	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15	
			VERSIÓN	02	
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN			FECHA	03/04/2017
				PÁGINA	1 de 1
ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ			
Jefe División de Biblioteca	Equipo Operativo de Calidad	Líder de Calidad			

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): NELLY YAZMIN APELLIDOS: AGUDELO ROZO

NOMBRE(S): MARIA CAMILA APELLIDOS: CELY GARCIA

NOMBRE(S): ANGELICA DAYANA APELLIDOS: MEJIA MORALES

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): EDWIN ALBERTO APELLIDOS: MURILLO RUIZ

NOMBRE(S): LAURA YOLIMA APELLIDOS: MORENO ROZO

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): TÉCNICAS PARA LA OBTENCIÓN DE NANOCELULOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA Y ENZIMÁTICA UTILIZANDO COMO RESIDUO AGROINDUSTRIAL EL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR.

El bagazo es considerado como el mayor residuo agroindustrial generado en el procesamiento de la caña de azúcar para la obtención de nanocelulosa. Así mismo, este trabajo analiza las condiciones de hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática para obtener la mayor cantidad de celulosa, mediante un tratamiento previo a la hidrólisis denominado pretratamiento, con el fin de disminuir el contenido de lignina en sus fibras, teniendo en cuenta las propiedades estudiadas para la celulosa las cuales son de carácter morfológico, estructural, mecánico, térmico y reológico, como también el rendimiento de producción de celulosa. Dicho esto, la información fue recopilada de varios artículos científicos y de revisión con el fin de dar a conocer nuevos enfoques que pueden ser usados como alternativas viables para la producción de celulosa y de igual forma minimizar problemáticas ambientales referentes a este residuo agroindustrial.

PALABRAS CLAVES:

BAGAZO,
NANOCELULOSA,
HIDRÓLISIS,
PROPIEDADES.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 182 PLANOS: ILUSTRACIONES: 15 CD ROOM:

Copia No Controlada

TÉCNICAS PARA LA OBTENCIÓN DE NANOCELULOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS
ÁCIDA Y ENZIMÁTICA UTILIZANDO COMO RESIDUO AGROINDUSTRIAL EL
BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR

NELLY YAZMIN AGUDELO ROZO

MARIA CAMILA CELY GARCIA

ANGELICA DAYANA MEJIA MORALES

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
CÚCUTA

2021

TÉCNICAS PARA LA OBTENCIÓN DE NANOCELULOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS
ÁCIDA Y ENZIMÁTICA UTILIZANDO COMO RESIDUO AGROINDUSTRIAL EL
BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR

NELLY YAZMIN AGUDELO ROZO

MARIA CAMILA CELY GARCIA

ANGELICA DAYANA MEJIA MORALES

Monografía presentada como requisito para optar el título de
INGENIERO BIOTECNOLÓGICO

Director:

PhD. EDWIN ALBERTO MURILLO RUÍZ

Codirector:

PhD. LAURA YOLIMA MORENO ROZO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
CÚCUTA

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 05 MARZO DE 2021

HORA: 09:00 A.M.

LUGAR: CÚCUTA, NORTE DE SANTANDER – EVALUACIÓN VIRTUAL

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TÍTULO: "TÉCNICAS PARA LA OBTENCIÓN DE NANOCELULOSA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA Y ENZIMÁTICA UTILIZANDO COMO RESIDUO AGROINDUSTRIAL EL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR"

MODALIDAD: MONOGRAFÍA

JURADO: GERMAN RICARDO GELVEZ ZAMBRANO
ANDRÉS FERNANDO BARAJAS SOLANO
ALBERTO SARMIENTO CASTRO

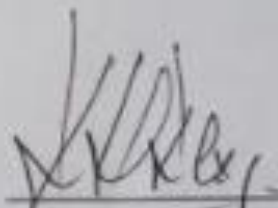
ENTIDAD: UFPS

DIRECTOR: EDWIN ALBERTO MURELLO
CO-DIRECTOR: LAURA MORENO ROZO

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CÓDIGO	CALIFICACIÓN
Angelica Dayana Mejia Morales	1611314	4.3
Maria Camila Cely Garcia	1611302	4.3
Nelly Yazmin Agudelo Rozo	1611303	4.3

OBSERVACIONES: APROBADA.

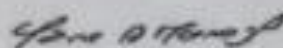
FIRMA DE LOS JURADOS



German Ricardo Gelvez Zambrano

Andres Fernando Barajas Solano

Alberto Sarmiento Castro



Va. Bo Coordinador Comité Curricular _____



**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE LOS AUTORES PARA
LA CONSULTA, LA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y LA
PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO**

Cúcuta,

Señores

BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS
Ciudad

Cordial saludo:

Nelly Yazmin Agudelo Rozo, María Camila Cely García, Angelica Dayana Mejía Morales, identificado(s) con la C.C. N° : 1090533017, 1090528697, 1090499814 autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado Técnicas para la obtención de nanocelulosa mediante hidrólisis ácida y enzimática utilizando como residuo agroindustrial el bagazo de caña de azúcar presentado y aprobado en el año 2021 como requisito para optar al título de Ingeniero Biotecnológico; autorizo(amos) a la biblioteca de la Universidad Francisco de Paula Santander, Eduardo Cote Lamus, para que con fines académicos, muestre a la comunidad en general a la producción intelectual de esta institución educativa, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo de grado en la página web de la Biblioteca Eduardo Cote Lamus y en las redes de información del país y el exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad Francisco de Paula Santander.
- Permita la consulta, la reproducción, a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato CD-ROM o digital desde Internet, Intranet etc.; y en general para cualquier formato conocido o por conocer.

Lo anterior, de conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la ley 1982 y el artículo 11 de la decisión andina 351 de 1993, que establece que **“los derechos morales del trabajo son propiedad de los autores”**, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Nelly Yazmin Agudelo Rozo
C.C: 1.090.533.017

Maria Camila Cely García
C.C: 1.090.528.697

Angelica Dayana Mejía Morales
C.C: 1.090.499.814

Agradecimientos

Primeramente, agradecer a Dios por permitirnos estar presentes en este proceso, por todas las bendiciones que nos brinda cada día y por tener una familia admirable que estuvo al pendiente de nosotras. Pero un trabajo de investigación es también fruto del reconocimiento y del apoyo vital que nos ofrecen las personas que nos estiman, sin el cual no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales.

Yo Nelly Agudelo, agradezco especialmente a mi madre Emilia Rozo que constantemente permaneció al pendiente de mí y me impulsó a seguir adelante. A mi padre Luis Agudelo por brindarme su apoyo en todo momento y a mi hermano Fernando Agudelo por siempre aconsejarme y ayudarme cuando lo necesitaba, teniendo en cuenta los valores que me inculcaron y a no rendirme ante nada, siempre luchar por mis sueños para lograr lo inalcanzable.

Yo Dayana Mejía, doy gracias a mi familia, a mis padres y a mis hermanas, porque con ellos compartí una infancia feliz, que guardo en el recuerdo y es un aliento para seguir escribiendo. Gracias a mis amigos, que siempre me han prestado un gran apoyo moral y humano, necesarios en los momentos difíciles de este trabajo y esta profesión. Pero, sobre todo, gracias a mi marido, por su paciencia, comprensión y solidaridad con este proyecto, por el tiempo que me han concedido, un tiempo robado a la historia familiar. Sin su apoyo este trabajo nunca se habría escrito y, por eso, este trabajo es también el suyo. A todos, muchas gracias.

Yo Camila Cely, quiero expresar mis profundos deseos de agradecimiento a mis pilares de formación, mis padres en especial a mi madre Teresa Garcia, que con su infinito amor y correcta disciplina inculcaron en mí las ganas de superarme, he aquí el resultado de ello, gracias Madre mejor regalo no pude tener, a mi novio Ricardo Gonzalez quien con su paciencia y amor siempre estuvo aconsejandome y animándome a seguir adelante, a mis compañeras de tesis, las cuales durante estos cinco años tuve la suerte de compartir su amistad y afecto, me llevo la satisfacción de haber formado una amistad.

Agradecer el apoyo y consejos de nuestros directores de proyecto, PhD. Edwin Murillo Ruiz y PhD. Laura Moreno Rozo. Gracias por guiarnos en este proceso, por su paciencia y tiempo dedicado cuando lo necesitábamos, fue muy grato haberlos conocido y siempre recordaremos lo aprendido.

Finalmente, a la Universidad Francisco de Paula Santander, a las autoridades y profesores de la Facultad de Ciencias Agrarias y del ambiente por brindarnos la oportunidad de formarmarnos académicamente.

Tabla de contenido

	Página
1. Introducción	15
1.1. Delimitación del Ejercicio de Investigación	18
1.2. Planteamiento del Problema	18
1.2.1. Formulación del Problema	21
1.3. Justificación	22
1.4. Objetivos	26
1.4.1. Objetivo General	26
1.4.2. Objetivos Específicos	26
2. Marco Referencial	27
2.1. Antecedentes	27
2.2. Marco teórico	32
2.2.1. La caña de azúcar como fuente de producción de celulosa	32
2.2.2. Propiedades fisicoquímicas de la celulosa	33
2.2.3. Técnicas empleadas para la obtención de nanocelulosa	35
2.2.3.1. Hidrólisis Acida	35
2.2.3.2. Aplicaciones	35
2.2.3.3. Hidrólisis enzimática	37
2.2.3.4. <i>Trichoderma reesei</i> como modelo de microorganismo productor de celulasas	39
2.2.3.5. Aplicaciones	40

2.3. Marco conceptual	42
3. Hipótesis	45
3.1. Hipótesis General	45
4. Capítulos y Subcapítulos del desarrollo del tema	46
4.1. Hidrólisis ácida	47
4.1.1. Diferentes Metodologías Consultadas	47
4.2. Caracterización	74
4.2.1. Propiedades estructurales	74
4.2.1.1. DRX	74
4.2.1.2. FTIR	81
4.2.2. Propiedades térmicas	87
4.2.2.1. TGA	87
4.2.3. Propiedades reológicas	95
4.2.4. Propiedades morfológicas	97
4.2.4.1. Morfología	97
4.2.5. Propiedades mecánicas	102
4.2.6. Rendimiento de celulosa	105
4.3. Hidrólisis enzimática	110
4.3.1. Diferentes metodologías encontradas	111
4.4. Caracterización	119
4.4.1. Propiedades estructurales	119
4.4.1.1. DRX	119
4.4.1.2. FTIR	121

4.4.2.	Propiedades térmicas	123
4.4.2.1.	TGA	123
4.4.3.	Propiedades mecánicas	125
4.4.4.	Problemática en la obtención	126
4.4.5.	Uso de microorganismos para la obtención	127
5.	Conclusiones	131
6.	Recomendaciones	134
	Referencias bibliográficas	135

Lista de tablas

Tabla 1. Rendimiento de celulosa obtenido por Rahimi, 2019	105
Tabla 2. Rendimiento de celulosa obtenido por García <i>et al.</i> , 2013	106
Tabla 3. Rendimiento de celulosa obtenido por Bastidas, 2016	106
Tabla 4. Enzimas de importancia para la hidrólisis enzimática	129

Lista de figuras

Figura 1. Estructura de la celulosa	34
Figura 2. Resultado DRX obtenido por Rahimi, 2019	74
Figura 3. Resultado DRX obtenido por Reshmy <i>et al.</i> , 2020	75
Figura 4. Resultado FTIR obtenido por Tien <i>et al.</i> , 2017	81
Figura 5. Resultado FTIR obtenido por López <i>et al.</i> , 2016	82
Figura 6. Resultado TGA obtenido por Tien <i>et al.</i> , 2017	87
Figura 7. Resultado TGA obtenido por Messa & Faez, 2020	87
Figura 8. Resultado Reología obtenido por Leão <i>et al.</i> , 2020	95
Figura 9. Resultado morfológico obtenido por Kardam <i>et al.</i> , 2017	97
Figura 10. Resultado morfológico obtenido por Slavutsky & Bertuzzi, 2014	98
Figura 11. Obtención de DRX por Pereira y Arantes, 2020	119
Figura 12. Obtención de DRX por Aguiar <i>et al.</i> , 2020	120
Figura 13. Obtención de FTIR por Oliveira <i>et al.</i> , 2020	121
Figura 14. Obtención de TGA por Pereira & Arantes, 2020	123
Figura 15. Resultado Prpiedades mecánicas obtenido por Liu <i>et al.</i> , 2020	125

Lista de ecuaciones

Ecuación 1. Porcentaje de Cristalinidad según Segal <i>et al.</i> , 1959	57
Ecuación 2. Porcentaje de Cristalinidad Relativa según Ciolacu <i>et al.</i> , 2010	63
Ecuación 3. Porcentaje de Cristalinidad según Park <i>et al.</i> , 2010	64
Ecuación 4. Digestibilidad de celulosa según Qi <i>et al.</i> , 2016	114
Ecuación 5. Digestibilidad del xylano según Qi <i>et al.</i> , 2016	114
Ecuación 6. Rendimiento de conversión de celulosa según Pereira & Arantes, 2020	116
Ecuación 7. Factor de conversión de celulosa a glucosa según Aguiar, 2020	118

1. Introducción

El bagazo de la caña de azúcar (BCA) es un residuo que se genera en altas proporciones en la industria azucarera y panelera, el cual contiene una cantidad apreciable de celulosa que puede ser separada de otras sustancias entre las cuales se encuentran principalmente la lignina y la hemicelulosa (Walford, 2008). Las fibras naturales han llamado mucho la atención de los investigadores porque son económicas, abundantes, biodegradables, renovables, fuertes y ligeras en peso (Ochica, 2015). Las fibras de celulosa son valiosas en una amplia gama de campos, como la filtración, industria polimérica y aplicaciones biomédicas (Awal., *et al.*, 2009). Llegada la nanotecnología, la celulosa se comenzó a estudiar a esta escala y muchos estudios se están realizando debido a sus características únicas, como la gran relación de superficie a volumen y buenas propiedades termomecánicas incluyendo alta resistencia a la tensión, alto módulo de Young y bajo coeficiente de expansión térmica (Nishino., *et al.*, 2004). Este presente estudio es un tipo de investigación descriptivo exploratorio, ya que permite emplear los desechos del bagazo de caña de azúcar obteniendo de allí un polímero de gran importancia a escala industrial, evaluando su potencial de biodegradabilidad química y enzimática en algunos tipos de plásticos, recientemente se han llevado a cabo numerosos métodos para obtener micro y nano celulosa a partir de materiales celulósicos, los métodos comúnmente utilizados son la hidrólisis enzimática y la hidrólisis ácida (ácido sulfúrico, H_2SO_4 o ácido clorhídrico, HCl). Dentro de los métodos mecánicos los más utilizados han sido; homogeneización a alta cizalladura, la molienda, homogenización a alta presión, microfluidización y sonicación (Khatri, Z., *et al.*, 2013).

Las necesidades cada vez más exigentes de los usuarios son los que llevan a la búsqueda y desarrollo de nuevas potencialidades en el mercado mundial, por lo que en los últimos años se le ha dado importancia al uso de fibras vegetales empleando la nanotecnología, y así reemplazar en algunas aplicaciones industriales las fibras sintéticas que en muchas ocasiones son grandes contaminantes (Grigoriou, 2000).

La celulosa es un polisacárido natural que consta de unidades de D-glucosa enlazadas por uniones de 1,4'- β -D glicosídicas, formando un polímero lineal que presenta un ordenamiento estructural en el que sus hidroxilos generan fuertes uniones intramoleculares adquiriendo propiedades cristalinas (Hepworth, 2000; Maya, 2008 citado de López *et al.*, 2016). Las materias primas fibrosas deben reunir determinados requisitos de índole técnica y económica. Entre los requisitos técnicos, los más importantes radican en la composición química del material, su reactividad frente a los agentes de pulpeo y sus propiedades anatómicas y morfológicas (Aguilar, 2007). El BCA, además de satisfacer dichos requerimientos se encuentra disponible en grandes cantidades concentradas en los ingenios azucareros; su manipulación, transporte y almacenamiento disminuyen los riesgos de inversión y lo hacen un material atractivo, en comparación con otras fuentes de materias primas lignocelulósicas. Por lo tanto, constituye un medio para aprovechar este importante desecho de la industria azucarera, ya que, por una tonelada de azúcar refinada, se producen dos toneladas de BCA, desecho agroindustrial susceptible de ser transformado (López *et al.*, 2016).

Debido a que en el departamento de Norte de Santander existen cultivos de caña de azúcar, donde el aprovechamiento del BCA es mínimo, por tal motivo este trabajo se enfocó en implementar nuevas alternativas de obtener materiales poliméricos biodegradables como la nanocelulosa, estudiando mecanismos idóneos para su obtención ya sea por medio de tratamientos químicos, mecánicos y enzimáticos, lo cual contribuirá a la obtención de materiales poliméricos a partir de fuentes naturales y con potencial de aplicación en la industria de empaques.

1.1. Delimitación del ejercicio de investigación

1.2. Planteamiento del problema

Los residuos agrícolas de los cultivos como el café, el cacao, el maíz, la papa, el pseudotallo de banano y el BCA, no son aprovechados en su totalidad por lo que ocasionan un impacto negativo que conlleva a una serie de problemáticas relacionadas con aspectos medioambientales (Alcivar, 2011, citado por Aroca & Estrada, 2015), ya que estos residuos son descartados o incinerados por los agricultores (Aroca & Estrada). Los polímeros no biodegradables presentan desventajas, ya que estos se convierten rápidamente en residuos debido a que cuentan con una vida útil relativamente pequeña en comparación a otro tipo de materiales. Estos a su vez poseen una alta resistencia a la degradación, lo que genera un problema ecológico de prioritaria importancia, ya que en la mayoría de los casos terminan siendo acumulados, arrojados a los ríos o mares o incinerados. Esto ha causado una gran contaminación ambiental y una gran preocupación de las autoridades gubernamentales de Colombia y el mundo.

Como ya se mencionó, las fibras naturales poseen la ventaja de ser biodegradables, lo cual ha aumentado el interés de estos materiales para ser utilizados en diversas aplicaciones o servir como materia prima para la preparación de materiales ambientalmente amigables, tal como ocurre con el BCA. Este material es un residuo abundante producido en la industria productora de azúcar y alcohol, en el caso de Colombia en la producción de panela, el BCA se utiliza principalmente como combustible para alimentar los molinos de azúcar, este proceso es muy

nocivo para el medio ambiente, ya que se producen gases de efecto invernadero y además se incrementa la huella del carbono, lo cual afecta el medio ambiente (Sun *et al.*, 2004, citado por Ochica, 2015). Varios procesos y productos se han reportado que utilizan BCA como materia prima. Estos incluyen la generación de electricidad, la producción de pulpa y papel, y productos a base de la fermentación (Pandey *et al.*, 2000 citado por Ochica).

La humanidad genera grandes volúmenes de residuos y crea uno de los mayores problemas del planeta. A partir de la década de los 70's surgieron nuevas normativas basadas principalmente en el reciclado y reutilización de los materiales (López *et al.*, 2016). Debido a esto, a nivel internacional como es el caso de México, el bagazo del tallo de la caña de azúcar es considerado como un residuo fibroso que se obtiene de la extracción del jugo y su producción mundial es de 234 millones de toneladas anuales, de las cuales solo el 50% es usado en los ingenios como combustible para las calderas (Liu *et al.*, 2008 citado por López *et al.*). Según lo anterior el uso principal de dichos residuos genera gran contaminación, pues la mayoría de los ingenios para alcanzar el poder calorífico que requiere la combustión incluyen en el proceso quema de combustóleo o llantas, lo que genera una mayor liberación de gases contaminantes como el bióxido de carbono afectando el medio ambiente (López *et al.*).

Por lo tanto, se busca emplear nuevas alternativas de sustitución de los polímeros no biodegradables por los biodegradables como es el caso de la nanocelulosa, para evitar o reducir el daño que se está causando al medio ambiente (Pulido *et al.*, 2016). A nivel nacional se encuentran problemáticas relacionadas con la fabricación y eliminación de las fibras sintéticas

tradicionales como se observó en un caso en Medellín, las cuales han sido empleadas para el reforzamiento de materiales termoplásticos (generalmente hechas de vidrio, carbono o fibras de aramida), generando bastantes problemas ambientales debido a su baja biodegradabilidad. Motivo por el cual se acentúa cada vez más el uso de fibras naturales biodegradables, las cuales presentan un bajo aporte de energía para su producción, baja densidad y una alta resistencia específica. (Cataño, 2009).

Por otro lado, en el departamento Norte de Santander existen diversos cultivos de caña de azúcar, donde el BCA no se está empleando a nivel industrial en la preparación de nanocelulosa y este material está siendo incinerado, ya que por una tonelada que se obtiene de azúcar refinada se producen dos toneladas de BCA, lo cual está causando un incremento de la contaminación por la producción de gases de efecto invernadero (López *et al.*, 2016). Además, Varios factores han afectado al sector productivo de la caña de azúcar en Norte de Santander, como lo es la falta de voluntad de los organismos oficiales para llevar a cabo un plan de recuperación inmediata del circuito productivo, la disminución de áreas sembradas debido a las deudas que tienen el Central Azucarero del Táchira (Cazta) con productores notesantandereanos, y la demora en la elaboración de un plan integral para buscar alternativas de comercialización de la materia prima (La opinión, 2015).

Estas problemáticas hacen que se estudien nuevas alternativas con el fin de mejorar su producción como lo es la reutilización del BCA que es descartado por los agricultores, de acuerdo a esto es importante emplearlos como una nueva entrada a la etapa de producción como

la obtención de materiales poliméricos biodegradables estudiando así su potencial de aplicación en las diversas industrias.

1.2.1. Formulación del problema

¿Cuáles son las técnicas que se han reportado para obtener nanocelulosa mediante hidrólisis ácida y enzimática a partir del bagazo de caña de azúcar?

¿Cuáles han sido los métodos más eficientes que se han reportado para la preparación de nanocelulosa?

1.3. Justificación

En la industria azucarera, las materias primas son sometidas a procesos de adecuación o transformación para darle valor agregado, mediante la implementación de operaciones unitarias para facilitar su consumo; generando una de las principales problemáticas ambientales en nuestro medio, la alta producción de residuos. En algunos casos estos residuos son tratados; hasta reducir el impacto negativo que su emisión, vertimiento o disposición pudiera generar; convirtiéndolos en un producto útil y de mayor valor agregado que solucione una problemática y genere ingresos económicos adicionales (Cury *et al.*, 2017).

En Colombia hay quince ingenios, que siembran aproximadamente 232,070 hectáreas en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) con una producción de 169,37 t/ha de caña (ASOCAÑA, 2015); cuyo destino es la producción de azúcar y alcohol carburante. Ingenios RIOPAILA-CASTILLA (2011), producen aproximadamente 1,056,618 t de BCA y 211,648 t de cachaza al año; por cada tonelada de tallos que ingresan al proceso de transformación agroindustrial, se generan 250 kg de BCA, 30 kg de cachaza, 6 kg de cenizas y 45 kg de melaza; además, por cada litro de alcohol anhidro producido a partir de la meladura se generan entre 13-15L de vinaza (Cuellar *et al.*, 2002 citado por Cury *et al.*, 2017).

Según la Política Nacional de Producción y Consumo Sostenible (CONPES, 2016), ha permitido identificar sectores estratégicos como lo es el sector agroindustrial el cual maneja diversidad de materias primas en especial el azúcar con un potencial alto de exportación y

optimización, de tal manera que se promueva el desarrollo de este sector para que tenga un mayor alcance en cuanto a su contribución a la sostenibilidad.

Debido a que la industria del plástico (no biodegradable) está en constante crecimiento y que la producción mundial de este material incrementó entre el 2015 y 2016 de 322 a 335 millones de toneladas en 2016, y en Europa de 58 a 60 millones de toneladas (PlasticsEurope, 2017), y que este es un material útil que se ha incorporado en la vida cotidiana, es necesario realizar la búsqueda de nuevas tecnologías que permitan obtener los polímeros de una fuente natural que no represente peligro para la biodiversidad del planeta y que sean biodegradables. Por lo tanto, surge la idea de buscar información sobre la extracción de la celulosa presente en el BCA para la elaboración de empaques que cumplan la misma función de los plásticos sintéticos, pero que sean biocompatibles con el medio ambiente y biodegradables, para que se reduzca el riesgo de alterar los ecosistemas y la afectación de la biodiversidad.

En un futuro las reservas de petróleo disminuirán y la producción de plástico no biodegradable se reducirá, por lo tanto, es importante buscar otras fuentes para obtener plásticos biodegradables a partir de fuentes renovables.

Por otra parte, de acuerdo a nuestra revisión de la literatura (Scopus, Web of Science, Elsevier, Springer, American Chemical Society, Taylor and Francis, researchgate, SAGE, etc.) hay muy pocos reportes en la literatura sobre estudios comparativos de los métodos reportados para la obtención de nanocelulosa por hidrólisis ácida y enzimática y las propiedades

estructurales, térmicas, reológicas, morfológicas y de biodegradabilidad de los materiales obtenidos. Por lo tanto, este estudio permitirá incrementar el estado del arte en este tópico.

La caña de azúcar se utiliza preferentemente para la producción de azúcar, adicionalmente se puede emplear como fuente de materias primas para una amplia gama de derivados, algunos de los cuales constituyen alternativas de sustitución de otros productos con impacto ecológico adverso (cemento, papel obtenido a partir de pulpa de madera, etc). Los residuos y subproductos de esta industria, especialmente los mostos de las destilerías contienen una gran cantidad de nutrientes orgánicos e inorgánicos que permiten su reciclaje en forma de abono, alimento animal, etc (Benavides, 2014).

En nuestra región y en nuestro país tenemos una alta dependencia científica y tecnológica, que ha limitado e impedido desarrollar la nuestra. No se ha implementado adecuadamente el conocimiento científico y no se ha adaptado para el desarrollo de nuestra región, ni existe una organización para el descubrimiento, adaptación, desarrollo y transferencia de esas tecnologías. Es por ello que se debe dar los pasos para encontrar nueva información de aplicaciones a los conocimientos básicos y desarrollarlos de manera interdisciplinaria para que los lapsos de tiempo entre el desarrollo del conocimiento y la aplicación de los mismos sean más cortos.

Teniendo en cuenta los buenos resultados que se han obtenido al implementar nanofibras de origen vegetal en aplicaciones industriales y la diversidad de las plantas no leñosas disponibles como productos secundarios en la agricultura de nuestro país, en este trabajo se busca indagar

sobre el aislamiento de nanofibras de celulosa a partir de residuos agroindustriales de la caña de azúcar, los cuales presentan altos contenidos de celulosa, 42.7%. En el caso de que se aprovechen materiales lignocelulósicos de origen residual se consigue un doble efecto: el beneficio ecológico, al eliminar una fuente de contaminación, y el factor económico, al proporcionarle un valor agregado al BCA (Espitia, 2010).

El proceso de búsqueda de información permitirá incrementar la experiencia en el manejo de base de datos de las estudiantes que participan en el mismo. Además, posiblemente se pueda incrementar el interés hacia este tipo de materiales, ya que la nanocelulosa puede ser usada como un reemplazante de polímeros derivados de fuentes petroquímicas, los cuales no son biodegradables y que continúan siendo empleados abundantemente en la fabricación de artículos a en Europa y Estados Unidos, pero que ha sido poco explorado en nuestro país.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Realizar un estudio comparativo de los métodos de la obtención de nanocelulosa mediante hidrólisis ácida y enzimática utilizando como residuo agroindustrial el BCA.

1.4.2. Objetivos específicos

Describir algunos de los métodos de hidrólisis ácida y enzimática empleados para la producción de la nanocelulosa a partir del BCA.

Comparar las propiedades estructurales, térmicas, reológicas morfológicas y mecánicas que han obtenido diversos autores.

2. Marco referencial

2.1. Antecedentes

Coelho, K., Cornelis, H., Milanese, C., Ornaghi, H. (2016). Brasil. Realizaron estudios acerca de: “Caracterización de una nueva fibra lignocelulósica de Brasil, *Imperata brasiliensis* (satintail brasileña) como fuente alternativa para la extracción de nanocelulosa” Esta investigación tuvo como objetivo determinar las propiedades químicas, físicas y térmicas de una nueva fibra lignocelulósica de Brasil (*Imperata brasiliensis*), la cual fue caracterizada por análisis de microscopia de barrido electrónico (SEM), composición química, difracción de rayos X (DRX), infrarrojo de transformadas de Fourier (FTIR) y análisis termogravimétrico (TGA). Se analizaron las fibras con el objetivo de comparar las propiedades con otras fibras lignocelulósicas utilizadas como fuente de extracción de nanocelulosa. El análisis de SEM demostró que el tamaño de las fibras fue entre 25 y 500 μm , mientras que una fibra única tuvo un diámetro de 5 μm . La composición química mostró la presencia de 37,7% de celulosa, 35% de hemicelulosa y 14,3% de lignina. Finalmente, fue posible concluir que las fibras obtenidas de *Imperata brasiliensis* son adecuadas para ser utilizadas como un recurso para la obtención de nanocelulosa, ya que presentaron casi las mismas propiedades de otras fibras lignocelulósicas reportadas.

Gaoxiang., Peng, F., Xiong, L., Xiaoqing, L., Chao, H., Hailong, L., Xuefan, C., Xinde, C. (2017). Cornell University Library en China, el cual se fundamentó en: “Extracción y caracterización de la cera del BCA y la hidrólisis enzimática del BCA desparafinado”. La extracción de productos de alto valor a partir de desechos agrícolas es un componente importante

para el desarrollo sostenible de la bioeconomía. En este estudio, la extracción de cera de la caña de azúcar se llevó a cabo a partir del BCA y se determinó el efecto beneficioso del tratamiento previo de desparafinado en donde se investigó la hidrólisis enzimática a partir de un coctel de enzima compuesto por Celulosa y Xilanasas. Se obtuvo un 1,2% (p/p) de cera de caña de azúcar cruda. El estudio mostró que la cera bruta de caña de azúcar consistía en fracciones grasas (ácidos grasos, aldehídos, hidrocarburos y ésteres) y una pequeña cantidad de derivados de lignina.

Pulido, E., Morales, B., Zamunido, M., Lugo, F. (2016). Realizaron un estudio relacionado con: “Obtención y caracterización de nanocelulosa a partir de tule (*Typha domingensis*)” En esta investigación, la celulosa fue aislada usando como fuente el Tule (*Typha domingensis*). Algunos componentes presentes en la celulosa inicial, como la lignina residual, hemicelulosa, ceras y otros compuestos fueron removidos usando una mezcla tolueno/etanol y después se realizó un proceso de blanqueamiento con hipoclorito de sodio (NaClO). Después, la suspensión fue diluida con agua desionizada para detener la reacción y la separación completa de las fibras de nanocelulosa fue obtenida por ultrasonificación. Las fibras de nanocelulosa fueron caracterizadas por análisis de DRX, FTIR y SEM.

Aroca, M., Estrada, P. (2015). Realizaron un trabajo titulado: “Estudio comparativo de la celulosa obtenida a partir del pseudotallo de banano con la obtenida de BCA, empleando la misma metodología” Este proyecto analizó las condiciones de hidrólisis ácida – básica para extraer la mayor cantidad de celulosa del pseudotallo de banano y de BCA, mediante un

tratamiento previo a la hidrólisis, con hidróxido de sodio (NaOH) para disminuir el contenido de lignina en sus fibras. Una vez realizada la experimentación se llevó a cabo la caracterización química de las muestras de celulosa, utilizando la técnica de FTIR, lo que permitió comprobar que la celulosa extraída del pseudotallo de banano tiene mayor semejanza a la celulosa patrón que la obtenida a partir del BCA.

Romero, P., Marfisi, S., Oliveros, P., Rojas, B., Peña, G. (2014). De la Universidad de Oriente en Barcelona, Venezuela, El cual tuvo como finalidad: “Obtención de celulosa microcristalina utilizando como fuente los desechos agrícolas del cambur (*Musa sapientum*). Se estudió la obtención de celulosa microcristalina a partir del pseudotallo y pinzote de la planta de cambur (*Musa sapientum*), empleando un procedimiento experimental que consistió en varias etapas: a) Preacondicionamiento de las fibras del pseudotallo y pinzote; b) Extracción soxhlet con tolueno-etanol, c) Lavado con agua caliente; d) Tratamiento con solución ácida de ácido acético (CH_3COOH) al 80% m/m y con ácido nítrico (HNO_3) al 65% p/p a 110 y 120°C; e) Tratamiento con solución alcalina (NaOH e hidróxido de potasio (KOH) al 10 y 20% p/p), f) Lavado, filtrado y secado; g) Molienda y tamizado. Las muestras obtenidas se caracterizaron mediante análisis de SEM, espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS) y FTIR. En las micrografías se observaron partículas fibrosas de forma irregular, semejantes a la morfología de la celulosa comercial Avicel utilizada como referencia. En el análisis EDS se identificaron los elementos Na, Zn y K en mayor proporción, seguido de los elementos P y S. Los espectros FTIR no reflejaron picos de absorción correspondientes a la lignina cuando la microcelulosa provenía del pseudotallo tratado a 110°C en medio ácido, igualmente para el pinzote a 120°C.

Luciano, M., Goncalvez, F., Rau, M., Silva, L., Souza, L., Ferreira, E., Adreaus, J. (2014). Universidad Regional de Blumenau, (Brasil). Investigaron sobre: “Hidrólisis del BCA con preparaciones enzimáticas de *Acrophialophora nainiana* cultivadas en diferentes fuentes de carbono”. El hongo filamentoso *Acrophialophora nainiana*, aislado de una fuente termal en Brasil, se cultivó en cultivo líquido en diferentes fuentes de carbono celulósicas y lignocelulósicas durante siete días y los extractos de enzimas se caracterizaron con respecto a su perfil de actividad de carbohidrasa. Los extractos de enzimas obtenidos del cultivo de *Acrophialophora nainiana* en celulosa, residuos de algodón, BCA y tallo de banano se usaron en la hidrólisis de BCA sin tratar, pretratado con explosión de vapor y con ácido dinitrobenzoico (DNS) explosión de vapor catalizada. El perfil de actividad de carbohidrasa de las preparaciones enzimáticas varió significativamente con la fuente de carbono utilizada.

Ferrer, Y., Rodriguez, M., Alvarez, M., Dustet, J., Duque, A., Ibañez, M., Tortoló, K. (2011). Los cuales llevaron a cabo estudios realizados en el instituto Cubano de Investigaciones sobre los derivados de la caña de azúcar acerca de: “Selección de hongos aislados de BCA con actividad sobre celulosa cristalina para posibles aplicaciones industriales”. A partir del bagazo, se aislaron varios hongos filamentosos con capacidad de degradación de la celulosa cristalina, para ello se diseñó un medio selectivo de celulosa agar. Del total de aislados, solo 9 microorganismos mostraron un halo definido de degradación de celulosa. Se determinó el coeficiente de degradación de celulosa cristalina a través de la medición del halo formado por las colonias, y se pre-seleccionaron 5 aislados. Posteriormente, se eligieron los tres mejores productores del complejo celulasa mediante una fermentación sumergida por determinación de la actividad sobre

papel filtro. Se realizó una fermentación en estado sólido sobre bagazo pretratado para aumentar la actividad celulasa.

Ochica, A. (2015). Estudios realizados en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia en Tunja fueron basados acerca de: “obtención de nanofibras de celulosa catiónica a partir del BCA y teñidas con colorante reactivo aniónico para la aplicación textil”. La finalidad este estudio fue conocer los parámetros de metodología idóneos en el electrohilado para obtener nanofibras de celulosa más delgadas y con menos defectos.

Espitia, H. (2010). Realizó estudios en la Universidad Nacional de Colombia sobre: “aislamiento de nanofibras de celulosa a partir de residuos agroindustriales de fique y caña de azúcar, con potencial aplicación en reforzamiento de polímeros termoplásticos” En este trabajo se aislaron nanofibras de celulosa de los residuos agroindustriales del fique y la caña de azúcar de diámetros entre 25 y 60 nm. En este estudio se realizaron tratamientos químicos con oxidante fuerte clorito de sodio (NaClO_2) a pH controlado. Además, se caracterizaron la estructura, morfología y propiedades térmicas de las nanofibras obtenidas mediante técnicas espectroscópicas, microscópicas y termogravimétricas. Las nanofibras de celulosa preparadas a partir del BCA se emplearon en la síntesis de un material compuesto, usándolas como material de refuerzo en matrices poliméricas de polietileno de alta densidad (PEAD) y polipropileno (PP), mediante técnicas por fundido y polimerización *in situ* con catalizadores metalocénicos.

Cataño, E. (2009). Realizó investigaciones en la Universidad Nacional de Colombia sobre: “obtención y caracterización de nanofibras de celulosa a partir de desechos agroindustriales”. En el presente trabajo se aislaron y caracterizaron fibras de celulosa a partir del BCA por medio de tratamientos químicos y mecánicos aplicados sobre dicho residuo agroindustrial. En primer lugar, se llevó a cabo una hidrólisis ácida con una solución de $\text{CH}_3\text{COOH-HNO}_3$ donde se removió gran parte de la lignina y hemicelulosa presente en la muestra, y posteriormente se realizó un tratamiento alcalino con NaOH que permitió obtener la celulosa.

2.2. Marco teórico

2.2.1. La caña de azúcar como fuente de producción de celulosa

La caña de azúcar es un cultivo de zonas tropicales o subtropicales del mundo. Requiere agua y suelos adecuados para crecer bien. Es una planta que asimila muy bien la radiación solar, teniendo una eficiencia cercana a 2% de conversión de la energía incidente en biomasa. Un cultivo eficiente puede producir 100 a 150 toneladas de caña por hectárea por año (con 14 a 17% de sacarosa, 14 a 16% de fibra y 2% de otros productos solubles) (Asocaña, 2017).

La producción mundial de caña de azúcar en 2005 fue de 1,267 millones de toneladas, siendo el principal productor Brasil con 34 % de la producción mundial, India 18 %, China 7 %, Pakistán 4 %, México 4 %, Tailandia 3%, Colombia 3%, otros países representan el 27% (Uribe *et al.*, 2008).

Las fibras vegetales, obtenidas de diferentes desechos agroindustriales, son consideradas como compuestos de origen natural. Los elementos fibrosos de la pared de la célula vegetal incluyen componentes como la celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa representa alrededor de un tercio de la composición y es biosintetizada en el proceso de la fotosíntesis del vegetal, produciéndose gran cantidad de celulosa en el mundo. El BCA, además de satisfacer dichos requerimientos, se encuentra disponible en grandes cantidades concentradas en los ingenios azucareros. Su manipulación, transporte y almacenamiento disminuyen los riesgos de inversión y lo hacen un material atractivo, en comparación con otras fuentes de materia prima lignocelulósicas, constituyendo un desecho importante de la industria azucarera que puede ser aprovechado, ya que por cada tonelada de azúcar refinada se producen dos de BCA (López *et al.*, 2016).

2.2.2. Propiedades fisicoquímicas de la celulosa

La celulosa está constituida por una larga cadena de carbohidratos polisacáridos. La estructura de la celulosa se forma por la unión de moléculas de β -glucosa a través de enlaces β -1,4-glucosídico, lo que hace que sea insoluble en agua. La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa, en la que se establecen múltiples enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas muy resistentes e insolubles al agua. De esta manera, se originan fibras compactas que constituyen la pared celular de las células vegetales, dándoles así la rigidez necesaria (Estrada, 2017).

“La celulosa está constituida por unidades repetitivas de glucosa de tipo D, con enlaces 1-4 piranósido, (figura 1) pudiendo establecerse enlaces de hidrógeno en las posiciones 1 y 6 y aumentar así la resistencia” (Takahashi et al., 1991 citado por Espitia, 2010). Las cadenas lineales se polimerizan formando fibrillas, y éstas a su vez se polimerizan en microfibrillas (que se orientan en función del citoesqueleto) hasta dar una estructura rígida y cristalina. A pesar de tener muchos hidroxilos libres, la celulosa es poco soluble en agua y prácticamente insoluble en la mayoría de los disolventes polares debido a que estos grupos no se hidratan por estar actuando entre sí (Maya, 2008 citado por Espitia, 2010).

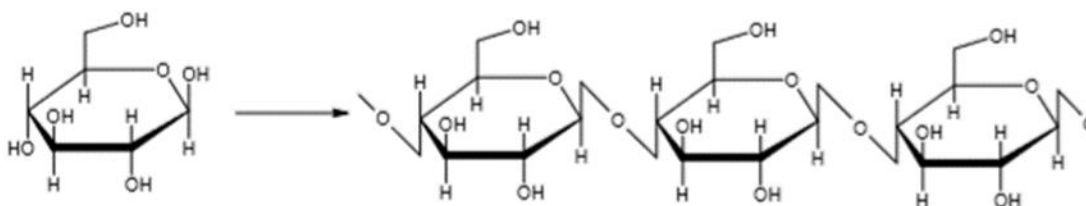


Figura 1. Estructura de la celulosa (Fuente: Espitia, 2010).

2.2.2. Técnicas empleadas para la obtención de Nanocelulosa

2.2.2.1. Hidrólisis Ácida

Método utilizado tradicionalmente para la producción de nanocelulosa cristalina (CNC) se basa en la hidrólisis ácida de la pasta de celulosa con un ácido fuerte. La naturaleza fuertemente empaquetada de la celulosa disminuye la accesibilidad de las regiones cristalinas, haciéndolos más resistentes al ataque ácido, así que las regiones menos organizadas de la celulosa son preferiblemente hidrolizadas (amorfo). Por lo tanto, los nanocristales son partículas constituidas por las regiones cristalinas de la celulosa, en forma de barras cilíndricas, que a menudo tienen diámetros más pequeños que 10 nm (Pereira & Arantes, 2018).

2.2.2.1.1. Aplicaciones

El BCA constituye el mayor residuo generado en el procesamiento agroindustrial de la caña para la obtención de azúcar. Este desecho suele ser quemado provocando graves consecuencias medioambientales producidas por los altos niveles de dióxido de carbono que genera su combustión; así como también puede llegar afectar a la salud humana cuando existen núcleos de elaboración cercanos a las zonas de producción (Castells, 2012).

Hoy en día, el desarrollo tecnológico acelerado y el crecimiento demográfico descontrolado generan alteraciones en el equilibrio del medio ambiente producido por el inadecuado manejo de desechos, como es el caso de la industria azucarera que existe una elevada cantidad de BCA que es desechado o utilizado como fuente de producción de energía, y al uso excesivo de materiales no biodegradables que generan como consecuencia problemas medioambientales y de salud (Bastidas, 2016).

La celulosa microcristalina se utiliza como terapéutico para la absorción de los ácidos biliares en las heces fecales de los pacientes con cáncer de colon y pólipos adenomatosos y a nivel de jugo gástrico, en los casos de gastritis alcalina por reflujo duodenogástrico (se caracteriza por la inflamación de la mucosa acompañada, o no, de alteraciones de la arquitectura glandular) (García *et al.*, 2013). Estudios toxicológicos recientes indican el efecto antiulceroso de celulosa microcristalina en suspensión al 12 % en ratas (Barzaga *et al.*, 2004).

Por otra parte, la celulosa cristalina se utiliza como excipiente en las industrias farmacéuticas cuya función es actuar como agente de compactación y desintegración en el tableteo farmacéutico, es utilizado en cápsulas, como portador de color y el sabor (Morán, 2008). Las diversas propiedades que presenta la microcelulosa cristalina la hacen útil en la manufactura de comprimidos y cápsulas orales, donde se utiliza tanto en la granulación húmeda como en compresión directa. Es posiblemente el diluyente más usado para compresión directa, a pesar de que puede retrasar la liberación de principios activos poco solubles y disminuir la dureza de los comprimidos expuestos a ambientes húmedos. Actúa como adsorbente, antiadherente, y

lubrificante (Acofarma Distribuidución, S.A, 2010). En el área farmacéutica también se emplea en la fabricación de cremas y suspensiones sólidas, así como para cosméticos y detergentes (Aroca *et al.*, 2015).

Cabe resaltar que la microcelulosa cristalina debido a sus propiedades también es usada en la industria alimentaria, destacándose como estabilizador en la preparación de helados, sustitución de harinas y azúcar en alimentos de baja calorías, y como aditivo de quesos amarillos, queso crema y yogurt (Morán, 2008).

El BCA, para la mayoría de los países tropicales, es uno de los principales materiales lignocelulósicos utilizados para la bioconversión en etanol, ya que estos materiales tienen una alta concentración de carbohidratos, bajo contenido relativo de lignina, fácil uso, bajo costo de cosecha, transporte y almacenamiento (Pandey *et al.*, 2000).

2.2.2.2. Hidrólisis Enzimática

La hidrólisis enzimática de la celulosa implica la acción secuencial de un grupo de enzimas, conocidas como celulasas, que pertenecen a la familia de las glicosil hidrolasas, llamadas así porque catalizan la hidrólisis del enlace glucosídico entre 2 o más hidratos de carbono o entre estos y una fracción que no sea un hidrato de carbono. Las glicosil hidrolasas han sido clasificadas en más de 100 familias, y cada una de estas (familia GH) contiene proteínas que están relacionadas por su secuencia, su estructura y, en consecuencia, por su mecanismo

catalítico. La arquitectura general deducida para estas enzimas presenta 2 módulos globulares independientes: un dominio catalítico, responsable de la reacción de hidrólisis per se, y un módulo de unión a la celulosa, que desempeña 3 funciones generales: la primera es mantener la enzima próxima al sustrato, la segunda es una función de reconocimiento, y, por último, una función disruptiva (Gutiérrez *et al.*, 2014).

El método enzimático para obtener CNC es una alternativa atractiva a la hidrólisis ácida tradicional, ya que es capaz de reducir los impactos ambientales tales como la alta demanda de agua, y la generación de residuos químicos (Brinchi *et al.*, 2013; Filson *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2011 citado por Pereira & Arantes, 2018); además es un proceso integrado para obtener bioproductos. Los nanocristales producidos de la hidrólisis enzimática requieren tratamiento mecánico por sonicación para la dispersión de las partículas. Los nanocristales formados por la hidrólisis enzimática de las regiones amorfas no están cargados negativamente, lo que disminuye la estabilidad de la suspensión (Pereira & Arantes, 2018).

La hidrólisis enzimática de biomasa con celulasas y otras enzimas para la producción de carbohidratos, es una alternativa viable con la cual se utilizan condiciones de reacción a bajas temperaturas y presiones normales de operación, que pueden no solo economizar energía debido a las condiciones suaves a la que es llevada a cabo, sino que también evita la utilización de sustancias tóxicas y corrosivas, comparándola con la hidrólisis ácida tradicional (Xu *et al.*, citado por Suesca, 2012). Los enzimas utilizados en este proceso son obtenidos de microorganismos con la habilidad de degradar macromoléculas como la celulosa. Uno de los microorganismos

productores es *Trichoderma*, el cual contiene un sistema enzimático con tres clases de enzimas, las cuales actúan sinérgicamente para degradar la celulosa a glucosa (Reczey, *et al.*, citado por Suesca, 2012) y actualmente es utilizado en otros países para la producción industrial de enzimas.

En los suelos colombianos existe una amplia variedad de microorganismos susceptibles de ser utilizados en procesos biotecnológicos como es el caso de *T. asperellum*, la cual es la cepa de *Trichoderma* más predominante en la región de Suramérica y Centro América (Hoyos L. *et al.*, citado por Suesca, 2012), y su utilización en procesos investigativos, realizaría un aporte al conocimiento de nuestra diversidad local.

2.2.2.2.1. *Trichoderma reesei* como modelo de microorganismo productor de celulasas

T. reesei (anamorfo de *Hypocrea jecorina*) ha sido el modelo de microorganismo celulolítico por excelencia. Fue aislado en las islas Salomón durante la Segunda Guerra Mundial como el agente causal de la infección masiva del material a base de algodón del ejército de los Estados Unidos. Inicialmente fue identificado como *Trichoderma viride*, codificado como QM6a y conservado en el Centro de Investigación y Desarrollo del Ejército de los Estados Unidos en Natick, Massachusetts. Su potencial como productor de celulasas fue reconocido por Mandels y Reese en 1957, más tarde fue clasificado como una nueva especie y renombrado como *T. reesei* en honor al investigador del laboratorio de Natick, Elwyn T. Reese. Desde entonces, este microorganismo ha sido objeto de numerosas investigaciones (Gutiérrez *et al.*, 2014).

2.2.2.2.2. Aplicaciones

Michelena, *et al.*, (2009) estudiaron el uso de complejo enzimático celulolítico Econasa-CE para la hidrólisis de la celulosa microcristalina y el BCA para la producción de etanol, encontrando resultados aceptables a dosis de 1/90 de enzima y 30°C para un proceso de 16h y trabajaron en dos ciclos de reuso de la enzima y se obtuvo un rendimiento de 9 mL de enzima (1:90) /kg de bagazo.

Albarellia *et al.*, 2016 en el proceso de producción de nanocelulosa lo dividieron en etapas de centrifugación por hidrólisis ácida, diálisis, sonicación y secado. En el proceso de hidrólisis ácida, el material residual de hidrólisis enzimática lo llevaron a hidrolizar a 45°C durante 30min con agitación vigorosa y constante en una solución acuosa de 20mL de H₂SO₄ (concentración 64%) por gramo de materia prima tratada. El rendimiento de este proceso fue del 65% del peso de la materia prima tratada introducida en este proceso (Dos Santos *et al.*, 2013). En esta investigación se basaron en 3 variables tales como: Aspectos económicos, ambientales y energéticos en donde tuvieron resultados en la implementación del proceso de producción de nanocelulosa como parte del proceso de producción de etanol en una biorrefinería de caña de azúcar, lo cual demostró ser muy prometedor en términos de aspectos económicos, energéticos y ambientales. Al considerar un proceso de fraccionamiento de biomasa lignocelulósica basado en fluidos supercríticos, como la explosión de CO₂ supercrítico y el fraccionamiento de organosolventes de CO₂ supercrítico, colocado dentro de una instalación de fermentación, cabe

señalar que uno de los beneficios del reciclado del CO₂ producido como subproducto durante la fermentación, reduce las emisiones globales de CO₂, convirtiendo estos procesos en diseños muy prometedores en cuanto a aspectos medioambientales. Como se demostró en este estudio, la explosión de CO₂ supercrítico presentó parámetros económicos intermedios y prometedores, por lo cual se consideró investigar este método más a fondo.

Según búsquedas bibliográficas realizadas por Farinas *et al.*, 2018 La conversión enzimática de los polisacáridos presentes en la biomasa lignocelulósica de la caña de azúcar será sin duda una tecnología clave para la implementación de futuras biorrefinerías de caña de azúcar y para el desarrollo de este importante sector agroindustrial. Una de las opiniones relacionadas con los desafíos tecnológicos actuales en la etapa de hidrólisis enzimática y desarrollos en términos de estrategias de configuración de procesos para la conversión de la biomasa de la caña de azúcar se ha presentado en la producción integrada de etanol, enzimas y nanocelulosa y la sugieren como una posible estrategia para la implementación de las futuras biorrefinerías de caña de azúcar.

2.3. Marco conceptual

- **Bagazo:** Es un material fibroso, heterogéneo en cuanto a su composición granulométrica y estructural, que presenta relativamente baja densidad y un alto contenido de humedad, en las condiciones en que se obtiene del proceso de molienda de la caña (García, 2007).
- **Caña de azúcar:** La caña de azúcar (*Saccharum officinarum L*) es una gramínea tropical, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado forma el azúcar. La sacarosa es sintetizada por la caña gracias a la energía tomada del sol durante la fotosíntesis (Perafan, 2009).
- **Enzimas:** Los enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos. Los enzimas son catalizadores, es decir, sustancias que, sin consumirse en una reacción, aumentan notablemente su velocidad. Ello hace posible que en condiciones fisiológicas tengan lugar reacciones que sin catalizador requerirían condiciones extremas de presión, temperatura o pH (Gonzales, 2016).
- **Hidrólisis:** Se conoce como hidrólisis a una reacción química determinada, en la que moléculas de agua se dividen en sus átomos componentes (H_2O : hidrógeno y oxígeno) y forman uniones distintas con alguna otra sustancia involucrada, alterándola en

el proceso. Es lo que ocurre, en otras palabras, cuando el agua es usada como disolvente (Vázquez, 2018).

- **Celulosa:** La celulosa es un polímero natural que tiene como estructura base los enlaces 1,4- β glucosídicos. Tiene una estructura semicristalina que puede variar dependiendo del tipo de fuente de la cual es aislada (Guardner *et al.*, 2010).

La celulosa es el biopolímero más abundante en el planeta; su producción se estima en más de 100,000 millones de toneladas por año (Espino, Cakir, Domenek, Román Gutiérrez, Belgacem y Bras, 2014). Es un polisacárido, una fibra insoluble en agua compuesta de miles de unidades de glucosa; prácticamente todas las plantas terrestres poseen celulosa y nanocelulosa en diferentes proporciones (Chávez, 2018).

- **Lignina:** La lignina es uno de los biopolímeros más abundantes en las plantas y junto con la celulosa y la hemicelulosa conforma la pared celular de las mismas en una disposición regulada a nivel nano-estructural, dando como resultado redes de lignina-hidratos de carbono. La composición o distribución de los tres componentes en esas redes varía dependiendo del tipo de planta. En el caso de la composición de la madera, los rangos más comúnmente encontrados son: Celulosa: 38-50%; Hemicelulosa: 23-32% y Lignina: 15-25% (Sustainable Forestry for Bioenergy & Bio-based Products, 2007).

- **Fibras naturales:** Las fibras naturales son sustancias muy alargadas producidas por plantas y animales, que se pueden hilar para obtener hebras, hilos o cordelería; en tejidos, en géneros de punto, en esteras o unidas, forman telas esenciales para la sociedad (Villegas *et al.*, 2013).

- **Biodegradable:** Es la capacidad que tienen algunos productos o sustancias de descomponerse en elementos químicos naturales en un período de tiempo relativamente corto y por acción de organismos vivos (bacterias, microorganismos, hongos, gusanos, insectos, etc.) que las utilizan para producir energía y crear otras sustancias como aminoácidos, nuevos tejidos o nuevos organismos. La biodegradación puede ocurrir de forma aeróbica (con oxígeno, al aire libre) o de forma anaeróbica (sin oxígeno, algo enterrado, por ejemplo). El término cobra mucha importancia en el manejo de desechos, y más que nada cuando se habla de plásticos, ya que estos tardan cientos de años en ser descompuestos (Sánchez, 2010).

3. Hipótesis

3.1. Hipótesis General

Este estudio permitirá evaluar comparativamente los métodos de hidrólisis ácida y enzimática empleados en la preparación de nanocelulosa y las propiedades estructurales, térmicas, reológicas morfológicas y mecánicas.

4. Capítulos y subcapítulos del desarrollo del tema

La metodología empleada en este trabajo inicio a partir de la selección de las fuentes y bases de datos para la recolección de la información, en donde se determinaron los criterios para la búsqueda de la información bibliográfica y obtener la información necesaria y confiable acerca de las técnicas usadas para la obtención de nanocelulosa, mediante la hidrólisis ácida y enzimática. Los criterios que se establecieron fueron: fuentes de información como bases de datos Scielo, Scopus, Proquest, Web of Science, Science Direct, Google scholar, Medline; búsqueda de los últimos 10 años; los descriptores o palabras claves fueron BCA, nanocelulosa, hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática, residuos agroindustriales; los tipos de documentos recolectados fueron artículos científicos publicados en revistas indexadas o con declaración de revisión por expertos, tesis y trabajos de grado de universidades e instituciones reconocidas con declaración de revisión por expertos, y páginas de organizaciones gubernamentales y no gubernamentales de reconocida trayectoria. Posteriormente se realizo la selección de la información relevante e importante de acuerdo a la problemática sobre los residuos agroindustriales como lo es el BCA y su uso para la obtención de nanocelulosa teniendo en cuenta los siguientes apartados: hidrólisis ácida de acuerdo a los diferentes parámetros como propiedades estructurales, térmicas, reológicas, morfológicas y mecánicas y, para hidrólisis enzimática fueron propiedades estructurales, térmicas, mecánicas, problemática y uso de microorganismos para la obtención. Por ultimo se organizó y analizó la información de cada escrito destacando sus semejanzas y diferencias en la metodología y características propias para cada hidrólisis en los estudios consultado

4.1. Hidrólisis Ácida

4.1.1. Diferentes Metodologías Consultadas

Según Messa & Faez, 2020, en su estudio realizado inicio con el pretratamiento del BCA lavando con agua caliente para eliminar las impurezas, secado a 50°C en un horno y se molienda. Luego se realizó el aislamiento de celulosa de BCA, donde se tomó 30g del BCA molido y se sometió a un tratamiento con álcali utilizando NaOH al 4% a 70°C durante 5 min. Este paso se repitió dos veces, luego se filtró y se lavó con agua hasta que el pH fue neutro. Este sólido se dispersó en un vaso de precipitado que contenía 200mL de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 4% y su pH se ajustó con NaOH hasta aproximadamente 11,5, durante 6h a 45°C. Posteriormente, para la deslignificación se llevó a cabo con $NaClO_2$, seguido del tratamiento con NaOH. Luego el polvo de BCA (10g) se oxidó usando 1,4% de clorito de sodio ($NaClO_2$) (300mL) con pH ajustado a 3,5 agregando CH_3COOH durante 5h a 70°C. El BCA deslignificado se filtró y se lavó con agua hasta que el pH fue neutro. Finalmente, se obtuvo celulosa tratando la holocelulosa con NaOH al 4% durante 5min. a 70°C, y luego el sólido obtenido se filtró, se lavó y se secó. Seguidamente la celulignina y la celulosa extraída del BCA se hidrolizaron con H_2SO_4 (65% en peso) y la concentración ácido-celulosa fue de 40mL/g. La hidrólisis sulfúrica se realizó durante 2h a 50°C con agitación y se detuvo añadiendo un exceso de agua fría a la reacción. El precipitado se centrifugó 4 veces a 7000rpm durante 15min para eliminar el exceso de ácido y cualquier celulosa disuelta, y luego se dializó contra agua hasta que el pH fue neutro.

Finalmente, las suspensiones de nanocelulosa se homogeneizaron durante 5 min y se almacenaron.

De acuerdo con la investigación realizada por Slavutsky & Bertuzzi, 2014, comenzó con la preparación de fibras de celulosa (CF), las cuales se obtuvieron por hidrólisis alcalina. Se hidrolizaron 10g de BCA con 100mL de NaOH (6%) a 60°C durante 4h. A continuación, las fibras se filtraron para eliminar el exceso de NaOH y se lavaron con agua destilada. El proceso de blanqueo consistió en la introducción del material en un matraz que contenía 200mL de NaClO₂ (30%) y su agitación durante 24h a temperatura ambiente. Después de eso, las fibras se filtraron y lavaron con agua destilada hasta pH neutro. Las fibras de celulosa se secaron a 50°C hasta peso constante. Seguidamente realizaron el proceso de hidrólisis ácida, donde se dispersaron aproximadamente 10g de fibras en 200mL de H₂SO₄ (64%) en un matraz con agitación mecánica. La hidrólisis se realizó a 40°C con agitación durante 3h. El exceso de H₂SO₄ se eliminó mediante centrifugación a 800rpm durante 10min. Luego, la suspensión se dializó contra agua destilada usando una membrana de celulosa hasta que el pH alcanzó 6-7. La suspensión resultante se introdujo en un baño ultrasónico durante 1h y se almacenó. Por otra parte, realizaron la preparación de la película, en la cual la solución formadora de película se preparó mezclando almidón (4%), glicerol (20%), agua y una suspensión de CNC para obtener una concentración de CNC del 3% peso en seco. La dispersión resultante se mantuvo 60min en un baño ultrasónico. Las dispersiones se gelatinizaron en un baño de agua con agitación a 78-80°C por 10min. La dispersión resultante, se vertió sobre placas de poliestireno. Luego, se colocaron en un horno de circulación de aire a 35°C y 53% de Humedad Relativa (HR) durante 15h. Después de eso, se sacaron las placas del horno y se despegaron las películas.

Las materias primas que se utilizaron en la investigación de Aroca & Estrada, 2015, fueron BCA y pseudotallo de banano, estas fueron lavadas para eliminar polvos o residuos, luego se procedió al secado que se efectuó al ambiente por un mes. Seguidamente se realizó una extracción Soxhlet con alcohol al 72%, con el propósito de eliminar los extractivos que pueden interferir en el proceso de acondicionamiento. Se realizó un proceso de hidrólisis con H_2SO_4 hasta pH 2. Se realizó el proceso de lavado con agua hasta que el filtrado alcanzó un pH 7. Se decantó el agua y se alcalinizó con NaOH que se dio en proporción de materia seca entre 2 y 2.5%. Después, al sedimento se le realizó una preservación y acondicionamiento del medio con NaOCl al 3,5%, esta suspensión fue sometida a un proceso de agitación magnética a 90°C durante 2h. Después de este paso, se realizó una hidrólisis alcalina, se filtró y se lavó nuevamente con agua hasta pH de 7 y se dejó secar a temperatura ambiente. El material que se obtuvo se procedió a blanqueo utilizando solución de NaOCl al 0.5% el cual se sometió a calentamiento a 70°C por 3h con agitación magnética constante, hasta que se obtuvo un filtrado incoloro. El sólido obtenido se secó en estufa a 40°C durante 24 h. Luego se pesó para calcular rendimiento.

La metodología propuesta por García *et al.*, 2013, dio inicio con el aislamiento de la celulosa, la cual se purificó utilizando la tecnología de la UIP CUBA 9 usando bagazo integral, este fue remojado durante 24h y desmenuzado para una eficiente preparación de fibras de BCA, en suspensión. Posteriormente, se realizó la prehidrólisis a 2Kg de bagazo desmenuzado en fase acuosa en un digestor rotatorio, con calentamiento a una temperatura de 170°C durante 45min y un hidromódulo que se define como el índice técnico-económico más importante en un sistema de riego, ya que determina la capacidad máxima posible del riego de la fuente, y se usó una relación de 1:7. El producto se lavó hasta neutralidad con agua tratada y posteriormente fue

sometido a un proceso de cocción con soda, utilizando un 16% de óxido de sodio (Na_2O) sobre pulpa, en el mismo digestor utilizado a una temperatura de 160°C por 45min e hidromódulo de 1:6. Luego, la pulpa cruda se lavó hasta neutralidad con agua destilada y se depuró en un clasificador. Seguidamente, la pulpa es blanqueada utilizando el esquema dióxido, extracción, dióxido (DED), que se describe en el Manual la Industria de los Derivados de la Caña de Azúcar (Fernández et al., 1986 citado por García et al., 2013). En un reactor esmaltado de 132L de capacidad, la pulpa de elevada pureza de bagazo blanqueada se somete a la acción del HCl para su proceso de hidrólisis a temperatura de 100°C y agitación esporádica durante 60min. La suspensión de celulosa microcristalina obtenida se centrifugó y se lavó con agua desionizada hasta pH neutro y libre de cloruros. La masa húmeda se secó entre $55\text{-}60^\circ\text{C}$. Finalmente, el producto se molió y envasó.

Según Ross *et al.*, 2017, su proceso empezó con la paja de caña seca y picada (5Kg) la cual fue colocada en un tanque de pretratamiento en 100L de solución de NaOH al 10% durante dos días. Al segundo día se procedió a lavar la fibra con agua corriente hasta obtener un pH neutro. Al finalizar los lavados la fibra se secó a temperatura ambiente y a la sombra durante dos días. Posteriormente, se procedió a hacer un prototipo de recipiente con fibra pretratada, húmeda y pH neutro, utilizando un molde de plástico y prensándolo con un peso de cemento de 800g, dejando el prototipo en la cámara de secado a 60°C durante 48h. Una vez se secó la fibra pretratada se colocó dentro de un reactor de 50L que contenía una solución de H_2SO_4 al 0.4%, con el fin de remover las regiones amorfas de la celulosa. Posteriormente, la mezcla se sometió a ebullición durante una hora. Transcurrido el tiempo se procedió a lavar la fibra hasta obtener un pH de 7.0. La fibra obtenida de la hidrólisis ácida se colocó nuevamente en el reactor durante 10min, con una

solución de NaClO al 3.5%, previamente calentada a 40°C. Concluido el tiempo, la fibra se lavó hasta obtener un pH neutro. Durante este proceso de deoloración se degradó la lignina y se redujo el tamaño de las cadenas de celulosa. Para finalizar, la extracción alcalina se realizó con la fibra obtenida de la cloración la cual fue colocada en el reactor durante 1h con solución NaOH 20%. Terminado el tiempo, la fibra se lavó hasta obtener un pH de 7.0.

La metodología empleada por Bastidas, 2016, utilizó BCA con una humedad del 40%, el cual se procedió a sumergir en agua y por medio de la gravedad se eliminaron las partículas e impurezas superficiales que estaban adheridas a las fibras de la caña de azúcar. Luego, para el proceso de secado, la materia prima limpia, se secó en recipientes a temperatura ambiente (18,9°C) durante 32h. Seguidamente se procedió a realizar la hidrólisis alcalina con NaOH al 15% p/v, utilizando una relación 1-10, durante 100min de calentamiento bajo agitación continua. Para el blanqueo se eliminaron hidratos de carbono tales como pectinas, hemicelulosas, proteínas, algunos componentes minerales y la lignina residual, utilizando NaClO al 5% durante 60 min a 70°C bajo agitación continua. Posteriormente la hidrólisis ácida se llevó a cabo con la obtención de la celulosa microcristalina mediante la hidrólisis parcial de la celulosa con HCl, el cual afecta las regiones amorfas de las fibras liberando partículas cristalinas de un tamaño de dos décimas de micra; para lo cual, se hidrolizó la pulpa de celulosa con HCl al 2,5N por 60min, a 80°C y con agitación esporádica.

Estudios realizados por Espitia, (2010) llevaron a cabo la siguiente metodología; los reactivos usados para la extracción de las nanofibras de celulosa fueron tolueno del 99.9%; etanol absoluto de 99.72%; NaOH 99.9%; tetraborato de sodio decahidratado del 99% y clorito de sodio del 25%, para el aislamiento las muestras de residuos de BCA se cortaron en trozos de 7-10cm de longitud, se lavaron con agua destilada, se secaron a 80°C por 24h y posteriormente se extrajo el contenido graso mediante destilación soxhlet por 6h, usando una mezcla tolueno/etanol (2:1 v/v), en un extractor de gases y humos. Luego los residuos de BCA se trataron con una solución de NaClO₂ al 1% v/v en solución buffer (pH:4) con bisulfato de sodio al 5% p/v en agitación, con el fin de solubilizar y remover gradualmente la lignina. Las muestras se sometieron a tratamiento alcalino con solución de NaOH al 17.5% p/v. para aislar la celulosa de la hemicelulosa. Luego del tratamiento químico la celulosa obtenida, fue criócongelada en nitrógeno líquido y tratado mecánicamente en un molino planetario de bolas durante 3h.

Gouveia *et al.*, (2009) para el pretratamiento del BCA, presentaba una humedad aproximada del 50%, se realizó en un reactor de 5000L a una presión de 15,3Kgf/cm² (equivalente a 200°C – presión de vapor de agua), durante 7min. El material pretratado se transfirió a un ciclón debido a la diferencia de presión. El material se lavó a fondo hasta la eliminación total de los azúcares hidrolizados y luego se secó a temperatura ambiente y se almacenó. Posteriormente para el tratamiento se transfirieron muestras de 2g (molidas a malla 20 en un molino Wiley) de bagazo pretratado, pesadas con una precisión de 0,1mg y se trataron con 10mL de H₂SO₄ al 72% v/v, bajo agitación vigorosa, en un baño termostático a 45°C durante 7min. Las muestras se transfirieron cuantitativamente a matraces de 500mL, agregando un volumen de 275mL de agua destilada. Los matraces cónicos se cerraron con papel de aluminio y se esterilizaron en autoclave

durante 30min a 121°C. Después los viales se retiraron y se enfriaron a temperatura ambiente, separándose la fracción sólida de la líquida mediante filtración usando papel filtro cualitativo. La fracción líquida se transfirió a un matraz aforado de 500mL, que luego se completó con agua destilada. La solución se almacenó para un análisis adicional de carbohidratos, ácidos orgánicos, furfural, hidroximetilfurfural (HMF) y lignina soluble.

Bhattacharya, *et al.*, (2007) Para el pretratamiento la digestión del BCA se realizó a 80°C en solución de NaOH al 4% durante 4h. Esto eliminó la mayor parte de la lignina y una gran parte de hemicelulosa. Debido a la decoloración persistente, el producto fue posteriormente blanqueado con una mezcla de NaClO₂/CH₃COOH glacial para eliminar cualquier residuo de lignina y hemicelulosa que pueden haber estado presentes. Las fibras de celulosa blanqueadas se lavaron repetidamente, inicialmente con NaOH acuoso al 5% y posteriormente agua desionizada para alcanzar un pH neutro. La celulosa, así obtenida, se hidrolizó con H₂SO₄ al 60% (p/v) durante 2,5 h a 60°C para eliminar preferentemente las regiones no cristalinas, dejando una colección de microfibras bien dispersas (Sassi & Chanzy, 1995). La reacción se detuvo mediante la adición de agua helada. Los MF se lavaron con agua y dispersado durante 5min con enfriamiento repetido usando un Branson 450 sonificador. A continuación, el medio de dispersión se cambió de agua a butanol. Los MF fueron liofilizados a partir de una suspensión en t-butanol.

El aislamiento y purificación (FAO, 2012) de la fracción cristalina de la celulosa se ha estado estudiando mediante la hidrólisis parcial controlada con ácidos minerales, a partir de diferentes materias primas, tales como: linter de algodón, diferentes tipos de maderas y, en menor medida, a partir de plantas anuales y residuos, bambú, cáscara de trigo, papeles de desecho, cáscara de nuez,

bagazo de la caña de azúcar y otras. Cuando la celulosa se aísla de otros componentes, se puede obtener en forma de cristal por medios químicos (CMC, 2003). Debido a la menor reactividad frente a los agentes químicos de las regiones cristalinas, o más ordenadas, se explica fácilmente la posibilidad de aislar la fracción cristalina de la celulosa por hidrólisis controlada con ácidos minerales.

Según Patil *et al.*, 2018, para el aislamiento de la nanocelulosa procedieron a cortar 50g de BCA, el cual se secó y lavó con agua destilada, para tratarlo con NaOH al 4% (p/v) a 50-60°C durante 2h en condiciones mecánicas, se filtró y lavó. Brevemente las fibras se blanquearon a 70-80°C por 3h, luego se empleó la solución de blanqueo que contenía partes iguales (v/v) de NaClO₂ acuoso y tampón acetato (27g de NaOH y 75mL de CH₃COOH glacial, diluido a 1000mL usando agua destilada). Este procedimiento se repitió hasta que las fibras se volvieron de color blanco. La pulpa blanqueada se filtró y se enjuagó con agua destilada y luego se sometió a un alto cizallamiento en un micro triturador de ultra fricción. Donde, la suspensión de celulosa se pasó repetidamente a través de una piedra de pulir estática y una piedra de pulir giratoria que giraba a 1500rpm hasta que la celulosa de microfibras se redujo en diámetro a 20-100nm. La reducción de tamaño se determinó mediante análisis TEM. La suspensión acuosa de nanocelulosa se liofilizó y se almacenó para su uso posterior. Por otra parte, realizaron el atrapamiento de ingrediente activo, en la cual, se prepararon formulaciones granulares de almidón con ftalato de dimetilo (DMP). Donde, se prepararon gránulos con 2 y 4% en peso de CNF en relación con el peso total de matriz de almidón-urea formaldehído. También se prepararon gránulos sin DMP como control. Un procedimiento común de atrapamiento con X = 0,4 y 6% en peso de carga activa (DMP), inicia con la preparación de UF el cual se preparó tomando 39-41g de solución de formalina en un matraz

de fondo redondo de 250mL y se neutralizo con NaOH al 0,6% (v/v). Luego el pH se incrementó a 8-8,5 añadiendo trietanolamina seguido de la adición de 20g de urea. Posteriormente la mezcla se calentó durante 10-15min y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente. A partir de esto, en un recipiente separado, se dispersaron 50g de almidón en 150mL de agua destilada y se gelatinizaron en un baño de agua hirviendo, luego se añadieron gradualmente 3,89g de DMP al almidón gelatinizado y se agitó durante 10-15min para lograr una dispersión uniforme. Brevemente, se añadió UF, al pasar los 10-15min, se agregó gota a gota 3-4mL de ácido fórmico (CH_2O_2) al 20% (v/v) por 5-8min para ajustar el pH entre 3,0-3,5 con agitación continua por 5min. Luego, la mezcla de reacción se convirtió en una masa gomosa y se trituró en trozos pequeños a través de un tamiz para luego ser secada en un horno a 50°C durante 4h. El material que quedó sobre el tamiz se indica como conjunto-1, mientras que la muestra que pasó a través se designa como conjunto-2.

Por otra parte, la caracterización de la nanocelulosa inicio con el análisis TEM donde se dispersaron muestras de nanocelulosa en agua destilada de 0,05% en peso por medio de agitación mecánica, seguida de sonicación. Luego, se depositó una gota de esta dispersión sobre una rejilla de cobre revestida de carbono y se sometió a secado en condiciones ambientales por 24h. Para el análisis morfológico se tuvo en cuenta utilizando SEM a 15kV, luego las muestras se montaron directamente en cinta de carbono y se recubrieron con oro para evitar la carga. Además, las características de los poros de los gránulos se estudiaron mediante una formación de imágenes en un microscopio de rayos X.

El estudio realizado por López *et al.*, 2016, inicio con introducir el BCA en una solución de NaOH al 10% durante 20min y después de alcanzar la temperatura de ebullición se procedió con agitación. Brevemente, las muestras de bagazo se enfriaron, lavaron y se secaron en estufa a 60°C durante 12h. Seguidamente, procedieron a la obtención de nanocelulosa iniciando con una hidrólisis ácida suave con H₂SO₄ al 0.4% por 1h y se lavó, luego se le realizó una cloración con 3.5% NaClO con agitación en un baño de agua a 30°C hasta alcanzar pH 9.2, y se lavó con agua destilada hasta la neutralidad. Brevemente, para la extracción alcalina se usó una solución al 20% de NaOH y se agitó por 1h, seguido por un proceso de lavado. Para el blanqueo se contó con una solución de 0.5% NaClO, agitando continuamente por 1h y lavado final hasta pH neutro. Luego, el material se esparció en una charola de aluminio durante un día, para secado a temperatura ambiente y posteriormente en una estufa durante 24h a 60°C. La masa de la celulosa se determinó para evaluar el rendimiento del proceso de obtención a partir del bagazo de caña. Finalmente, la celulosa se pulverizó por medios mecánicos.

Por otro lado, la caracterización se hizo por medio del análisis FTIR la cual se llevó a cabo utilizando un Espectrómetro de Infrarrojo “FTIR Nicolet Magna Protegé 460” en el modo de transmisión, con una resolución de 4cm⁻¹ y 100 barridos. En la determinación de la cristalinidad se tuvieron en cuenta los espectros DRX obtenidos con un equipo “Siemens D 5000 Diffractometer”, espectro de CuK α ($\lambda=1.5418\text{\AA}$ y de energía 8.047keV). El porcentaje de cristalinidad (%CrI) de las muestras de celulosa fue calculada empleando la ecuación (1), Segal *et al.*, (1959):

$$\%CrI = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\%$$

Ecuación 1. Porcentaje de Cristalinidad según Segal *et al.*, 1959.

Donde, I_{002} es la intensidad del pico mínimo y I_{am} es la intensidad máxima del pico cristalino.

La metodología propuesta por Lu *et al.*, 2020, usaron como materia prima pulpa de BCA ya blanqueada, en la cual para la preparación de filamentos de celulosa de bagazo (BCF), se sometió preparó una mezcla de pulpa de bagazo (2.0% p/p) una solución de BCF (1.0 % p/p) oxidado con 2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo (TEMPO, TOBCF, 0,016 g), y NaBr (0,103g), luego se añadió lentamente NaClO (8,0 mmol/g de celulosa) en presencia de agitación. La reacción se realizó a 25°C, con la mezcla mantenida a un pH de 10 y se inactivó con etanol (10mL). Una vez que el pH de la mezcla dejó de disminuir, se lavó brevemente con agua destilada. Por otra parte, en la preparación de los hidrogeles de nanocelulosa se adicionó gota a gota solución acuosa de ZnCl₂ (20%, p/p). En este estudio utilizaron dispersiones de agua de TOBCF con una concentración de masa de 1%, 2%, 3% y la concentración final de iones de zinc se controló a 0,1mol/L en cada mezcla. Seguidamente, la mezcla se dejó reposar durante 24h sin agitar para permitir la formación de hidrogeles de nanocelulosa. Finalmente, el Zn²⁺ no unido se eliminó lavando con agua destilada el hidrogel resultante. Para analizar la morfología de BCF y TOBCF se empleó TEM y AFM, donde la suspensión de agua de BCF y TOBCF se tiñó con ácido fosfotúngstico, y luego se observaron mediante TEM con un voltaje de aceleración de 100kV. Después las suspensiones se depositaron en una oblea de sílice para luego ser escaneadas usando el modo de captura AFM 5000II. Por último, se utilizó un espectrómetro FTIR para

analizar las diferencias químicas entre la pulpa de bagazo, BCF y TOBCF y la determinación de la cristalinidad se llevó a cabo mediante análisis de DRX. Los valores de cristalinidad se calcularon según el método de Segal *et al.*, 1959.

De acuerdo con la investigación realizada por Leaño *et al.*, 2020, para la obtención de CNC a partir de BCA, donde iniciaron con una primera ruta, en la que las fibras de BCA se trataron primero con una solución acuosa de $\text{NaClO}_2/\text{CH}_3\text{COOH}$ glacial, luego se blanquearon con NaOH acuoso, se lavaron con agua y se secaron en un horno a 80°C durante 24h. En la segunda ruta, las fibras se trataron primero con una solución acuosa de NaOH , luego se blanquearon usando $\text{NaClO}_2/\text{CH}_3\text{COOH}$, seguido de lavado y secado como se indicó anteriormente. Posteriormente, los CNC se extrajeron mediante hidrólisis ácida con H_2SO_4 64% (p/p) a 45°C por 30min y se denominaron CNC_{150} y CNC_{220} . Brevemente, las suspensiones se liofilizaron para eliminar el agua y obtener CNC sólidos para medir con precisión su contenido de peso en los nanocompuestos. Luego se prepararon los nanocompuestos de acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS) reforzados con CNC los cuales se procesaron usando una concentración variable de nanocristales (0,5, 1,0 o 1,5% en peso). Las mezclas se obtuvieron después de secar los nanocristales en un horno a 60°C durante 3h y luego se inyectaron utilizando un equipo HS (modelo 150-80 Himaco) en un molde para producir probetas de tracción e impacto. Se estudiaron los siguientes nanocompuestos: CNC_{150} 0,5% /ABS, CNC_{150} 1,0%/ABS, CNC_{150} 1,5%/ABS; CNC_{220} 0.5%/ABS, CNC_{220} 1.0%/ABS y CNC_{220} 1.5%/ABS. Por otra parte, los nanocompuestos se trituraron a 13 mm, se secaron en un horno a 80°C durante 3h y luego se caracterizaron mediante análisis TGA. Donde las muestras se analizaron en bandejas de alúmina bajo atmósfera de N_2 (caudal: 60mL/min) de 25 a 600°C a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ de velocidad de calor.

Seguido de esto se procedió a realizar las mediciones reológicas utilizando un reómetro rotacional de placa paralela a 200°C en el rango de frecuencia de 0,01 a 300rad/s.

Según Meesupthong *et al.*, 2020, usaron la variedad de caña energética Biotech II (BCE), la cual es una mejora de la caña de azúcar *Saccharum spp.* donde la preparación de celulosa se basó en una representación esquemática del proceso utilizado para obtener CNC a partir de BCE. Luego, estas fibras se trataron con NaOH al 2% (p/v) por 60min a 50°C bajo agitación constante para obtener álcali pretratado. Seguido de esto, se lavaron adicionalmente con agua destilada hasta que el pH fue neutro y luego las fibras se secaron a 55°C durante 24 h. Brevemente, las fibras se trataron con diferentes concentraciones de xilanasas (20, 100 o 200U/g) y se incubó durante 60min a 50°C bajo agitación constante para obtener fibras tratadas con xilanasas denominadas A20X, A100X y A200X. Seguidamente, las muestras se secaron a 55°C durante 24h. Al terminar la etapa de pretratamiento, las fibras se sometieron a blanqueo usando una solución de NaClO₂ al 1,4% (p/v) controlada a pH 4, el cual se ajustó usando CH₃COOH glacial. Luego, la solución se incubó a 70°C en un baño de agua y se añadió a la reacción NaClO₂ y CH₃COOH glacial hasta que las fibras blanqueadas fueron de color blanco. Las muestras se lavaron con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro y luego se secaron a 55°C durante 24h. Para el aislamiento de nanocelulosa, se dispersaron 2g de fibras blanqueadas en 40mL de H₂SO₄ al 60% (p/v) para la respectiva hidrólisis y se mantuvo a 45°C durante 30 o 75min con agitación de 500rpm. Seguido de esto, se agregaron 400mL de agua fría para detener la reacción y se lavó con agua DI usando una centrifuga a 15.000rpm y 4°C durante 15min. Al terminar se le aplicó diálisis contra agua destilada para eliminar el ácido residual hasta llegar a un pH de 7. Se sonicó durante 15min y la muestra de celulosa final se almacenó en un refrigerador a 4°C.

Por otro lado, para medir los grupos funcionales en el material se empleó el espectro FTIR donde para cada muestra se recogió en la región $4000\text{--}500\text{cm}^{-1}$ con una resolución de 4cm^{-1} . Luego, las muestras se mezclaron con KBr y se comprimió en un disco delgado y transparente antes de analizarla. La morfología de las fibras fue caracterizada mediante SEM con un modelo FEI Quanta 450 y las muestras se recubrieron con oro para ser analizadas a un voltaje de aceleración de 10 kV. La morfología general de los CNC se caracterizó mediante TEM y las dimensiones de los CNC se determinaron mediante el programa ImageJ. Además, se utilizó DRX para determinar la cristalinidad de las fibras. El CrI de las fibras se calculó utilizando el método de Segal *et al.*, 1959).

Según Liu *et al.*, 2020, emplearon una metodología utilizando BCE, la cual inicio con la preparación de fibra lignocelulósica (LCF), donde se trituraron partículas de BCE de 0,5mm y luego se remojó en agua desionizada (DI) al 70% durante 2h para eliminar los componentes extraños. Luego, las partículas obtenidas se secaron a 101°C durante 12h. Brevemente, se utilizó una solución mixta de NaOH y H_2O_2 para tratar la muestra de BCE seca a 75°C durante 15min en un horno. Después de esta reacción, la muestra tratada se lavó con agua desionizada hasta que la filtración tuvo un pH neutro y luego se secó en un horno de vacío a 40°C durante 48h. A partir de esto, precedieron a determinar las morfologías de las LCF obtenidas mediante SEM. Por otra parte, la estructura química y los cristalitas de los LCF se analizaron mediante una serie de caracterizaciones, que incluyen el FTIR, XRD y TGA.

Mandal & Chakrabarty, 2013, realizó una metodología iniciando con el aislamiento de la nanocelulosa donde se obtuvieron mediante hidrólisis ácida de celulosa aislada de BCA. La celulosa deslignificada y libre de hemicelulosa se hidrolizó con H_2SO_4 al 60% en peso a 50°C durante 5h bajo agitación fuerte. Luego, la suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente y se lavó con agua destilada mediante sucesivas centrifugaciones hasta que se alcanzó un pH de 7. Finalmente, la suspensión se sonicó por 5min en un baño de hielo para evitar el sobrecalentamiento y se mantuvo refrigerada hasta su uso. Además, los estudios de TEM revelaron que la mayoría de las partículas tuvieron dimensiones entre 35 y 170nm, lo que fue confirmado por estudios de AFM. Por otra parte, realizaron la preparación de películas de nanocompuestos de alcohol polivinílico (PVA), disolviendo gránulos de PVA que fluían libremente en agua destilada hasta una concentración del 5% en peso, y se agitó a 80°C durante 3h en un matraz. Luego, se agregaron proporciones variables de suspensión de nanocelulosa con un contenido de sólido de 1% en peso a la solución de PVA preparada para ajustar la concentración de nanocelulosa a 2.5, 5, 7.5 y 10% en peso. Posteriormente, las mezclas se agitaron mecánicamente durante otras 2h y se sonicaron durante 2min. Las suspensiones finales se vertieron en una caja de Petri de polipropileno y se secaron a temperatura ambiente durante 2 días. Las películas de material compuesto resultantes se colocaron luego en un horno de vacío a 60°C para asegurar la eliminación completa del agua, y las películas obtenidas se mantuvieron en el desecador.

De acuerdo con lo anterior para la determinación de los espectros FTIR de las diversas películas se usó un detector de sulfato de tri-gliceno (TGS), y se registró en la región de 500 a 4500cm^{-1} con una resolución de 4cm^{-1} . Los espectros resultantes se compararon para evaluar los

efectos del relleno de nanocelulosa en las películas de PVA, basándose en la intensidad y el cambio de las bandas vibratorias. A parte de esto se determinaron las propiedades mecánicas utilizando un equipo de prueba de tracción Instron H50KT, donde las pruebas se llevaron a cabo a temperatura ambiente, 25°C. Las propiedades térmicas fueron evaluadas por TGA y DSC. La cristalinidad fue determinada por DRX.

En comparación con la metodología anterior, el estudio de Lam *et al.*, 2017, usaron celulosa de BCA mezclada con PVA, en la cual la extracción de celulosa se realizó mediante lavado. Además, se pretrató a una presión de 1,3Mpa a 190°C por 15min. Luego, el bagazo explotado con vapor se digirió usando xilanasa, a 20U g⁻¹, bajo agitación a 50°C durante 2h. Brevemente, las fibras se trataron con una solución de NaClO₂ al 1.4% (p/v) a pH 4 y se agregó CH₃COOH a 70°C cada hora durante 6h hasta el blanqueamiento de las fibras. Posteriormente, la suspensión resultante se filtró y se lavó con agua destilada hasta que se alcanzó un pH neutro. Seguidamente, para la preparación de la nanocelulosa se hidrolizaron 5g de celulosa en 100mL de H₂SO₄ al 60% (p/v) a una temperatura de 45°C y velocidad de agitación de 500 rpm durante 75min. Posteriormente, se añadió agua destilada y se lavó usando centrifugación continua. Luego continuó la diálisis con agua destilada hasta llegar a un pH constante de 7. Al terminar, se sonicó en un baño de hielo y se mantuvo a el sistema a 4°C. Para la preparación de los nanocompuestos se tuvo en cuenta soluciones de PVA al 5%, las cuales se prepararon por disolución en agua destilada a 90°C y agitación durante 12h. Posteriormente, se añadió el 0 (PVA), 2 (PVA/CNC2), 4 (PVA/CNC4), 6 (PVA/CNC6), 8 (PVA/CNC8) y 10% (PVA/CNC10) en peso de CNC y se continuó agitando durante 3h más, para mezclar completamente los componentes. La suspensión se sonicó durante 15min para eliminar burbujas presentes. Finalmente, se vertieron en una placa

de 6 puestos y se congelaron a -20°C durante 12h, seguidos de tres ciclos de congelación (-20°C por 12h) y descongelación (25°C por 4h) para luego ser liofilizadas al vacío a -80°C durante 3 días.

Las propiedades térmicas de los nanocompuestos fueron analizadas mediante un analizador TGA. Por otra parte, para la caracterización morfológica se usó SEM y TEM. Por otro lado, se registraron los espectros FTIR de las muestras a temperatura ambiente usando un accesorio de reflectancia total atenuada en el rango $500\text{-}4000\text{cm}^{-1}$. Para el estudio de la estructura cristalina de los nanocompuestos se empleó DRX. La cristalinidad relativa se calculó utilizando la siguiente ecuación Ciolacu *et al.* (2010):

$$\text{Cristalinidad relativa (\%)} = \frac{\text{área de cristalinidad}}{\text{área total}} \times 100$$

Ecuación 2. Porcentaje de Cristalinidad Relativa según Ciolacu *et al.*, 2010.

En la investigación propuesta por Marcondes *et al.*, 2020, se realizó la hidrólisis iniciando con un pretratamiento el cual se basó en la recolección del BCA, luego se sometió a un proceso de molienda obteniéndose partículas de 6nm o menos. Además, utilizaron la celulosa kraft blanca de fibra corta (BEKP) como control. Posteriormente se realizó un lavado al BCA molido en un recipiente de reacción a 80°C por 30 min. Por otra parte, para la deslignificación usaron 50g de BCA y se añadió NaOH al 1% a 100°C durante 1h, luego se filtró y se lavó con agua destilada. La lignina se recuperó mediante precipitación ácida y se le añadió ácido

fosfórico (H_3PO_4) hasta que su pH fuese 2, luego se lavó hasta que el pH fuera de 4 y finalmente la lignina precipitada se secó a 50°C y se pesó. Seguidamente se realizó el proceso de blanqueamiento añadiendo CH_3COOH y NaClO_2 para obtener una concentración final de 2% v/p, luego la reacción se llevó a cabo a 75°C por 2 h y el material final se filtró y se lavó. Finalmente, para el aislamiento de las CNF, cada pulpa obtenida anteriormente se diluyó con agua destilada para alcanzar un volumen final de 1L y una concentración del 0,65% p/p. La preparación de la muestra para el análisis de DRX, consistió en secar el material celulósico en un horno de circulación de aire a 33°C durante 24h. Cada muestra seca se colocó en un portaobjetos del microscopio y se analizó en el difractómetro. Todas las medidas en el DRX se realizaron por triplicado. Se utilizaron dos métodos diferentes para determinar el CrI del CNFs se empleó el método de ajuste de altura de pico (CRIH), determinado mediante la ecuación 1, que hace uso de los datos DRX ajustados para calcular CrI siguiendo de la otra ecuación 3 de Park *et al.*, 2010, donde I_{002} es el pico alrededor de $2\theta = 22,5^\circ$ y I_{am} es el mínimo alrededor de $2\theta = 18^\circ$.

$$\%CrI = \frac{\Sigma \text{Picos cristalinos}}{\Sigma \text{Todos los picos}} \times 100$$

Ecuación 3. Porcentaje de Cristalinidad según Park *et al.*, 2010.

Los análisis de termoestabilidad de los CNF se realizaron utilizando un analizador térmico (DST-Q600, TGA-TA Instrument) en atmósfera inerte (N_2 , caudal 100 mL / min), con una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ y un rango de temperatura de 30 a 600°C . Las

muestras se prepararon a partir de películas de los materiales celulósicos secados en horno a 30°C durante 24 h (la humedad del material no se consideró en el análisis).

La deslignificación de la fibra del bagazo de caña de azúcar (FBA) es importante a la hora de realizar la hidrólisis ácida, ya que permite eliminar sustancias extrañas y así obtener una celulosa más pura como en el caso de Gan & Chow, 2018, donde el BCA fue triturado y secado a 80°C en una solución de NaOH al 4% durante 4h. Para obtener un pH 4, la solución se ajustó agregando de 10 a 15 gotas de CH₃COOH. Luego, la celulosa blanqueada se lavó con NaOH acuoso al 5% y posteriormente con agua desionizada para alcanzar un pH neutro. La celulosa obtenida se dejó secar a temperatura ambiente y se molió para obtener un polvo fino. Posteriormente la hidrólisis ya deslignificada se hidrolizó utilizando una solución de H₂SO₄ 6M y de H₃PO₄ 11M por 30min a 55°C con agitación constante, el sistema se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó.

Seguidamente, se lavaron con agua destilada y se centrifugaron a 3000r min⁻¹. A continuación, se dejó que la suspensión coloidal se sometiera a un proceso de diálisis utilizando agua ultrapura, la cual se llevó a cabo hasta lograr la suspensión coloidal a pH 4. Brevemente los CNC obtenidos se liofilizaron y se disolvieron junto con el ácido polilactico (PLA) en cloroformo, luego ambas soluciones se mezclaron y se vertieron en las placas de Petri. A continuación, se secó el PLA/CNC durante 24h a temperatura ambiente. El compuesto PLA/CNC se preparó añadiendo un 10% en peso de CNC en PLA. El código de material CNC tratados se designaron de la siguiente manera: PLA/H₂SO₄ (S-CNC) -10 denota que se introdujo un 10% en peso de S-CNC en PLA, mientras que PLA/H₃PO₄ (P-CNC-10) representó el 10% en peso de CNC que se agregó al PLA. Por otra parte, la caracterización de la morfología fue mediante un microscopio electrónico de transmisión con filtrado de energía (EFTEM) donde se depositó una gota de

celulosa diluida mediante suspensión de agua al 0,1% (p/p) sobre una rejilla de cobre de malla cuadrada 400 y se dejó secar durante 3min. Luego, las muestras se tiñeron negativamente con acetato de uranilo al 1% ($\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$) durante 1min y se examinaron usando TEM.

Además, el análisis FTIR se registró en un rango de $550\text{--}4000\text{cm}^{-1}$ con una resolución de 4 cm^{-1} . Se analizaron muestras de FBA, celulosas microcristalinas de BCA extraídas (SBMCC), CNC obtenidas de ambos tipos de ácido y compuestos PLA/CNC. De igual manera se determinó las propiedades térmicas de los CNC en la cual se caracterizó el comportamiento de descomposición térmica de nanocompuestos FBA, CNC y PLA/CNC (aproximadamente 10 mg) utilizando un analizador termogravimétrico con un rango de temperatura de $30\text{--}600^\circ\text{C}$ a una velocidad de calentamiento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.

Miranda *et al.*, 2017 utilizaron el BCA, utilizado como materia prima, la cual fue proporcionado por Edras Ecosystems y fue clasificado como B3 y médula (clasificación de tipo B3 > 15 mm y médula < 3 mm (polvo)). La composición química del BCA fue celulosa, 39%; hemicelulosa, 27%; y lignina, 21% obtenida siguiendo los procedimientos de Tappi, 1999. Los nanocristales de celulosa del BCA fueron obtenidos pulmando con sosa, NaOCl_2 y H_2O_2 , adaptado de Rosa *et al.*, (2010). Además, el BCA fue pretratado y/o blanqueado con NaOH , NaClO_2 , CH_3COOH , H_2O_2 y HNO_3 , para romper la estructura lignocelulósica y eliminar la lignina y la hemicelulosa. Los nanocristales fueron obtenidos mediante la reacción de hidrólisis de las pulpas blanqueadas utilizando H_2SO_4 . Además, determinaron el contenido de lignina en la fibra de BCA por reacción con H_2SO_4 al 72% (p/p) de acuerdo con la norma TAPPI T 222 om-88 (Tappi, 1999). El contenido de celulosa se determinó a partir de la holocelulosa (celulosa + hemicelulosa) de la fibra de BCA, y la extracción de la hemicelulosa la realizaron con NaOH

según el método descrito por Morais *et al.* (2010). Todas las determinaciones se realizaron con tres repeticiones, y los valores finales fueron representados por la media.

Estudios realizados por Gond & Gupta, (2020), Para aislar las nanofibras del BCA. En primer lugar, el residuo del BCA se lavó para eliminar cualquier tipo de polvo y luego se secó a la luz del sol durante 24 horas, por lo que se mantuvo en horno de aire caliente a 80°C durante 8h para completar eliminación de la humedad. Las fibras secas se cortaron en tamaño pequeño hasta 5 mm para un pulido suave. Posteriormente, se cortaron las fibras y se trituraron con un molinillo (Sujata, India, 900 W, 22000 rpm), y luego se separaron las partículas molidas en un tamaño pequeño uniforme de 15 μm utilizando un agitador de tamiz.

Para el tratamiento, se preparó una solución de Bicarbonato de sodio NaHCO_3 usando una concentración del 10%p/v y luego las micropartículas tamizadas se sumergieron en la solución durante un tiempo de 96 horas, posteriormente se realizó un lavado con agua destilada con ayuda de un paño para eliminar el exceso de iones de sodio. Además, las partículas tratadas se secaron a una temperatura de 60°C durante 8 horas en un horno de aire caliente. Finalmente, las partículas tratadas se trituraron a 1500 rpm durante 30 minutos cada una varias veces para convertirlas en tamaño nanométrico luego las partículas se tamizaron nuevamente para obtener su tamaño uniforme para el análisis del tamaño de partículas.

El análisis morfológico de la superficie de no tratados, tratados, y nanofibras de BCA se examinó utilizando un microscopio electrónico de barrido por emisión de campo (FESEM), antes de la observación, se roció una fina capa de oro sobre la superficie del espécimen usando un recubrimiento de pulverización catódica para hacerlos conductores.

El comportamiento cristalino de las sustancias no tratadas, tratadas y nanofibras de BCA fueron examinadas por rayos DRX. El CRI y el grado de cristalinidad se calcularon utilizando el método de Segal como se observa en la ecuación 1 (Segal *et al.*, 1959).

El BCA se observó mediante análisis FTIR utilizando Instrumento FTIR (Bruker, Tensor-27). La muestra fue preparada mezclando 2 mg de nanofibras y 200 mg de KBr y luego se secó a 90°C durante 2 horas en aire caliente. El análisis se realizó en las muestras preparadas en la longitud de onda rango de 500 a 4000 cm^{-1} con una resolución de 5 cm^{-1} . Estas muestras también fueron analizadas por TGA.

Otros autores como Hong *et al.*, (2017) llevaron a cabo la preparación de CNF a partir de BCA. El procedimiento para ello consistió en que la fibra BCA se trató en un vapor continuo diseñado en laboratorio en donde se mezclaron 5 kg de BCA con una cantidad de agua desionizada hasta alcanzar el contenido de humedad 45%. Luego, la fibra húmeda fue tratada en con vapor. La fibra sometida al vapor fue nombrada como CSE-BCA. Posteriormente se aplicó un tratamiento hidrotermaico catalizado por álcali diluido a CSE-BCA, para eliminar materiales aglutinantes como hemicelulosa y lignina. 20 g de CSE-BCA, se mezclaron 400 mL de solución

de NaOH 0,1 M en un reactor de acero inoxidable. La mezcla se agitó uniformemente y el reactor luego se selló y se calentó a 200°C durante 30 min en un baño de aceite. Luego se separó la fibra, se lavó con agua desionizada hasta alcanzar un pH de 7 y se liofilizó. La fibra obtenida siguiendo este paso se refiere como CSE-BCA-H. A modo de comparación, bca también se cortó en fragmentos de 1-2 mm, tamizado con malla 40 y tratado por el mismo proceso, ty es conocido como BCA-H.

Para los análisis de FTIR, el liofilizado y la muestra de fibra y KBr se mezclaron en cierta proporción y posteriormente finamente pulverizados en un mortero de ágata y comprimido para formar un disco. Los comportamientos reológicos de las suspensiones de fibra se estudiaron mediante un reómetro de tensión controlada (Anton paar MCR 302, Austria), con geometría cilíndrica (ST24-2D). Se realizaron barridos de deformación para determinar la región viscoelástica lineal de las muestras. Los barridos de frecuencia se llevaron a cabo de 0,1 a 100rad/s a una amplitud de deformación de 0,25, según los barridos de deformación.

La morfología y estructura de las CNF fueron observadas por TEM. La suspensión de CNF se diluyó con agua desionizada, y luego se sonicó en un baño de agua con un sonicador a 100 W durante 1 h. Una gota de esta suspensión diluida se depositó sobre una rejilla de revestimiento de carbono y se dejó secar a temperatura ambiente. Se recopilieron imágenes TEM a una tensión de aceleración de 200 kV.

La cristalinidad de las fibras después de diferentes etapas de tratamiento fue determinada por DRX. Las muestras liofilizadas se comprimieron para formar discos de 10 mm de diámetro. Posteriormente se obtuvieron los difractogramas de las muestras. Finalmente, se calculó el CrI de las fibras (Segal *et al.*, 1959). Además, los análisis de TGA se realizaron a las muestras liofilizadas y trituradas para obtener polvos finos.

En estudios realizados por Kardam *et al.*, (2017), el BCA se recolectó, se lavó con agua y se secó en un horno. El BCA se blanqueó con NaOH, seguido de lavado y reflujo con NaClO₂. La celulosa generada se filtró, se lavó con agua destilada y se centrifugó a 3500rpm a temperatura ambiente. La celulosa aislada se sometió a hidrólisis alcalina seguida por hidrólisis ácida. Los estudios morfológicos de los materiales preparados se llevaron a cabo utilizando las técnicas de SEM y TEM. Además, las muestras fueron caracterizadas por TGA.

Trabajos reportados por Rahimi *et al.*, (2019) para la extracción de la celulosa, el bagazo se molió en polvo, se secó y se desparafinó con una mezcla de tolueno- etanol (2:1, v/v) en un aparato soxhlet durante 2 h. Las fibras desparafinadas se secaron en un horno a 60°C durante 16h para eliminar componentes solubles en agua y las impurezas restantes, las fibras desparafinadas fueron filtradas y lavadas con H₂O a 50°C hasta pH neutro. Luego, las fibras lavadas se deslignificaron utilizando NaClO₂ al 1,3%, para cubrir las fibras a pH 4. El pH fue controlado mediante la adición de CH₃COOH, para eliminar la hemicelulosa, las fibras deslignificadas fueron tratadas con una solución de NaOH al 10% y KOH al 10% a temperatura ambiente según el procedimiento descrito por (Liu & Col, 2006 citado por Rahimi *et al.*, 2019). Finalmente, la

celulosa extraída se lavó con etanol y agua destilada y luego se secó a 60°C en un horno durante 16h. Por otra parte, en el caso de la producción de nanofibras de celulosa hidrófobas, la celulosa extraída fue modificada químicamente por acetilación antes de mezclar. Además, 10 g de la celulosa extraída sin modificar, se cubrió con 100 ml de anhídrido acético (Ac_2O) (98%) y 0,5 g de piridina a 100°C durante 4h. Finalmente, las fibras de celulosa acetiladas se secaron a 100°C durante 60 min y se almacenaron a temperatura ambiente. Posteriormente, los materiales obtenidos fueron caracterizados por análisis FTIR, FE-SEM, DRX y TGA.

Estudios realizados por Reshmy *et al.*, 2020 el BCA se cortó primero en trozos más pequeños con aproximadamente 2 cm de largo y se secaron al sol durante 2-3 días. La fibra seca se empapó en una solución de NaOCl al 2% (1 a 10g/mL) en autoclave a 110–120°C y una presión de 15lb por 60 min para conseguir un blanqueo eficaz. Se realizó una explosión de vapor el cual consistió en un proceso de autohidrólisis que puede escindir fácilmente enlaces glucosídicos, enlaces β -éter de lignina y complejo lignina-carbohidrato y también conduce a una modificación química menor de la lignina y carbohidratos. La fibra blanqueada se calentó con CH_3COOH al 45% y de HNO_3 al 20% (1: 8: 2g/mL) a 120°C durante 20 min. Posteriormente, el material se calentó (70-80°C) con agitación constante durante 60 min en presencia de CH_3COOH al 45%, y unas gotas de H_2SO_4 (0.5g/mL), luego se lavó con agua destilada para obtener celulosa de alta pureza. Las fibras se separaron en presencia de agua destilada, se filtraron y se enjuagaron hasta alcanzar el pH neutro. La suspensión de celulosa resultante se conservó para su posterior caracterización y procesamiento. Posteriormente, se prepararon películas delgadas utilizando el método de *casting*, La película de control (0G: 100NC p/v) se preparó a partir de 100 mL de solución madre NC (1,5 g de contenido NC en suspensión de 100 ml) a 7500 rpm durante 10 min

a temperatura ambiente. Luego, la solución se vertió en una placa recubierta de teflón. y se secó a 55 °C (aproximadamente 24h). La película seca fue luego almacenada en bolsas de polietileno y se guardó en los desecadores. Los materiales obtenidos fueron caracterizados por análisis de FTIR y DRX.

Estudios realizados por Saelee *et al.*, (2015) Las fibras SE-SCB se trataron con diversas concentraciones de xilanas (5, 10, 15 y 20U/g, donde una unidad (U) se definió como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 micromol de xilosa equivalente por minuto a 50°C). Las fibras SE-SCB se mezclaron con una cantidad adecuada de enzima diluida utilizando una proporción de fibra a líquido de 1:10, y luego se incubaron a 50°C bajo agitación constante durante 1h. Después del período de incubación, las muestras se lavaron con agua destilada y se secaron en un horno de circulación a 55°C durante 24h, posteriormente se realizó el proceso de blanqueo con 1,4% (p/v) NaClO₂. Las fibras se colocaron en matraces erlenmeyer de 250 ml usando el líquido inicial a la relación de fibra de 10:1, y luego se blanquearon con 1,4% (p/v) de NaClO₂ mantenido a pH 4 ajustando la solución con CH₃COOH. El sistema se mezcló y se incubó a 70°C en un baño de agua. Finalmente, las muestras fueron analizadas por FTIR, DRX, TGA y microscopía de fuerza atómica (AFM).

En el caso de Tien *et al.*, (2017). El BCA se lavó con agua para eliminar los residuos, seguido de un proceso de secado a 55°C durante 24 h. Se pretrató el BCA seco utilizando una máquina de explosión de vapor (Nitto Koatsu 2.5L, Japón) a una presión de al menos 1.3 MPa (190°C) por 15 minutos. Luego, el bagazo tratado con vapor fue digerido usando xilanas, a 20 Ug-1 (relación

sólido-líquido 1:15 (w /v)), bajo agitación. El experimento se llevó a cabo en 50°C durante 2 h (Saelee et al., 2016). La fibra blanqueada fue obtenida después de tratar con solución de NaClO₂ al 1,4% (p/v) a pH 4 que se ajustó mediante la adición de CH₃COOH a 70°C durante 6h (Mandal y Chakrabarty 2011). Se agregó NaClO₂ y CH₃COOH cada hora hasta que se obtuvo una fibra de color blanco. La suspensión resultante se filtró y se lavó con agua destilada hasta que el pH alcanzó entre 6-7. Las muestras fueron analizadas por FTIR, DRX y TGA.

Otros estudios realizados por Treasure *et al.*, (2018) como primer paso el BCA se calentó en presencia de agua (4 horas). Posteriormente se sumergió en NaOH al 4% durante 4 horas, seguido de tratamiento con soluciones de NaClO (al 4%) y NaOH (al 2%) (4 horas) a 100°C antes de lavar con agua destilada hasta pH neutro. El producto final se secó a temperatura ambiente durante 2 días. A partir del paso anterior, como segundo paso se acidificó 4% de hipoclorito de sodio NaClO con CH₃COOH a pH 4. Posteriormente como tercer paso, se utilizó 2 y 1% de NaOH y por último se utilizó, 0,7% de NaClO₂ acidificado con CH₃COOH a pH 4. Como cuarto paso, se eliminó el último escalón. El paso adicional se agregó después de paso de hipoclorito de sodio, en el que la muestra se trató con 5% sulfito de sodio (Na₂SO₃) a 100°C durante tres horas. Los materiales obtenidos fueron caracterizados por FTIR y TGA.

4.2. Caracterización

4.2.1. Propiedades estructurales

4.2.1.1. DRX

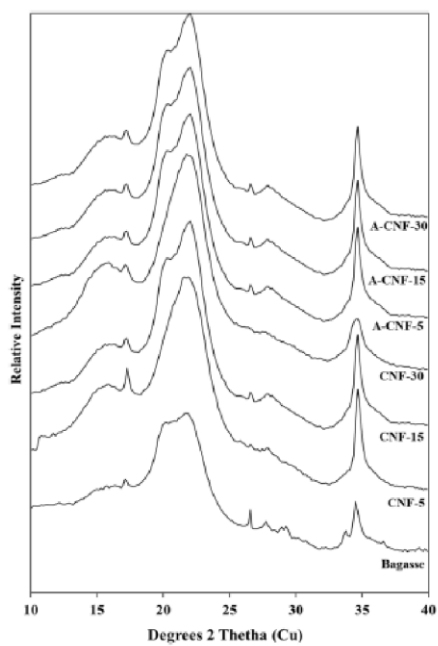


Fig. 6 XRD patterns for CNF, acetylated CNF (A-CNF), and starting bagasse material

Figura 2. Resultado DRX obtenido por Rahimi, 2019.

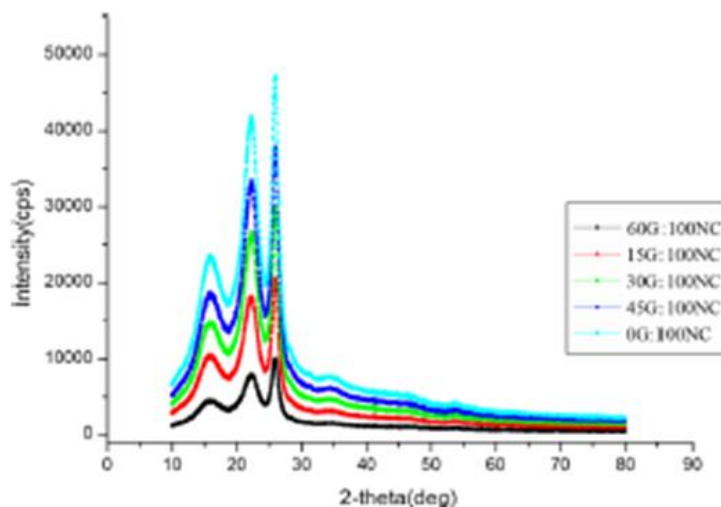


Figura 3. Resultado DRX obtenido por Reshmy *et al.*, 2020.

Según Marcondes *et al.*, 2020, en los resultados obtenidos del análisis de DRX, el contenido del CrI fue de 74% para la CNF de BCA y 79,8% para la pulpa control, dado que la estructura de celulosa en las nanofibrillas no siempre es puramente cristalina, esto se debe a la presencia de diversos dominios menos organizados que son denominados amorfos. Por otra parte, en la hidrólisis ácida con H_3PO_4 del estudio realizado por Slavutsky & Bertuzzi, (2014), los resultados de DRX de las CF y CNC obtenidas a partir de BCA, permitieron evidenciar una mezcla de polimorfos de celulosa I (picos típicos a $2\theta \sim 15^\circ$ y 22°) y celulosa II. Además, observaron que el ángulo de contacto y la energía superficial fueron alterados por la incorporación del CNC, indicando una fuerte interacción entre las cadenas de CF y el CNC. Así mismo, la formación de enlaces de hidrógeno entre ellos redujo la interacción entre el agua y la superficie de la película. Según Cao *et al.*, (2008) citado por Slavutsky & Bertuzzi, 2014, la mejora observada en el carácter hidrófobo de las películas con adición de CNC está relacionada principalmente con las propiedades altamente hidrófobas de los cristales de nanocelulosa.

Según Coelho *et al.*, 2018, en los difractogramas de DRX de IB y las nanopartículas de celulosa que obtuvieron bajo diferentes condiciones de hidrólisis lograron evidenciar que todos los difractogramas contenían dos picos intensos, uno a 16° y el otro a 22° . El pico a 2θ entre $16-20^\circ$ corresponde a planos cristalográficos, picos superpuestos ($1\bar{1}0$) y (110), característicos de los materiales cristalográficos semicristalinos, como las fibras lignocelulósicas. El pico a $2\theta \approx 22^\circ$ corresponde al plano (200), característico del polimorfismo de celulosa cristalina I β (Martins *et al.*, 2011; francés, 2013 citado por Coelho *et al.*, 2018). Se puede ver que la posición de los picos no está totalmente de acuerdo con valores teóricos para los planos cristalinos ($1\bar{1}0$), (110) y (200) a $2\theta \approx 14.88^\circ$, 16.68° y 22.9° respectivamente. Según French (2013) citado por Coelho *et al.*, 2018, el desplazamiento que observaron de los picos se puede atribuir a variaciones de tamaño que dan como resultado diferentes fuerzas de compresión de largo alcance sobre los cristales y las celdas unitarias. Los dos picos a 2θ cerca de 16° se ven mejor en patrones DRX de fibras lignocelulósicas con alto contenido de celulosa, como Curaua y algodón (Ornaghi Jr, Poletto, Zattera y Amico, 2014 citado por Coelho *et al.*, 2018). Por otra parte, para fibras lignocelulósicas, como en el caso de las fibras IB, detectaron la presencia de un solo pico. Los picos se superpusieron porque la celulosa está oculta por componentes amorfos y no celulósicos como lignina, hemicelulosa y celulosa amorfa (Spinacé, Lambert, Fermoselli y Paoli, 2009 citado por Coelho *et al.*, 2018). Valores del índice de cristalinidad (CrI), tamaño de cristalito perpendicular a cada uno de los tres planos principales (L) y la distancia interplanar (espaciado d) para cada plano cristalográfico. Los planos cristalográficos ($1\bar{1}0$), (110), y (200) se identifican con los índices 1, 2 y 3, respectivamente.

Miranda *et al.*, 2017 utilizaron la cristalinidad de las fibras de BCA en diferentes etapas de extracción en donde lo estudiaron mediante DRX. El CrI fue calculado a partir de la altura del pico 200 ($I_{200} = 22,6^\circ$), y la intensidad mínima se calculó entre los 200 y 110 picos ($I_{am} = 15.5^\circ$) usando la ecuación de Segal (Ecuación 1). En donde tuvieron como resultados que la cristalinidad para la caña de azúcar fue de 17%, y los materiales pretratados presentaron índices de cristalinidad entre 19% y 49%. Después del tratamiento, hubo un aumento en el grado de cristalinidad. Esto pudo ser debido a la pérdida de gran parte de la hemicelulosa y lignina por disolución, aumentando así el contenido cristalino (Zaini *et al.*, 2013 citado por Miranda *et al.*, 2017).

Santucci *et al.*, 2016 indica los valores del índice de cristalinidad (CrI) de muestras sin refinar, refinadas de Bauer y NFC para todos los procedimientos de despulpado. La disminución de CrI con el refinado mecánico corrobora estudios realizados entre estabilidad térmica y cristalinidad. Además, de la primera etapa relacionada con la pérdida de agua, la degradación térmica de las muestras de NFC de las pulpas no blanqueadas ocurre en dos eventos de pérdida de peso. En cuanto a la eliminación de componentes amorfos se confirma por el aumento de hasta un 19% en CrI de las muestras de NFC con respecto a las muestras refinadas. El tratamiento enzimático genera así materiales con mayor estabilidad térmica. Mientras tanto, HIS promueve la nanofibrilación modificando la morfología sin afectar la composición química, la estructura cristalina o la estabilidad térmica (Chen *et al.*, 2011).

Augusta *et al.*, 2018 observaron microfibrillas de celulosa no vistas anteriormente. Después del tratamiento con H_2SO_4 , observaron que las microfibrillas de celulosa eran casi el doble del ancho de la muestra pretratada con álcali a la temperatura de $160^\circ C$. Tal agrandamiento contribuyó a un mayor contacto entre las cadenas de celulosa, con un alineamiento posterior de moléculas, como lo indican los difractogramas obtenidos por DRX. El proceso de deslignificación tuvo poco efecto en la disposición local de tamaño nanométrico de las moléculas de celulosa. Sin embargo, la rigidez y la alineación paralela de las microfibrillas de celulosa se degradaron parcialmente. Estos cambios fueron seguidos por el eventual hinchamiento de las paredes celulares de las fibras. Además, en la investigación realizada por Meesupthong *et al.*, 2020, se evidenciaron valores de CrI para BCE de 35,02%, el cual aumentó a 47,15% después del pretratamiento alcalino, y se incrementó aún más después del pretratamiento enzimático con xilanasas a 50,19% lo indicó que el pretratamiento con xilanasas eliminó la hemicelulosa presente y algo de lignina, pues se creía que la acción de la xilanasas en este caso proporcionaba mejores condiciones. En comparación a lo anterior para el caso de López *et al.*, 2016, se obtuvo un porcentaje de cristalinidad de la celulosa obtenida del BCA de $55 \pm 2\%$, debido al probable contenido de algunos residuos de hemicelulosa o lignina que pueden ser una causa por la que contribuyen ligeramente a una menor cristalinidad en la celulosa de BCA.

Resultados realizados por Grond & Gupta, (2020), los patrones de DRX en términos de intensidad contra 2θ de (BF), BCA tratado con $NaHCO_3$ (BFT) y nanofibras de BCA (BFN), los picos de intensidades más altas de BF, BFT y BFN se observaron alrededor de $2\theta = 22^\circ$, lo que indica el plano cristalográfico de celulosa (200). La mayor intensidad fue mostrada por BFN seguido de BFT, que indica celulosa mejorada en cuanto a contenido. Los difractogramas de BF, BFT y BFN representaron dos picos cristalinos principales alrededor de 22° y 16° de 2θ , que es

la principal característica de la celulosa. Así, se podría concluir que las fibras, incluidas las nanofibras, tienen cristales de celulosa. Por lo tanto, los valores más altos de CrI y el grado de cristalinidad se observaron para BFN seguido de BFT y BF. Al comparar con BF, hubo 12 y 53% de mejora en el CrI respectivamente para BFT y BFN. Un alto valor de CrI imparte la alta resistencia a la tracción y módulo, y alta tenacidad y punto de fusión (Chandra *et al.*, 2016 citado de Gond & Grupta, 2020). Por tanto, se puede concluir que las nanofibras actuales, que tienen alta cristalinidad, podría proponerse para ser utilizado en aplicaciones de alta resistencia (Gond & Grupta). Por otra parte, estudios realizados por Hong *et al.*, (2017), reportaron que los difractogramas de BCA, CSE-BCA, CSE-BCA-H y CNF contenían picos fuertes a 2θ entre 16 y 22,4°. Estos picos indicaron que la morfología cristalina de la celulosa no cambio durante el tratamiento, pero que la cristalinidad de la fibra fue mejorando. Los valores de CrI de SCB, CSE-SCB, CSE-SCB-H fueron respectivamente 55.1, 58.0, 68.4%. El CrI de la fibra aumentó durante cada etapa de tratamiento, porque cada etapa eliminó progresivamente los constituyentes no celulósicos (Chandra *et al.*, 2016 citado por Hong *et al.*, 2017). Algunos estudios informan que la cristalinidad de la fibra se puede aumentar a > 90% mediante procesamiento químico (Xiang *et al.*, 2016). Sin embargo, el CrI máximo obtenido para las fibras en el estudio actual fue del 73,6%, lo que representó un incremento del 18,5% respecto al de la materia prima, Esta conclusión fue apoyada por las imágenes TEM, que mostró que las nanofibras finales tenían una relación de aspecto alta y una red fina como estructura. El CrI de los CNF finales fue del 71,2%, pero exhibió un 2.4% más bajo que CSE-SCB-H-B, esta reducción fue principalmente debido a la fuerza mecánica durante la nanofibrilación a alta velocidad de dispersión y ultrasonidos. En el caso de Rahimi *et al.*, (2019), Los resultados mostraron que el bagazo tenía una cristalinidad inferior al 40% en comparación con CNF, esto se atribuyó a la eliminación de componentes

amorfo durante la producción de CNF. El CrI del CNF no cambió sustancialmente con el tiempo de mezcla o con acetilación. El CrI de CNF acetilados fueron 63, 63 y 65% durante y los no acetilados fueron 75, 65 y 68%. En general, los resultados del estudio de DRX sugieren que la cristalinidad de CNF no es influenciada negativamente por la mezcla o por acetilación, estos resultados se asemejan a los obtenidos por Reshmy *et al.*, (2020) en donde se puede observar en la figura 2 los picos de mayor intensidad obtenidos confirman el mayor grado de cristalinidad de NC debido a la eliminación efectiva de componentes no celulósicos de la fibra. Además, se encontró que tanto los picos cristalinos como los amorfo estaban presentes en el espectro DRX. Así mismo, se encontró que el espaciado fue 5.620 para el pico a 15.76°, 3.7 para el pico a 22.3° y 4.6 para pico a 25,8°. Los picos cristalinos agudos a 15,76 °, 22,3° y 25,8° correspondieron a los planos de reflexión (101), (022) y (002) (Salama *et al.*, 2016; Mayti *et al.*, 2017 citado por Reshmy *et al.*, 2020). Los tratamientos ácidos produjeron NC más cristalino y son confirmados por los picos cristalinos agudos en los difractogramas de XRD (Widiarto *et al.*, 2017 citado por Reshmy *et al.*). El CrI se calculó utilizando la ecuación empírica segal y se encontró un porcentaje de 66,106%. Para el caso de Saelee *et al.*, (2015) El CrI de BCA fue del 59,52%, que disminuyó ligeramente al 57,58% después de la explosión de vapor. Después del pretratamiento con xilanasas, el CrI de las fibras aumentó de 57,58% a 62,91%. Estos hallazgos estuvieron de acuerdo con resultados previamente publicados que demostraron que el pretratamiento con xilanasas aumentó la cristalinidad de la pulpa de eucalipto (Roncero *et al.*, 2005 citado por Saelee *et al.*, 2015). Sin embargo, estudios realizados por Tien *et al.*, (2017), mostraron de cada tipo de fibra exhibió picos alrededor de $2\theta = 16$ y 22,5 asignados a planos (110) y (200), esto se atribuyó a los polimorfos de la celulosa I (Klemm *et al.* 2005 citado por Tien *et al.*, 2017). Una mayor tendencia hacia la cristalinidad después de cada etapa de tratamiento confirmó la eliminación de

hemicelulosa y lignina, con cifras de $49,36 \pm 0,81\%$ para fibra explotada con vapor y $51,23 \pm 0,98\%$ para fibra tratada con enzimas. La fibra blanqueada registró $56,06 \pm 1,01\%$ de CrI, la cual fue mayor que para la fibra sin tratar ($47,38 \pm 1,18\%$) debido a la eliminación de componentes no celulósicos (Saelee *et al.*, 2015). El H_2SO_4 mejoró la cristalinidad de los CNC ($68,54 \pm 1,30\%$) en comparación con la fibra blanqueada y esto puede ser interpretado como incremento en la degradación de dominios amorfos durante la hidrólisis acida (Azizi Samir *et al.*, 2004 citado por Tien *et al.*, 2017).

4.2.1.2. FTIR

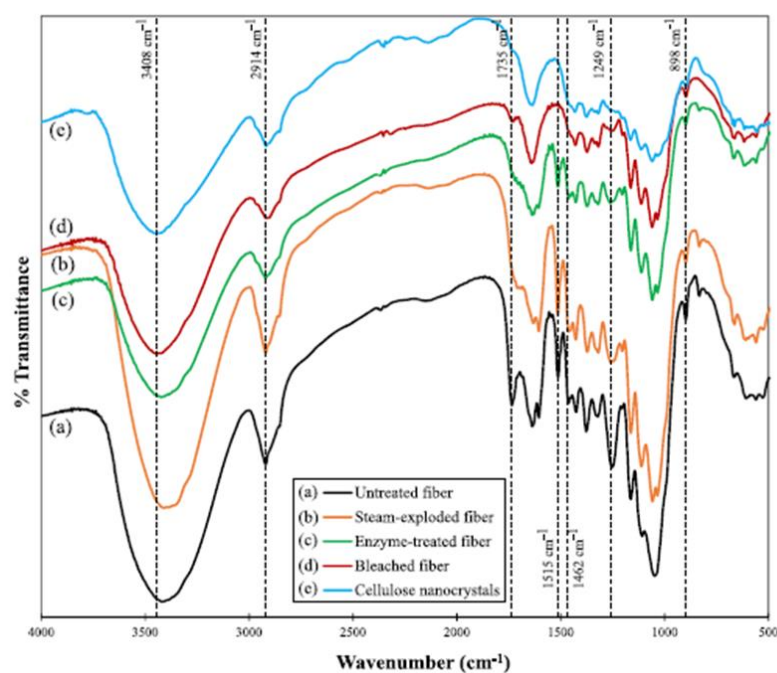


Figura 4. Resultado FTIR obtenido por Tien *et al.*, 2017.

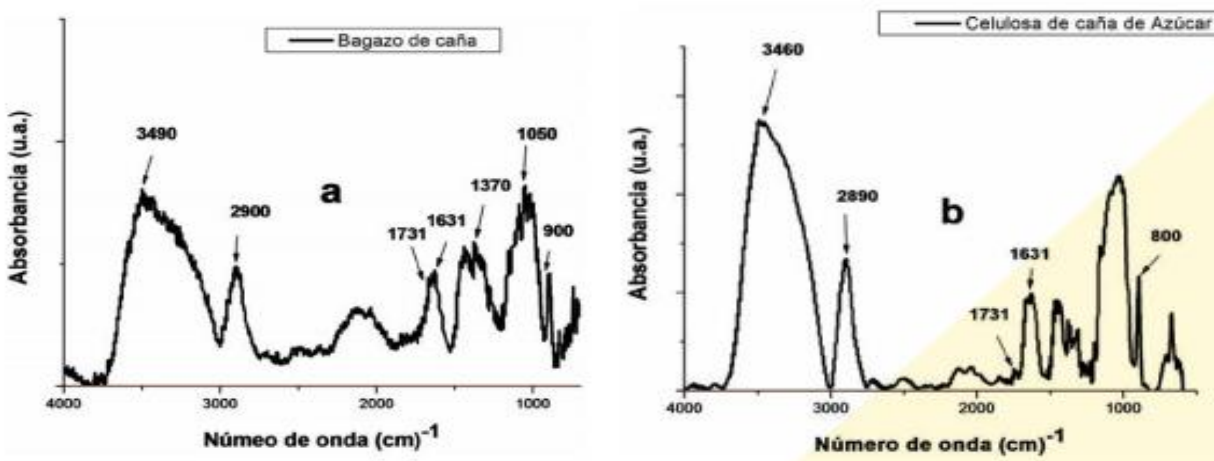


Figura 5. Resultado FTIR obtenido por López *et al.*, 2016.

En investigaciones realizada por Coelho *et al.*, 2018 los espectros FTIR de IB y las nanopartículas de celulosa que obtuvieron bajo diferentes condiciones de hidrólisis, se observaron dos regiones de absorción principales en los rangos de 2800-3600 cm⁻¹ (vibraciones de estiramiento de enlaces O-H, C-H, etc) y 750-1750 cm⁻¹ (vibraciones de estiramiento y flexión de enlaces C-H, C-O, C-O-C, etc) (Salee *et al.*, 2016; Wang, Shankar, & Rhim y col., 2017; Shankar y Rhim, 2016; Kargarzadeh *et al.*, 2015). En general, el análisis del espectro FTIR reveló que no se observaron cambios importantes entre las nanopartículas de celulosa obtenidas bajo diferentes condiciones de hidrólisis. Además, mostraron un patrón similar, que es similar al patrón de espectro reportado para los nanowiskers de celulosa obtenidos de kenaf (Kargarzadeh *et al.*, 2012) y lino (Qua *et al.*, 2011) citado por Coelho *et al.*, 2018.

A diferencia de los anteriores, en los espectros FTIR de pulpa de bagazo, BCF y TOBCF observados en la investigación de Lu *et al.*, 2020, se evidenció para las tres muestras una banda fuerte a 3347cm^{-1} correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace O-H (grupos OH). por tal motivo se determinó que no hubo diferencias significativas entre los espectros FTIR de la pulpa de bagazo y el BCF, lo cual se atribuyó a que el triturado mecánico no afectó la estructura química de la celulosa del bagazo.

Los resultados de los espectros FTIR reportados por Meesupthong *et al.*, 2020, evidenciaron un pico intenso a $3200\text{-}3500\text{cm}^{-1}$ en todas las muestras, lo que indicó la presencia de grupos OH (O-H) de celulosa, hemicelulosa y lignina en fibras sin tratar, tratadas y blanqueadas. De igual forma, se evidenció para todas las muestras la vibración característica de estiramiento del enlace C-H a alrededor de 2919cm^{-1} , a partir de ello se logró identificar las posibles diferencias y similitudes en las fibras después de las diferentes etapas de tratamiento. Por otra parte, en la figura 4, se observa los resultados del estudio de López *et al.*, 2016 los cuales fueron muy similares donde se observó un pico a 3490cm^{-1} , atribuido a las vibraciones de estiramiento, característicos de los grupos OH presentes en la celulosa. Y para la vibración de estiramiento de los enlaces C-H si se diferenció un poco pues la intensidad de la banda fue a 2900cm^{-1} . Además, se observó un pico a 800cm^{-1} lo que indica que se eliminó gran parte de la hemicelulosa y se atribuyó al estiramiento de los enlaces C-O-S debido al proceso de hidrólisis con H_2SO_4 .

Los espectros FTIR de todas las fibras y nanofibras obtenidas por Grond & Grupta, (2020), exhibieron una amplia banda de absorción en la región de 3343 a 3413 cm^{-1} . (Mandal *et al.*,

2011., Chandra *et al.*, 2016., Li *et al.*, 2014 citado por Gond & Grupta, 2020). En esta región, se encontró un pico más agudo para las nanofibras en comparación con otros, que podrían deberse a una estructura mejorada de celulosa después de la eliminación de componentes no celulósicos. Además, se observaron otros picos para todas las fibras alrededor 2918 cm^{-1} . Por otra parte, en todos los espectros se observó un pico alrededor de 1636 cm^{-1} (flexión del enlace O-H), lo cual indicó la presencia de agua absorbida. Los picos en la región $1035\text{ a }1044\text{ cm}^{-1}$ muestran la vibración de los enlaces C-O- C del anillo de piranosa. Además, también se detectaron picos en alrededor de 1370 cm^{-1} para todas las fibras los cual fue atribuido a la flexión de vibración de enlaces C-O y C-H. Además, se observó un pico a alrededor de 1735 cm^{-1} en la muestra BF correspondiente a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo del grupo acetil y urónico de hemicelulosas y ligninas (Grond & Grupta). Sin embargo, en estudios realizados por Hong *et al.*, (2017), observaron cambios en la composición química de las fibras después de diferentes etapas de tratamiento y cambios en la composición química de las fibras durante el procesamiento. Los espectros FTIR mostraron que no se introdujeron nuevos grupos funcionales en las fibras durante los procesos de tratamiento, y por lo tanto no se evidenciaron impurezas durante el procesamiento. Los espectros de SCB y CSE-SCB fueron comparables, excepto por una ligera reducción en las intensidades de los picos a 1733 y 1256 cm^{-1} para CSE-SCB, los cuales ya fueron previamente atribuidos en esta discusión. Esto indicó que la explosión continua de vapor causó una disminución en el contenido de hemicelulosa y que el blanqueo eliminó los materiales aglutinantes residuales, conduciendo a un aumento en el contenido de celulosa de la fibra. Otros estudios realizados por Rahimi *et al.*, (2019) emplearon la acetilación de la celulosa en donde los resultados identificaron que CNF30 acetilado presentó picos en el rango $1740\text{--}1745$, $1235\text{--}1240$ y a 1369 cm^{-1} . El pico centrado en $1740\text{--}1745\text{ cm}^{-1}$ fue asociado con grupos carbonilo. La

absorbancia de los picos característicos de grupos acetilo ($\text{CH}_3\text{COO}-$) y metilo ($-\text{CH}_3$) estaban representados respectivamente en el rango de 1235 a 1240 cm^{-1} y 1369 cm^{-1} (Cerqueira y Meireles 2007; da Cruz *et al.*, 2000; Hu *et al.*, 2015; Sun y col. 1999; Xie y col. 2007). La presencia de estos picos de absorción confirmó la transformación estructural provocada por la reacción de acetilación. Además, el pico de la región entre 3330 – 3336 cm^{-1} (enlaces OH) fue menor para el CNF30 acetilado en comparación con el CNF30 no acetilado indicando acetilación parcial. Allí no hubo pico de absorbancia entre 1760 - 1840 cm^{-1} , tampoco se observó un grupo carboxílico a 1700 cm^{-1} (atribuible al ácido acético como subproducto). Por tanto, la ausencia de estos picos confirma que la acetilación fue exitosa y no eran subproductos, también cabe destacar que los estudios realizados por Reshmy *et al.*, (2020) se basaron en el espectro FT-IR del BCA crudo mostrando un pico de absorción a 1252 cm^{-1} debido a la vibración de estiramiento C–O del grupo arilo de la lignina (Widiarto *et al.*, 2017 citado por Reshmy *et al.*). La vibración de estiramiento C–C del anillo aromático en la lignina se evidenció con la presencia del pico a 1151 cm^{-1} (Deepa *et al.*, 2015 citado por Reshmy *et al.*, 2020). El pico a 1738 cm^{-1} , permitió evidenciar la vibración de estiramiento del enlace C=O en hemicelulosa y lignina. El pico a 1372 cm^{-1} representó la deformación asimétrica de CH_2 (Kaushik y Singh, 2011). El pico a 1318 cm^{-1} fue debido a la flexión de enlaces C-H de la celulosa (Wong Sak Hoi y Martincigh, 2013) y también está presente en todos los espectros de muestras de fibra. La región entre 1059 y 1200 cm^{-1} representa la flexión de enlaces C-O y las bandas de deformación en celulosa, lignina y hemicelulosa residual (Kaushikand y Singh, 2011). El pico a 1164 cm^{-1} , que apareció en todos los espectros FTIR, corresponde al estiramiento asimétrico C-O-C de la hemicelulosa, celulosa y lignina. En el caso de Tien *et al.*, (2017) se puede observar en la imagen los espectros FTIR de todas las muestras exhibieron una banda ancha en la región 3500 - 3200 cm^{-1} atribuida a la

vibración de estiramiento de los grupos OH en moléculas de celulosa. (Mandal y Chakrabarty 2011; Elanthikkal *et al.*, 2010 citado por Tien *et al.*, 2017). Además, la vibración de estiramiento característica de enlaces C–H se encontró en todas las muestras alrededor de 2894 cm^{-1} . El pico a 1737 cm^{-1} se asoció con la vibración de estiramiento C = O tanto del grupo acetyl como del urónico. Los picos a 1514 y 1606 cm^{-1} (enlaces -C=C-) se relacionaron con el anillo aromático presente en la lignina (Wang *et al.* 2010). El pico a 1425 cm^{-1} se debió a la flexión del grupo CH₂- (Elanthikkal *et al.* 2010). El pico de vibración detectado entre $1365 - 1473\text{ cm}^{-1}$ en todas las muestras, se ha relacionado con la vibración de flexión simétrica y asimétrica del enlace C-H (Sun *et al.*, 2005). También Treasure *et al.*, (2018), para todas las muestras, los espectros FTIR mostraron la banda ancha a $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ (grupos OH). Los espectros también exhibieron una vibración de estiramiento C-H alrededor de 2894 cm^{-1} , que también es característico de los materiales celulósicos. El pico entre $1641-1649\text{ cm}^{-1}$ fue debido a la flexión del enlace O-H de agua adsorbida. Los picos alrededor de 1054 cm^{-1} están asociados con el anillo de piranosa vibración de estiramiento del enlace (C-O-C) (Mandal *et al.*, 2011 citado por Treasure *et al.*, 2018). Otra banda de absorción importante fue observada a alrededor de 902 cm^{-1} , la cual se asoció con los enlaces β-glucosídicos entre la glucosa 6, 9,13 (Ray *et al.*, 2003; Rosa *et al.*, 2012; Alemdar *et al.*, 2008 citado por Treasure *et al.*, 2018). Por otra parte, para la muestra M2 la banda de estiramiento del enlace O-H fue más intensa que para las otras muestras y no mostró un pico a 1250 cm^{-1} . En cuanto a M3, la mayoría de los picos aromáticos (por ejemplo, 1197 cm^{-1}) fueron de muy poca intensidad. El M4 y M5 siguieron la misma tendencia que M3, aunque los picos fueron ligeramente más intensos que M3, incluido el estiramiento O-H.

4.2.2. Propiedades térmicas

4.2.2.1. TGA

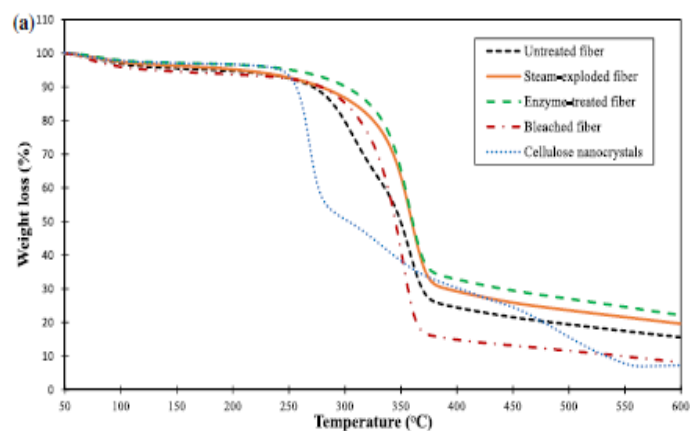


Figura 6. Resultado TGA obtenido por Tien *et al.*, 2017.

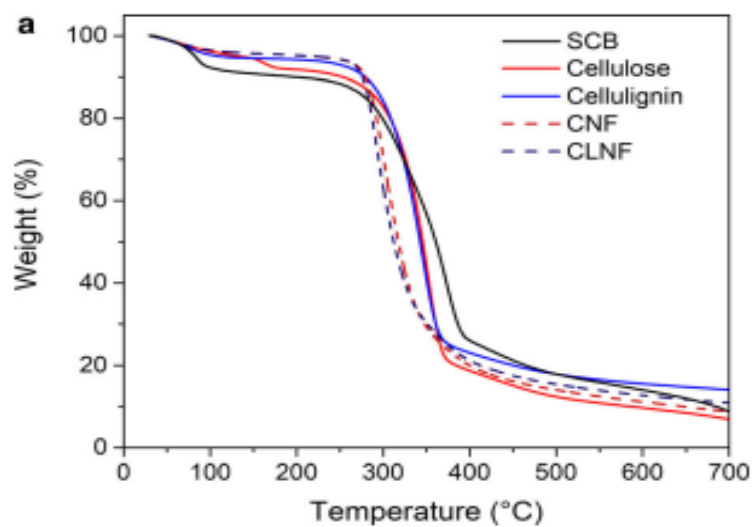


Figura 7. Resultado TGA obtenido por Messa & Faez, 2020.

Análisis de TGA realizados por Miranda *et al.*, 2017 se observó que debido a las diferencias en las estructuras químicas entre la celulosa (315-400°C), la hemicelulosa (220-315°C) y lignina ($T_{\text{ambiente}}-900^{\circ}\text{C}$), estos materiales tienen diferentes temperaturas de descomposición térmica. Numerosos estudios relacionados con la descomposición de materiales lignocelulósicos se pueden encontrar en la literatura. Por tanto, las curvas TGA para fibras tratadas y no tratadas y nanocristales de celulosa, son más altas que las del BCA pretratado, estos resultados se lograron observar en diferentes gráficas expuestas por los autores. Sin embargo, los nanocristales de celulosa eran menos estables que la pulpa blanqueada.

Según Coelho *et al.*, 2018 mostraron que en las curvas termogravimétricas y los parámetros térmicos de las fibras IB (*Imperata Brasiliensis*) y las nanopartículas de celulosa obtenidas en las diferentes condiciones de hidrólisis, como los autores esperaban, la presencia de grupos sulfato, que es muy conocido por estar ligado a la superficie de nanocelulosa aislada por hidrólisis con H_2SO_4 , disminuyó la estabilidad térmica de las nanopartículas aisladas (108°C a 125°C) en relación con las fibras IB. (200°C). En esta investigación se evidenció que, la primera etapa de degradación fue debido a la pérdida de agua, la cual ocurrió entre 25 y 125°C para todas las muestras, y correspondió a una pérdida de peso en el rango de 3.4% (IB) a nanopartículas de celulosa de 7.8% (CN) (Mtibe *et al.*, 2015). Después de la evaporación del agua, las fibras IB mostraron solo un pico de degradación de celulosa que variaba de 200 ° C a 400 ° C, lo que corresponde a una pérdida de peso del 74,3%. Por otro lado, las nanopartículas de celulosa aisladas en condiciones CN mostraron tres etapas distintas de degradación de la celulosa, mientras que las nanopartículas aisladas en condiciones CN 3-5 y CN 9 mostraron dos etapas con

temperatura oscilando entre 108 ° C y 550 ° C. Además, una de las técnicas más usadas para la obtención de CNF es la hidrólisis ácida, pues se ha demostrado que, si hay mayor contenido de algún tipo de ácido por ejemplo el H_3PO_4 , menor será la temperatura de degradación térmica de los CNF, por lo que su obtención a partir del BCA, el cual es un residuo agroindustrial se considera viable, ya que le da un valor agregado al material y así mismo soluciona muchos problemas ambientales. Dicho esto, varios estudios han usado diversas técnicas que han sido eficientes a la hora de extraer CNF a partir del BCA como en el estudio realizado por Marcondes *et al.*, 2020, en el cual buscaron extraer CNF y a la vez compararla con una pulpa Kraft de eucalipto blanqueada comercial como control BEKP, mediante hidrólisis ácida; iniciando con el pretratamiento del bagazo donde se le realizó un proceso de molienda y lavado, luego se le efectuó un proceso de deslignificación con solución de NaOH al 1%, posteriormente se blanqueó con CH_3COOH y NaClO_2 y finalmente se hidrolizó con H_3PO_4 . Los resultados de estabilidad térmica que se obtuvieron por TGA mostraron que la temperatura máxima de pérdida de material para la celulosa (T_{max}), la cual fue mayor para las CNF de BCA con 360°C, y menor para el control 354°C, en comparación con la investigación realizada por Messa & Faez, 2020, donde la T_{max} para la celulosa fue de 351°C observada en la figura 6, demostrando que el BCA en ambos estudios fue similar aunque en la literatura se conoce que la celulosa comienza su degradación térmica a partir de los 240°C, no obstante y acorde con estos resultados, la degradación de la fibra vegetal continúa ocurriendo hasta temperaturas superiores a 300°C, ya que según la literatura propuesta por Shebani *et al.*, 2008; Mezaros *et al.*, 2007 citado por Betancourt *et al.*, 2009, afirman que los materiales lignocelulósicos, algunos polisacáridos y ciertas sustancias inorgánicas pueden ser las causantes en la continuidad del proceso degradativo, y que se puede presentar a temperaturas incluso por encima de 550°C.

La estabilidad térmica mostrada en la investigación de Leão *et al.*, 2020, para todos los compuestos se observó más baja que el ABS puro, excepto la muestra CNC₂₂₀ 0.5%/ABS que era similar al ABS puro. Por lo tanto, aunque la estabilidad térmica de los nanocompuestos es mayor que la del CNC, se descomponen más fácilmente que el ABS puro. Por lo que la pérdida de peso comenzó a 100°C para los nanocompuestos y a 200°C para el ABS puro. Las T_{max} para las diferentes concentraciones se produjeron a 421°C para CNC₂₂₀ 0.5%/ABS y ABS, 402°C para CNC₁₅₀ 0.5%/ABS, 412°C para CNC₁₅₀ 1.0 %/ABS y 398°C para CNC₁₅₀ 1.5%/ABS. De acuerdo con esto, la muestra CNC₂₂₀ 0.5%/ABS fue la que presentó un comportamiento térmico similar al ABS puro por lo que es más eficiente y se puede sugerir así una mejor dispersión e interacción de CNC/ABS.

Resultados obtenidos por Grond & Gupta, (2020), La pérdida de peso inicial (hasta 100°C) se debió a la evaporación de la humedad ligeramente unida de la superficie de las fibras. Análisis FTIR, pico en 1635 cm⁻¹ debido a la vibración de estiramiento OH, en esta etapa, la degradación más baja fue mostrada por BFN debido a el contenido de humedad más bajo. La siguiente degradación comienza por encima de 200°C debido a la degradación de los constituyentes de las fibras. En el rango de temperatura 220-350°C, la degradación tiene lugar debido a la ruptura de los enlaces de celulosa y la despolimerización de hemicelulosa (Gupta *et al.*, 2016., Chandra *et al.*, 2016 citado por Grond & Gupta). En un amplio rango de temperatura (<350°C a 500°C), se produce la descomposición de la lignina (Grond & Gupta, 2020). Una amplia gama de temperaturas de degradación de lignina puede deberse a la presencia de varios

grupos funcionales de oxígeno con variaciones térmicas de estabilidad. En el rango de temperatura de 200 a 250°C, la pérdida mínima de peso fue mostrada por BFN seguido de BF y BFT. Este rango de temperatura, con mejor estabilidad térmica fue demostrado por BFN teniendo una pérdida de peso mínima de (8,86%). En el rango de temperatura (<250 a 350°C). Por otro lado, estudios realizados por Hong *et al.*, (2017) de la degradación térmica de la fibra determinada por análisis de TGA, se observó que cada componente de la fibra tenía una estructura química y propiedades diferentes, por lo que exhibió una temperatura de degradación térmica diferente. Se observaron pequeñas muestras de pérdidas de masa entre 60-110°C, lo cual se atribuyó principalmente a la vaporización en las muestras de la fibra (Ray *et al.*, 2002). La presencia de grupos acetilo hizo que la hemicelulosa fuera más susceptible a la degradación térmica que la celulosa y lignina, y exhibió una temperatura de degradación de 220–300 °C. La temperatura de degradación de la celulosa fue ligeramente más alta, generalmente en la región de 275–400 ° C (Shebani *et al.*, 2008). La estructura de anillo aromático de la lignina resultó en su degradación muy amplia en un rango de temperatura de 250–700 ° C. En este estudio, el valor de T_{max} de los CNF fue de 352.0°C, que fue ligeramente más alto que el de las fibras crudas (351.3°C) usado. Esta buena estabilidad térmica de los CNF se debe principalmente a la pequeña cantidad de reactivos químicos que usamos en el proceso de pretratamiento, y en este caso, las fibras de celulosa no sufrieron daños graves. Por otra parte, Rahimi *et al.*, (2019) realizaron experimentos para investigar si la acetilación afectó negativamente a la estabilidad térmica de los CNF modificado. Se observó que la pérdida de peso del 4% a 100°C está relacionada con la liberación de agua en las superficies de las muestras, lo cual fue también fue confirmado por análisis de FTIR a 1640 a 1645 cm^{-1} (estiramiento OH- del agua) para las tres muestras (Arbelaiz *et al.*, 2006; Brown 2001; Kargarzadeh y col. 2012). El bagazo crudo se descompuso entre 319-

378°C mientras que CNF30 y CNF30 acetilado se desintegraron en rangos de temperatura más bajos de 296–335°C y 311–356°C, respectivamente. Las curvas TGA confirmaron que el residuo que queda a 600°C (20%) para la celulosa acetilada, fue similar al del bagazo (21%), lo que sugiere que los grupos acetilados se pierden con los productos volátiles. Las temperaturas de degradación, del CNF30 y el CNF30 acetilado al 50% de pérdida de peso, se evidenciaron respectivamente a 325 y 343°C. La estabilidad térmica aumentó ligeramente con la acetilación, presuntamente debido a la sustitución de OH por grupos funcionales acetilo. La muestra de bagazo sin tratar mostró un hombro de temperatura más baja a 298°C, que probablemente se deba a la degradación de la hemicelulosa, en general, la acetilación no tuvo efectos adversos sobre la estabilidad térmica del CNF30 obtenido del bagazo, sino que mejora la estabilidad térmica (Abraham *et al.*, 2011; Maiti y col. 2013). Por otra parte, estudios realizados por Saelee *et al.*, (2015) el BCA comenzó a degradarse aproximadamente a 269°C debido a la pérdida de peso, y la curva DTG mostró un pico de descomposición mayor a 352°C (pérdida de peso 56,6%); este patrón se debió a la descomposición térmica de la celulosa. Además, la curva DTG de BCA mostró un pico a aproximadamente 280°C atribuido a la descomposición de hemicelulosa. Después de la explosión de vapor, la eliminación de hemicelulosa podría observarse por la desaparición de este pico curvo de la muestra de fibra SE-SCB. El inicio de la descomposición térmica (T_{onset}) indica el comienzo de la temperatura de degradación. Un análisis DTG de las fibras SE-BCA-X20 mostró que la T_{onset} y la T_{max} se desplazaron a 284°C (pérdida de peso 8,2%) y 357 °C (pérdida de peso 54,8%), respectivamente. La mayor estabilidad térmica de las fibras SE-BCA-X20 se debió a que estaban presentes proporciones sustanciales de lignina y hemicelulosa en las fibras SE-BCA, que se sabe que tienen menor estabilidad térmica (Shebani *et al.*, 2008 citado por Saelee *et al.*, 2015). Este hallazgo indicó que el tratamiento con xilanas

no disminuyó la estabilidad térmica de las fibras, sino que aumentó ligeramente su estabilidad térmica. Se observó un comportamiento similar en las fibras blanqueadas al comparar los efectos del tratamiento con xilanasa (o la falta del mismo) sobre la estabilidad térmica de la celulosa. La descomposición de las fibras SE-SCB-B comenzó en 294°C (pérdida de peso 10,8%) con una $T_{\text{máx}}$ de 348°C (pérdida de peso 62,0%), mientras que la descomposición de las fibras SE-SCB-X20-B ocurrió a 300°C (peso pérdida 12,6%) con una $T_{\text{máx}}$ de 347°C (pérdida de peso 64,2%). La creciente estabilidad térmica de ambas muestras de fibra blanqueada indicó que la eliminación de impurezas no celulósicas a través del proceso de blanqueo condujo a mejorar la estabilidad térmica de las fibras extraídas de celulosa, para el caso de Tien *et al.*, (2017) como se puede observar en la figura 4 obtuvo temperaturas de degradación más altas donde la degradación de la fibra sin tratar comenzó a 280°C, y la tasa de degradación alcanzó su pico a 357°C (observado en la curva DTG) mientras que las fibras blanqueadas presentaron una degradación a 328°C y logró la tasa máxima de degradación a 351°C. La degradación de los CNC ocurrió posteriormente a 250°C, mostrando un pico pequeño, y la tasa de degradación se alcanzó en 268°C (también observado en la curva DTG). La fibra sin tratar ilustró un pico en su curva DTG en aproximadamente 300°C que se asemejaba a la descomposición de hemicelulosa. En la segunda etapa, la eliminación de hemicelulosa por xilanasa resultó en la estabilidad térmica mejorada de las fibras tratadas con enzimas. Un análisis DTG de la enzima con las fibras tratadas mostraron que T_{onset} y T_{max} cambiaron respectivamente a 332°C (pérdida de peso 6.2%) y 357°C (pérdida de peso 45.28%). La misma tendencia se observó en la fibra blanqueada. El proceso de blanqueo fue priorizado a una temperatura ligeramente inferior de 328°C (pérdida de peso 10%) en comparación con la de los tratados con xilanasa y alcanzó una $T_{\text{máx}}$ de 351°C (pérdida de peso 61%) debido al diámetro de la reducción de fibras blanqueadas. El mejor tratamiento en la

estabilidad térmica podría deberse a los componentes de la nanocelulosa, que se consideraron bajos en cristales, siendo liberadas durante el proceso de blanqueo. Por otra parte, estudios realizados por Treasure *et al.*, (2018), todas las curvas parecían que siguieran un mecanismo de degradación similar con tres pasos de degradación. El segundo paso soportó el tercero, excepto M1 que indicó una resolución del segundo y tercer paso aproximadamente a 250 y 300°C. Además, M1 indicó la estabilidad térmica más pobre con el mayor contenido de carbón, mientras M5 y M3 revelaron una mayor estabilidad térmica seguida por M4 y M2 respectivamente.

Las fibras naturales, específicamente las vegetales, están constituidas por una compleja asociación de sustancias poliméricas a saber: hemicelulosa, celulosa y lignina. Por esta razón, las proporciones de estos compuestos varían de una planta a otra, en respuesta a las condiciones del entorno, esto como consecuencia de la variabilidad de las propiedades y características físicas de las fibras que no son homogéneas. Además, el proceso de descomposición térmica en ausencia de oxígeno de una sustancia lignocelulósica genera, alquitranes, gases y carbón. Se conoce que la hemicelulosa inicia los procesos de descomposición térmica cerca de los 180°C y es la responsable en gran medida de la producción de gases. La celulosa comienza la degradación en torno a 240°C y la lignina a 280°C, tal y como lo reporta (Mohan *et al.*, 2006 citado por Betancourt *et al.*, 2009)

4.2.3. Propiedades reológicas

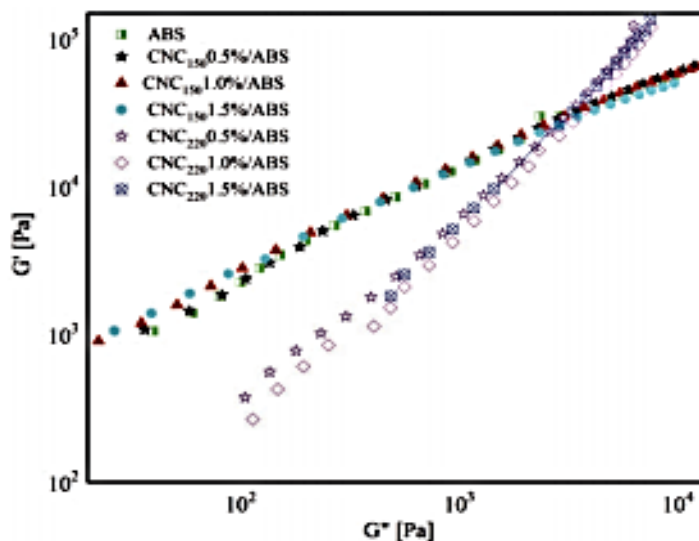


Figura 8. Resultado Reología obtenido por Leão *et al.*, 2020.

El comportamiento reológico reportado por el estudio de Lu *et al.*, 2020, para TOBCF y el hidrogel TOBCF-Zn²⁺ se evidenció que los valores de módulo de almacenamiento (G') fueron superiores a los del módulo de pérdida (G'') para la suspensión de TOBCF y los hidrogeles, lo que indica que el comportamiento para ambas muestras fue elastomérico, es decir, que su principal característica es la elasticidad pudiendo incluso, recuperar su forma luego de ser deformado. Por otra parte, según Leão *et al.*, 2020, las curvas observadas de G' y G'' Vs frecuencia angular mostradas en la figura 7, para ABS puro y CNC mostraron que, en la región de baja frecuencia, un homopolímero presentó típicamente una disminución de 2, mientras que, para ABS, que es un copolímero, la caída fue mayor a 2.20 cabe destacar que los nanocompuestos CNC₁₅₀/ABS mostraron una respuesta viscoelástica, es decir que exhibieron

propiedades viscosas y elásticas cuando fueron deformados, lo que fue similar a ABS puro, por lo tanto, se concluyó que la modificación estructural fue evidente pero no significativa. A diferencia de los nanocompuestos CNC₂₂₀/ABS que evidenciaron pendientes más pronunciadas en las curvas G' vs G'' , es decir, la elasticidad aumento de manera más significativa que la viscosidad, por lo que puede estar relacionado en parte con la adición de un sólido al polímero fundido y también debido a la interacción del constituyente, lo que podría indicar algún grado de modificación estructural.

Estudios realizados por Hong *et al.*, (2017), La suspension-1 y suspension-2 que se obtuvieron de CSE-BCAH-B y BCA-H-B, se analizaron mediante experimentos de aumento de frecuencia. Se observó que los valores de G' y G'' de la suspensión-1 fueron significativamente mayores que los de la suspensión-2. Esto sugirió que las fibras en la suspensión-1 tenían una estructura más refinada y mayor número de enlaces de hidrógeno que las fibras en la suspensión-2. Esto llevó a la suspension-1 a tener una estructura de red tridimensional más estable (Chen *et al.*, 2013). Los valores de G' de las dos muestras aumentaron al incrementar la frecuencia, pero las curvas resultantes exhibieron dos perfiles distintos. La suspensión-2 mostró características sensibles a la frecuencia en ángulo frecuencias > 20 rad/s. Esto sugirió que las fibras en estas muestras no son completamente nanofibriladas. El perfil de la suspension-1 presntó un suave incremento sin puntos de inflexión. Esto se debió a que estas fibras fueron finamente nanofibriladas por la fuerza mecánica, y formó una densa red similar a estructura debido al fuerte enlace de hidrógeno, también Rahimi *et al.*, (2019) realizó un análisis reológico para determinar la relación de aspecto. Para redes de fibra continua, el rendimiento del estrés identifica el punto en el que las fibras comienzan a moverse, superando las fuerzas de fricción (Derakhshandeh *et*

al., 2011). Por lo tanto, una suspensión de fibra diluida no muestra un límite elástico. En este estudio, el límite elástico es medido en función de la concentración de sólidos para identificar la transformación de una suspensión de fibra diluida a una suspensión de fibra completamente interconectada. Se utilizó un reómetro para medir el par en función del tiempo, el inicio del límite elástico (y por lo tanto el punto de gel) para CNF5 y CNF15 son entre las concentraciones de sólidos de 0,5 a 0,75 kg/m³, para CNF30 es * 0,75 kg/ m³ y 1 kg/m³ para CNF60.

4.2.4. Propiedades Morfológicas

4.2.4.1. Morfología

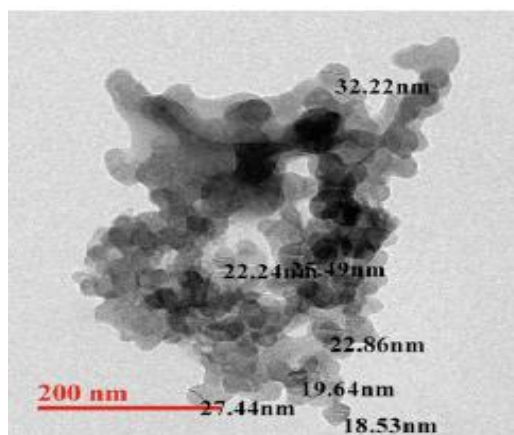


Figura 9. Resultado morfológico de las fibras de nanocelulosa obtenido por Kardam *et al.*, 2017.

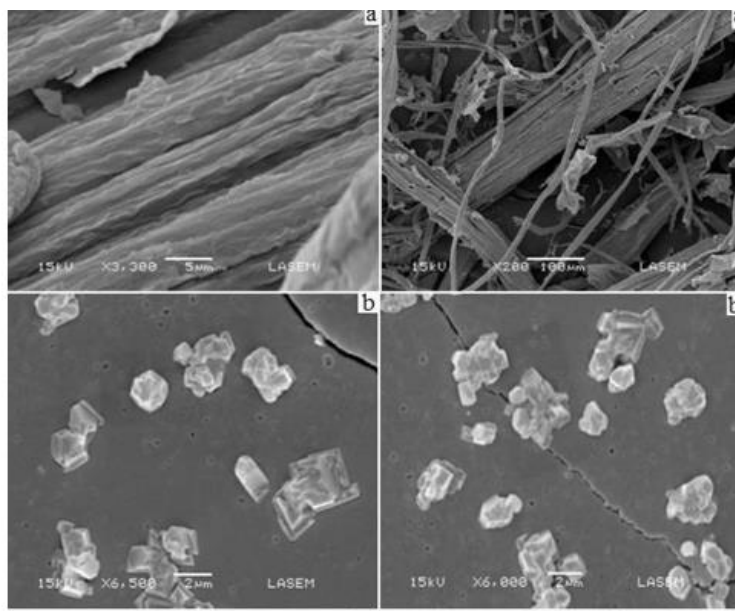


Figura 10. Resultado morfológico obtenido por Slavutsky & Bertuzzi, 2014.

Según Messa *et al.*, (2020), las medidas de morfológicas de las microfibras y micropartículas la realizaron mediante un análisis de SEM, donde las fibras de celulosa fueron parcialmente cristalinas con regiones altamente organizadas formadas por microfibrillas, las cuales están dispuestas en dirección del eje de la fibra (Mandal & Chakrabarty 2011 citado por Messa *et al.*, 2020). Luego del procedimiento realizado con NaOH/H₂O₂, los haces de las fibras se separaron evidentemente en fibras individuales, especialmente después de la deslignificación con H₂O₂, lo que sostiene que los componentes no celulósicos agrupados en celulosa se lograron eliminar parcialmente, y posteriormente del proceso realizado con NaClO₂/NaOH. Además, la remoción de no celulósicos también se observó por la presencia de fibras rotas en sus direcciones radial y axial, generando una estructura altamente desfibrilada a partir del haz de fibras.

El análisis morfológico realizado por TEM, Gan & Chow, (2018), se observaron los CNC en forma de agujas y aglomerados, teniendo un diámetro entre 5,5 y 6,2 nm y una longitud entre 235 y 300 nm. La relación de aspecto fue entre 37-55, por lo que el aglomerado de los CNC revelado por la imagen de TEM, podría estar asociado al enlace de hidrógeno intermolecular de la celulosa.

Por otra parte, el análisis de SEM mostrado en la figura 9 de CNC, Slavutsky & Bertuzzi, (2014), evidenció una estructura cristalina después del proceso realizado por hidrólisis ácida. Donde la longitud promedio (L) y el diámetro (D) de los valores de CNC y L/D que se obtuvieron de las imágenes TEM fueron respectivamente de 247.51 (± 32.34), 10.11 (± 3.36) y 24.48 nm. Además, los resultados señalaron que los CNC se encuentran dispersos homogéneamente dentro de la matriz del polímero, lo que indica que se obtuvo una buena dispersión de los nanorefuerzos. De manera similar en la investigación llevada a cabo por Espitia, (2010), determinaron el análisis morfológico por SEM, donde se observó claramente la epidermis rica en celulosa en las paredes primarias de los residuos del bagazo de fique. Luego de eliminar la lignina por oxidación de los compuestos fenilpropílicos presentes y posterior a la hidrólisis de la hemicelulosa, se evidenció una separación entre las fibras de celulosa. Por lo que en las micrografías tomadas al BCA antes y después de los tratamientos químicos, permitieron verificar que, al remover la lignina y la hemicelulosa mediante la metodología utilizada, se logran individualizar las microfibrillas de celulosa, para luego ser obtenidas mediante tratamiento mecánico las nanopartículas de celulosa. Sin embargo, en diversos estudios se ha observado una reducción en la estructura morfológica de las fibras de celulosa tras haber pasado por el proceso de hidrólisis ácida como en el caso de Bhattacharya *et al.*, (2007), donde

señalaron que la mayoría de las microfibrillas estaban en el rango submicrónico y tenían relaciones de aspecto altas, es decir, de 50-120, por lo cual los haces se observaron más grandes de los que liberaron las microfibras luego de los procesos de hidrólisis, ultrasonidos y homogeneización.

La morfología de nanofibras no tratadas, tratadas y de las fibras de BCA obtenidas en la investigación realizada por Grond & Grupta, (2020), utilizaron FESEM para examinar el cambio en la superficie de la fibra después del tratamiento y molienda. La superficie de BF fue lisa debido a la presencia de hemicelulosas, lignina, cera y aceite. Además, una gran anchura de las fibras no tratadas podría deberse a que constan de un número de fibrillas. Después del tratamiento con NaHCO_3 , se observó una superficie rugosa debido a la eliminación de estos materiales no celulósicos. El comportamiento del tratamiento con NaHCO_3 es similar al tratamiento con álcalis como NaHCO_3 disuelto en hidróxidos y ácido carbónico en la presencia de agua. La eliminación de estos componentes no celulósicos aumenta la rugosidad de la superficie y la relación de aspecto después del tratamiento con álcali. Muchos investigadores han observado un aumento en la rugosidad superficial y reducción del diámetro de las fibras, después del tratamiento, lo cual se debe a la eliminación de hemicelulosas y lignina. La lignina que se eliminó podría deberse a la despolimerización, mientras que la hidrolización podría ser causa de la eliminación de hemicelulosas. Sin embargo, en estudios realizados por Hong *et al.*, (2017) se observó que las fibras en Suspension-1 finamente preparados tenían un diámetro a nanoescala y una relación de aspecto muy alta. Además, los CNF finales tenían diámetros uniformes y fueron ligeramente aglomerados debido al enlace de hidrógeno en las nanofibras de la superficie (Lee *et al.*, 2009). La morfología en las fibras de la Suspensión-2, no estaban completamente

nanofibriladas y se pueden ver claramente fibras con diámetros superiores a 100 nm. La diferencia de fibras se debió al hecho de que el pretratamiento CSE puede destruir la pared primaria y debilitar la interacción de los grupos OH, por lo que las microfibrillas fueron expuestas a tratamientos posteriores y fueron fácilmente fibriladas a nanoescala por la fuerza mecánica final Kardam *et al.*, (2017). Los resultados de análisis TEM de las partículas de nanocelulosa preparadas mostraron morfologías esféricas en 3D y el tamaño de las partículas fue inferior a 30 nm como se puede observar en la figura 5. Las curvas de TGA para BCA y nanocelulosa muestran el patrón de degradación de los materiales con el aumento de temperatura. De los gráficos se desprende claramente que al convertir BCA en nanocelulosa se incrementó la estabilidad térmica de la biomasa, Rahimi *et al.*, (2019). El tamaño medio de todas las muestras se midió con el software Image J. La desfibrilación y despolimerización por deslignificación son visibles en las microfibras de celulosa extraídas con diámetros de alrededor de 5 μm . Los diámetros de fibra se midieron a partir de imágenes FE-SEM dibujando líneas rectas de las fibras seleccionadas según otros autores (Ellison *et al.*, 2007; Rambabu y col. 2016). Los tiempos de mezclado tuvieron un diámetro promedio más bajo en comparación a CNF no acetilado. Los resultados concluyeron que el CNF acetilado necesita menos energía para fibrilar en comparación con CNF no acetilado. El acetilado de las fibras fueron potencialmente fibriladas más fácilmente debido a su estado hinchado, por otra parte, Saelee *et al.*, (2015) realizó un análisis de SEM de las fibras obtenidas de cada una de las etapas de procesamiento para evaluar sus superficies y cambios morfológicos, en la cual mostró una superficie lisa debido a la presencia de ceras y aceite (Mandal y Chakrabarty, 2011 citado por Saelee *et al.*). La explosión de vapor eliminó las moléculas de lignina y hemicelulosa amorfa de las partes internas de las fibras mediante despolimerización y desfibrilación. Además, se observó una clara demostración

de la desfibrilación y despolimerización por explosión de vapor. El efecto positivo de la explosión de vapor incluye facilitar el acceso de la xilanas a las partes internas de las fibras SE-SCB, permitiendo así la desfibrilación de las fibras, los diámetros de las fibras variaban principalmente de 5 a 10 nm. Además, las dimensiones nanométricas de los CNF obtenidos también fueron bien respaldados por el análisis de TEM. La imagen mostró que los diámetros de la mayoría de los CNF eran menores de 10 nm.

En las diferentes graficas expuestas por Usasawan *et al.*, 2020 se muestran micrografías FE-SEM de nanocelulosa, en las cuales lograron observar las partículas de nanocelulosa en forma de esfera. El tamaño de partícula promedio de NC45 / 90, NC45 / 180, NC60 / 90 y NC60 / 180 fueron $104,87 \pm 1,35$, $43,09 \pm 1,27$, $80,39 \pm 2,06$ y $39,15 \pm 1,52$ nm, respectivamente. Se observó que el tamaño de partícula de la nanocelulosa disminuyó al aumentar el tiempo y la temperatura de hidrólisis, lo cual pudo deberse a que, durante la hidrólisis ácida, no solo se eliminaron las partes amorfas, sino que también se destruyeron algunas partes de la celulosa cristalina.

4.2.5. Propiedades mecánicas

Los diferentes pretratamientos químicos y mecánicos realizados por Santucci *et al.*, 2016 fueron aplicados a la pulpa de BCA antes de la nanofibrilación también pueden influir en las características de las fibrillas y películas preparadas. En este trabajo se investigaron los efectos de la composición química y el grado de fibrilación de las pulpas de BCA sobre las propiedades de las películas de celulosa nanofibrilada (NFC) resultantes. Se aplicaron a las fibras de BCA

varios tratamientos ecológicos que reducen el costo y simplifican el procesamiento. Se refinaron pulpas organosolv a base de etanol con diferentes contenidos de lignina residual (2,9%, 5,0% y 9,4%) mediante molienda Jokro y refinación con disco Bauer. Las nanofibrillas se aislaron mediante un tratamiento enzimático seguido de sonicación de alta intensidad. Se obtuvieron películas de NFC con morfologías similares con alta cristalinidad sin cambios en la estabilidad térmica con respecto a los materiales iniciales. El contenido de lignina residual afectó el proceso de nanofibrilación, las propiedades mecánicas de las películas NFC y modificó las interacciones película-agua. La combinación de refino mecánico y tratamiento enzimático se aplicó con éxito para producir nanofibrillas homogéneas a partir del BCA. El procedimiento experimental propuesto por Santucci *et al.*, que combina tratamientos de refinación mecánica, tratamiento enzimático suave y HIS, produjo NFC con éxito a partir de pulpas sin blanquear con diferentes contenidos de lignina residual. Independientemente de la composición química y el proceso de refinado, se obtuvieron nanofibrillas con diámetros medios similares (31+/-38nm). Las propiedades de las películas preparadas a partir de suspensiones acuosas de NFC mostraron cierta dependencia de los contenidos no celulósicos y los métodos de refinado. Las películas con menor contenido de lignina presentaron una menor capacidad de absorción de agua debido a la posibilidad de más interacciones de unión de H entre las nanofibrillas, lo que permitía mejores capacidades de empaque. Sin embargo, se encontró que los componentes no celulósicos actúan como adhesivos interfibrilares y como agentes plastificantes, promoviendo mejores propiedades mecánicas para las películas. En contraste con lo anterior, el análisis mecánico empleado por Leão *et al.*, 2020, el comportamiento observado en la parte reológica está asociado a la mayor restricción en el libre movimiento de las cadenas ABS impuesta por el CNC. Por tal motivo, la

adición de nanocristales tiene la función de poder aumentar el módulo de ABS en la región elástica, lo que comúnmente se atribuye a una buena interacción y dispersión.

Estudios realizados por Reshmy *et al.*, (2020) El espesor de las películas delgadas NC se midió utilizando un micrómetro de mano digital con una precisión de $\pm 0,002$ mm (Mitutoyo, 193-111; Kawasaki, Japón). Cada película fue medida en su centro por triplicado y se reportó el valor promedio. El espesor de las películas delgadas de NC varió con la composición del producto químico, organización molecular e interacción de los solventes con las películas durante el proceso de fabricación de la misma. El espesor de las películas estuvo en el rango de 0.02 ± 0.04 mm a 0.04 ± 0.03 mm, las propiedades mecánicas como resistencia a la tracción, módulo y el alargamiento a la rotura de las películas NC se midió de acuerdo a la norma ASTM D882-02 (Deepa *et al.*, 2016 citado por Reshmy *et al.*, 2020) utilizando una celda de carga de 100 N. Se prepararon películas delgadas utilizando el método de fundición con disolvente con diferentes composiciones de glicerol como plastificantes (15G: 100NC;30G: 100NC; 45G: 100NC; 60G: 100NCw/v) la composición de la película 45G: 100NC mostró significativamente mayor resistencia a la tracción (189,94 MPa), módulo de Young (12,540.64MPa) y resistencia al desgarro (29.34 N/mm), pero menor alargamiento a la rotura (8,92%). La mayor resistencia a la tracción de la película 45G:100NC es probablemente debido a la presencia de más interacciones intermoleculares a lo largo de las cadenas de polisacáridos en esta composición óptima.

En investigaciones realizadas por Pinto *et al.*, 2018, obtuvieron nanofibras de celulosa (CNF) a partir de BCA sin tratamientos mecánicos de alta energía, mediante oxidación mediada por TEMPO. Los autores usaron concentraciones variables de NaClO para impartir repulsión electrostática entre grupos cargados en la superficie, facilitando así la separación de fibrillas. CNF con diámetros en el rango de 3-5nm se obtuvo por oxidación de pulpa SC con NaClO a 25 y 50 mmol/g. Después de 30min de sonicación, estos CNF se descomponen en CNC por acción mecánica. Este trabajo proporcionó así una nueva vía para modular la morfología final de las partículas de celulosa mediante la combinación de una materia prima poco recalcitrante con diferentes densidades de carga superficial.

4.2.6. Rendimiento de celulosa

Tabla 1. Rendimiento de celulosa obtenido por Rahimi, 2019.

Chemical composition	Value (% d.b)	Elemental composition	Value (% d.b)
Cellulose	94	C	81.8
Lignin	4.5	O	17.1
Hemicellulose	0.5	H	0.47
Extractive	0.4	N	0.51
Ash	–	Si	0.4
		Al	0.4
		Cl	0.4
		Ca	0.1

Tabla 2. Rendimiento de celulosa obtenido por García *et al.*, 2013.

Propiedades	MCC obtenida	Normas Farmacopea
Distribución del tamaño de partículas (%)	+ 60 mesh < 1,0 + 200 mesh < 30,0	+ 60 mesh < 1,0 + 200 mesh < 30,0
pH	6,0- 7,0	5,5-7
Pérdida por desecación (%)	4.5-0-5	< 5,0
Residuos de ignición (%)	< 0,05	< 0,05
Contenido de hierro (ppm)	< 10	< 10
Sustancias solubles en agua (mg/5g)	< 12	< 12 (0,24%)
Contenido de almidón (%)	negativo	negativo
Contenido de celulosa (%)	97-100	97-100
Grado de polimerización medio (GP)	180-200	< 350

Tabla 3. Rendimiento de celulosa obtenido por Bastidas, 2016.

CELULOSA MICROCRISTALINA		
	Obtenida del bagazo de caña de azúcar	Comercial (Barros,2009)
Humedad	6,1%	No más del 7%
Cenizas	3,92%	No más del 0,5%
Celulosa	81,79 %	97%
Lignina	8,20 %	---
Solubilidad	3,16%	No más del 0,24%
Descripción	Polvo fino Casi blanco Inodoro	Polvo fino y blanco o casi blanco, inodoro

La producción de masa de nanocelulosa por medio de hidrólisis ácida se ve reflejada en cuanto a su porcentaje de rendimiento, por lo que la investigación propuesta por Aroca & Estrada, 2015, en la cual usaron materias primas como el BCA y el pseudotallo de banano, los cuales se lavaron y secaron para eliminar residuos. Además, se realizó una extracción soxhlet con alcohol al 72% para eliminar extractivos para finalmente ser hidrolizadas con H_3PO_4 ; los resultados mostraron un porcentaje de 12,66% en el BCA en comparación con el pseudotallo de banano que obtuvo un rendimiento de celulosa de 32,6%, donde se evidenció que el rendimiento

de la celulosa a partir del pseudotallo de banano fue mayor en todas las muestras, a diferencia del BCA, que se obtuvo menor rendimiento porcentual pues para el pseudotallo fue más del doble, lo que demuestra que el pseudotallo de banano es un residuo agroindustrial que también tendría excelentes resultados en cuanto a obtención y rendimiento de nanocelulosa. Además, en otros estudios como el de Ross *et al.*, (2017) y Gouveia *et al.*, (2009), se estudiaron de igual forma el rendimiento de nanocelulosa a partir del BCA, mostrando resultados para la celulosa pretratada con un rendimiento de 50% y rendimiento total de 34%; y un rendimiento de celulosa de 47,7% muy similar al rendimiento de celulosa obtenido por López *et al.*, 2016, el cual fue de 48%, observándose que fue mayor el rendimiento en estos estudios que en el anterior pues su rendimiento al ser mayor se caracteriza por tener más eficiencia.

Investigaciones realizadas por Bastidas, (2016) la celulosa microcristalina con fórmula química ($C_6H_{10}O_5$) es celulosa parcialmente despolimerizada, esta se obtuvo mediante la hidrólisis parcial de la celulosa con solución 2,5 N de HCl. Las variables cuantitativas y cualitativas analizadas en la celulosa microcristalina obtenida del BCA permitieron determinar los criterios específicos de pureza del producto elaborado, teniendo un porcentaje de humedad del 6,1%, celulosa 81,79% y solubilidad del 3,16% obteniéndose un polvo pino casi blanco inodoro el cual al ser comparado con una celulosa comercial los resultados tuvieron mayores diferencias en cuanto a la cantidad y calidad de sus componentes, también se contrasta con estudios evaluados por García *et al.*, (2013) en donde en primer lugar se realizaron procesos de prehidrólisis y cocción alcalina. La prehidrólisis se efectuó con el fin de reducir el contenido de pentosanos y cenizas del bagazo, para lograr una mejor eficiencia en el proceso posterior de extracción de lignina en la cocción alcalina. Se destaca una reducción del 75% de los pentosanos

(6%), las cenizas (0,5%) y un porcentaje de celulosa del 85-90%. Posteriormente la celulosa pura se sometió a un proceso de hidrólisis ácida con HCl en medio acuoso. En el transcurso de la hidrólisis se atacó, preferentemente, las zonas amorfas y se produjo una disminución en el grado de polimerización promedio en el tiempo, hasta un valor límite, es decir, desde 1545 que posee la pulpa de alta pureza hasta 180-200 que alcanza la celulosa microcristalina obtenida. El contenido de celulosa alcanzó una pureza del 97% y un contenido de cenizas menor al 0,05%, las metodologías empleadas en este proceso buscaron modificar químicamente el BCA obteniendo un alto porcentaje de pureza por hidrólisis ácida hasta obtener celulosa microcristalina, la cual, se utilizó como materia prima para posteriores investigaciones.

Según Coelho *et al.*, 2018 en la concentración de ácido más baja probada (50% p/p) no fue eficaz para el aislamiento de nanopartículas de celulosa. Al 50% (p/p) de ácido, solo se observaron partículas para la condición CN 3, correspondiente a el tiempo de reacción más largo (75min) y la temperatura de reacción más alta (60°C). Sin embargo, la suspensión CN 3 no mostró una buena estabilidad con un aumento de la concentración de ácido al 60% (p/p), Se obtuvieron nanopartículas para las condiciones CN 4 y CN 6. Sin embargo, en CN la suspensión tenía un color amarillento y valores bajos para temperatura inicial (T_i) y CrI. Por tanto, parece que a una concentración de ácido del 60%, la condición CN 4 es más adecuada para aislamiento de nanopartículas de celulosa a partir de fibras IB. A la concentración de ácido más alta probada (64% p/p), las tres condiciones (CN 7-9) fueron eficaces para el aislamiento de nanocelulosa. Sin embargo, la condición de CN 9 produjo una suspensión turbia y estable, y nanopartículas con el CrI más alto (64,5%), alto valor de T_i (117°C) y solo un pico de degradación de celulosa, lo que indica una sulfonación más homogénea (Teodoro *et al.*, 2011 citado por Coelho *et al.*, 2018). Por

otra parte, el proceso de pretratamiento con xilanasa juega un papel muy importante en la ruptura de los enlaces del complejo lignina-carbohidrato, eliminándolos más fácilmente y mejorando así la acción blanqueadora como fue en el caso del estudio de Meesupthong *et al.*, 2020, donde el porcentaje de contenido de celulosa tras el proceso de pretratamiento fue de $55.15 \pm 0.30\%$, ya que este tratamiento se basa en eliminar los componentes no celulósicos al escindir los enlaces de α - y β - aril éter entre la lignina y la hemicelulosa donde de igual forma destruye la estructura de la lignina.

La composición química de las fibras en los estudios propuestos por Rahimi *et al.*, (2019), donde los CNF30 mostraron que las fibras tenían 94% de contenido de celulosa, mientras que las hemicelulosas y los contenidos de lignina fueron sólo del 0,5% y del 4,5% respectivamente. Debido al alto contenido de celulosa, la acetilación de la celulosa es más probable que la acetilación de lignina o hemicelulosa, por otra parte, estudios realizados por Saelee *et al.*, (2015) investigó el uso de la explosión de vapor no catalizado y el pretratamiento asistido por xilanasa antes del aislamiento de CNF de SCB mediante homogeneización a alta presión. Las fibras SCB o sin tratar presentaron altos porcentajes de celulosa (44,55%), además de hemicelulosa y lignina (21,81% y 22,52%, respectivamente). Después de la explosión de vapor, el porcentaje de celulosa aumentó de 44,55% a 66,72% para las fibras SE-SCB y disminuyó de 21,81% a 9,95% para hemicelulosa, mientras que el contenido de lignina disminuyó ligeramente de 22,52% a 18,37%. Estos cambios ocurrieron porque la hemicelulosa fue la fracción predominante hidrolizada durante el proceso de explosión de vapor, mientras que los enlaces éter β -O-4 de la lignina fueron catalizados por el ácido acético generado a partir de los grupos acetilo asociados con la hemicelulosa a altas temperaturas (de ahí el uso del término “autohidrólisis”) (Agbor *et*

al., 2011; Kaushik y Singh, 2011; Sun *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2004b citado por Saelee *et al.*, 2015). El uso de pretratamiento asistido con xilanasas es muy importante para la mejora del proceso de blanqueamiento porque incrementa los efectos blanqueadores de los reactivos químicos.

En general, la ruta química de extracción de nanocelulosa de biomasa lignocelulósica contiene los siguientes pasos: 1) un proceso de despulpado que abre la estructura lignocelulósica, 2) un procedimiento de pretratamiento realizado para liberar celulosa removiendo lignina o hemicelulosa; y 3) hidrólisis ácida por un ácido fuerte. El BCA se puede utilizar como materia prima industrial de bajo costo, ya que puede proporcionar una solución sostenible y económica para la producción de productos de valor agregado de base biológica. Sin embargo, para lograr rendimientos significativos, generalmente es necesario pretratar la biomasa lignocelulósica antes de la extracción de nanocristales y así aumentar los costos relacionados (Oliveira *et al.*, 2016).

4.3. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática de la celulosa es una reacción de múltiples pasos que toma lugar en un sistema heterogéneo, en el cual la celulosa insoluble se fracciona en la interface sólido-líquido por la acción sinérgica de la β -1-4 endoglucanasa, β -1-4 exo celobiohidrolasas, β -1-4 glucan hidrolasas y las β -1-4 glucosidasas (Selby *et al.*, 1976; Kadam *et al.*, 2004; Kubicek, 1992; Zhang *et al.*, 2004 Citado por Salcedo *et al.*, 2012). En esta investigación, se realizó una búsqueda bibliográfica de los diferentes métodos utilizados para la obtención de nanocelulosa

a partir de la hidrólisis enzimática del BCA, con el fin de encontrar resultados viables en cuanto a costos y tiempo.

4.3.1. Diferentes Metodologías Consultadas

Campos *et al.*, (2013) llevó a cabo la hidrolización de fibras blanqueadas de BCA con una combinación de dos preparaciones enzimáticas: V (hemicélula/pectinasa) *A. aculeatus* y F (endoglucanasa) con la modificación genética del microorganismo. Los enzimas se mezclaron para obtener un efecto combinado de endocelulasa y beta-glucanasa [endo-1,3]. Las dos combinaciones aplicadas contienen la siguiente dosis de enzima por gramo de biomasa: (1) 0,1mg / g de biomasa y 0,33mg/g de biomasa para V y F, respectivamente (V2F3); (2) 10mg/g de biomasa y 33mg/g de biomasa para V y F, respectivamente (V3F4).

Michelena *et al.*, (2009) El pretratamiento se realizó partiendo de 25g de material seco en 500mL de NaOH al 3%, en autoclave a 121°C y 14 psi por 30 minutos y a la separación del licor por filtración. El sólido se lavó con agua a 80°C, se neutralizó y se secó en estufa. El filtrado se evaluó en ciclos de pretratamiento. Se estudió el efecto del hidromódulo de 1:10 y 3% de NaOH, 1:10 y 6% de NaOH y 1:20 y NaOH 3% posteriormente se realizó la hidrólisis enzimática del bagazo en donde se utilizó un complejo enzimático celulolítico Econasa-CE. Se determinó la velocidad de hidrólisis variando la enzima a diluciones entre 9×10^{-1} y 1×10^{-3} , temperaturas a 30 y 50°C, tiempo hasta 160h y el efecto de la reutilización de la enzima.

López, *et al.*, (2008) El pretratamiento consistió en el uso de aserrín el cual se mezcló durante 24h con etanol al 95%, se lavó con agua destilada, se secó a 70°C durante 24h y se almacenó a temperatura ambiente. Se probaron los métodos de pretratamiento con NaOH, H₂SO₄ y explosión con vapor. Posteriormente el material pretratado se sometió a hidrólisis enzimática, utilizando para ello un preparado comercial, Celluclast 1.5L proporcionado por Novozym de México. Se determinó el contenido de azúcares reductores en el hidrolizado por el método de Miller (1959). Los resultados se multiplicaron por 0.9 para corregir el agua añadida a la molécula durante la hidrólisis de la celulosa. Se calculó el porcentaje de sacarificación respecto a los azúcares potencialmente hidrolizable.

Salcedo *et al.*, 2011 se basaron en primer lugar en la preparación de cuatro sustratos de material lignocelulósico, hojas y cogollos provenientes de los residuos de la cosecha de caña, con el fin de evaluar el efecto o no de cada pretratamiento, sobre la hidrólisis enzimática de los mismos. El primer sustrato (S1) correspondió al control, al que no le aplicaron ningún tipo de tratamiento. En la preparación del segundo sustrato (S2), los residuos los sometieron a una delignificación enzimática con la enzima comercial Suberasa® de Novozyme. El material lignocelulósico (S3), lo obtuvieron al someter el material (S1) a un proceso de delignificación por organosolvente donde la reacción se basó en la adición de 45% de etanol y el uso de 3% de NaOH como catalizador a una temperatura de 150°C durante 120min. Por último, en la preparación del sustrato (S4), al material lignocelulósico (S1) le adicionaron alcohol etílico al 70% durante 12h, posteriormente fue sometido a un lavado con agua. El material resultante lo llevaron a una cocción a 80°C con NaOH al 4% con una relación líquido/sólido de 4, durante 3h. El material fue sometido a un lavado con suficiente agua hasta desalojar el NaOH. La muestra

resultante fue introducida por 30min en una solución de NaOCl₂ al 4% a un pH 3.8, la cual se obtuvo por la adición de una solución de CH₃COOH 6M. A las muestras tratadas se le determinó humedad, número de Kappa y el contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina, extractivos y cenizas por el método Van Soest.

Por otro lado, en la evaluación de enzimas en donde a partir de las mezclas de actividades enzimáticas que se obtuvieron a partir de cinco enzimas comerciales (Accellerase 1500, Accellerase XY, Accellerase XC, Accellerase BG, Klerzyme 150, Celluclast, OptimashTM BG, Pectinex Ultra, Rapidase ADEX, Clarex Citrus, Viscozyme L, Citrozyme Ultra), en donde usaron curvas de progreso de la reacción a partir de diferentes relaciones enzima/sustrato E/S (0.05, 0.1, 0.2, 0.3) para los sustratos pretratados (S1, S2, S3, S4). La reacción se realizó en soluciones buffer acetato a pH 4.8 con una relación sólido/líquido de 6:100 a una temperatura de 40°C y tomaron muestras a tiempos de reacción de (0, 2, 6, 9, 24 y 28 h), a las que se les determinó azúcares reductores por el método de DNS.

Qi *et al.*, 2016 en la hidrólisis enzimática para evaluar el efecto del pretratamiento de desparafinado lo realizaron utilizando 2% de BCA nativo o desparafinado y un cóctel de enzimas que consta de 29 FPU celulosa y 104 UI de xilanas por gramo de biomasa. El tampón del sistema fue acetato de sodio 100 mM (pH 5,0 ajustado con CH₃COOH). Las mezclas se incubaron a 50°C durante 120h con agitación. Cada hidrólisis enzimática fue realizada por duplicado. Las digestibilidades de celulosa y xilano se calcularon de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Digestibilidad de la celulosa} = \frac{C_{\text{glucosa}} \times 0,9}{C_{\text{celulosa}}}$$

Ecuación 4. Digestibilidad de celulosa según Qi *et al.*, 2016.

$$\text{Digestibilidad del xylano} = \frac{C_{\text{xylano}} \times 0,88}{C_{\text{xylano}}}$$

Ecuación 5. Digestibilidad del xylano según Qi *et al.*, 2016.

La metodología empleada por Liu *et al.*, 2020, inicio con el pretratamiento enzimático donde se usó tampón fosfato para preparar una suspensión de fibra BBK al 5% en peso con un pH de 7. Luego se usaron dosis de endoglucanasa de 0, 1, 10, 30, 60 y 120 UI/g para pretratar las fibras BBK. Después, se incubó a 50°C durante 2h con agitación. Brevemente, la suspensión se colocó en un baño termostático a 100°C durante 15min para desactivar la enzima. Posteriormente, se filtró la muestra a través de papel de filtro y se recogió la fracción líquida obtenida para medir los azúcares totales producidos por pretratamiento enzimático. Las muestras de fibra filtradas se lavaron con agua desionizada y luego se recogieron para su posterior fibrilación mecánica. Seguidamente, las fibras pretratadas enzimáticamente se sumergieron en 8L de agua desionizada durante 2h para obtener una suspensión de fibras hinchables con una consistencia sólida del 2%. Luego, se realizó una micro-trituración de las fibras usando una trituradora ultrafina MKZA 10-15 J a una velocidad de rotor de 1500rpm. Además, se usó una muestra de control, es decir, fibras BBK pretratadas con 0 UI/g de enzima, la cual se sometió a trituración mecánica durante 6h y se tomaron muestras a las 2, 4 y 6h para su análisis. Las fibras pretratadas enzimáticamente

con diferentes dosis de enzimas de 1, 10, 30, 60 y 120UI/g se sometieron a trituración mecánica durante 2h para obtener CNF. Posteriormente, se realizó el análisis morfológico de las fibrillas procesadas mediante SEM donde anteriormente se le habrían dispersado en agua desionizada a una consistencia del 0,1% con agitación por 1h. Luego, se depositó una gota de la suspensión de fibrillas sobre una oblea de silicio y se secó usando un sistema de liofilización Labconco. Para mejorar la conductividad de las fibrillas, las muestras de fibrillas liofilizadas se pulverizaron con una fina capa de oro antes de la obtención de imágenes con FE-SEM. Por otro lado, se le practicó el análisis de TGA utilizando un analizador (STA 449 F5, NETZSCH-Gerätebau GmbH, Alemania) en una tasa de temperatura de 10°C/min en atmósfera de nitrógeno, y para estudiar la estabilidad térmica usaron el software de análisis Proteus.

La hidrólisis enzimática empleada por Pereira & Arantes, 2020, uso como materia prima el BCA y un control con BEKP, donde el cóctel enzimático empleado para la hidrólisis fue Cellic CTec 2 (Novozymes), con un contenido de proteína total de 200mg de proteína por gramo de preparación enzimática. Luego el BCA se molió y se clasificó en un tamiz, de modo que solo se recolectaron y procesaron partículas con un tamaño de 6mm. Seguidamente, se realizó el pretratamiento de explosión de vapor (SE), en la cual el reactor SE se alimentó simultáneamente con bagazo molido a una velocidad de 10kg/h y vapor saturado a una velocidad de 25 a 30kg/ha 15bar aproximadamente a 190 ° C, con un tiempo de residencia de 15min, despresurizado y descargado. Posteriormente, se recogió, se lavó con agua industrial hasta alcanzar un contenido de sólidos del 8% (p/p) y se centrifugó a 542,1g por 10min para separar la fracción líquida de la pulpa de bagazo pretratada denominada celulignina. Después, se trató en una vasija de reactor de

350L y se calentó. Brevemente, el reactor se cargó con 18kg de celulignina con un contenido de humedad del 64% y una solución de NaOH para alcanzar una concentración final de 1.0% (p/v) en una proporción de 1:10 sólido-líquido bajo agitación constante a 80rpm a $100\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 1h. Al terminar la reacción, las fracciones líquida y sólida se separaron con un filtro y se lavó cuidadosamente de la fracción sólida, se recogió y se almacenó a 4°C . Posteriormente, se acidificó a pH 2,0 con aproximadamente 1,5L de H_2SO_4 al 98% (p/p) para la precipitación y recuperación completas de la lignina. Luego, se separó y se lavó mediante filtración en un filtro prensa con agua hasta que se alcanzó un pH final de aproximadamente 6,0, se lavó la lignina y se retiró el exceso de agua con aire comprimido y fue almacenada a 4°C y se usó con fines de balance de masa. A partir de esto, se sometió a hidrólisis enzimática bajo diferentes combinaciones de carga sólida y carga enzimática en un tampón de acetato de sodio 50mM (pH 4.8) a 50°C y 20rpm en un matraz de 50mL con un volumen de reacción de 30mL en una incubadora. Al final de la hidrólisis, se retiraron los matraces, se calentaron inmediatamente a 100°C por 10min para inactivar las enzimas y se centrifugaron a 3000rpm (1962g) y 10°C durante 15min, y los azúcares liberados en el hidrolizado se cuantificaron mediante HPLC. Además, el rendimiento de conversión de celulosa se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\%C = \frac{C_{glu} \times 0,90 \times v}{m \times C\%} \times 100$$

Ecuación 6. Rendimiento de conversión de celulosa según Pereira & Arantes, 2020.

Donde, el % C es el rendimiento de conversión de celulosa, C_{glu} es la concentración de glucosa (g/L), m es la masa de pulpa inicial (g), C% es el contenido de celulosa en la pulpa (%), 0.90 es la conversión de celulosa a factor de conversión de glucosa y v es el volumen de reacción.

Por otro lado, para la caracterización de los CNC tuvieron en cuenta el análisis AFM el cual se hizo funcionar con la técnica de contacto intermitente a una frecuencia de resonancia nominal igual a 75kHz y una constante de fuerza nominal (resorte) de 2,8N/m. Las imágenes AFM se obtuvieron del procesamiento de topografía de superficie con el software Gwyddion 2.51 (64 bits) y se trazaron 100 mediciones de diámetro para cada muestra de CNC utilizando el software Origin. De igual forma para determinar el CrI se determinó según Segal *et al.*, (1959) utilizando un difractor de rayos X Shimadzu 6000 DRX. El CrI se determinó utilizando los datos con la ayuda del software Origin. Para el análisis de estabilidad térmica se obtuvieron y analizaron con la ayuda del software Origin, para determinar la T_{onset} y la T_{max} así como la temperatura final de degradación (T_{offset}).

La metodología empleada por Aguiar *et al.*, 2020 inicio con el procedimiento de purificación el cual fue necesario para asegurar una remoción eficiente de materiales no celulósicos, especialmente lignina, que dificultan el acceso de enzimas a la celulosa, perjudicando la viabilidad de hidrólisis enzimática en 1L de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 10% (p / p) durante 1h a 80°C, bajo agitación mecánica, lavado con agua destilada hasta pH neutro, y luego se seca a 50°C durante 24h. Después de este tratamiento con álcali, las fibras se

blanquearon con una solución compuesta de igual partes (v / v) de tampón acetato (27% en peso de NaOH y 7,5% (v / v) de ácido acético glacial, en agua destilada) y clorito de sodio acuoso (1,7% en peso de NaClO₂ en agua). La proporción utilizada en este tratamiento blanqueador fue 1 g de fibra por 50mL de solución. El blanqueo se realizó a 80°C durante 4 h, con agitación mecánica. Las fibras blanqueadas fueron lavadas en agua destilada hasta pH neutro, seguido de secado a 50°C durante 24h. Después del proceso de purificación, los materiales resultantes fueron denotado bagazo de caña de azúcar tratado (TSB) y paja de caña de azúcar tratada (TSS). El TSB y el TSS se sometieron a hidrólisis enzimática en tampón citrato de sodio (0,1 M, pH 5), con una carga de sólidos del 10% (p / v) y una carga enzimática de 10mg de proteína por gramo de fibra tratada. Los experimentos se realizaron en un agitador-incubador, a 50 ° C y 200 rpm, por tiempos de 24, 48, 72 y 96h. Se realizaron tres hidrolizaciones independientes para cada biomas y tiempo de reacción. La concentración de glucosa liberada fue monitoreada usando un kit de análisis enzimático de glucosa GOOD-PAD (Labtest, Brasil) siguiendo el procedimiento proporcionado por el fabricante. La conversión enzimática de celulosa (ECC%) fue calculado usando la ecuación:

$$\text{ECC: } \left[\frac{(m_{glucosa}^T - m_{glucosa}^{oh})}{(m_{glucosa}^{oh}) * 1.11} \right] * 100$$

Ecuación 7. Factor de conversión de celulosa a glucosa según Aguiar, 2020.

Donde $m_{glucosa}^{oh}$ es la masa de celulosa (g) utilizada en las hidrolizaciones enzimáticas y $m_{glucosa}^T$ y $m_{glucosa}^{oh}$ son las masas de glucosa (g) después y antes de la hidrólisis, respectivamente. El factor 1,11 es el factor de conversión de celulosa a glucosa.

4.4. Caracterización

4.4.1. Propiedades estructurales

4.4.1.1. DRX

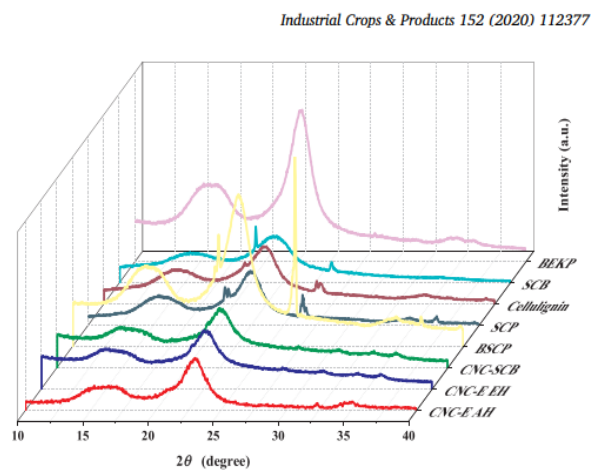


Figura 11. Obtención de DRX por Pereira & Arantes, 2020.

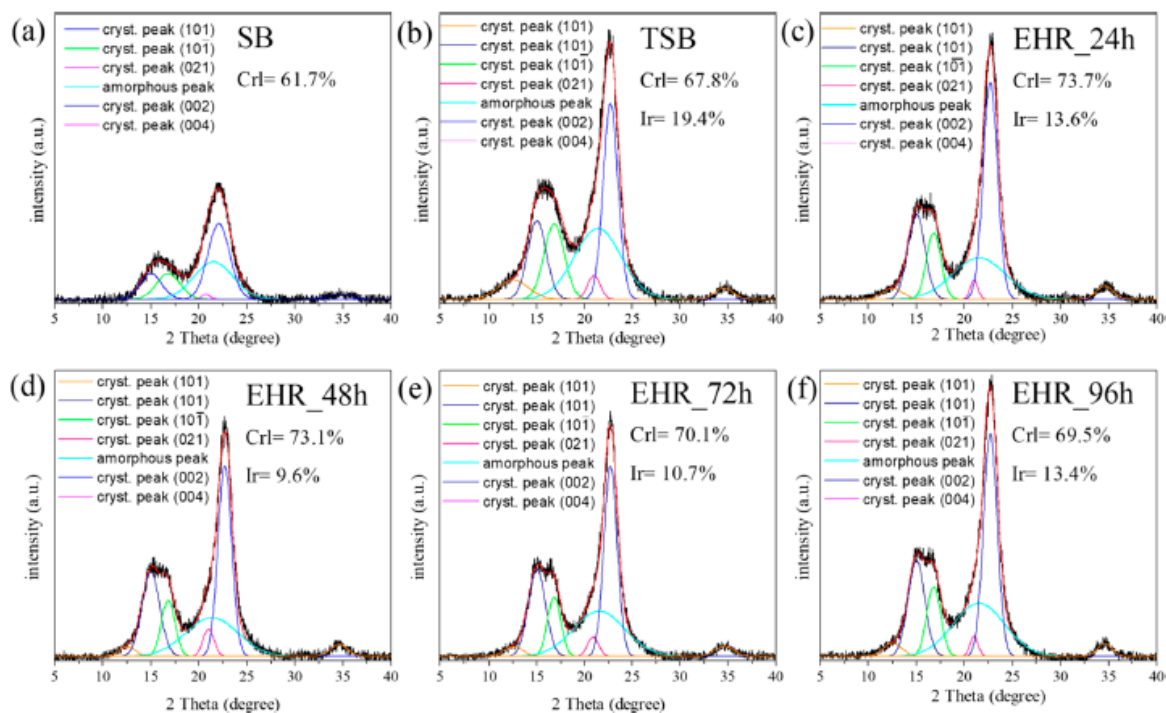


Figura 12. Obtención de DRX por Aguiar *et al.*, 2020.

Aguiar *et al.*, 2020 la hidrólisis enzimática la analizaron por DRX como se observa en la figura 12. Los CrI los estudiaron en base a las áreas bajo los picos cristalinos individuales y el halo amorfo, extraído de los perfiles de intensidad de difracción mediante un proceso de ajuste de curvas. Utilizaron el software Origin 7.5 para el ajuste de los picos del difractograma, asumiendo funciones gaussianas para cada pico, mientras que se asignó un pico ancho de alrededor de $21,5^\circ$ a los picos amorfos. Los autores eligieron la función gaussiana porque generó el ajuste de pico más cercano de los perfiles de intensidad de difracción y los valores del CrI se calcularon utilizando la Ec 1. Aguiar *et al* evidenciaron la presencia de celulosa II por la aparición de un pico a $2\theta=12^\circ$ (plano 101). La principal causa de polimorfos de celulosa I y II es la disolución de la celulosa en una solución de sal inorgánica como NaOH, según lo informado por los autores el porcentaje de celulosa II en relación con la celulosa I (Ir) alcanzó el 20%

después del tratamiento químico y disminuyó a casi la mitad después de la hidrolización enzimática para paja y bagazo, lo que indica que la hidrólisis enzimática de la celulosa II fue ligeramente superior a la de la celulosa I.

El CrI resultado del estudio de Pereira & Arantes, 2020 para BSCP fue del 94%, el cual es relativamente alto principalmente debido a la eliminación de componentes no celulósicos del SCB (hemicelulosa y lignina). En comparación con BEKP que fue de 92,6%, se observó que BSCP tiene una calidad similar en términos de la organización estructural dada mostrada por el CrI y el ancho de cristalita.

4.4.1.2. FTIR

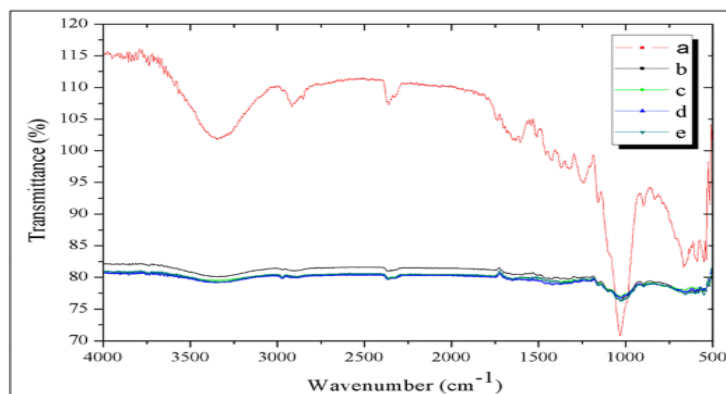


Figura 13. Obtención de FTIR por Oliveira *et al.*, 2020.

En estudios realizados por Aguiar *et al.*, 2020 las composiciones químicas de los materiales de partida y los materiales residuales después de las hidrolizaciones enzimáticas (EHR) fueron analizadas por FTIR. Los espectros FTIR para las diferentes etapas de procesamiento del BCA y paja fueron obtenidos. Para facilitar la identificación de algunos fenómenos, los autores dividieron los resultados en dos graficas, en el rango espectral de 1900 a 1200 cm^{-1} los espectros fueron similares para las dos muestras, mostrando una banda en aproximadamente 3340 cm^{-1} , correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace O-H, y una banda C-H a 2900 cm^{-1} . Estas bandas se atribuyeron a las estructuras alifáticas de la lignina, celulosa y hemicelulosas.

El análisis FTIR realizado por Oliveira *et al.*, 2020 fue utilizado para detectar la presencia del principal grupo orgánico constituyente de la lignina. El FTIR utilizó espectros de absorción en el rango 400-4000 cm^{-1} , y estos se obtuvieron utilizando el equipo Spectrum65 FT Spectrometer (Perkin Elmer, EE. UU.).

4.4.2. Propiedades térmicas

4.4.2.1. TGA

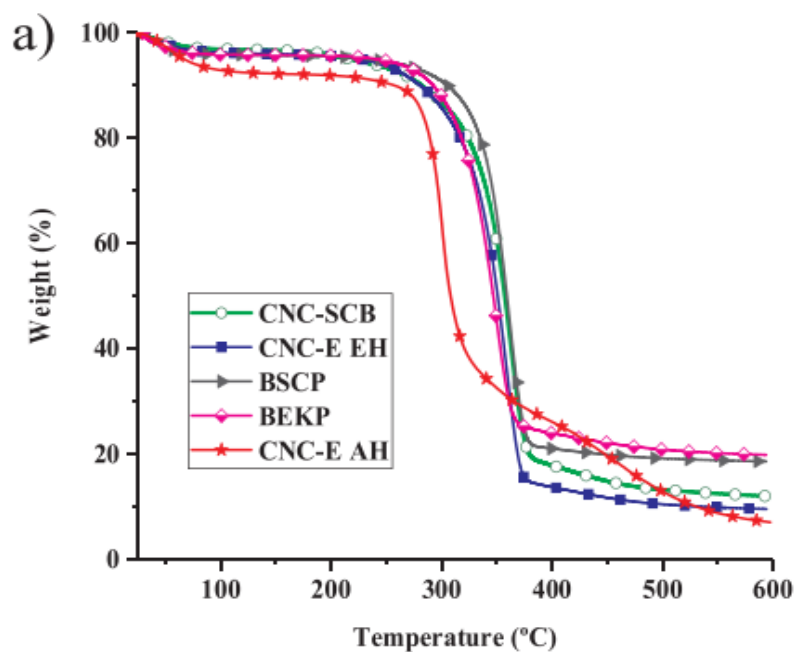


Figura 14. Obtención de TGA por Pereira & Arantes, 2020.

Aguiar *et al.*, 2020 utilizaron medidas termogravimétricas un analizador TGA Q500 (TA Instruments). Las propiedades térmicas de las nanocelulosas juegan un papel importante cuando estos materiales se utilizan como refuerzos en nanocompuestos, especialmente en el caso de compuestos procesados en fundido (Aguiar *et al.*, 2020). Para el bagazo extraído su T_{max} después de 72h de hidrólisis fue de 314,6°C y paja después de 48h fue de 316,4°C. Con el aumento en el tiempo de hidrólisis, la estabilidad térmica de ambas fibras disminuyó, lo que puede estar asociado con la reducción del tamaño de las nanopartículas. La hidrólisis enzimática es un

proceso que da como resultado nanocelulosa con peso molecular reducido, aumento de la superficie específica y grupos más activos expuestos que facilitan el inicio de reacciones de degradación térmica. Además, todas las muestras también presentaron un segundo evento correspondiente al proceso de degradación de la celulosa, que implica los procesos de despolimerización, deshidratación y descomposición de unidades glucosídicas.

La estabilidad térmica en la investigación realizada por Liu *et al.*, 2020, se evidenciaron valores de T_{onset} y T_{max} de las muestras E0-G2, E1-G2, E10-G2, E30-G2, E60-G2 y E120-G2 de CNF, las cuales fueron alrededor de 314,5 a 329,8°C y 346,8 a 356,9°C, respectivamente, lo que atribuye a que el pretratamiento enzimático provocó una ligera reducción en la estabilidad térmica de los CNF. Además, todos los CNF preparados evidenciaron una alta estabilidad térmica, que fue claramente más alta ($T_{\text{onset}} \sim 200^\circ\text{C}$, $T_{\text{max}} \sim 250^\circ\text{C}$) que los de CNF oxidados por TEMPO. Lo que se debe a un menor daño del tratamiento enzimático sobre las estructuras químicas de las fibrillas de celulosa, pues la oxidación con TEMPO conduce a la formación de grupos carboxilato de sodio que se dan a partir de los hidroxilos primarios C6 de la celulosa, lo que da como resultado una disminución significativa en el punto de degradación térmica.

4.4.3. Propiedades mecánicas

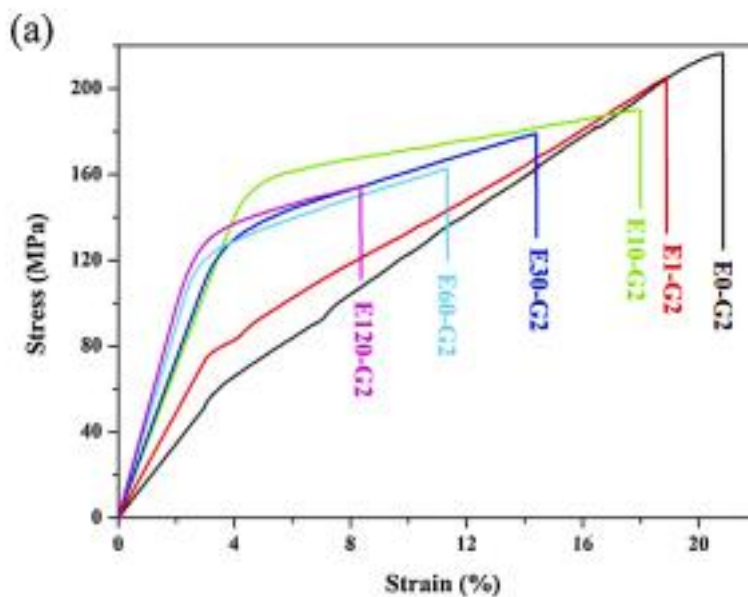


Figura 15. Resultado Prpiedades mecánicas Tensión-deformación obtenido por Liu *et al.*, 2020.

Liu *et al.*, 2020, reportaron que las propiedades mecánicas de los CNF evidenciados en la figura 10, donde podrían ajustarse regulando el proceso de trituración mecánica asistida por endoglucanasa. Como, por ejemplo, incrementar la dosis de la enzima en el pretratamiento de 0 a 120 UI / g, la resistencia a la tracción de las películas de CNF disminuyó de 216 a 154 MPa y el alargamiento a la rotura se redujo de 17,9% a 6,3%. Estos resultados son atribuibles al efecto de reducción del pretratamiento con endoglucanasa sobre la longitud y la relación de aspecto de las nanofibras, que son factores que gobiernan la resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura de las películas de CNF.

4.4.4. Problemática en la obtención

El principal problema en el uso de celulosa de BCA es la estructura cristalina que hace que sea difícil para hidrolizar (Panagiotopoulos *et al.*, 2013). Para la hidrólisis enzimática del material lignocelulósico, la mayoría de los estudios utilizaron los enzimas comerciales costosos que se suman al costo de la fermentación y por lo tanto limitan la comercialización de la producción de celulosa (Stork *et al.*, 2009). La hidrólisis enzimática se puede llevar a cabo por diversos enfoques, pero con ciertos compromisos y desventajas. Este es el caso de Salcedo *et al.*, 2011 en donde usaron enzimas comerciales para la hidrólisis de residuos de la cosecha de caña de azúcar en donde los mejores resultados se obtuvieron con el preparado enzimático E5, que contiene las siguientes actividades enzimáticas: hemicelulasas de 52.75 unidades globales/ml, celulasas total de 27.53 FPU/ml, endoglucanasas de 1782,1 CMC/ml, exoglucanasa de 0.377 UI/ml, betaglucosidasa de 550 pNPG U/ml, xilanasas de 28.23 UI/ml, galactosidasa de 7.1 UI/ml, manasa de 2.76 UI/ml y ranmanasa de 14.63 UI/ml y el sustrato S3, con un contenido de celulosa de 80.53%, hemicelulosa de 13.35, lignina 1.36 y un número de Kappa de 5.85 el cual presentó el mayor índice global de Nhidrólisis que corresponde a un valor de 117.16. El estudio les permitió concluir que el preparado enzimático E5 presentaba un gran potencial para la hidrólisis de los residuos de la caña de azúcar tratados en ese proyecto.

Campos *et al.*, (2013) estudiaron la hidrólisis enzimática en la implementación de dos nuevas enzimas, una endoglucanasa y una mezcla de hemicelulasas y pectinasas para obtener

nanopartículas celulósicas. En este estudio, el curauá y el BCA fueron desparafinados y blanqueados antes de la acción enzimática durante 72h a 50°C, y luego realizaron una sonicación. Estos reportaron un método eficaz y más fácil que permite extraer nanofibras de celulosa del BCA, lo que resultó en nanopartículas sin ocasionar algún daño en las cadenas de celulosa. Por otro lado, las fibras de curauá necesitaban una mayor concentración de enzimas y las nanofibras obtenidas mostraron una disminución de la cristalinidad lo cual, sugirieron que la estructura de la celulosa estaba comprometida.

4.4.5. Uso de microorganismos para la obtención

Oliveira *et al.*, 2020 en los ensayos de hidrólisis enzimática realizaron para evaluar la efectividad real del extracto celulolítico enzimático crudo (extracto casero) de *Aspergillus fumigatus* CCT 7873 comparándolo con un extracto celulolítico comercial de *Trichoderma reesei* (celulasa de *Trichoderma reesei* ATCC 26921). El extracto crudo de *Aspergillus fumigatus* CCT 7873 mostró un desempeño satisfactorio incluso alcanzando una tasa de hidrólisis inicial mayor que la comercial. Adicionalmente, se obtuvieron valores de RS cercanos a 1.1 mg mL⁻¹ usando ambos cócteles luego de 96 h de hidrólisis. Cabe señalar que el extracto crudo de *Aspergillus fumigatus* CCT 7873 no se purificó ni se optimizó su composición. En relación al BCA pretratado con 4% de NaOH, el valor máximo encontrado para el RS utilizando el extracto crudo fue de 6,30 mg mL⁻¹ en 96 h. El pretratamiento favoreció la acción del extracto comercial que mostró valores de RS casi el doble de los exhibidos por el extracto crudo

(11.59 mg mL⁻¹ y 6.30 mg mL⁻¹, a las 96 h). Como ya se esperaba para el BCA sin tratar, se observó una menor conversión tanto para el cóctel enzimático, alcanzando valores de 28.53% y 23.43% para el comercial como para el *A. fumigatus* CCT 7873, cuando se utilizó una carga enzimática de 7.5 FPU g⁻¹ de BCA. Obteniendo como resultados que los cócteles enzimáticos pudieron hidrolizar la celulosa de los BCA pretratados y no tratados. El pretratamiento con NaOH al 4% favoreció tanto la hidrólisis completa como la formación de CNC. Para el tiempo de hidrólisis de 48h, se obtuvo una buena distribución de tamaño y forma de partícula, formando nanocristales con un diámetro de aproximadamente 61nm. Los cóctel casero de *Aspergillus fumigatus* CCT 7873 de SSF tuvo éxito en la generación de CNC que mostró forma esférica.

Por otro lado, Luciano *et al.*, 2014 obtuvieron un perfil de actividad de carbohidrasas muy interesante en la preparación enzimática, al cultivar *A. nainiana* en tallo de banano y BCA, con altas actividades de xilanasas, pectinasas y CMCasa. La relación de actividad exocelulasa/endocelulasa de las celulasas producidas de un cultivo de 7 días varió entre 1 y 4 según el sustrato, y el mayor contenido de endoglucanasa lo consiguieron cuando se cultivó en BCA.

Tabla 4. Enzimas de importancia para la hidrólisis enzimática.

Enzima	Importancia
Pectinasa (Pectinex Ultra)	Es capaz de romper sustancias pécticas vegetales, producida por una cepa de <i>Aspergillus aculeatus</i> , además, está compuesto de una cadena linear de moléculas de ácido D-galacturónico que unidas constituyen el ácido poligalacturónico, la cual al romperse cambia las características de los alimentos (Florez, 2012).
Endoglucanasa	Intervienen en la degradación enzimática de la celulosa a glucosa (Salcedo <i>et al.</i> , 2011), cortando al azar en el interior de la celulosa amorfa, generando oligosacáridos de varias longitudes y, en consecuencia, nuevos extremos de cadena (Gutiérrez <i>et al.</i> , 2015).
Beta-glucanasa	Es excretada por <i>Trichoderma sp.</i> el cual tiene la capacidad de secretar residuos extracelulares al igual son enzimas que hidrolizan los enlaces O-glucosídicos de las cadenas de β -glucano (Sioli <i>et al.</i> , 2013).
Complejo enzimático celulolítico Econasa-CE	Es utilizada para la hidrólisis de la celulosa microcristalina y el BCA para la producción de etanol (Michelena, <i>et al.</i> , 2009).
Celluclast	Es capaz de romper los materiales celulósicos en azúcares fermentables, la reducción de la viscosidad de sustratos celulósicos solubles o el aumento en el rendimiento de productos valiosos de origen vegetal (Centro Nacional de Biotecnología, 2018).

Suberasa	Intervienen en el proceso de hidrólisis del material lignocelulósico (delignificación enzimática) (Salcedo <i>et al.</i> , 2011).
Cóctel enzimático celulasa y xilanasas	Participan en la degradación de los componentes principales de la hemicelulosa (Salcedo <i>et al.</i> , 2011).

5. Conclusiones

El BCA es utilizado como materia prima industrial de bajo costo, ya que puede proporcionar una solución sostenible y económica para la producción de productos de valor agregado de base biológica por esta razón, al ser un residuo agroindustrial es considerado como una alternativa viable ya que sus productos al ser biodegradables, ayuda a solucionar diversos problemas ambientales que se presentan principalmente por las quemas, de esta manera; se logró establecer mediante la búsqueda de información de diversos autores las propiedades de la nanocelulosa obtenida a partir del bagazo de caña de azúcar por hidrólisis ácida y enzimática, las cuales se basaron en propiedades estructurales, térmicas, reológicas, morfológicas y mecánicas, donde se evidencio el rendimiento de producción de celulosa como también otras sustancias poliméricas como hemicelulosa y lignina.

Por análisis de DRX se pudo evidenciar que la ausencia de hemicelulosa y lignina incrementan el contenido cristalino de las fibras de BCA y la nanocelulosa. Además, según los estudios en cuanto al CrI en la hidrólisis ácida se observo el porcentaje mas alto el cual fue de 74% al utilizar el H_3PO_4 . Esta es la razón de las buenas propiedades mecánicas exhibida por la nanocelulosa al aumentar el CrI. Como tal se logro observar que los tratamientos enzimáticos presentan mejores CrI que los de hidrolisis ácida.

Los resultados de análisis de FTIR presentados por los diferentes autores, permitieron evidenciar que en algunos casos la separación de la celulosa de la lignina y hemicelulosa no fue

completa, ya que se pudo evidenciar respectivamente la aparición de picos debidos a vibraciones del estiramiento de enlaces C-C de anillos aromáticos y de grupos carbonilos. La técnica de FTIR es importante para inferir sobre la pureza de la celulosa, ya que permite la identificación de grupos funcionales presentes en los diferentes compuestos.

Los resultados de análisis térmico muestran que la estabilidad térmica del BCA es dependiente del número de componentes, la estabilidad de ellos y del tipo de tratamiento hidrolítico al que sea sometida la BCA. Además, la estabilidad térmica de la nanocelulosa depende del tratamiento empleado para obtenerla, ya que entre más interacciones existan a través de los enlaces de hidrogeno, esta será mayor. Por otra parte, también se permitió evidenciar que, si la nanocelulosa no es completamente purificada, entonces se pueden presentar pequeñas cantidades de hemicelulosa y lignina, lo cual hará que se presenten más temperaturas de descomposición térmica en los termogramas, pues la estabilidad térmica de ellos es diferente a la celulosa.

Los resultados reológicos indican que la nanocelulosa tiene un comportamiento viscoelástico y la reducción en los módulos está asociada con la disociación de los enlaces de hidrogeno, lo cual ha sido reportado por algunos estudios en este trabajo.

Mediante análisis de SEM y TEM se pudo evidenciar la presencia de agregados de celulosa, lo cual se atribuyó a la fuerte interacción entre los grupos OH de ésta. Además, la eliminación de componentes no celulósicos aumenta la rugosidad de la superficie y la relación de aspecto

después del tratamiento con álcali. Por análisis de FE-SEM, se observó que el tamaño de partícula de la nanocelulosa disminuyó al aumentar el tiempo y la temperatura de hidrólisis, lo cual pudo deberse a que, durante la hidrólisis ácida, no solo se eliminaron las partes amorfas, sino que también se destruyeron algunas partes de la celulosa cristalina.

El método de obtención de nanocelulosa por hidrólisis ácida ha presentado mejores valores de CrI que los obtenidos por hidrólisis enzimática. Esto indica que la nanocelulosa obtenida por hidrólisis ácida, presenta mejores propiedades mecánicas. Este resultado es importante ya que la metodología química es más rápida que la enzimática y esto ayuda a que los tiempos de producción sean menores.

El uso de enzimas comerciales como única alternativa para los procesos de hidrólisis enzimática; aunque esta alternativa tenga la desventaja del elevado costo que acarrea el uso de estas, es una de las opciones mayores usadas en proyectos de investigación, los enzimas utilizados en este proceso son obtenidas de microorganismos con la habilidad de degradar macromoléculas como la celulosa. Uno de los microorganismos productores es *Trichoderma*, el cual contiene un sistema enzimático con diferentes clases de enzimas comerciales, las cuales actúan sinérgicamente para degradar la celulosa a glucosa. Por otra parte, es importante mencionar la hidrólisis ácida la cuál es otra de las técnicas de mayor importancia descrita y usadas por diversos autores. Donde, en las diferentes investigaciones propuestas se lograron obtener rendimientos significativos de un 94% de celulosa, es por esto que es necesario pretratar la biomasa lignocelulósica antes de la extracción de nanocristales y así aumentar su producción.

6. Recomendaciones

Se recomienda en posteriores estudios la aplicación a nivel de laboratorio de la hidrólisis enzimática, ya que no requieren de un reactivo químico y son energéticamente eficaces; generando un óptimo desarrollo a las condiciones operativas siendo viables y rentables.

En base a los resultados obtenidos en los aportes bibliográficos, se recomienda ampliar la búsqueda de información de acuerdo a los usos y aplicaciones de la nanocelulosa en diferentes procesos industriales.

Referencias bibliográficas

Abello, A., Bassi, A. (2006). Un Caribe por fuera de la ruta de la Plantación, Memorias de la cátedra del Caribe Colombiano. San Andrés: Universidad Nacional de Colombia (sede Caribe) - Revista No 35 Observatorio del Caribe Colombiano, 191 pp. En: http://www.ocaribe.org/downloads/catedra_virtual/articulo_abellobassi.pdf A.

Abraham E, Deepa B, Pothan L, Jacob M, Thomas S, Cvelbar U, Anandjiwala R (2011) Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibres: a novel approach. *Carbohydr Polym* 86:1468–1475.

Acofarma Distribuidución, S.A. (2010). acofarma. Recuperado el 12 de Agosto de 2015, de http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/44860a121a42ce3c7dc4934b988bfbdac3249a12e6b/main/files/Celulosa_microcristalina.pdf

Aguilar, N. (2007). Análisis de la capacidad de drenado de celulosa de bagazo de caña de azúcar. Facultad de ciencias biológicas y agropecuaria. Universidad veracruzana. Veracruzana, México.

Aguiar, J.; Bondancia, T.; Claro, P.; Mattoso, L.; Farinas, C. & Marconcini, J. (2020). Enzymatic Deconstruction of Sugarcane Bagasse and Straw to Obtain Cellulose Nanomaterials. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 8, 2287–2299. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06806>

Alcivar, B. (2011). EntreTintas. Recuperado el 27 de febrero de 2015, de <http://entretintas.blogspot.com/2011/11/5-mayores-cultivos-del-ecuador.html>

Alemdar, A. and M. Sain, Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. *Composites Science and Technology*, 2008. 68(2): p. 557-565.

Arbelaz, A., Fernandez, B., Ramos, J., Mondragon, I. (2006). Thermal and crystallization studies of short flax fibre reinforced polypropylene matrix composites: effect of treatments. *Thermochim Acta* 440:111–121

Aroca, M. & Estrada, P. (2015). Estudio comparativo de la celulosa obtenida a partir del pseudotallo de banano con la obtenida de bagazo de la caña de azúcar, empleando la misma metodología (trabajo de titulación presentado como requisito previo para optar el grado de químicos y farmacéuticos). Universidad de Guayaquil, Ecuador.

Asocaña. (2015). Sector Agroindustrial de la caña. Recuperado de <https://www.asocana.org/publico/info.aspx?Cid=215>

Awal, A., S.B. Ghosh, and M. Sain, Development and morphological characterization of wood pulp reinforced biocomposite fibers. *Journal of Materials Science*, 2009. 44(11): p. 2876-2881.

Azizi Samir, M.A.S., F. Alloin, and A. Dufresne, Review of Recent Research into Cellulosic Whiskers, Their Properties and Their Application in Nanocomposite Field. *Biomacromolecules*, 2005. 6(2): p. 612-626.

Bai Huang., Hui He., Hao Liu., Yue Zhang., Xiaodong Peng., Bingcheng Wang., 2020. Multi-type cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse and their nanohybrids constructed with polyhedral oligomeric silsesquioxane. www.elsevier.com/locate/carbpol

Barthas, B. (1997). De la selva al naranjal (transformaciones de la agricultura indígena en la Huasteca potosina) en revista de geografía agrícola 183-198 pp.

Barthas, B. (1996). Ajuste estructural y recomposición de la agricultura regional En: estudios de la agricultura mexicana. no. 24-25, 99-105 pp.

Barzaga, P., Vega, R., Tillán, J., Martín, N., Carrillo, C., & Guerra, I. (2004). Actividad antiulcerosa y toxicidad aguda oral de celulosa microcristalina suspensión al 12 %. Revista Cubana de Farmacia.

Bastidas, V. d. C. F., 2016. Envoltura comestible a base de celulosa microcristalina de bagazo de caña de azucar, Ibarra: s.n.

Belelli G, Damiani D., Castellan J. (2004). Effect of a Lewis acid additive on active sites formation in zirconocene catalyst systems: a DFT study. En: Journal of Molecular Catalysis A: Chemicals. (208): p. 147-158

Benavides, V. (2014). La caña de azucar. Recuperado de <https://es.slideshare.net/valebenap/la-cao-de-azcar-38215961>

Betancourt, S.; Gañán, P.; Jiménez, A. & Cruz, L. (2009). Degradación térmica de fibras naturales procedentes de la calceta de plátano (estudio cinético). Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, S1 (1): 215-219.

Bhattacharya, *et al.*, (2007). Isolation, preparation and characterization of cellulose microfibers obtained from bagasse. Recuperado de:
file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/bhattacharya2008.pdf

Boatella, J. (2004). Estructura y propiedades de las proteínas. Recuperado de https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/40009464/proteinas_09.pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DProteinas_09.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20190609%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20190609T044850Z&X-Amz-Expires=3600&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Signature=de246044b974b6cf39d3937f168d42f067285e7755847db494304722b0a755c9

Brinchi, L.; Cotana, F.; Fortunati, E. & Kenny, J. (2013). Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications. *Carbohydr. Polym.* 94(1). 154-169.

Brown ME (2001) *Introduction to thermal analysis: techniques and applications*, vol 1. Springer, Pretoria.

Carchi, D. M., 2014. *Aprovechamiento de los Residuos Agrícolas provenientes del cultivo de Banano para obtener Nanocelulosa*, Cuenca: s.n.

Castells, X. (2012). *Reciclaje de residuos industriales*. España: Ediciones Díaz de Santos

Cataño, E. (2009). Obtención y caracterización de nanofibras de celulosa a partir de desechos agroindustriales (trabajo de grado presentado para optar al título de ingeniero químico).

Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

Centro Nacional de Biotecnología. (2018). Celulasa. Recuperado de:<http://www.ncbe.reading.ac.uk/materials/enzymes/celluclast.html>

Cerqueira, D., Meireles, S. (2007). Optimization of sugarcane bagasse cellulose acetylation. *Carbohydr Polym* 69:579–582

CETIM. (2019). Centro tecnológico de Investigación Multisectorial. Recuperado de <http://cetim.es/>

Chavez, G. L., (2018). Aplicaciones de la nanocelulosa obtenida del maguey. Universidad autónoma de nuevo león.

Chandra, N. George, S. (2016). Narayanankutty, *Carbohydr. Polym.*, 142, 158

Chen, P., Yu, H., Liu, Y., Chen, W., Wang, X., Ouyang, M. (2013). Concentration effects on the isolation and dynamic rheological behavior of cellulose nanofibers via ultrasonic.

Chirayil, C., Joy, J., Mathew, L., Mozetic, M., Koetz, J., Thomas, S. (2014). Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from *Helicteres isora* plant. *Ind. Crops Prod.* 59, 27–34.

Ciolacu, D., Kovac, J., Kokol, V., 2010. The effect of the cellulose-Binding domain from *Clostridium cellulovorans* on the supramolecular structure of cellulose fibers. *Carbohydr. Res.* 345, 621–630.

Coelho, K., Cornelis, H., Milanese, C., Ornaghi, H. (2016). Caracterización de una nueva fibra lignocelulósica de Brasil, *Imperata brasiliensis* (satintail brasileña) como fuente alternativa para la extracción de nanocelulosa (en línea). Taylor & Francis.

file:///D:/Usuario/Documents/INGENIERA%20BIOTECNOLOGICA/G.V%20BIODEGRADABILIDAD%20DE%20POLIMEROS/BRAZIL%20DE%202016.pdf; consulta: junio de 2019.

Coelho, K., Cornelis, H., Hilario, M., Cerqueira, M., Arantes, V. (2018). Preparation of nanocellulose from *Imperata Brasiliensis* grass using Taguchi Method. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.055>

Conabio. (2009). Catálogo taxonómico de especies de México. 1. In Capital Nat. México. CONABIO, Mexico City.

Conpes, (2016). Política Nacional para la Gestion Integral de Residuos Sólidos. Recuperado de <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Conpes/Econ%C3%B3micos/3874.pdf>

Cury, R., Katia, M., Sc. Aguas, M., Yelitza, M., Sc, Martinez, M., Ana Esp, Olivero, V., Rafael, M., Sc, Chams Ch, Linda. (2017). Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Rev Colombiana Cienc Anim* 2017; 9 (Supl):122-132. recuperado de <http://www.recia.edu.co>

Da Cruz, S., Pasquini, D., Cerqueira, D., Prado, S., De Assunc, a ã o RMN. (2000). Water flux through cellulose triacetate films produced from heterogeneous acetylation of sugar cane bagasse. *J Membr Sci* 177:225–231.

Derakhshandeh, B., Kerekes, R., Hatzikiriakos, S., Bennington, C. (2011). Rheology of pulp fibre suspensions: a critical review. *Chem Eng Sci* 66:3460–3470

Elanthikkal, Silviya, Unnikrishnan Gopalakrishnapanicker, Soney Varghese, and James T. Guthrie. 2010. Cellulose microfibrils Fig. 9 Cell viability results (mean value) of CNCs, negative and positive control (bars represent standard deviation of the mean) *Sugar Tech* 123 produced from banana plant wastes: Isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers* 80 (3): 852–859. doi:10.1016/j.carbpol.2009.12.043.

Ellison C., Phatak A., Giles D., Macosko C., Bates, F. (2007). Melt blown nanofibers: fiber diameter distributions and onset of fiber breakup. *Polymer* 48:3306–3316

Estrada, P. & Aroca, M. J. C., (2015). Estudio comparativo de la celulosa obtenida a partir del pseudotallo de banano con la obtenida de bagazo de la caña de azúcar, empleando la misma metodología, Guayaquil: s.n.

Estrada, C. (2010). Celulosa. Universidad Nacional. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Celulosa_27101.pdf

Espitia, H. (2010). Aislamiento de nanofibras de celulosa a partir de residuos agroindustriales de fique y caña de azúcar, con potencial aplicación en reforzamiento de polímeros termoplásticos (trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Magíster en Ciencias-Química). Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

FAO. (2019). Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. Recuperado de <http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq6/es/>

Farinas, C., Marconcini, J., Mattoso, L., (2018). Enzymatic Conversion of Sugarcane Lignocellulosic Biomass as a Platform for the Production of Ethanol, Enzymes and Nanocellulose. *J. Renew. Mater.*, Vol. 6, No. 2, February 2018.

Felipe Perafán G. (2009). “Manual de recomendaciones técnicas del cultivo de caña de azúcar. Revista instituto nacional de transferencia de tecnología agropecuaria”. Cali Colombia.

Ferrer, Y., Rodríguez, M., Álvarez, M., Dustet, J., Duque, A., Ibáñez, M., Tortoló, K. (2011). Selección de hongos aislados de bagazo de caña de azúcar con actividad celulosa sobre celulosa cristalina para posibles aplicaciones industriales. ICIDCA. 45, file:///D:/Usuario/Documents/INGENIERA%20BIOTECNOLOGICA/G.V%20BIODEGRADABILIDAD%20DE%20POLIMEROS/METODOLOGIA%20BUENA.pdf
consulta: junio de 2019.

Ferreira, E (1996). Purification and characterization of a beta-glucosidase from solid-state cultures of *Hemicella grisea* var *thermoidea*. *Can J Microbiol* 42:1–5.

Filson, P.; Dawson, B. & Schwegler, D. (2009). Enzymatic-mediated production of cellulose nanocrystals from recycled pulp. *Green Chem.* 11(11), 1808-1814.

Fotouh, D., Hassan, M., Shokry, H., Roig, A., Azab, M. & Kashyout, A. (2020). Bacterial nanocellulose from agro-industrial wastes: low-cost and enhanced production by *Komagataeibacter saccharivorans* MD1. *Scientific Reports*. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60315-9>

Florez., F., (2012). Evaluación de la acción enzimática de Pectinex® Ultra SP-L en tres tiempos de incubación y dos diluciones para obtención de jugo clarificado de tamarindo (*Tamarindus indica L.*). recuperado de:
<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1003/1/AGI-2012-T017.pdf>.

García Hortal J. A. (2007). Fibras papeleras Barcelona. Edicions UPC

Gan, I. & Chow, S. (2018). Synthesis of phosphoric acid-treated sugarcane bagasse cellulose nanocrystal and its thermal properties enhancement for poly(lactic acid) nanocomposites. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*. DOI: 10.1177/0892705718772866

Gaoxiang, Q., Fen, P., Lian, X., Xiaoqing, L., Chao, H., Hailong, L., Xuefang, C., Xinde, C., (2017). Extraction and characterization of wax from sugarcane bagasse and the enzymatic hydrolysis of dewaxed sugarcane bagasse. recuperado de: 10.1080/10826068.2016.1224246

Gardner, D., Oporto, G., Mills, R., *et al.*, (2008). “Adhesion and surface issued in cellulose and nanocellulose”, *Journal of Adhesion Science and Technology*, vol 22, no. 5-6, pp 49-60.

Gil A. (2005). Tratado de nutrición. Tomo 1. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Acción Médica. Madrid.

González Mañas J. M. (2016). *Bioquímica y Biología Molecular*. Universidad del país vasco, España.

Gond, R., Gupta, M. (2020). A novel approach for isolation of nanofibers from sugarcane bagasse and its characterization for packaging applications. *Society of Plastics Engineers*. DOI: 10.1002/pc.25788.

Gouveia, ER., do Nascimento, RT., Souto-Maior, AM. & Rocha, GJD. (2009). validation of methodology for the chemical characterization of sugar cane bagasse. *Quim nova* 32:1500–1503.

GRIGORIOU A. Straw–wood composites bonded with various adhesive systems. En: *Wood Science Technology*. 2000 (34): p. 355–365.

Gutiérrez, I.; Moreno, N. & Montoya, D. (2014). *Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos*. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D. C., Colombia.

Gutiérrez, I.; Moreno, N. & Montoya, D. (2015). *Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(1), 1–12. DOI: 10.1016/j.riam.2013.10.009

Hong, Y., Yu, T., Gang, W., Tao, P., Zhi, H., Chun, X., Xing, X. (2017). Characteristics and environmentally friendly extraction of cellulose nanofibrils from sugarcane bagasse. *Science Direct*, 11: p. 285–291.

Hoyos L, *et al.* (2009). Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. *Fungal Genetics and Biology*, 46, 615– 631.

Hu, F., Lin, N., Chang, P., Huang, J. (2015). Reinforcement and nucleation of acetylated cellulose nanocrystals in foamed polyester composites. *Carbohydr Polym* 129:208–215

Jolivet, C. (2001). Les phénols de la lignine et le ^{13}C , traceurs de l'origine des matières organiques du sol. *En: Earth y Planetary Sciences*. 2001 (333): p. 651–657.

Jonoobi, M., Khazaeian, A., Tahir, P., Azry, S., Oksman, K. (2011). Characteristics of cellulose nanofibers isolated from rubberwood and empty fruit bunches of oil palm using chemo-mechanical process. *Cellulose* 18, 1085–1095.

Kardam, A., Rajawat, D., Kanwar, S. (2017). Enhanced Removal of Cationic Dye Methylene Blue from Aqueous Solution Using Nanocellulose Prepared from Agricultural Waste Sugarcane Bagasse. Springer International Publishing Switzerland, 178, DOI 10.1007/978-3-319-29096-6_4.

Kargarzadeh H, Ahmad I, Abdullah I, Dufresne A, Zainudin SY, Sheltami RM (2012) Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers. *Cellulose* 19:855–866

Kaushik, A., Singh, M. (2011). Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from wheat straw using steam explosion coupled with high shear homogenization. *Carbohydr. Res.* 346, 76–85.

Khatri, Z., et al., Cationic-cellulose nanofibers: Preparation and dyeability with anionic reactive dyes for apparel application. *Carbohydrate Polymers*, 2013. 91(1): p. 434-443.

Kumar, A., Lee, Y., Kim, D., Rao, K., Kim, J., Park, S. (2017) Effect of crosslinking functionality on microstructure, mechanical properties, and in vitro cytocompatibility of cellulose nanocrystals reinforced poly (vinyl alcohol) /sodium alginate hybrid scaffolds. *Int J Biol Macromol* 95:962–973. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.085>

La opinión. (2015). Productores de caña le buscan el dulce al mercado. Recuperado de: <https://www.laopinion.com.co/productores-de-cana-le-buscan-el-dulce-al-mercado>

Lam, M., Chollakup, R., Smitthipong, W., Nimchua, T. & Sukyai, P. (2017). Utilizing cellulose from sugarcane bagasse mixed with poly(vinyl alcohol) for tissue engineering scaffold

fabrication. *Industrial Crops and Products* 100, 183–197.

DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.031>

Lee, C., Grenier, C., Meijer, E., Schenning, J., (2009). Preparation and characterization of helical self-assembled nanofibers. *Chem. Soc. Rev.* 38, 671–683.

Leaño, R., Jesus, L., Bertuoli, P., Zattera, A., Maia, J., Menezzi, C., Amico, S. & Luz, S. (2020). Production and characterization of cellulose nanocrystals/ acrylonitrile butadiene styrene nanocomposites. *Journal of Composite Materials* 0(0). DOI: 10.1177/0021998320927773

Liu, C., Li, M., Mei, C., Xu, W. & Wu, Q. (2020). Rapid Preparation of Cellulose Nanofibers from Energy Cane Bagasse and Their Application as Stabilizer and Rheological Modifier in Magnetorheological Fluid. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, Just Accepted Manuscript. DOI: 10.1021/acssuschemeng.0c02904

Liu, X., Jiang, Y., Wang, L., Song, X., Qin, C. & Wang, S. (2020). Tuning of size and properties of cellulose nanofibers isolated from sugarcane bagasse by endoglucanase-assisted mechanical grinding. *Industrial Crops & Products* 146, 112201. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112201>

Li, L., Wang, D., Li, Y., Cheng, B. (2014). Adhikari, *Carbohydr. Polym.*, 102, 136.

Liu C., Ren L., Xu F, Liu J., Sun J., Sun R. (2006). Isolation and characterization of cellulose obtained from ultrasonic irradiated sugarcane bagasse. *J Agric Food Chem* 54:5742–5748

López, J., Soto, N., Rutiaga, O., Medrano, H. & Arévalo, K. (2008). Optimización del proceso de obtención enzimática de azúcares fermentables a partir de aserrín de pino. Instituto Tecnológico de Durango, Felipe Pescador 1830 Ote., Col. Nueva Vizcaya, Durango, Dgo., México Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n2/v25n2a4.pdf>

López, A., Bolio, G., Veleza, L., Solórzano, M., Acosta, G., Hernández, M., Salgado, S., Córdova, S. (2016). Obtención de celulosa a partir de bagazo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). 9(7), 41-45.

Lu, P., Yang, Y., Liu, R., Liu, X., Ma, J., Wu, M. & Wan, S. (2020). Preparation of sugarcane bagasse nanocellulose hydrogel as a colourimetric freshness indicator for intelligent food packaging. *Carbohydrate Polymers* 249, 116831. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116831>

Luciano, M., Goncalvez, F., Rau, M., Silva, L., Souza, L., Ferreira, E., Adreaus, J. (2013). Hidrólisis del bagazo de caña de azúcar con preparaciones enzimáticas de *Acrophialophora nainiana* cultivadas en diferentes fuentes de carbono (en línea). *Biocatalysis and Biotransformation*. 32,

file:///D:/Usuario/Documents/INGENIERA%20BIOTECNOLOGICA/G.V%20BIODEGRADABILIDAD%20DE%20POLIMEROS/HIDRÓLISIS%20ENZIMATICA%20MICROORGANISMO.pdf; consulta: junio de 2019.

Maiti, J., Ray, SK. (2017) Removal of Cu (II) ion from water Using sugar cane bagasse cellulose and gelatin based composite hydrogels, vol 97. Elsevier B.V.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.011>

Maiti, S., Jayaramudu, J., Das, K., Reddy, S., Sadiku, R., Ray, S., Liu, D. (2013). Preparation and characterization of Nanocellulose with new shape from different precursor. Carbohydr Polym 98:562–567

Mandal, A., Chakrabarty, D. (2011). Isolation of nanocellulose from waste sugarcanebagasse (SCB) and its characterization. Carbohydr. Polym. 86, 1291–1299.

Mandal, A. & Chakrabarty, D. (2013). Studies on the mechanical, thermal, morphological and barrier properties of nanocomposites based on poly(vinyl alcohol) and nanocellulose from sugarcane bagasse. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2013.05.003>

Marcelo, Y.; León, M.; Michelena, G.; Dustet, J.; Duque, A.; Ibañez, M. & Tortoló, K. (2011). Selección de hongos aislados de bagazo de caña con actividad celulasa sobre celulosa cristalina para posibles aplicaciones industriales. ICIDCA vol. 45, núm. 1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Ciudad de La Habana, Cuba.

Marcondes, W.; Milagres, A. & Arantes, V. (2020). Co-production of xylo-oligosaccharides, xylose and cellulose nanofibrils from sugarcane bagasse. *Journal Biotechnology* 321, 35-47. University of São Paulo, Lorena, SP, Brazil. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.07.001>

Meesupthong, R., Yingkamhaeng, N., Nimchua, T., Pinmanee, P., Mussatto, S., Li, B. & Sukyai, P. (2020). Xylanase pretreatment of energy cane enables facile cellulose nanocrystal isolation. *Cellulose*. DOI: [https://doi.org/10.1007/s10570-020-03559-y\(0123456789\(\),-volV\)\(01234567\)](https://doi.org/10.1007/s10570-020-03559-y(0123456789(),-volV)(01234567)).

Mendoza, L., Jimenez J., Ramirez, R. (2017). Evaluación de la pectina extraída enzimáticamente a partir de las cáscaras del fruto de cacao (*Theobroma cacao L.*). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 20 (1): 131 – 138.

Messa, L. & Faez, R. (2020). Spray-dried chitosan/nanocellulose microparticles: synergistic effects for the sustained release of NPK fertilizer. Springer Nature B.V. São Paulo, Brazil. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03482-2>

Michelena, G., Bueno, G., Álvarez, A., Eng, F., Viñals, M., Carrera, E., Manganelly, E. (2009). Estudios en la hidrólisis alcalina y enzimática del bagazo de caña de azúcar para la producción de etanol celulósico. ICIDCA, Vía Blanca 804, P.O. Box 4026, C. Habana, Cuba; recuperado de: https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_IX/CIX-02.pdf Miller G. (1959). use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. anal chem 31:426–428.

Miranda, R., Mileo, M., Maia, M., Luz, S., 2017. Environmental and technical feasibility of cellulose nanocrystal manufacturing from sugarcane bagasse. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.carbpol.2017.07.087>

Mondragon, G., Fernandes, S., Retegi, A., Peña, C., Algar, I., Eceiza, A., Arbelaz, A. (2014). A common strategy to extracting cellulose nanoentities from different plants. Ind. Crops Prod. 55, 140–148.

Morán, J. (2008). Extracción de celulosa y obtención de nanocelulosa a partir de fibra sisal - caracterización. Mar del Plata, Argentina: Asociación Argentina de Materiales.

Nishino, T., I. Matsuda, and K. Hirao, All-Cellulose Composite. Macromolecules, (2004). 37(20): p. 7683-7687.

Ochica, A. (2015). Obtención de nanofibras de celulosa catiónica a partir del bagazo de la catiónica a partir del bagazo de la caña de azúcar y teñidas con colorante reactivo aniónico para la aplicación textil (trabajo de grado para optar el título de químico). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja.

Oliveira, S.; Alves, E.; Silva, J.; Borba, P.; Costa, C.; Ribeiro, G. & Silvino, E. (2020). Enzymatic extract of *Aspergillus fumigatus* CCT 7873 for hydrolysis of sugarcane bagasse and generation of cellulose nanocrystals (CNC). *Biomass Conversion and Biorefinery*. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01020-5>

Oliveira, F.; Bras, J.; Borgues, M.; Silva, A. & Naceur, M. (2016). Production of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse fibers and pith. *Industrial Crops and Products*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.064>

Olvera, P. (2003). Aislamiento de levaduras que tengan la capacidad para degradar lignina y búsqueda de algunos genes implicados en dicha degradación. Universidad de las Américas Puebla, Tesis de Maestría.

Pandey, A. et al. (2000). *Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse*. *Bioresource Technology*. 74(1): p. 69-80.

Park, S., Baker, J., Himmel, M., Parilla, P., Johnson, D., (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol. Biofuels* 3, 10. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-3-10>.

Patil, M., Patil, V., Sapre, A., Ambone, T., Torris, A., Shukla, P. & Shanmuganathan, K. (2018). Tuning Controlled Release Behaviour of Starch Granules using Nanofibrillated Cellulose Derived from Waste Sugarcane Bagasse. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, Just Accepted Manuscript. DOI: 10.1021/acsuschemeng.8b01545

Pereira, B. & Arantes, V. (2018). Nanocelulosas De La Biomasa De La Caña De Azúcar. Universidad de Sao Paulo. Sao Pablo, Brasil. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128045343000094?via%3Dihub>

Pereira, B. & Arantes, V. (2020). Production of cellulose nanocrystals integrated into a biochemical sugar platform process via enzymatic hydrolysis at high solid loading. *Industrial Crops & Products* 152, 112377. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112377>

Pinto, L., Bernardesa, J., Rezende, C., 2018. Low-energy preparation of cellulose nanofibers from sugarcane bagasse by modulating the surface charge density. www.elsevier.com/locate/carbpol

PlasticsEurope. (2017). An analysis of European plastics production, demand and waste data.

Recuperado de

https://www.plasticseurope.org/application/files/5715/1717/4180/Plastics_the_facts_2017_FINAL_for_website_one_page.pdf

Pulido, E.; Morales, B.; Zamudio, M. & Lugo, F. (2016). Obtención y caracterización de nanocelulosa a partir de Tule (*Thypha domingensis*) (en línea). *Revista de Energía y Química y Física*, 3(6), 31-38. Recuperado desde:

http://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Energia_Quimica_y_Fisica/vol3num6/Revista_Energia_Quimica_Fisica_V3_N6_5.pdf; consulta: noviembre 2018.

Qi, G., Peng, F., Xiong, L., Lin, X., Huang, C., Li, H., Chen, X & Chen X (2016). Extraction and characterization of wax from sugarcane bagasse and the enzymatic hydrolysis of dewaxed sugarcane bagasse. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1080/10826068.2016.1224246>

Rahimi, M., Batchelor, W., Kosinkova, J., Pepper, R., Brown, R., Rainey, T. (2019). Cellulose nanofibres from bagasse using a high speed blender and acetylation as a pretreatment. *Springer Nature*. (en línea). [https://doi.org/10.1007/s10570-019-02441-w\(0123456789\(\).,-volV\(0123456789\(\).,-volV](https://doi.org/10.1007/s10570-019-02441-w(0123456789().,-volV(0123456789().,-volV)

Rambabu, N., Panthapulakkal, S., Sain, M., Dalai, A. (2016). Production of nanocellulose fibers from pinecone biomass: evaluation and optimization of chemical and mechanical treatment conditions on mechanical properties of nanocellulose films. *Ind Crop Prod* 83:746–754

Ray, D., Sarkar, B., Basak, R., Rana, A. (2002). Study of the thermal behavior of alkali-treated jute fibers. *J. Appl. Polym. Sci.* 85, 2594–2599.

Reshmy, R., Eapen, P., Shereley, P., Aravind, M., Raveendran, S., Parameswaran, B., Ashok, P. (2020). A green biorefinery platform for cost-effective Nanocellulose production: investigation of hydrodynamic properties and biodegradability of thin films. (en línea).

<https://doi.org/10.1007/s13399-020-00961-1>

Romero, P., Marfisi, S., Oliveros, P., Rojas, B., Peña, G. (2014). obtención de celulosa microcristalina a partir de desechos agrícolas del cambur (*Musa sapientum*) síntesis de celulosa microcristalina (en línea). *Iberoamericana de Polímeros*. 15,

<http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/NOV14/romero.pdf>; Consulta: junio de 2019.

Ross, R.; Bolio, G.; Veleza, L.; Azamar, J.; Hernández, M.; Pérez, J.; Pérez, C., Correa, M. & Córdova, S. (2017). Planta piloto para obtención de celulosa de residuos de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) y elaboración de recipientes biodegradables. *México*. 10 (11), 60-65

Saelee, S., Yingkamhaeng, N., Nimchua, T., Sukyai, P. (2015). An environmentally friendly xylanase-assisted pretreatment for cellulose nanofibrils isolation from sugarcane bagasse by high-pressure homogenization. *Science Direct*. (en línea).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.064>

Santucci, B., Brasc, D., Mohamed N., Silva, B., Borges, M., (2016). Evaluation of the effects of chemical composition and refining treatments on the properties of nanofibrillated cellulose films from sugarcane bagasse. recuperado de: www.elsevier.com/locate/indcrop

Salama, A., El-Sakhawy, M., Kamel, S. (2016). Carboxymethyl cellulose based hybrid material for sustained release of protein drugs. *Int J Biol Macromol* 93:1647–1652.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.029>

Salcedo, J., López, J., Flores, L., (2011). Evaluación de Enzimas para la Hidrólisis de Residuos (hojas y cogollos) de la Cosecha Caña de Azúcar. *Dyna*, año 78, Nro. 169, pp. 182-190. Medellín, Octubre, 2011. ISSN 0012-7353. Recuperado de:

<http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v78n169/a21v78n169.pdf>

Salcedo, J., López, J., Flórez, L. (2012). Hidrólisis enzimática de residuos de la cosecha de caña de azúcar. *Revista Colombiana de Biotecnología*. Vol. XIV No 1 de julio del 2012 171-181.

Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v14n1/v14n1a15.pdf>

Salcedo, J., López, J., Flórez, L. (2011). Evaluación de enzimas para la hidrólisis de residuos (hojas y cogollos) de la cosecha caña de azúcar. *Dyna* 169, 182-190. Recuperado de:
<http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v78n169/a21v78n169.pdf>

Segal, L., Creely, J., Martin, A. & Conrad, C. (1959) An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Text Res J* 29, 786–794. DOI: <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>

Shebani, A., Van Reenen, A., Meincken, M. (2008). The effect of wood extractives on the thermal stability of different wood species. *Thermochim. Acta* 471, 43–50.

Silveira MHL, rau M, Bon ePd, andreaus J. 2012. a simple and fast method for the determination of endo- and exo-cellulase activity in cellulase preparations using filter paper. *enzyme Microb technol* 51:280–285.

Sioli, GA; Castrillo, ML; Otegui, MB; Zapata, PD; Villalba, LL. (2013). Diseño de cebadores degenerados para amplificar el gen que codifica para β -1,3-glucanasas en *Trichoderma*.

Recuperado de:

https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=Castrillo%20Mar%EF%BF%BDa%20Lorena&id=32444&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=3221038

Slavutsky, A. & Bertuzzi, M. (2014). Water barrier properties of starch films reinforced with cellulose nanocrystals obtained from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Polymers* 110, 53-61.

Universidad Nacional de Salta, Argentina. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.049>

Sun, J.X., et al. (2004). Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. *Polymer Degradation and Stability*.84(2): p. 331-339.

Sun, R., Fang, J., Tomkinson, J., Jones, G. (1999). Acetylation of wheat straw hemicelluloses in N,N-dimethylacetamide/LiCl solvent system. *Ind Crop Prod* 10:209–218

Sun, X., Xu, F., Sun, C., Fowler, P., Baird, M. (2005). Characteristics of degraded cellulose obtained from steamexploded wheat straw. *Carbohydrate Research* 340 (1):97–106.
doi:10.1016/j.carres.2004.10.022.

Takahashi, Y. Matsunaga, H. (1991). Cristal Structure of Natival Structure. *Macromolecules* vol.24,p. 3968-3969.

Suesca, A. (2013). Producción de enzimas celulolíticas a partir de cultivos de *Trichoderma sp.* con biomasa lignocelulósica. Tesis presentada para optar el título de Magíster en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C, Colombia.

Text Book of Polymer Science. Fred W. Billmeyer, S.R.A Wiley-Interscience Publication.

Tien, N., Chollakup, R., Smitthipong, T., Sukiay, W. (2017). Characterization of Cellulose Nanocrystals Extracted from Sugarcane Bagasse for Potential Biomedical Materials. *Springer*, DOI 10.1007/s12355-016-0507-1

Tien, N., Chollakup, R., Smitthipong, W., Nimchua, T., Sukyai, P. (2017). Characterization of Cellulose Nanocrystals Extracted from Sugarcane Bagasse for Potential Biomedical Materials. *Springer*. (en línea). DOI 10.1007/s12355-016-0507-1

Treasure, Z., Liganiso, L., Revaprasadu, N., Motaung, T. (2018). Comparison of Cellulose Extraction from Sugarcane Bagasse Through Alkali. *Materials Research*. 21(6): e20170750

Uribe, J., Cortés, M. (2008). Caña, azúcar y aguardiente de charanda. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán, México. Recuperado de https://www.iau.usp.br/sspa/primeiroseminario/pdfs/mesa1_pon006_MX_uribe_salas.pdf

Usasawan, P., Kasama, J., 2020. Preparation and characterization of nanocellulose from sugarcane bagasse

Vázquez C. Eggar (2018). Hidrólisis de los polisacáridos. *Bioquímica y Biología molecular en línea*. Fuente: <https://concepto.de/hidrólisis/#ixzz5qeEDQHZV>.

Villegas M. C., González M. B. (2013). *Fibras textiles naturales sustentables y nuevos hábitos de consumo*. Universidad autónoma del estado de México. Toluca, estado de México, México.

Walford, S. (2008). Sugarcane bagasse in *Proceedings of the Annual Congress-South African Sugar Technologists Association*.

Widiarto, S., Yuwono, S., Rochliadi, A., Arcana, I. (2017) Preparation and characterization of cellulose and Nanocellulose from agro-industrial waste - cassava peel. *Mater Sci Eng* 176:1–6. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/755/1/011001>

Wong Sak Hoi, L., Martincigh, B.S. (2013). Sugar cane plant fibres: separation and characterisation. *Ind. Crops Prod.* 47, 1–12.

Xiang, Z., Gao, W., Chen, L., Lan, W., Zhu, J., Runge, T. (2016). A comparison of cellulose nanofibrils produced from *Cladophora glomerata* algae and bleached eucalyptus pulp. *Cellulose* 23, 493–503.

Xie H, King A, Kilpelainen I, Granstrom M, Argyropoulos DS. (2007). Thorough chemical modification of wood-based lignocellulosic materials in ionic liquids. *Biomacromol* 8:3740–3748

Zhu, J.; Sabo, R. & Luo, X. (2011). Integrated production of nano-fibrillated cellulose and cellulosic biofuel (ethanol) by enzymatic fractionation of wood fibers. *Green Chem.* 13(5), 1339-1344.