SB, c) CNF-B-MF y d) CNF-SB-MF.

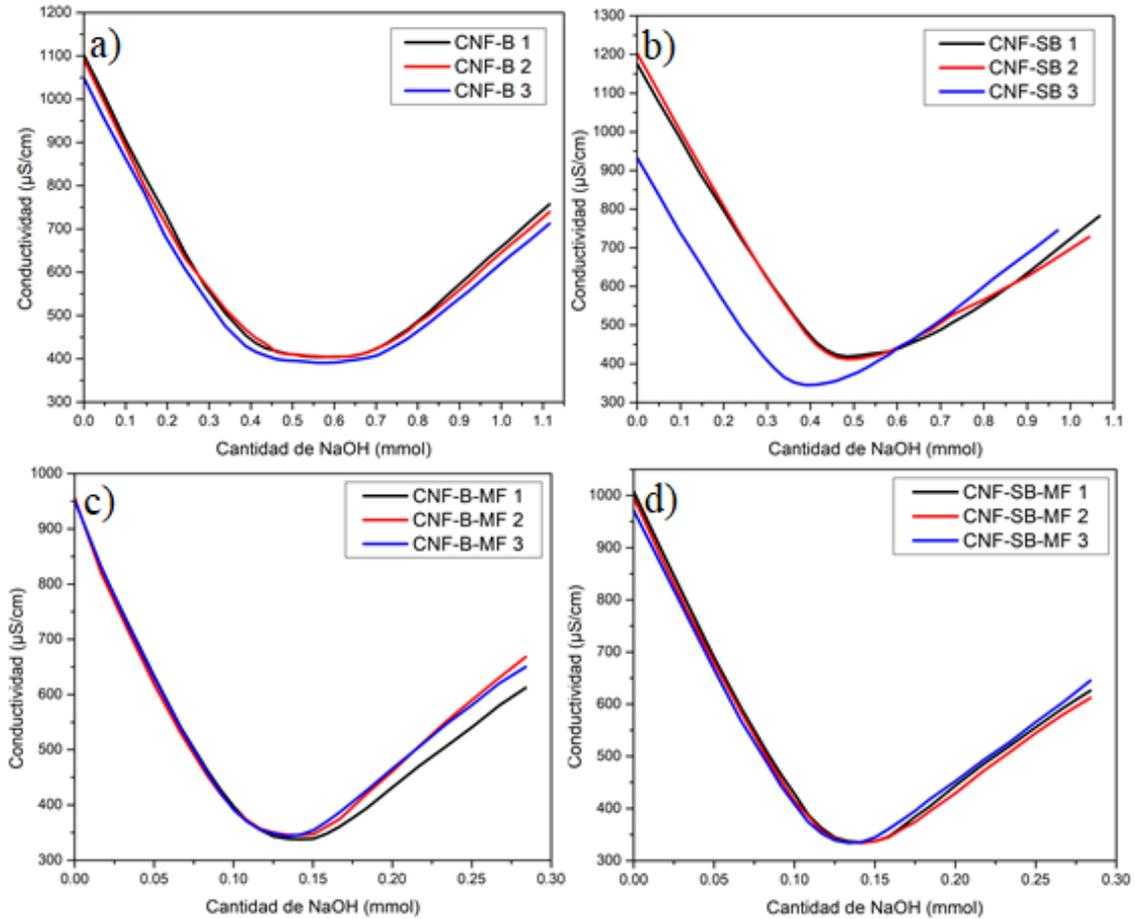


Figura 24. Titulaciones conductimétricas del contenido de aldehídos en las muestras de a) CNF-B, b) CNF-SB, c) CNF-B-MF y d) CNF-SB-MF.

Anexo 6. Imágenes de $5 \times 5 \mu\text{m}$ en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las suspensiones de: a) CNF-B y b) CNF-SB.

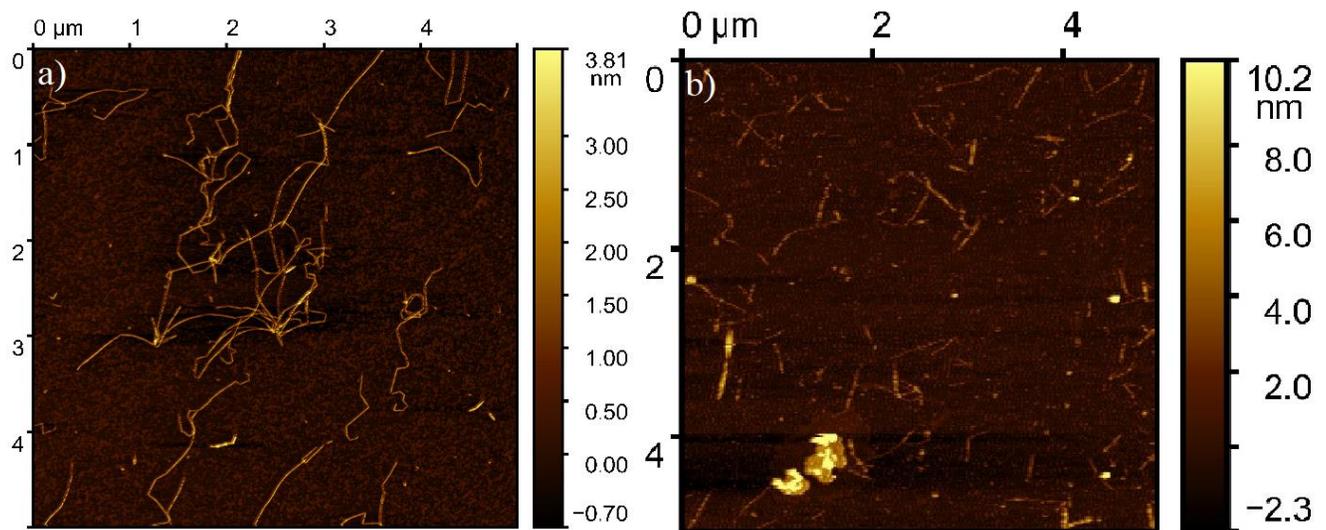


Figura 25. Imágenes de $5 \times 5 \mu\text{m}$ en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las suspensiones de: a) CNF-B y b) CNF-SB.

Anexo 7. Imágenes en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las películas de: a) 5X5 μm CNF-B, b) 1X1 μm CNF-B, c) 5X5 μm CNF-SB, d) 1X1 μm CNF-SB, e) 5X5 μm CNF-SB-MF y f) 1X1 μm CNF-SB-MF.

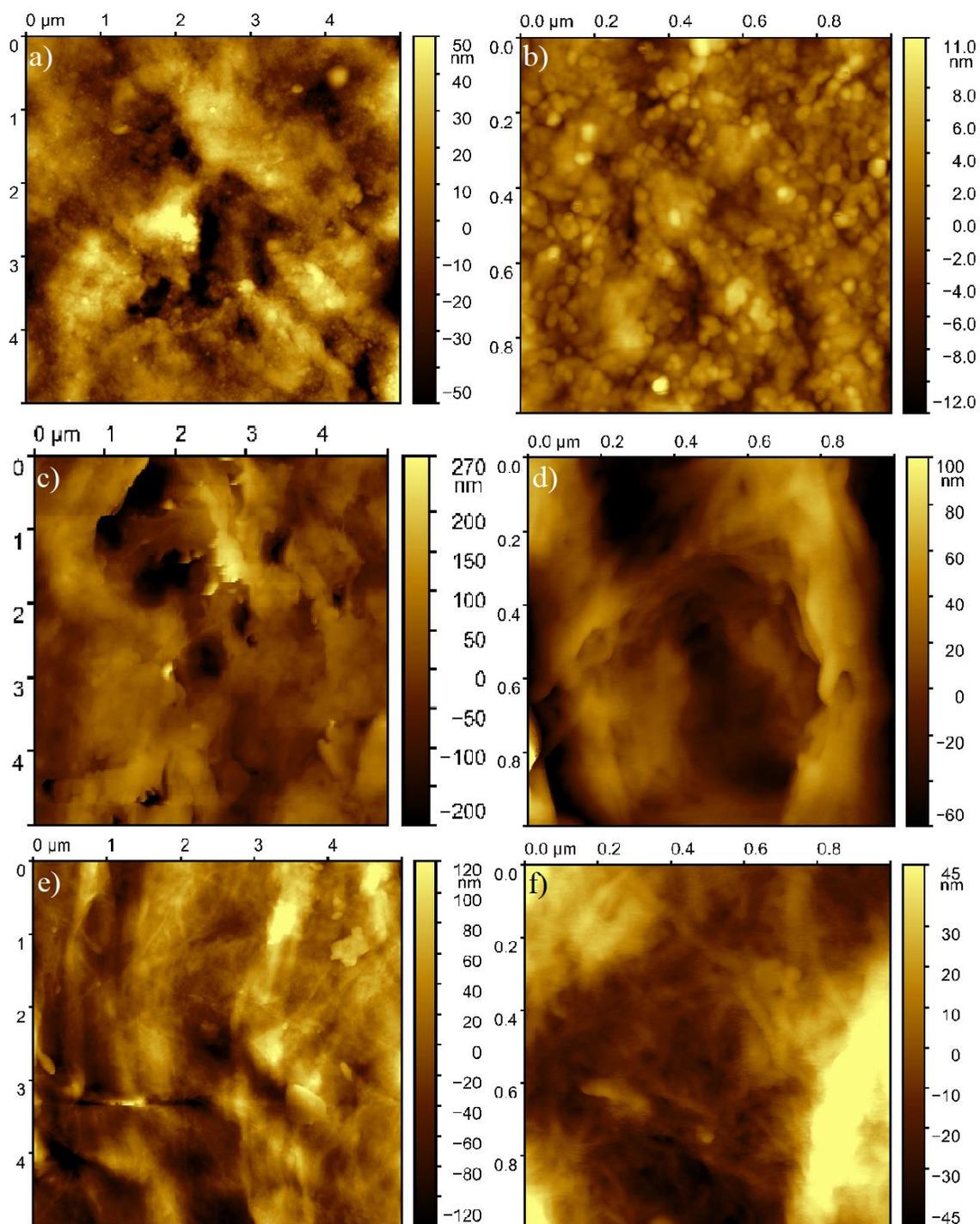


Figura 26. Imágenes en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto para las películas de: a) 5X5 μm CNF-B, b) 1X1 μm CNF-B, c) 5X5 μm CNF-SB, d) 1X1 μm CNF-SB, e) 5X5 μm CNF-SB-MF y f) 1X1 μm CNF-SB-MF.

Anexo 8. Termogramas TGA y curvas DTG obtenidos para la celulosa, TEMPO, CNF-B-MF, CNF-B, PALF, CNF-SB-MF y CNF-SB.

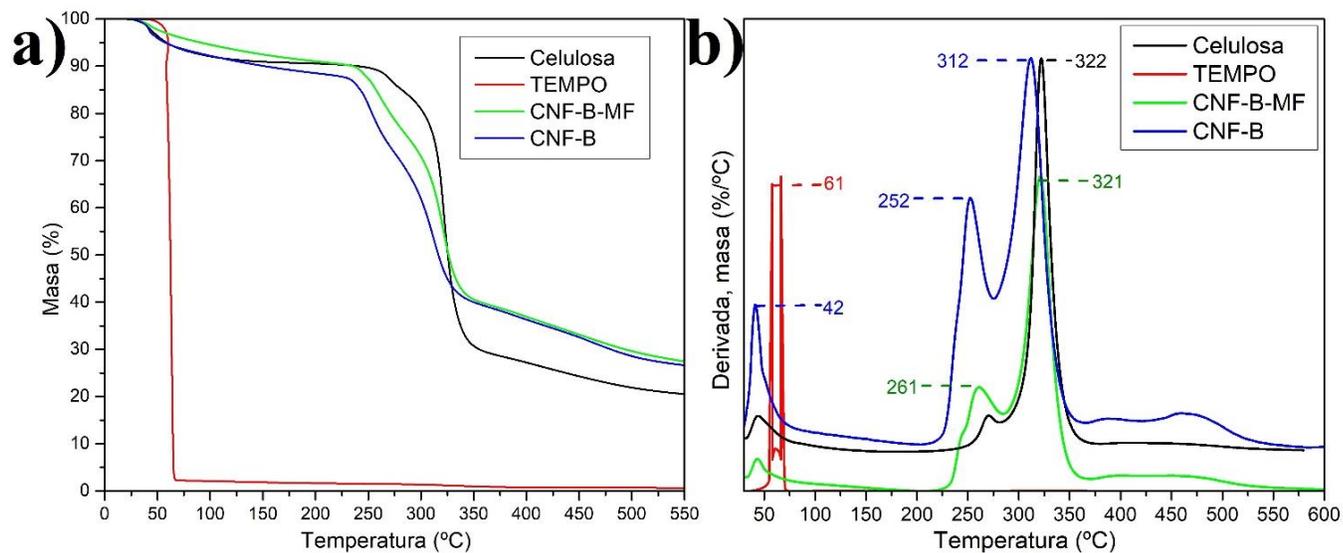


Figura 27. Termogramas TGA (a) y curvas DTG (b) de celulosa, TEMPO, CNF-B-MF y CNF-B.

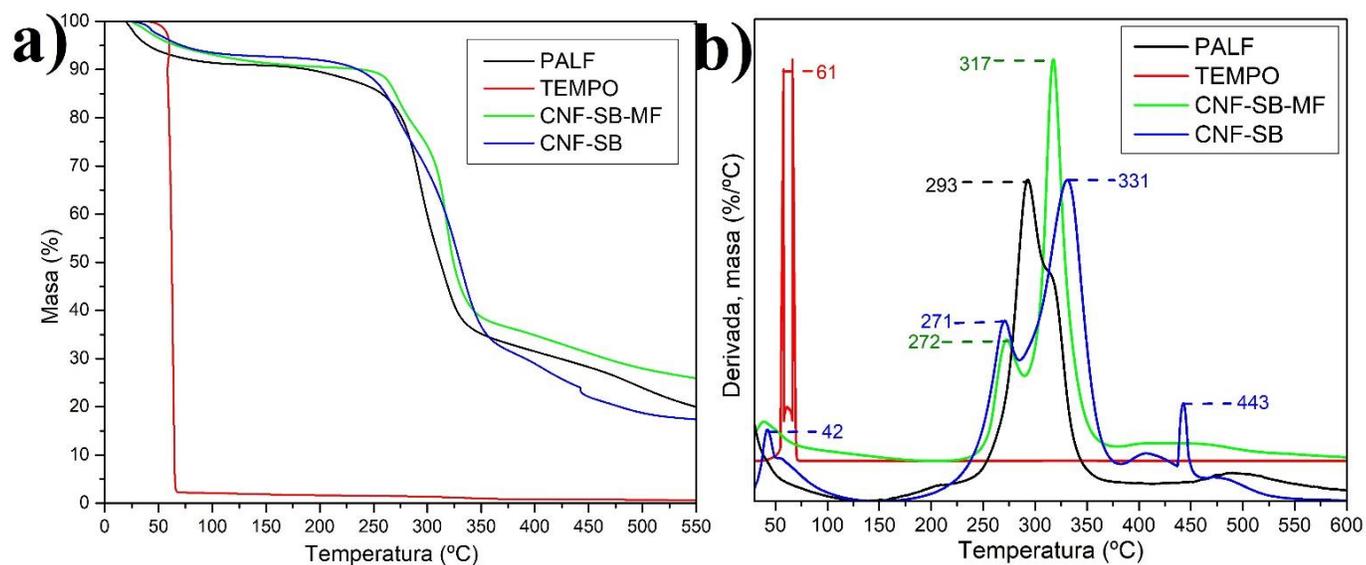


Figura 28. Termogramas TGA (a) y curvas DTG (b) de PALF, TEMPO, CNF-SB-MF y CNF-SB.

Anexo 9. Difractogramas de rayos X de las muestras obtenidas de PALF, CNF-SB, CNF-SB-MF, celulosa, CNF-B y CNF-B-MF.

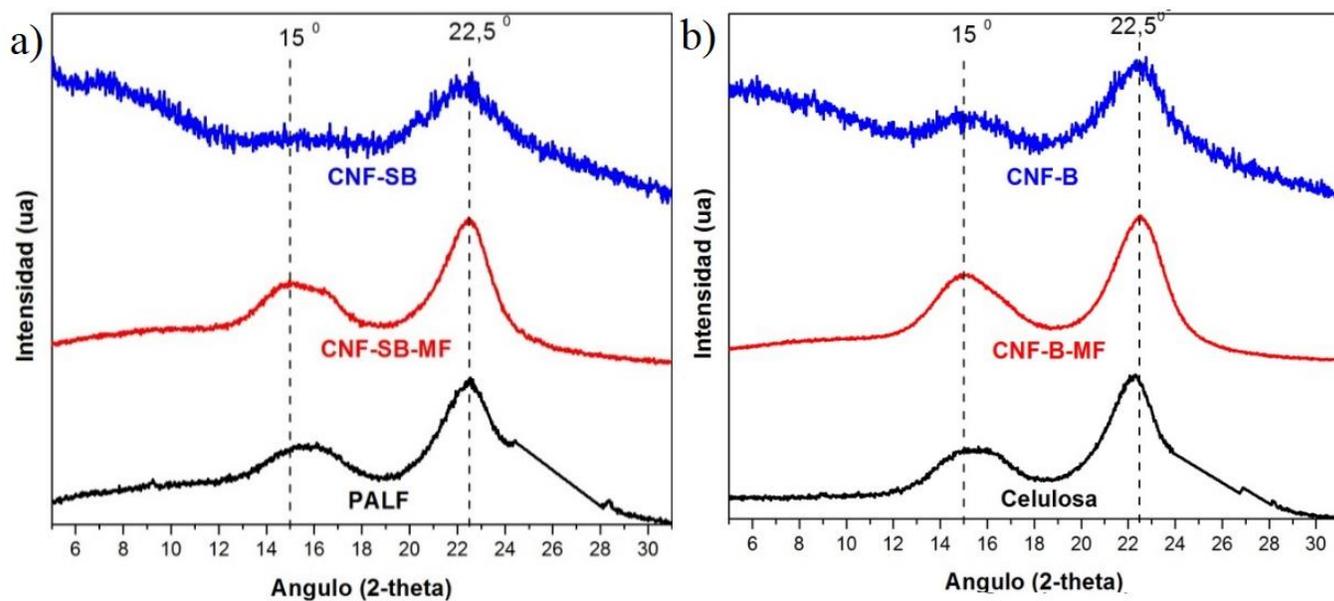


Figura 29. Difractogramas de rayos X de las muestras obtenidas de a) PALF, CNF-SB, CNF-SB-MF y b) celulosa, CNF-B y CNF-B-MF.