



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA



Producción de nanolaminas de celulosa a partir de bagazo de cebada malteada
cervecera mediante combinación de tratamientos físicos y una hidrólisis escalable.

Por

LBG. ABRAHAM AZAEL MORALES JUÁREZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de:
Maestría en Ciencias de la Ingeniería con orientación en Nanotecnología

Noviembre de 2020



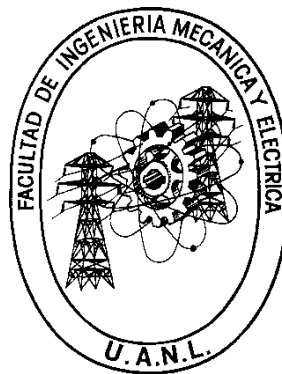
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



Producción de nanolaminas de celulosa a partir de bagazo de cebada malteada
cervecera mediante combinación de tratamientos físicos y una hidrólisis escalable.

Por:

ABRAHAM AZAEL MORALES JUÁREZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de:
Maestría en Ciencias de la Ingeniería con orientación en Nanotecnología

SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, NUEVO LEÓN, MÉXICO Noviembre de 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica
Posgrado

Los miembros del Comité de Evaluación de Tesis recomendamos que la Tesis "Producción de nanolaminas de celulosa a partir de bagazo de cebada malteada cervecera mediante combinación de tratamientos físicos y una hidrólisis escalable", realizada por el estudiante Abraham Azael Morales Juárez, con número de matrícula 1422745, sea aceptada para su defensa como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Ingeniería con Orientación en Nanotecnología.

El Comité de Evaluación de Tesis

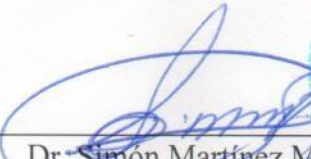

Dr. Leonardo Chávez Guerrero
Director

Dra. Selene Sepúlveda Guzmán
Revisor

Dra. María Lara Banda
Revisor

Dr. René Fabián Cienfuegos Pelaez
Revisor

Vo.Bo.



Dr. Simón Martínez Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

Institución: 190001

Programa: 557511

Acta Núm: 4039

Ciudad Universitaria, a junio 2022.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres **Ana María Juárez Torres** y **Merced Morales Barrios** por brindarme todo lo necesario para poder terminar esta etapa de mi vida, los amo demasiado, muchas gracias por todo, no existen palabras que hagan justicia para poder explicar todo el aprecio que les tengo. Y para ti mamá que no pudiste ver esta parte de mi vida, te lo dedico completamente, siempre estarás conmigo.

A mis hermanos **Ana Lizeth** y **Carlos Salvador** por ser y estar siempre en los momentos importantes y apoyarme en mis proyectos, gracias los amo.

A mis **amigos** y **amigas**, muchas gracias por siempre estar en los momentos correctos para apoyarme y escucharme, eso para mí no tiene precio.

A mis **guías**, esos que siempre me impulsaban a continuar y a creer en mí mismo, ellos ya lo saben pero aun así se los agradezco muchísimo y que nunca me abandonaron.

A mi asesor de tesis **Dr. Leonardo Chávez Guerrero** muchas gracias por dirigir mi proyecto de investigación y por todo su apoyo hacia la misma.

A **Dios**, por permitirme tener estas experiencias y sobre todo poder compartirlos con quienes más me importan.

A todos ellos mil gracias, me encantaría poder decir todo lo que me han ayudado, pero en estas líneas no es posible, sin embargo, estoy haciendo un escrito especial todos ustedes.

INDICE	
INDICE FIGURAS	8
INDICE TABLAS	11
RESUMEN.....	12

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción.....	13
1.2 Justificación.....	15
1.3 Hipótesis.....	16
1.4 Objetivos de tesis.....	16
1.4.1 Objetivo general	
1.4.2 Objetivo específico	

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 Celulosa.....	17
2.1.1 Definición y estructura química	17
2.1.2 Estructura cristalina	20
2.1.3 Fuentes de celulosa	23
2.1.4 Lignina	25
2.2 Nanocelulosa	
2.2.1 Definición y estructura	27
2.2.2 Tipos de nanocelulosa	28
2.2.3 Aplicaciones	31
2.3 Grano de la cebada malteada	32
2.3.1 Composición química de la cebada	33
2.3.2 Importancia	36
2.3.3 Aplicaciones industriales	37

2.4 ANTECEDENTES

2.4.1 Nanomateriales y su importancia en México 39

2.4.2 Nanocelulosa BCM 41

CAPÍTULO 3

3.1 METODOLOGÍA DE EXPERIMENTACIÓN

3.1.1 Consideraciones generales 45

3.1.2 Pretratamiento del Bagazo de cebada

Malteada (BCM) 45

3.1.2.1 Molienda ultrafina 46

3.1.2.2 Tamizado 46

3.1.3 Tratamiento alcalino (Delignificación) 46

3.1.4 Tratamiento ácido (Hidrólisis) 47

**3.1.5 Preparación de muestra para microscopio
confocal 48**

3.1.6 Producción de películas de nanocelulosa 48

3.2 Técnicas de caracterización

3.2.1 Análisis Termogravimétrico 49

**3.2.2 Espectroscopia de Infrarrojo por transformada de
Fourier 49**

3.2.3 Microscopio confocal 49

3.2.4 Microscopia electrónica de barrido 49

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Extracción de celulosa de BCM 51

4.2 Modificación de la celulosa y Obtención de NLC 57

**4.2.1 Caracterización termogravimétrica
mediante TGA y DTA 58**

**4.2.2 Espectroscopia de Infrarrojo por
transformada de Fourier 61**

**4.2.3 Caracterización morfológica mediante microscopia
confocal 63**

4.2.4 Caracterización morfológica mediante microscopia electrónica de barrido	67
--	-----------

CAPITULO 5

5.1 CONCLUSIONES	70
5.2 REFERENCIAS	71

INDICE FIGURAS

Figura 1.- Proceso de formación de la celulosa a través de un complejo proteico. Página 18

Figura 2.- Unidad repetitiva de celulosa, mostrando los puentes internos y la dirección de sus enlaces glucosídicos. Página 20

Figura 3.- Modelo aceptado del ordenamiento de la celulosa. DEF = Defectos en la estructura cristalina de la celulosa, PCL = Capa paracristalina, CRC = Región cristalina, NCD = Nanodominios no cristalinos. a) Corte longitudinal de una fibra de celulosa y b) Corte transversal. Página 22

Figura 4.- Tunicado subfilo de la especie cordados. Página 24

Figura 5.- a) Cultivo bacteriano de *Gluconacetobacter xylinus* b) Celulosa bacteriana vista a través de SEM. Página 25

Figura 6.- Modelo estructural de la lignina, la lignina puede variar dependiendo del origen y del método de extracción. Página 26

Figura 7.- Modelo ilustrativo de la composición de la celulosa, observando las fibras elementales de las microfibras y como estas microfibras a su vez componen las macrofibras las cuales se agrupan para componer la pared celular vegetal. Página 28

Figura 8.- Nanocristales de celulosa posterior a la degradación de las regiones amorfas de la celulosa, quedando únicamente los cristales que se pueden observar. Página 29

Figura 9.- Imagen de SEM nanofibras de celulosa obtenidas de madera tras un proceso de hidrólisis. Página 30

Figura 10.- Grano de cebada y sus secciones. Página 33

Figura 11.- Cantidad de empresas en México que involucran el uso o producen nanotecnología. Página 40

Figura 12.- a) Grano de BCM casi entero, el cual es aplicado para en otros reportes y con el que se trabaja, b) muestra de BCM fina, resultado de la molienda y el tamizado con un tamaño de partícula de entre 54 – 105 micrones. Página 50

Figura 13.- Película de celulosa resultado del tratamiento alcalino, mostrando propiedades mecánicas y ópticas interesantes para su aplicación en distintos productos. Se observa que hay debajo una moneda de 10 pesos mexicanos. Página 52

Figura 14.- a) Color de la muestra al inicio del tratamiento, b) Color de la muestra posterior al tratamiento, revelando la presencia de quinonas debido al color amarillo y c) Color de la muestra tras ser lavada y neutralizada, donde se observa además como algo de la muestra se comporta como gomaimpregnando al cristal, opacando esa zona. Página 54

Figura 15.- Reacción previa para la liberación de oxígeno en la solución y se agregó la muestra, ocasionando que las reacciones tanto del proceso de delignificación y formación de agentes superoxidantes se sumarán produciendo así una gran cantidad de oxígeno y espuma, haciendo poco productivo el procedimiento. Página 54

Figura 16.- Resultado final con el tratamiento ácido de 2 muestras, donde cada una se vació en una probeta sin desperdiciar muestra, solo esperando a que se sedimente y retirando el medio. Mostrando un color blanco, sin residuos de alguna otra materia orgánica. Página 57

Fig. 17.- Curvas de TGA de la muestra control (rojo), muestra del tratamiento alcalino o celulosa (amarillo) y nanocelulosa (verde). Mostrando las características de las muestras y los efectos encontrados en las muestras posterior a los tratamientos. Página 59

Figura 18.- Termogramas de TGA y DTA. En el TGA se muestra la curva de degradación del material, comparando el peso en función de la temperatura teniendo 3 curvas importantes de degradación y el DTA mostrando los puntos más altos de diferencia térmica donde la presencia de compuestos que combustión provoca la diferencia de las temperaturas entre la muestra y un control. Página 61

Fig. 19.- Espectro FT-IR de las nanoláminas de celulosa. Página 62

Fig. 20.- a) nanoláminas de celulosa y b) nanoláminas y microfibras de celulosa. Página 63

Figura. 21.- Sección superior corresponde al ancho a) y largo b) de las nanoláminas, mientras que la sección inferior es el diámetro c) y longitud d) de las fibras de celulosa. Página 65

Figura. 22.- Película transparente obtenida tras la separación de las secciones de menor tamaño mediante una malla de nylon de 38 μm , reteniendo la mayor parte de las fibras de celulosa y fragmentos grandes de nanoláminas, en la cual se observa una moneda de 10 pesos MXN. Página 65

Figura. 23.- Nanolamina de celulosa refractando el espectro de luz visible en una longitud de onda de entre 427 – 476 nm. Teniendo varios micrones de longitud y de ancho. Página 66

Figura. 24.- Muestra final neutralizada y lavada mostrando estabilidad posterior a 12 horas. Página 67

Figura 25.- Micrografía obtenida mediante SEM de la nanolamina de celulosa, mostrando su composición de nanofibras embebidas a la superficie. Página 69

Figura 26.- Micrografía SEM de las microfibras de celulosa. Página 69

INDICE TABLAS

Tabla 1.-Celulosa de diferentes fuentes y su clasificación según su origen.

Página 23

Tabla 2.-Composición de la cebada. Página 34

Tabla 3.- Composición Química de la BCM reportada en literatura (n.d no hay datos). Página 35

Tabla 4.- Composición de proteínas de la cebada Mussato S. Página 36

Tabla 5.- Asignación de bandas de los espectros FT-IR de la NLC. Página 62

RESUMEN

Abraham Azael Morales Juárez

Maestría 08/2020

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ingeniería Mecánica Y Eléctrica

Título del estudio: PRODUCCIÓN DE NANOLAMINAS DE CELULOSA A PARTIR DE BAGAZO DE CEBADA MALTEADA CERVECERA MEDIANTE LA COMBIACIÓN DE TRATAMIENTOS FÍSICOS Y UNA HIDRÓLISIS ESCALABLE.

Número de páginas: Sin definir aún **Candidato para el grado de Maestría en Ciencias de la Ingeniería con orientación en Nanotecnología**

Área de estudio: Nanotecnología

Propósito y Método del Estudio: La celulosa es el biopolímero más abundante sobre la tierra fue descubierto por el francés *Anselme Payen* en el año de 1838. Se encuentra en todas las plantas teniendo como función ser soporte estructural de la misma, además, se encuentra en algunos organismos unicelulares y pluricelulares. Sus propiedades le otorgan un gran potencial para sustituir a los plásticos comerciales, de ahí viene su importancia. En el presente trabajo se eliminó la mayor parte del material no celulósico de una fuente de celulosa con gran potencial, siendo residuos del proceso cervecero, que generalmente se destinan como alimento para ganado o simplemente se desechan. Con el fin de producir nanocelulosa laminar a partir de celulosa de bagazo cervecero. Para esto se desarrolló un proceso sustentable y escalable, donde el resultado final es un nuevo tipo de nanocelulosa estable y con múltiples posibles aplicaciones.

Contribuciones y Conclusiones: En los ensayos, se logró definir una estrategia adecuada para la producción de microcelulosa y nanocelulosa laminar, las cuales son producidas al mismo tiempo, pero se pueden separar aislando los fragmentos de menor tamaño para la producción películas transparentes, además, si se observa bajo el microscopio se demuestra la presencia de nanocelulosa. En los ensayos de caracterización se determinó la pureza del material, concluyendo así que se pudo desarrollar un proceso adecuado y obteniendo resultados prometedores.

FIRMA DEL ASESOR:

CAPITULO 1

1.1 INTRODUCCION

La síntesis de los denominados “materiales verdes”, son aquellos derivados de fuentes renovables y con aplicaciones muy amplias, las cuales pueden llegar a sustituir a materiales actualmente aplicados para la producción de múltiples bienes, pero con un menor impacto ambiental posterior a su uso. Así evitando la acumulación desmedida de polímeros que tardan décadas en degradarse, contaminando y dañando el medio ambiente, como el polipropileno, polietileno, poliestireno, entre otros. Entre estos polímeros está el ácido poliláctico (PLA, por sus siglas en inglés), el cual es un bioplástico con propiedades mecánicas de gran interés y biodegradabilidad completa, el cual lo coloca como un posible sustituto de muchos polímeros convencionales derivados de la industria petroquímica. Sin embargo, y a pesar de lo anterior el PLA posee baja estabilidad térmica, baja resistencia al impacto, poca resistencia al fundido y su alta tasa de permeabilidad, evitan áreas de aplicaciones, como en el sector automotriz, electrónica o en el embalaje de productos alimenticios. Cabe mencionar, que existen reportes de reforzamiento de PLA con celulosa y nanocelulosa de distintas fuentes como: bambú, madera, hojas de arroz y hojas de plátano.

La nanocelulosa se puede extraer de una gran cantidad de fuentes y cada tipo de fuente, además, del método de preparación, influirá en el tipo de nanocelulosa obtenido. Las nanoláminas de celulosa o celulosa laminar, ha sido muy poco reportada en la actualidad, y por ende sus propiedades no son del todo conocidas. Pero, se conoce que se obtienen a partir de bagazo de agave, lo que le proporciona una interesante oportunidad para darle alto valor agregado a productos de desecho. Ahora, existen otras fuentes de desechos con un mayor impacto en la cultura mexicana, que es el Bagazo de Cebada Malteada (BCM) la cual resulta de la producción de cerveza industrial y artesanal. El primer paso

en la producción de cerveza es una molienda de la cebada, posterior se realiza una infusión el cual busca extraer principalmente azúcares, aminoácidos, proteínas, vitaminas y sales, descartando la cáscara. Al final se destina como alimento para ganado, composta, harina de malta, etc. Posterior a este paso la cebada se convierte en bagazo, quedando alrededor del 85% del peso total inicial, quedando pocos azúcares, proteínas y aminoácidos residuales. Esto a su vez se ve apoyado por el crecimiento de la industria cervecera artesanal en México, proporcionando una gran oportunidad para de aprovechamiento de estos residuos.

En las ciudades de los estados del norte del país de México, un ejemplo es Monterrey, Nuevo León, existen un gran número de cervecerías artesanales que no poseen un contrato para destinar estos desechos. Ocasionando que se desperdicien, regalen o composten su bagazo. La nanocelulosa obtenida puede llegar a hacer aplicada en distintas formas, como; polímero de reforzamiento para el PLA, como agente espesante en pinturas y alimentos, en biomedicina para la aplicación de sistemas poliméricos inteligentes o simplemente para la producción de celulosa.

Los aspectos importantes de la producción de nanocelulosa, es su complejidad de obtención, su fuente y el costo que esta implica, debido a que actualmente, año 2020, todo esto tiene un elevado costo tanto monetario como ambiental, además de ser un proceso complejo. La pregunta central del trabajo es ¿Se puede obtener nanocelulosa mediante un proceso simple, económico y renovable, cuyas propiedades pueden ser aplicadas en investigación y en la industria? La hipótesis central del trabajo es que es posible la producción de nanocelulosa utilizando residuos orgánicos industriales BCM y una metodología escalable.

En este trabajo se busca la obtención de nanocelulosa utilizando BCM para la producción de geles o películas con aplicaciones en investigación e industriales.

1.2 Justificación

En la actualidad se ha remarcado la necesidad de cambio en la actividad industrial humana tanto en el ámbito de la medicina hasta el de la aplicación de materias primas para la manufactura de distintos productos y así disminuir el efecto que ha tenido tantas malas prácticas económicas que repercuten en el ambiente.

De esta manera, se hace crecer la posibilidad de encontrar un aprovechamiento económico e industrial a partir de los desechos de las industrias cerveceras, que actualmente en México ha cobrado fuerza y constantemente hay un incremento de cervecerías en todos los estados de la república que producen estos desechos los cuales se pueden aprovechar, y que incluso las grandes cerveceras buscan alternativas para la reutilización de estas materias primas debido a su gran disponibilidad.

Conociendo que la BCM tiene un gran contenido de material celulósico y que además se pueden aprovechar la obtención de subproductos en el proceso de aislamiento de la celulosa constituyen un nuevo reto para incorporarlo a distintas áreas de la industria.

El material celulósico se emplea principalmente en la industria del papel, con el desarrollo de proyectos, como el presente, aprovechar el gran potencial de estos materiales. Al día de hoy, ya existen empresas que se encargan exclusivamente de producir cebadas malteadas mexicanas (Maltosaa S.A de C.V) y ya sea que se hagan convenios con las cervecerías o con la malterapara recoger los residuos y así procesarlos.

Como ya se ha mencionado la cebada malteada se usa para la obtención de una bebida alcohólica la cual es un producto que se está convirtiendo de primera necesidad y, por lo tanto, su producción pondrá mayor disponibilidad de sus residuos.

Se pretende desarrollar un nuevo método con mayor eficiencia, rapidez y económico para la obtención de nanocelulosa a partir del bagazo de cebada

malteada. Además, se busca ampliar la información acerca de la obtención de nanocelulosa usando como materia base la BCM debido a que en la actualidad la mayor parte de la información encontrada es de nanocelulosa de otras fuentes para aplicaciones industriales.

1.3 Hipótesis

Es posible aprovechar el bagazo de malta cervecera como materia prima para la obtención de películas con nanoláminas de celulosa mediante una hidrólisis eficiente, con el fin de producir un biomaterial de uso cotidiano que sea biodegradable, resistente y con múltiples aplicaciones.

1.4 Objetivos de la tesis

1.4.1 Objetivos generales

Obtener la pulpa de celulosa a partir de BCM con un máximo de eficiencia en el tratamiento y que sea sustentable para la producción a escala industrial.

Obtener una película transparente con nanoláminas de celulosa a partir de la pulpa blanca de BCM y que cumpla con las características comerciales que demanda el sector público para la producción de bioplásticos.

1.4.2 Objetivos específicos

Desarrollar una metodología adecuada para la BCM como materia prima haciendo un procedimiento con mayor eficiencia que lo reportado.

Caracterizar la pulpa aislada para conocer su composición.

Caracterizar las películas demostrando la presencia de nanoláminas de celulosa y además de su composición.

Demostrar que es posible la obtención de productos con propiedades útiles y que son de valor agregado a partir de los residuos de un proceso, ayudando a preservar el medio ambiente y maximizando la utilidad de la cebada.

CAPITULO 2

2.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1.1 Definición y estructura química de la celulosa

Es un bio-polímero que se encuentra presente en la estructura celular de todas las plantas, debido a esto, se le conoce como el polímero con mayor abundancia y renovable sobre la tierra. Es un polisacárido $(C_6H_{10}O_5)_n$, formado por moléculas de cadenas lineales de unidades de anhidroglucosa (AGU's) y se sintetiza mediante una reacción de polimerización mediante un complejo enzimático llamado "celulosa sintasas" [1]. Estos complejos enzimáticos están localizados en las membranas plasmáticas de las células en forma de rosetas hexaméricas, figura 1. Cuando estas cadenas son producidas se agrupan formando microfibrillas de celulosa. La biosíntesis es como se puede observar en la figura 1 a partir de moléculas D-glucosa, las cuales son obtenidas de otras moléculas con menor tamaño CO_2 y H_2O , a través del proceso de fotosíntesis

[1].

Las microfibrillas de celulosa comienzan a acumularse en la parte externa de la membrana junto con otras macromoléculas como lo son, la hemicelulosa y lignina, principalmente, cuya función es dar soporte estructural a la pared celular de las plantas; la proporción de su presencia es muy variada, dependerá de cada especie de planta, edad, género, clima, nutrientes, etc. La extracción de las microfibras de celulosa es un proceso antiguo, fue en el año de 1838 donde el francés *Anselme Payen* logró aislar este compuesto a partir de la madera y lo llamó "Celulosa" [3]. En la actualidad se puede extraer celulosa de prácticamente de cualquier planta incluso de algunas bacterias, por ejemplo, las pertenecientes a los géneros *Aceto-bacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* y *Sarcina*

[4].

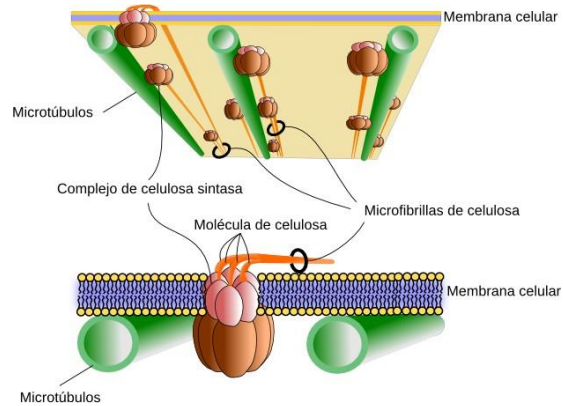


Figura 1.- Proceso de formación de la celulosa a través de un complejo proteico [2].

Además de la celulosa, lignina y hemicelulosa la pared celular vegetal también posee en menor cantidad pectinas, pigmentos y extractivos. Para poder aislar la celulosa se necesita remover todos los compuestos no celulósicos, principalmente la lignina, mediante solventes químicos, existen también procesos que usan agentes iónicos, pero resultan caros [5].

Algo a resaltar es que si el paso de eliminación de la lignina falla el material contendrá un color amarillento que corresponde a la oxidación de este biopolímero. Como referencia, la celulosa aislada y pura es de color blanca, asimismo, no posee olor y no es tóxica [1], lo cual le otorga propiedades importantes para diferentes áreas de la ciencia y la industria. Las propiedades con las que se destaca, son la buena resistencia mecánica, biocompatibilidad, es hidrofílica, buena estabilidad térmica, alta capacidad de sorción y una apariencia óptica modificable [5, 7]. Esta posee una gran variedad de aplicaciones, pero actualmente hay un área a mejorar que es su baja solubilidad [6].

Las microfibrillas de celulosa poseen grupos químicos hidroxilo, acetal y aldehído, y mediante su modificación la celulosa puede experimentar reacciones químicas como; oxidación, sustitución, reemplazo, despolimerización, hidrólisis, reducción, adición de injertos y reacciones de intercambio de bases [1, 7, 8]. Y entre los tipos de reacciones que son ampliamente usadas en el sector industrial son las de adición y de sustitución,

en las cuales están involucrados entre los grupos hidroxilos en las posiciones 2, 3 y 6 de cada unidad repetitiva de la celulosa lo cual dificultan la intrusión de otras especies químicas. Aunque, si estos grupos químicos están disponibles se pueden llegar a producir distintos derivados de celulosa con un elevado grado de uniformidad en la estructura [5].

En la actualidad existen 2 mecanismos para hacer reaccionar los grupos hidroxilo de la celulosa; el primero es la esterificación y el segundo es la eterificación [9].

La esterificación de celulosa se debe a la introducción de grupos funcionales orgánicos mediante un proceso donde se agrega un grupo acilo a una molécula, este proceso se le conoce como “acilación”, generalmente se realiza usando un ácido carboxílico como agente de acilación bajo condiciones ácidas fuertes [8].

La eterificación es el proceso por el cual se realiza la transferencia de un grupo alquilo de una molécula a otra usando distintos químicos tales como: cloruro de etilo o sulfato de etilo. Además de esto la temperatura es un factor crucial y debe controlarse para evitar la degradación de la celulosa. En este proceso un grupo alquilo debe sustituir a un grupo hidroxilo de una unidad repetitiva de celulosa y esto definirá el grado de sustitución (DS) [1, 9].

Un dato de importancia es la producción mundial anual de materiales de los cuales se pueden extraer la celulosa y derivados. Su producción se estima en 10^{11} [10] toneladas y en varias industrias alimenticias lo único que usan son los azúcares y no las cáscaras, convirtiendo todos estos en residuos, el cual simplemente en muchos casos se tira o se destina principalmente como alimento para ganado. Ahora hablando de la industria cervecera que es una de las más importantes en el mundo, que produce enormes cantidades de residuos, entre 21 – 26 millones de toneladas anuales [11], el cual se denomina como bagazo de cebada malteada o BCM. Actualmente, el mercado de las cervezas artesanales está en constante crecimiento y que por desgracia este material no se está aprovechando, sino que simplemente se desperdicia.

2.1.2 Estructura cristalina

Las cadenas de celulosa están unidas químicamente mediante enlaces glucosídicos β -1-4. Dos unidades de AGU's tienen conformación de "silla", figura 2, donde además se observa el orden numérico de los átomos de carbono. Sus grupos funcionales hidroxilo, con un total de 3, están ordenados en 1 primario y 2 secundarios y debido a la posición ecuatorial que estos poseen las unidades AGU's logran formar interacciones internas mediante puentes de hidrógeno, ocasionando que se refuerce la estructura de este bio- polímero aumentando su rigidez.

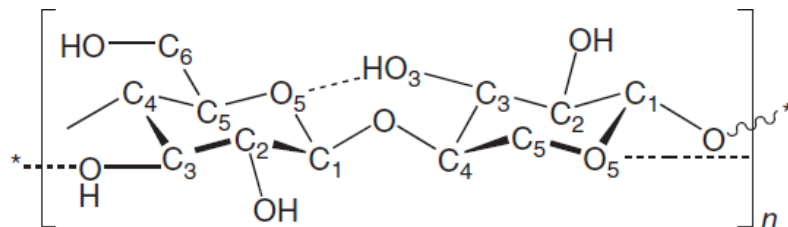


Figura 2.- Unidad repetitiva de celulosa, mostrando los puentes internos y la dirección de sus enlaces glucosídicos ^[10]

Estos enlaces internos como externos forman un sistema de puentes de hidrógeno intra-moleculares e inter-moleculares haciendo que tengan una estructura cristalina ampliamente ordenada, rígida, fuerte, altamente hidrofóbica, con resistencia a varios agentes químicos ^[10]. Sin embargo, en toda la estructura cristalina de la celulosa existen regiones con menor cantidad de puentes de hidrógeno formando regiones amorfas o dominios no cristalinos, los cuales contribuyen a un incremento a su hidrofiliidad ^[10]. Estos dominios no cristalinos o amorfos permiten el acceso a su estructura interna, mediante tratamientos químicos, que permitan disolverlas, para poder aislar los dominios cristalinos y poder tratarlos para la producción de nanocelulosa ^[9, 10].

Cabe mencionar que cualquier modificación ya sea química, física o fisicoquímica cambiara su estructura cristalina. Por ejemplo, en una hidrólisis ácida la parte amorfa de la celulosa es removida aumentando su cristalinidad,

pero estos cristales liberados pueden en determinado momento co-cristalizarse y formar nuevos agregados [10, 12]. Otro tratamiento es mediante un proceso alcalino donde se pueden usar bases para lograr extraer la celulosa, aunque el uso de NaOH es el que mayormente se emplea. También existe el método de molienda mecánica, estos 2 últimos logran disminuir la cristalinidad y el tamaño de cristal que posee la celulosa [12, 13].

En la actualidad se conocen los distintos polimorfismos que posee la celulosa; I, II, III y IV. El primer modelo que fue aceptado y que duro por 30 años fue el de Mayer y Mish que consistía en unidades repetitivas monoclinica para la estructura cristalina de la celulosa nativa (CI) [10, 12, 14]. Este modelo se caracteriza por tener un arreglo antiparalelo, después del cual fue reemplazado por un modelo CI más preciso compuesto por arreglos paralelos dentro de los cristales. Actualmente se conoce que la aloforma CI puede existir en 2 distintas formas cristalinas CI_{α} que contiene una celda unitaria triclinica y CI_{β} que contiene una celda unitaria monoclinica de dos cadenas.

Los otros polimorfismos presentan igual 3 aloformas para cada una, mediante varias modificaciones de la celulosa. Estas se pueden sintetizar modificando los polimorfismos obteniéndose una aloforma distinta, ejemplo, CII se puede obtener a través de un tratamiento alcalino de la celulosa CI, CIII1, CIII2, CIV1 y CIV2, es decir, por la regeneración de soluciones de celulosa. Otro ejemplo, la aloforma CIII1 puede formarse con CI o CIV, CIII2 CII y CIV2 con tratamientos con amonio. Incluso no se requiere de algún tratamiento drástico; se puede obtener la aloformas CIV1 y CIV2 por calentamiento en glicerol a 260°C a partir de CI, CIII1 y CII y CIII2, respectivamente [14].

A pesar de que la forma de los nanocristales sigue en discusión se identifican 3 grupos de planos cristalográficos (100), (110) y (1 $\bar{1}$ 0) [10] que están localizados en las superficies de cristales de CI_{β} , seguido de la co-cristalización de los fragmentos adyacentes en diferentes direcciones laterales.

Existe en la actualidad un modelo de organización de la estructura de la celulosa que es ampliamente aceptado por la comunidad científica [15], figura 3.

Este modelo contiene dominios cristalinos y no cristalinos, pero además se revelan la presencia de fracciones para-cristalinas sobre la superficie de los cristales. Estos últimos son actualizaciones del modelo, es decir, son mejoras al modelo presentado originalmente. El tamaño lateral de las nanofibras dependerá de la fuente de la cual se obtuvo. Las cuales pueden tener un largo de entre 3 a 4 nm para la celulosa natural de plantas herbáceas y de madera y de entre 10 – 15 nm de diámetro en una especie de alga (*Valonia Algae*) con devarios micrones de longitud ^[16].

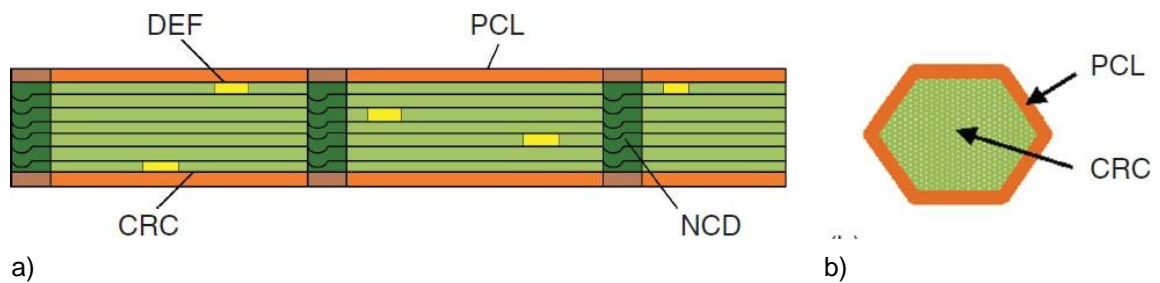


Figura 3.- Modelo aceptado del ordenamiento de la celulosa. DEF = Defectos en la estructura cristalina de la celulosa, PCL = Capa paracristalina, CRC = Región cristalina, NCD = Nanodominios no cristalinos. a) Corte longitudinal de una fibra de celulosa y b) Corte transversal ^[15].

Acordando con el modelo las nanofibras representadas en la figura 3 a lo largo de toda la fibra estos nano-dominios no cristalinos son NCD, además poseen una capa paracristalina (PCL) que es la superficie de las regiones cristalinas (CRC) y los defectos de las regiones cristalinas ya sea por vacancias causadas por el término de las cadenas o cualquier otro defecto (DEF).

El modelo fue aceptado debido a que puede explicar varias propiedades fisicoquímicas, químicas y bioquímicas de la celulosa natural. Este, al mismo tiempo, puede explicar cómo los dominios no cristalinos son puntos frágiles para el acceso a las regiones cristalinas. Sin embargo, el proceso ya sea, ácido, hidrólisis enzimática, alcoholisis, y acetolisis causan rompimiento de los enlaces de los puentes de hidrógeno de los dominios cristalinos, como resultado ocurren modificaciones de la longitud de las nanofibras.

2.1.3 Fuentes de celulosa

La celulosa, como ya se mencionó, se puede extraer de muchas fuentes naturales y por lo tanto una amplia gama de plantas, animales y bacterias son capaces de producirla. Y como cada fuente de celulosa es distinta las propiedades de estas también lo serán.

2.1.3.1 Plantas

Una amplia variedad ha sido estudiada para la extracción de celulosa y nanocelulosa (NC), incluyendo madera, arroz, sisal, cañamo, linaza, kenaf y cáscara de coco ^[17].

Tabla 1.-Celulosa de diferentes fuentes y su clasificación según su origen ^[17].

Categoría	Descripción	Ejemplos
Semillas	Fibras recogidas de semillas o cajas de semillas.	Algodón, semillas del kapok.
Hoja	Fibras recolectadas de hojas.	Agave, Sisal, Fique
Fibras de liber	Las fibras se recogen de la piel o liber que rodea el tallo de sus respectivas plantas.	Yute, kenaf, cañamo, ramio, ratán y fibras de vid.
Frutas	La fibra se obtiene de la cubierta de sus frutos.	Fibra de coco
Tallos	La fibra se encuentra en el tallo.	Arroz, cebada, pajas de trigo, bambú, hierba, madera de árbol

La madera ha resultado ser un material atractivo para la producción de celulosa y aislamiento para la nanocelulosa debido a su gran abundancia. Además, la madera presenta una estructura anisotrópica, la cual le confiere buenas propiedades mecánicas de resistencia, dureza, rigidez y baja densidad. Por otro lado, la extracción de la nanocelulosa presenta un gran reto debido a que se requieren grandes cantidades de ácidos para poder tratarla además de tratamientos mecánicos especializados que ocasionan que su producción sea costosa y contraproducente desde el punto de vista ecológico ^[18].

2.1.3.2 Tunicados

Los tunicados, también conocidos como urocordados, son un subfilo que contiene aproximadamente 2,000 especies marinas solitarias o coloniales, son hermafroditas con reproducción asexual y sexual [19]. Las investigaciones realizadas para este tipo de clase se han enfocado en el grupo *Ascidiáceos*, que es el más numeroso en especies, que en estado adulto viven fijos al sustrato, figura 4.

Estos producen celulosa en la parte exterior de su tejido, denominada *túnica*, de la cual se puede extraer una fracción de celulosa purificada denominada tunicina. La celulosa del tunicado comprende la mayor parte de la aloforma de celulosa $Cl\beta$ con gran cristalinidad en su estructura [20].



Figura 4.- Tunicado subfilo de la especie cordados [19].

2.1.3.3 Algas

Estos organismos acuáticos tienen un alto contenido de celulosa, similar al de los árboles, con la diferencia de que no necesitan un tratamiento agresivo y contaminante para la conversión del biomaterial.

Hay varias especies que son consideradas como fuentes de celulosa, rojas, verdes, cafés y grises. Como ejemplo, *Cladophorales*, *Nannochloropsis*, *Gelidium*, *Micrasterias denticulate*, y entre una gran variedad más [21].

2.1.3.4 Bacteria

La celulosa bacteriana (BC) es un metabolito primario del metabolismo de ciertos tipos de bacterias. Su síntesis fue descubierta por primera vez por A. J. Brown en 1886 [22]. El género bacteriano es ampliamente usado para la producción de celulosa es *Gluconacetobacter xylinus*, figura 5. Bajo condiciones

específicas, esta bacteria comienza a producir un gel compuesto de CMFs con un porcentaje de agua entre 97 – 99%, que es principalmente Cl_α mostrando un grado de polimerización entre 2000 – 6000. La utilización de bacterias para la producción de celulosa se basa en que las condiciones del medio se pueden controlar para modificar la formación de las microfibras de celulosa y su cristalinidad. Además, posee una mayor pureza química en comparación de la celulosa obtenida de las plantas, esto se debe por la presencia de lignina y hemicelulosas. Cabe mencionar que la estructura molecular en ambos casos es altamente similar [10, 22].

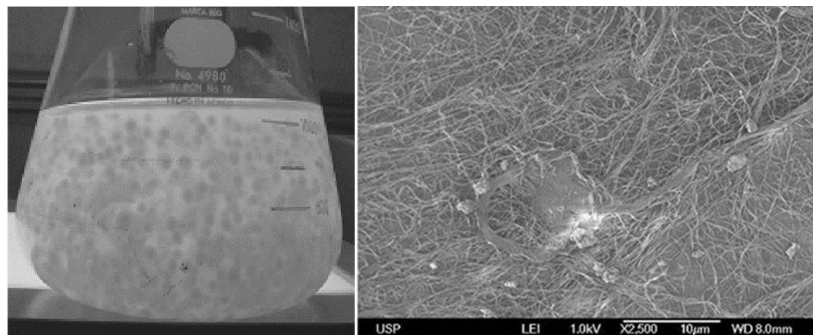


Figura 5.- a) Cultivo bacteriano de *Gluconacetobacter xylinus* b) Celulosa bacteriana vista a través de SEM [23, 24].

Se realiza una fermentación y esta se puede aplicar en 2 distintas vías “estacionaria” que proporciona películas de BNC y “no estacionarias” en donde se pueden obtener pequeñas esferas de celulosa mediante agitación [22], como se puede observar en la figura 5.

2.1.3.5 Lignina

La lignina es el segundo biopolímero más abundante en las plantas formando parte de la pared celular funcionando como una red de lignina-hidratos de carbono, igual que la celulosa su distribución en las plantas dependerá de cada especie. El término lignina fue utilizado por primera vez en 1865 por *Schulze y col* [25]. Para definir los residuos disueltos de la madera al tratarla con ácido nítrico, siendo un derivado del latín *lignum = madera*.

A diferencia de la celulosa su estructura no ha sido tan clara debido a la complejidad, figura 6, que afectan su aislamiento, análisis de composición y la caracterización estructural. Esto se debe principalmente con la naturaleza de sus múltiples unidades estructurales, las cuales no se repiten de forma regular, este siendo el motivo principal de la variación estructural presente en las plantas [25]. En general, las ligninas son copolímeros que son derivados de 3 unidades fenilpropanomonoméricas o monolignoles básicas: alcohol *p*-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico. Estos monolignoles son dirigidos a diferentes tipos de regiones de la pared celular, dependiendo de la necesidad del organismo, las cuales son polimerizadas en biopolímeros con propiedades biofísicas características que refuerzan la pared celular. En otras palabras, las ligninas son consideradas mezclas racémicas, como se evidencia por análisis de diversos fragmentos diméricos [25].

Los monolignoles son reactivos de gran interés para la producción de compuestos aromáticos de alto valor añadido por la industria petroquímica.

Otra posible aplicación es como precursor de carbón activado. La lignina posee un alto contenido de carbono y una estructura similar al carbón bituminoso podría ser un precursor ideal [25, 26].

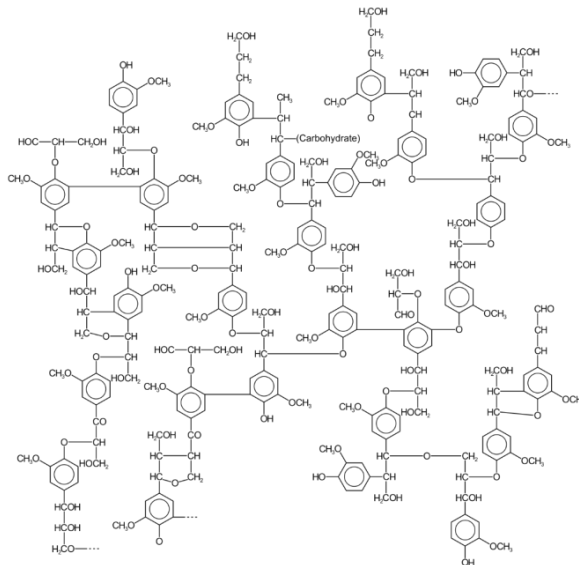


Figura 6.- Modelo estructural de la lignina, la lignina puede variar dependiendo del origen y del método de extracción [26].

NANOCELULOSA

2.2.1 Definición y estructura

En recientes años la nanocelulosa (NC) ha presentado un gran interés como polímero de reforzamiento para biomateriales y esta se puede definir como; secciones fundamentales que componen a las microfibras, estas a su vez componen las macrofibras, y al final estas macrofibras forman parte de la estructura total de las fibras de celulosa, figura 7 [1, 5, 6, 27]. Simplificando, la nanocelulosa aislada corresponde a las secciones cristalinas de la celulosa que se liberan posterior al tratamiento básico tras la disolución las secciones amorfas y tener acceso a las secciones cristalinas del mismo. Cuando sedisuelven las zonas amorfas de la celulosa, se libera una importante área de contacto con la que el tratamiento interactúa y puede incluso afectar las zonas cristalinas acortando sus longitudes modificando sus propiedades y cristalización.

A diferencia de la celulosa, la NC por tener una escala en el orden de los nanómetros ocasiona que todas sus propiedades cambien debido al área superficial de contacto, en comparación con la celulosa.

Además, las propiedades también están sujetas a la técnica de aislamiento, y la nanocelulosa aislada puede dividirse en 5 categorías [10, 28]:

1. Celulosa microcristalina
2. Nanocristales de celulosa
3. Nanofibras de celulosa
4. Nanocelulosa amorfa
5. Celulosa bacteriana
6. Nanohilos de celulosa

Las primeras 3 categorías se obtienen por desintegración de la celulosa, un proceso llamado “top bottom” y en el caso de las otras 3 categorías son fabricadas por bacterias y la técnica de electrohilado, respectivamente, es decir, “bottom up” [28].

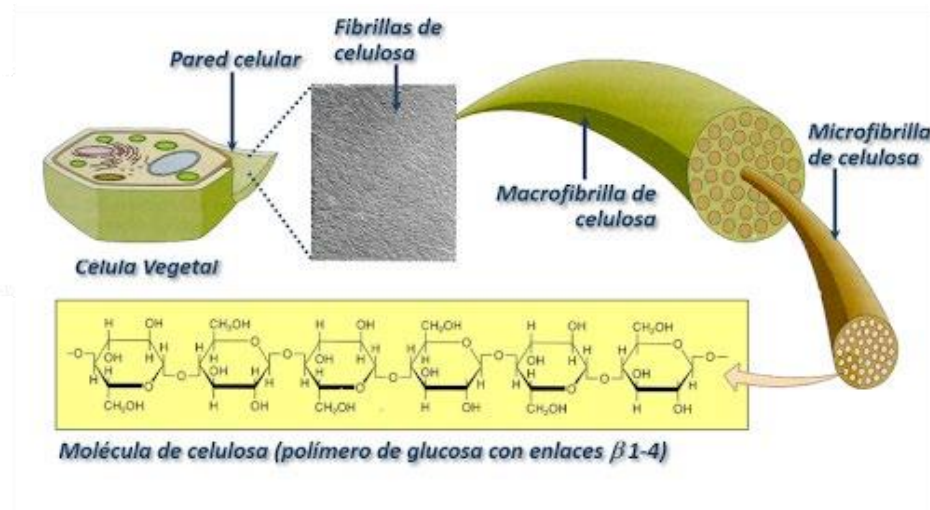


Figura 7.- Modelo ilustrativo de la composición de la celulosa, observando las fibras elementales de las microfibras y como estas microfibras a su vez compone las macrofibras las cuales se agrupan para componer la pared celular vegetal ^[10].

2.2.2 TIPOS DE NANOCELULOSA

2.2.2.1 Celulosa microcristalina

Este tipo de celulosa ya se encuentra disponible comercialmente y tiene forma de partículas de celulosa, las cuales son preparados mediante hidrólisis de la celulosa. Consiste en agregados de nanocristales unidos en múltiples capas. Tienen forma esférica o forma de varilla con tamaños entre 10 – 200 μm ^[28].

2.2.2.2 Nanocristales de celulosa

Los nanocristales de celulosa (CNC's) son comúnmente sintetizados aplicando una hidrólisis del material en un medio con agua y un ácido, generalmente sulfúrico. Cabe mencionar que esta técnica no produce nanocelulosa de alta pureza (un aproximado de 90%). En su superficie se mantienen grupos sulfato como impurezas, otorgándole una carga particularmente negativa lo cual le otorga su estabilidad en un medio acuoso. Su longitud puede variar entre 100 – 500 nm y tener un diámetro de entre 3 – 25 nm ^[27, 29].

Los CNCs tiene excelentes propiedades mecánicas, su módulo de Young se ha reportado con un estimado de 167.5 GPa, la cual es similar al módulo que tiene el Kevlar e incluso mayor al del acero [27].

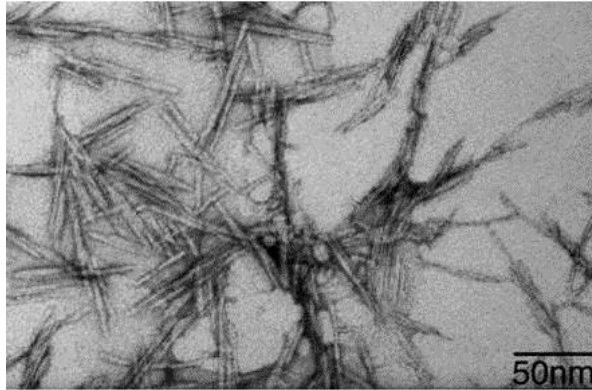


Figura 8.- Nanocristales de celulosa posterior a la degradación de las regiones amorfas de la celulosa, quedando únicamente los cristales que se pueden observar [30].

2.2.2.3 Nanofibras de celulosa

Las nanofibras de celulosa (NFC) consisten en una agrupación o agregados de nanofibras elementales que contienen tanto estructuras cristalinas como amorfas. Una diferencia entre las NFC y las CNC, es que éstas poseen una cristalinidad mayor aproximadamente del 90%. La distribución de su tamaño puede variar entre 5 – 50 nm en su diámetro y entre 50 – 2000 nm de longitud [27, 31], es decir, llegando al dominio micro.

El método de síntesis es variado incluye molienda mecánica, homogenización a altas presiones, hidrólisis ácida o enzimática o una combinación de estos.

Estas nanofibras presentan una gran área de oportunidad debido a que hay métodos que pueden ser candidatos para su producción a gran escala. Aunque sigue habiendo algunas áreas de mejora debido a que resulta que se requiere un consumo energético elevado para la desintegración mecánica que generalmente son varios pasos para llevarla a cabo. Hay métodos ampliamente reportados que usan el radical 2,2,6,6-tetrametilación-1-oxil (TEMPO) [27] como agente oxidante y con eso reducir la energía de consumo y lo cual logran. Por otra parte, el consumo de residuos contaminantes aumenta produciendo una

desventaja al quererlo escalar. Hay otros procesos que no contaminan mucho, sin embargo, el tiempo de síntesis es largo (tratamiento enzimático). Otro dato importante es la fuente original de celulosa, jugando un rol importante en el consumo total de energía para la obtención de nanocelulosa.

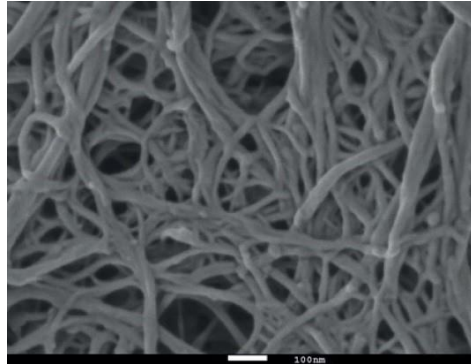


Figura 9.- Imagen de SEM nanofibras de celulosa obtenidas de madera tras un proceso de hidrólisis [32].

También hay que indicar que su aplicación en distintas áreas es algo limitada debido a que posee bajo coeficiente de deshidratación, poca compatibilidad a polímeros hidrofílicos, otorgando áreas de oportunidad para mejorar tanto para investigación como para aplicaciones industriales, y las cuales se pueden resolver atacando el número de grupos hidroxilos presentes en su superficie [32].

2.2.2.4 Nanohilos de celulosa

Los nanohilos de celulosa (NHC) han sido pobremente estudiados. Estos se manufacturan usando el método de electrohilado. Este método se basa en la aplicación de un voltaje alto sobre la muestra polimérica estando dentro de un capilar que se encuentre retenido por tensión superficial. La superficie del líquido comienza a distorsionarse de forma cónica, llegando a un voltaje crítico la fuerza electrostática supera la tensión superficial y con ello se expulsa un chorro de líquido delgado y estable. Con este método se evapora el solvente al momento que la fuerza electrostática es excedida, dejando únicamente las fibras poliméricas ultra finas recolectadas en un colector de muestra que se encuentre conectado a tierra. Al final el resultado serán filamentos con

diámetros de entre 100 - 1000 nm ^[33]. Los NHC poseen baja cristalinidad y su aloforma variará, al mismo tiempo su estabilidad térmica es menor a la de la celulosa.

2.2.2.5 Nanocelulosa amorfa

La nanocelulosa amorfa (NCA) generalmente tiene forma de nanopartícula elíptica con un diámetro promedio de 100 – 200 nm. Esta puede ser obtenida a través de una hidrólisis ácida y con una desintegración usando ultrasonido. Una de sus características principales es que posee mayor contenido de grupos funcionales, es accesible, posee una sorción mejorada y también una mayor capacidad de espesamiento. No obstante, sus propiedades mecánicas se ven disminuidas y resulta inadecuado proponerlo como materia para reforzar. Su aplicación es ser un bio-transportador de sustancias activas y como agente espesante ^[34].

2.2.3 APLICACIONES

La NC hoy en día se piensa que puede llegar a reemplazar a varios materiales sintéticos debido a su naturaleza biodegradable y sus propiedades mecánicas. Adicionalmente se espera que los estudios para este material vayan en aumento debido a que es un biomaterial relativamente nuevo y comienza a llamar la atención en el área de medicina, industria automotriz, electrónicos, empaquetado, construcción y para el tratamiento de aguas residuales.

Mencionando primeramente a la industria papelera. Cerca de 100 millones de toneladas de celulosa son producidas ^[10, 28]. El proceso de fabricación de papel implica pasos que incluyen preparar los componentes del papel, refinar en húmedo, formar láminas húmedas, prensar, secar, calandrar y terminar. El proceso de refinamiento se realiza para poder darle resistencia al papel y en recientes investigaciones de Loellich y Leykin ^[35] han demostrado que se puede agregar partículas de nanocelulosa mejorando sus propiedades mecánicas. Según lo reportado por Henriksson ^[35], es al menos 2 - 5 veces más resistente que los papeles comunes formados con el proceso convencional. Disminuyendo

así la utilización de varios químicos aplicados en esta industria que en la actualidad se sabe que contamina enormemente.

Existe un creciente interés por aplicar la nanocelulosa como polímero aditivo para aumentar la resistencia de los materiales. Debido a que es un material con alta uniformidad y pocos defectos lo hace un candidato ideal por las propiedades que llega a presentar cuando se disminuye el tamaño de la fibra. Modificación de viscosidad, incremento de propiedades mecánicas, y reforzar la matriz polimérica del material deseado usando estos polímeros son las principales funciones que se buscan cumplir y que ya hay reportes de haber logrado esto ^[32].

Y como ya se viene mencionando, la degradación de este polímero es rápida y sin dejar residuos contaminantes.

Hablando de un tema con mayor grado de riesgo; la medicina, en este caso este biomaterial presenta características precisas para poder ser aplicado en distintos productos, tal como cosméticos, productos de higiene personal y sobre todo medicamentos. En este último presenta una de sus mejores cualidades, una estabilidad en suspensiones médicas contra la fase de separación y sedimentación de ingredientes pesados. Además, se puede modificar la nanocelulosa para usarla como acarreador de enzimas o fármacos mediante inmovilización de estos. Debido a su pequeño tamaño las fibras se entrelazan y producen pequeños poros donde se pueden adherir las enzimas o fármacos para posteriormente ser liberados de forma gradual para tratamientos epidérmicos ^[10, 29, 31].

2.3 GRANO DE CEBADA MALTEADA

El grano de cebada es de forma ahusada y es rica en proteínas y almidón, consiste en 3 partes principalmente; el embrión, el endospermo (aleuronas y almidones) y el recubrimiento del grano. La última puede ser dividida en 3 fracciones: el revestimiento de la semilla, las capas más internas que rodean la aleurona, se superponen a la capa de semillas de las capas de pericarpio, que, a su vez, están cubiertas por la cáscara, Figura 10 ^[36].

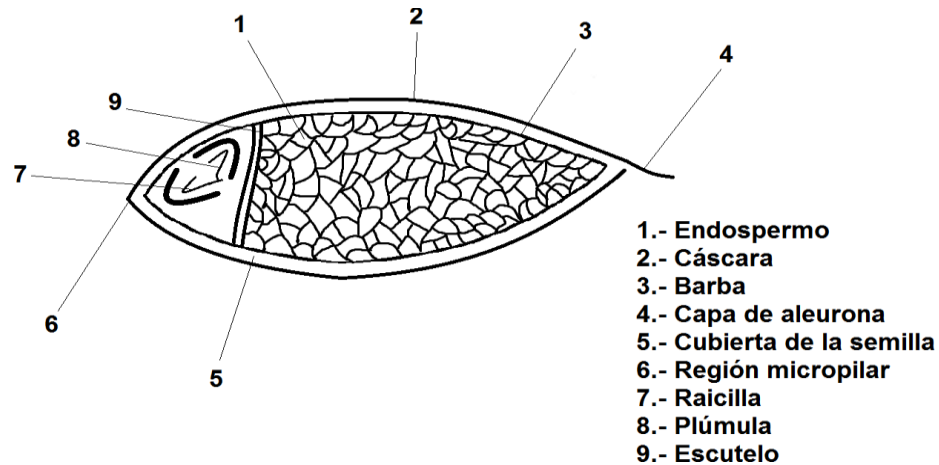


Figura 10.- Grano de cebada y sus secciones.

El pericarpio es ceroso y algo impermeable entonces el recubrimiento de las semillas actúa como una membrana semipermeable, asimismo esta define el interior y el exterior del núcleo. La cáscara es una protección externa del grano y es multicapa. La cáscara posee principalmente material lignocelulósico también pequeñas cantidades de proteínas, resinas y taninos [36, 37].

La utilización de la cebada para la producción de cerveza se remonta desde hace aproximadamente 4,000 años cuando el imperio egipcio aún estaba presente. No solamente se limitaba a los egipcios, monjes católicos producían su propia cerveza, mongoles, romanos, chinos, etc. Lo cual nos indica la importancia de esta bebida alcohólica en la historia de la humanidad, debido a que después de la primera y segunda guerra mundial, esta sigue con nosotros y no se observa que vaya a irse, en otras palabras, desde que el humano ha podido documentar su historia esta bebida se ha mantenido en producción y lo seguirá haciendo [38].

2.3.2 Composición química de la cebada

La cebada malteada contiene: Sales minerales, vitaminas A y B, hidratos de carbono, proteínas, potasio, fósforo, magnesio, cloro, entre otras sales [38], tabla 2. La disposición de la composición de la cebada varía según cada cosecha.

Sin embargo, nos enfocaremos principalmente en el contenido de celulosa. En la tabla 3 se muestran distintas fuentes y porcentajes de este polímero junto a la lignina y hemicelulosa que de igual forma poseen sus propiedades y aplicaciones específicas [11, 39].

Tabla 2.-Composición de la cebada

Compuestos	%
Agua	13
Carbohidratos	76
Celulosa	1.2
Grasas	1.1
Proteínas	7.5
Cenizas	1.2
Minerales:	%
Potasio	0.364
Sodio	0.028
Calcio	0.040
Fósforo	0.395
Magnesio	0.120
Hierro	0.047
Azufre	0.094
Cloro	0.123
Manganeso	0.0016
Cobre	0.0007
Zinc	0.0024
Yodo	0.000001
Vitaminas:	
Vitamina A	70 U.I
Vitamina B1	0.2 mg
Vitamina B2	0.1 mg
Vitamina PP	3.5 mg

Tabla 3.- Composición Química de la BCM reportada (n.d no hay datos) ^[11, 39].

Componentes	Klimek P. (2017)	Berglund (2016)	Buffington (2014)	Mussato et al. (2006)	Mussato and Roberto (2006)	Russ et al. (2005)
Celulosa	24.5%	17%	22.2%	25.4%	16.8%	23 – 25%
Lignina	15.8%	21%	26.8%	11.9%	27.8%	7 – 8%
Hemicelulosa	23.8%	29%	14.1%	n.d	28.4%	30 – 35%

Entre los aminoácidos esenciales y no esenciales que lo conforman se puede observar en la tabla 4 ^[36], sin olvidar mencionar que esta proporción varía de entre cultivo a cultivo.

Tabla 4.- Composición de proteínas de la cebada Mussato S.

Aminoácidos esenciales	%
Lisina	14.3
Leucina	6.12
Fenilalanina	4.64
Isoleucina	3.31
Treonina	0.71
Triptófano	0.14
Aminoácidos no esenciales	
Histidina	26.27
Ácido glutámico	16.59
Ácido aspártico	4.81
Valina	4.61
Arginina	4.51
Alanina	4.12
Serina	3.77
Tirosina	2.57
Glicina	1.74
Asparagina	1.47
Ácido-γ-aminobutírico	0.26
Glutamina	0.07

2.3.3 Importancia

La cebada (*Hordeum vulgare*) es una planta monocotiledónea anual perteneciente a la familia de las gramíneas, a su vez, es un cereal de gran importancia y actualmente es el quinto cereal más cultivado en el mundo ^[37]. La razón de su importancia se debe a su amplia adaptación y a su diversidad de aplicaciones.

Como ya se mencionó en la sección anterior la cebada nos ha acompañado desde hace miles de años para la obtención de distintos productos comestibles. Sin embargo, nuestro interés principal es el bagazo de cebada malteada cervecera (BCM) y con la cual se estará trabajando durante toda esta investigación de tesis.

La elaboración de cerveza representa 29.3% de la producción bruta total de la industria de las bebidas, siendo la segunda actividad económica más importante dentro de ella ^[40].

Su importancia además de lo obvio, es su potencial aplicación para la obtención de productos que van desde el ámbito alimenticio como suplemento, proteínas, producción de biogás, biocombustibles, etanol, antibióticos, enzimas y extractos de aceites ^[36], hasta la biomedicina (producción de bioplásticos) y que hasta hace poco se comenzó a aplicar, pero con un mercado reducido. Actualmente la mayor parte de este material posterior a la maceración (obtención de azúcares fermentables y no fermentables) se destina como suplemento alimenticio del ganado ^[11, 37], aportando solo lo mínimo para investigación y obtención de nuevos productos. E incluso muchas cerveceras artesanales desperdician sus residuos tirándolos o colocándolos en una composta, entre otras soluciones para tratar con estas, sin tomar en cuenta la posibilidad de re-utilizarlas con un fin específico. Cabe mencionar que algunas industrias cerveceras grandes ya producen bio-combustible ^[41].

Esto abre una gran área de investigación para su posterior aplicación y generar nuevos campos de la industria usando materiales reciclados.

2.3.4 Aplicaciones industriales

En esta sección se colocan los motivos y los efectos que se tiene al usar el BCM como fuente de alimentación y de obtención de productos.

2.3.4.1 Uso alimentación ganado

Como es un producto de desecho este material es de bajo costo, por tal razón se usa para la alimentación de ganado vacuno, avícola, porcino y piscicultor. De nuevo otra de sus ventajas es que se ha reportado un aumento en el peso del ganado cuando se alimenta con el BCM. Sin embargo, la mayor parte de los polisacáridos presentes incluyen arabinoxilano y β -glucano, que no son digeridos por el ganado avícola y se tiene que remediar agregando enzimas a la BCM, la xilanasa y β -glucanasa para sobrellevar este detalle ^[36].

2.3.4.2 Dieta humana

El alto contenido de fibra, proteínas y minerales presentes en la BCM lo hacen muy atractivo para mejorar la nutrición de la dieta cotidiana humana. Esta acelera la digestión, incrementa el peso de las heces y quema de grasas (aliviando la constipación y diarrea) disminuyendo la incidencia de los cálculos biliares, reduciendo los niveles de colesterol en sangre y los niveles de glucosa sérica posprandial. Todo esto es debido a la presencia de proteína rica en glutamina, polisacáridos no celulósicos y fibras solubles incluyendo β -glucano en la BCM. Debido a todo lo mencionado la aplicación de este se ha evaluado constantemente para ser considerado de manera definitiva en varios productos. Ya existe mucha información donde se reporta la incorporación de BCM en productos, principalmente en panadería; como en pan de barra, galletas, *muffins*, pasteles, *waffles*, panques, tortillas, botanas, donas y biscochos. Obviamente para su incorporación tienen que ser molidos para convertirlos en harina. Al agregar esta harina incrementa el contenido de proteína, fibra y aminoácidos. Adicionalmente, este absorbe más agua y menos ácidos grasos en el producto final ^[36, 37].

Aunque no se limita a productos de repostería, sino también, a productos de embutidos sin afectar los parámetros sensoriales de sabor. Sugiriendo que su uso como un sustituto de grasa para la fabricación de productos altos en fibra y bajos en grasas [36, 37].

A pesar de todas estas características en los productos se necesita mantener estudios para poder tener una total certeza la sustitución e incorporación de este material y sin afectar la calidad (apariencia, textura y sabor).

2.3.4.3 Uso BCM para la producción de energía

Existen varias propuestas para la utilización entre ellas; conversión termoquímica (pirólisis y combustión), producción de biogás y etanol. Estas últimas con un incremento cada vez mayor de interés debido a la crisis energética actual. Además, su gran disponibilidad y bajo costo lo hacen un material con gran potencial [36].

2.3.4.4 Conversión termoquímica

La BCM presenta un importante poder calorífico bruto valuado en 18.64 – 20.14 MJ kg⁻¹ [22]. El calor generado por la quema de está puede apoyar a la energía requerida en las cervecerías, aunque su combustión genera la emisión de partículas y gases tóxicos que contienen nitrógeno (1000 – 3000 mg m⁻³) y dióxido de sulfuro (480 mg m⁻³) [36, 37].

Otra alternativa es la producción de ladrillos de carbón a partir de la BCM. Estos ladrillos tienen un gran poder calorífico (27 MJ kg⁻¹), la cual es mayor que la que posee el valor normal de la BCM y similar al carbón de madera, bagazo de caña, bagazo de uva, bagazo de aceituna y cáscara de avellana [36, 37].

2.3.4.5 Producción de biogás

Esta idea fue considerada en primer lugar porque al ser aplicada por las cervecerías, podrá realizar sus procesos sin necesidad de otra fuente, además, pose bajo nivel de afectación con el ambiente.

La producción de biogás es un proceso realizado por una fermentación anaeróbica y del cual se tiene que tener especial cuidado con las condiciones de fermentación, ya que estas son el factor esencial para una degradación eficiente. En la producción de este biogás se ha reportado una obtención de 3476 cm³ por cada 100 gr de BCM después de 15 días de digestión [36, 42]. Aunque se tiene que tomar en cuenta que la producción está limitada por ciertas condiciones, por ejemplo, se producen metabolitos secundarios cuando se comienza a degradar el material lignocelulósico principalmente el p-cresol^[36]. Este proceso aún se encuentra en fase de investigación por el motivo antes mencionado, pero de igual manera ha ganado importancia por la cual cada vez hay una mayor cantidad de científicos están interesados en desarrollar esta idea.

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Nanomateriales y nanotecnología en México

En un material a escala nanométrica, el movimiento de los electrones está muy limitado por las dimensiones del propio material y la proporción de átomos en la superficie en contraste con los átomos de los materiales en bruto. Por tal motivo, se modifican las propiedades y en consecuencia se pueden diseñar materiales con propiedades deseadas. Desde un punto de vista económico en el año 2016 [25] esta área se valoró en 7.3 mil millones de dólares y se espera que alcance más 16.8 mil millones de dólares para el 2022 [43].

Esto abre las puertas a un mercado nuevo, el mercado de los nanomateriales. Este mercado incluye óxidos metálicos, metales, productos químicos y polímeros, entre otros. Algo importante a resaltar es que el segmento de productos químicos y polímeros fue el segmento de aplicaciones principal del mercado, esto es debido a sus amplias aplicaciones. Además, se prevé que el segmento de salud crecerá con mayor rapidez que la mayoría [43].

En México la nanotecnología (NT) se ha estado impulsando desde el año 2001, y desde ese entonces el gobierno la reconoce como un área estratégica en sus

políticas de ciencia y tecnología. Hasta el año 2013 existían un total de 101 empresas que trabajan con nanotecnología, ya sea manufacturando a partir de nanotecnología o que la utilizan para sus operaciones ^[43]. A pesar que se haya realizado un inventario de estas empresas la mayoría se centró en 2 estados; Nuevo León (NL) y en el Distrito Federal (DF). Principalmente se trata de *clusters* en las cuales participan empresas, universidades y el gobierno en su formación. NL representa el estado con mayor cantidad de empresas nanotecnológicas con un total de 39 y el DF con 31, en la figura 11 se observa una gráfica con la cantidad de empresas por estado. Sobre sale el sector químico, seguido del eléctrico y el tratamiento de aguas, sector comercialización y distribución de productos importados, sector alimenticio y nanomateriales. Esto implica que México está demostrando interés por la manufactura de productos con nanocomponentes y se espera que en los próximos años se demuestre un mayor crecimiento ^[43].

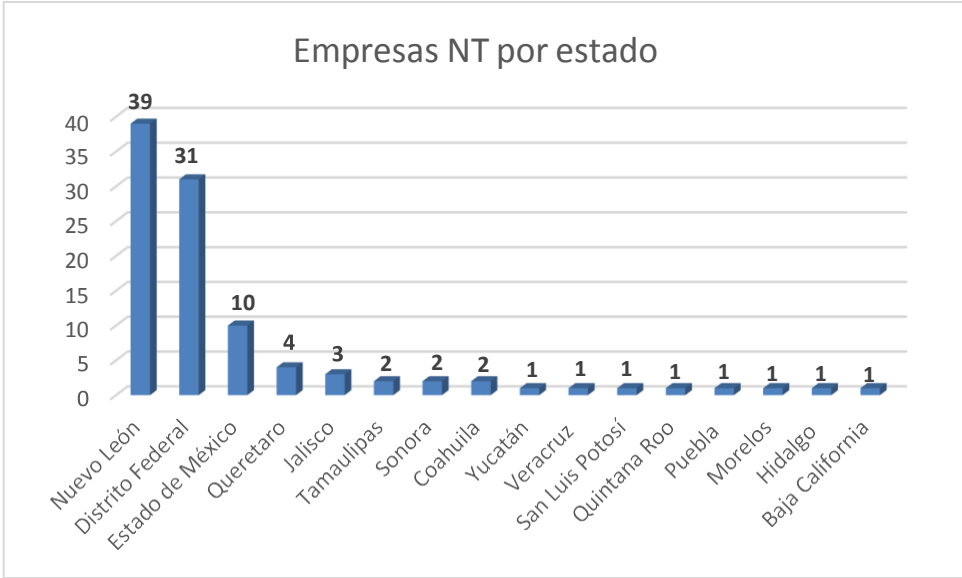


Figura 11.- Cantidad de empresas en México que involucran el uso o producen nanotecnología ^[43].

2.1.2 Nanocelulosa BCM

La NC para poder ser considerada “nano” necesita contar con al menos una dimensión entre 1 - 100 nanómetros (nm) según definió Organización Internacional de Estandarización (ISO) en el 2010.

Ahora, la NC de BCM de cualquier tipo, ha sido poco estudiada a pesar de las grandes aplicaciones que tiene la materia prima y las cualidades que presenta el nanomaterial resultante. Existen algunos reportes de producción de nanocelulosa a partir de BCM. Por otra parte, estos son pocos en comparación de los que existen de otras fuentes, sumando al hecho de que los métodos de obtención no son los más indicados para un aislamiento eficiente y escalable [39, 44, 45].

El método de hidrólisis ácida es el mayormente usado y en este caso no será la excepción, y con la cual se pueden obtener distintos tipos de nanocelulosa dependiendo de los pre-tratamientos. En los tratamientos reportados se llevaron a cabo mediante la combinación de varias técnicas, ultrasonido, molienda ultrafina y homogenización.

En el primer artículo reportado el tratamiento la BCM se lleva a cabo en 2 fases; la primera, la muestra es hervida durante 1 hora, se divide la muestra en 2, una se deja secar a 105°C hasta alcanzar el peso inicial (control). La otra se humedece en una solución con 2% de NaOH durante toda la noche. La segunda muestra se prepara en una solución con agua destilada y 12% de NaOH y sometidas a la autoclave a 121°C por 45 minutos, en tres ocasiones. Posterior se lleva a cabo la remoción de la lignina residual mediante clorito de sodio, acetona e hidróxido de potasio [44].

Para la preparación de nanocelulosa se usó un 10% de HCL en una solución a 80°C durante 2, 4 y 6 horas, las muestras se denominaron NC-2, NC-4 y NC-6. Con esta metodología se obtuvo una NC con alta estabilidad a los 100 minutos, es decir, no se precipito en ese tiempo, siendo la NC-6 la que obtuvo una mayor estabilidad. Mediante imágenes de AFM se confirmó la presencia de NC con

diámetros entre 73 – 145 nm. Sin embargo, con el análisis de FT-IR no se pudo determinar la pureza total de la nanocelulosa mostrando una señal de la lignina, un pico característico de esta, en el 1640 cm^{-1} correspondiendo a un anillo aromático, y con un promedio de eficiencia de 25.8%. No obstante, no obtuvo una mejora en su rendimiento en comparación con otros métodos ácidos. El tamaño de cristal de las muestras, posterior al tratamiento, aumentaba de tamaño, pero su índice de cristalinidad aumenta en todos los casos. Aunque no hubo diferencia significativa entre la temperatura máxima de degradación entre las muestras y el control, por otro lado, su estabilidad térmica es mayor.

El segundo tratamiento reportado se basa en el de bagazo de jugo de zanahoria [45, 46], que por ser un procedimiento basado en otro tipo de fuente, este afectó el número de repeticiones por paso para el tratamiento de la BCM. En este proceso, el principal tratamiento es un método de moliendo húmeda ultrafina, con un equipo llamado super colisionador de masas MKCA6-3, Masuko Sangyo. Este es un molino especializado para la fabricación de nanofibras de celulosa. Este tratamiento inicia con la extracción de los azúcares residuales de la BCM, posteriormente se aplica un tratamiento alcalino (blanqueado) con NaOH al 2% a 80°C por 2 horas. Consecutivamente se pasó a otro tratamiento con clorito de sodio al 1.7% en un buffer de ácido acético (pH 4.5) a 80°C por 2 horas. En el caso de la BCM se requirió repetir este paso en tres ocasiones [39]. Al final se neutraliza la muestra mediante lavados con agua destilada.

Con la muestra blanqueada se pasa a ingresarla al molino donde se coloca a 150 rpm y se ajusta la tapa a $70\ \mu\text{m}$, las piedras usadas son de carburo de silicio grueso. Al final el tiempo de molienda es de 170 minutos.

Los resultados tampoco demostraron obtener nanocelulosa completamente pura, por cada 100 gramos de muestra presentaban 17% de celulosa y al final el peso obtenido de la muestra molida era de 22 gramos, es decir, 5 gramos de más de lo que ellos se supone que tienen. No se realizó un análisis de FT-IR o algún otro para demostrar su pureza. Su índice de cristalización se midió

mediante rayos X y no hubo una variación significativa entre el antes y el después de la molienda con un 72% y un 74%, respectivamente, lo cual indica que el proceso de molienda no afectó en su mayoría la estructura inherente de las nanofibras. También, el tamaño de las nanofibras quedó entre 10 – 40 nm con un módulo de young mayor a la muestra control, 9.9 ± 1.9 y 4.1 ± 1.1 GPa, respectivamente. Su fuerza aumentó de 59 – 139 MPa, aunque el proceso de producción de estas nanofibras requirió 14 veces mayor energía que lo ya reportado con el mismo método usando bagazo de zanahoria.

El último proceso reportado de extracción de NC de BCM se realizó mediante una homogenización, donde también se hizo la extracción de azúcares para luego aplicar un tratamiento básico con: NaOH, NaClO₂, Na₂SO₄, para la remoción de todo el material no celulósico [39].

En esta investigación se enfocó en el aislamiento de NC y el contenido de proteico de la BCM, sin afectar a las proteínas para su posterior análisis y aplicación. Por tal motivo, se aplicó el experimento en 3 fases; la primera, se hizo una solución con 0.1 M de NaOH y muestra (no se especifica la cantidad de muestra) a 60°C por 60 minutos y con agitación constante de 30 rpm. Después se centrifuga la muestra a 2000 rpm por 10 minutos a 4°C, para la obtención de las proteínas. El sobrenadado se recupera y el resto pasa a la siguiente etapa. Segundo, se hierve una muestra con clorito de sodio (1:50 g/mL) por 2 horas y un pH de 4. Se añade posteriormente bisulfito de sodio (1:50 g/mL) y se deja en agitación por 1 hora a temperatura ambiente, seguido de un lavado con agua destilada y secado. Para finalizar este tratamiento se agrega de NaOH (1:50 g/mL) y se deja en agitación a temperatura ambiente por 8 horas y para el final es lavado y secado. Tercero, para la obtención de la NC se preparó una solución con agua y con 1.5% de muestra para realizar una dispersión en un equipo de IKA-T10 para dispersar las fibras. Una vez realizado esto, se homogeniza en un equipo de alta presión entre 700 – 800 atm por 20 ciclos.

Posterior al primer tratamiento se observó que el porcentaje de celulosa, se mantuvo (24.5%), hemicelulosa aumento (9.8 a 23.8%) y de lignina disminuyo (15.8 a 13.5%), con el segundo paso se obtuvo mejores resultados celulosa aumento de 24.5 a 43.2, y la hemicelulosa pasó de 23.8 a 14.2 y la lignina de 13.5 a 12.2, con el último paso no se aplicó un análisis para poder determinar su composición porque los autores mencionaron que no había necesidad ^[31].

Hubo cambio en su apariencia, para el paso final el color de su muestra era blanca a diferencia de la inicial de un color pardusco o café. La morfología se observó mediante SEM y AFM destacando la presencia de nanofibras con una media de diámetros de 4.58 nm incluso algunas con diámetros por debajo de 3 nm las cuales corresponden a las fibras elementales de la celulosa.

Su índice de cristalinidad aumento en cada proceso aplicado; su valor paso de 17.4%, 18.1% y 48.8%, respectivamente con el orden aplicado de las muestras.

Estos son los reportes actuales de producción de NC a partir de BCM, a todos estos procedimientos les falto realizar, ya sea, un análisis de composición química, un FT-IR o mejorar el proceso de aislamiento para poder asegurar que las muestras se encuentran completamente puras y eficientizar el proceso para asegurar que lo que se está caracterizando corresponda únicamente a la nanocelulosa ^[39, 44, 45]. Sin embargo, todos muestran resultados bastante satisfactorios, destacando la posibilidad de obtener NC de este desecho industrial y que, además, posean características rentables para la industria y así poder ser aplicadas en la elaboración de diversos productos.

Existen otros métodos de relevancia en trabajos realizados por *Solange I. Mussatto* ^[47 - 50] que fueron elaborados del año 2005 – 2008, pero no se enfocaba en la producción de NC, sino en la remoción del material no celulósico de las muestras de BCM, reiterando, que ese paso es fundamental para optimizar la producción de NC debido a que se ha evidenciado que en la etapa de blanqueado o tratamiento básico existe una degradación de celulosa ^[50], afectando así el rendimiento final. En 4 de sus artículos pudo encontrar una

metodología eficiente para poder remover la mayor parte del material no celulósico. No obstante, el equipo que usa para su elaboración es sofisticado^[51], complicando así su posible replicación por otros interesados.

Igual existen otros métodos, pero se enfocan mayormente en la producción de bioetanol, donde usan un procedimiento distinto para poder extraer las hemicelulosas y celulosas ^[52, 53] que son usadas para realizar la fermentación y obtener el bioetanol.

CAPÍTULO 3

3.1 METODOLOGÍA DE EXPERIMENTACIÓN

3.1.1 Consideraciones generales

Todos los reactivos usados son grado reactivo, el agua desionizada fue la de mayor pureza con una resistividad de $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$.

Algo muy importante a considerar es que la cantidad de celulosa presente este tipo de residuos variará ampliamente y dependerá del tipo de malteo al que fue sometido, las condiciones y el proceso de malteado y el método de caracterización.

3.1.2 Pretratamiento del Bagazo de cebada cervecera (BCM)

La BCM fue obtenida de una planta cervecera propia, es completamente bagazo de cebada malteada sin ningún otro tipo de grano añadido.

Con la BCM ya lista para usarse primeramente se realiza una extracción de los azúcares residuales mediante varios lavados con agua potable, posterior a esto se pasa a refrigeración a -5°C hasta que se vaya a hacer uso de ella. La siguiente etapa es una deshidratación pasándose a un horno a 50°C por 24 horas. Con la muestra ya seca se pasa al proceso de la pulverización.

3.1.2.1 Molienda ultrafina

La muestra se coloca en un molino de alta velocidad, que pulveriza la muestra durante 4 minutos, este proceso se repite en 5 ocasiones. El polvo obtenido se encuentra entre 30 - 300 mallas, es decir, entre 54 – 600 μm . La razón de repetir el proceso de molienda es para obtener una mayor cantidad de muestra cerca de los 54 micrones.

3.1.2.2 Características del molino

Acero inoxidable, potencia máxima del motor: 850 Watts, voltaje: 110v, velocidad: 28,000 RPM, finura: 30 - 300 mallas, operación continua 5 minutos.

3.1.2.3 Tamizado

Posterior al proceso de pulverización la muestra pasa por un tamiz de pruebas físicas de marca Montiel Inoxidables México, con un mallado de 150, es decir, 105 μm . Al final la muestra con la que se trabaja es de entre 54 – 105 μm . Hay que aclarar, la muestra sin el proceso de molienda se le denomina BCM-N y la muestra con el pre-tratamiento completo se le denomina BCM-P.

3.1.3 Tratamiento alcalino (delignificación)

Con la muestra BCM-P se realiza el procedimiento en un recipiente de vidrio o de acero inoxidable, esto para evitar cualquier tipo de reacción entre los químicos con el recipiente. Además, éste tendrá que tener una capacidad total de al menos 5 veces mayor al volumen de la reacción debido a que la delignificación se produce una cantidad de espuma y burbujas considerable, obteniendo además moléculas de agua y oxígeno como subproductos de la reacción.

Este paso se usa principalmente para extraer la mayor cantidad de material no celulósico posible.

Experimentación:

10 gr BCM-P, 3 gr de hidróxido de sodio (NaOH), 100 mL peróxido de hidrógeno (H₂O₂).

El experimento se necesita llevar a cabo en un recipiente con una capacidad de al menos 3 litros donde primeramente se colocan los 100 mL de H₂O₂ luego se agregan los 3 gramos de NaOH. Se deja en agitación constante a temperatura ambiente hasta que el NaOH se disuelva completamente. Con la solución lista, se le agrega calor a la muestra, a una temperatura de 65°C de esta manera la solución reaccionará liberando oxígeno, produciendo espuma. Posterior a la reacción se le agrega los 10 gr de muestra de BCM-P.

La reacción se lleva a cabo en una plancha con agitación magnética y a una temperatura de 65°C funcionando como catalizador de la reacción. En este paso de la reacción a los pocos segundos de haber añadido la mezcla comienza a ser visible la generación de espuma llegando a su punto máximo en los primeros minutos. La agitación es importante para disminuir la presencia de espuma y reventar las burbujas formadas disminuyendo el volumen generado y hacer que los reactivos vuelvan al medio con la muestra. La duración de esta reacción es de 60 minutos.

Al finalizar los 60 minutos la muestra pasa a ser lavada y neutralizada. Los lavados se realizan mediante centrifugación a 4000 RPM por 30 minutos a temperatura ambiente. Se realiza primeramente un lavado, posteriormente se neutraliza con una solución de ácido sulfúrico al 1% hasta un pH de 6 (pH agua desionizada), para al final ser nuevamente centrifugada. Con la muestra neutra y lavada se pasa a realizar el paso de hidrólisis. De esta manera se termina de aislar la mayor cantidad posible de celulosa de la muestra.

3.1.4 Tratamiento ácido (hidrólisis)

Esta etapa del proceso no se requiere utilizar en un recipiente con mayor capacidad debido a que no hay reacción similar a la del tratamiento alcalino.

Se utiliza el ácido peroxosulfúrico o solución piraña (H_2SO_5), la cual se obtiene tras realizar una solución de H_2O_2 y H_2SO_4 . Esta hidrólisis se lleva a cabo en un solo paso.

Se añade el H_2SO_4 al H_2O_2 y no al revés, esto para evitar una reacción agresiva por la combinación de ambos reactivos. 45 mL de H_2O_2 y 5 mL de H_2SO_4 . Se deja mezclando unos minutos para asegurar una correcta disolución. Esta solución se le agrega a la muestra en agitación para que entre en contacto con toda la celulosa presente durante al menos 5 minutos. Después, se lleva a la autoclave a 110°C por 45 minutos. Una vez pasado el tiempo se deja que salga la presión para sacar la muestra, esta se lava mediante centrifugaciones con las mismas condiciones anteriormente mencionadas, realizando incluso el mismo orden, lavado–neutralizado–lavado. La diferencia es que al final necesitara al menos 5 centrifugaciones para poder dejar la muestra libre de sales.

3.1.4.1 Verificación de pureza de la muestra.

Con una micropipeta se toma 10 μl de la solución final. Se colocan en un eppendorf de 1 mL. Se agrega alcohol etílico hasta un volumen de 0.5 mililitros. Se agita lo suficiente para tomar 30 μl y se coloca en una oblea de silicio (previamente lavada) y se deja evaporar el alcohol para que al final solo quede la muestra.

Con la hojuela preparada se pasa al microscopio confocal para poder observar si hay presencia de cristales, las cuales se pueden diferenciar de la NC debido a su forma. En caso que se observen cristales se repite el proceso de lavado por centrifuga.

3.1.5 Producción de películas de nanocelulosa

Con la muestra final se pasa a realizar una separación por tamaño filtrando con una malla de nylon de 75 μm para posteriormente colocarse en un molde deseado. En este caso se colocaron en cajas de petri y un recipiente rectangular. Se dejan secando a 53°C por 24 horas.

3.2 Técnicas de caracterización

3.2.1 Espectroscopia de Infrarrojo por transformada de Fourier

Un fragmento de la película es colocado en el equipo Thermo Nicolet 6700 FT-IR, el espectro con el cual se realizó el análisis en un rango de longitud de onda de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ con una resolución espectral de 4 cm^{-1} .

3.2.2 Análisis Termogravimétrico diferencial

Se colocaron de entre $10 - 20 \text{ mg}$ de NC sobre un crisol de alúmina de $90 \mu\text{l}$. El análisis fue realizado elevando la temperatura 10°C por minuto, los rangos de temperatura son de $25 - 1000^\circ\text{C}$ en una atmósfera de nitrógeno. Con esto se pudo obtener una gráfica donde se colocaba la pérdida de masa en porcentaje y los rangos de temperatura.

3.2.3 Microscopio confocal

Teniendo la muestra líquida final, se realiza una solución diluyendo $10 - 15 \mu\text{l}$ de la muestra en 1 ml de alcohol etílico desnaturalizado al 70° . Posteriormente, se toma $10 \mu\text{l}$ de esta solución y se coloca sobre una oblea de silicio, se deja secar completamente la muestra. Se toma la oblea con la muestra preparada y se pasa a la observación bajo el microscopio confocal Olympus.

3.2.4 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

En este caso se toma una muestra de la película formada, se pega con una cinta de carbón sobre un alfiler de aluminio y se pasa a secar en el horno a 50°C durante 2 horas. El microscopio electrónico de barrido usado es FEI NOVA NANOSEM 200 con un voltaje de 15 kV y trabajando a una distancia de 5 mm .

CAPITULO 4

4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primeramente, uno de los factores importantes a considerar es el tamaño de la muestra con la que se trabaja, a diferencia de otros trabajos ya reportados, aquí se encuentre en el orden de los micrones, mientras que otros autores reportan un grano de cebada entero o casi entero con un único paso para la extracción de azúcares residuales. Esta diferencia de tamaño, figura 12, fue crucial para poder llevar a cabo el estudio debido a que, aplicando la misma metodología a la muestra, pero sin un pretratamiento físico no se obtenían los mismos resultados.



Figura 12.- a) Grano de BCM casi entero, el cual es utilizado en otros reportes y con el que se trabaja, b) muestra de BCM fina, resultado de la molienda y el tamizado con un tamaño de partícula de entre 54 – 105 μm .

Esto se debe a que la muestra obtenida entre menor tamaño tenga, una mayor área entrara en contacto con el tratamiento, en comparación del grano entero. Esto ocurre debido a que dentro del mismo grano hay secciones que están menos accesibles y no están expuestas de la misma manera al tratamiento que el resto de la muestra. Mediante la pulverización se logra comprometer a estas

secciones exponiendo una mayor cantidad de muestra al tratamiento, debido al menor tamaño.

4.1 TRATAMIENTO ALCALINO Y EXTRACCIÓN DE CELULOSA DE BCM

El principal objetivo de este paso es la eliminación de la mayor parte del material no celulósico, principalmente la lignina. Sin embargo, la remoción de las fracciones debe ocurrir sin degradar la cadena celulósica para que presente características adecuadas para su posterior aplicación. Cabe mencionar que a pesar de que el tratamiento alcalino es considerado un proceso eficiente para la remoción de lignina, este no promueve una separación selectiva, lo cual implica que exista una posibilidad de que degrade otras cadenas de carbohidratos como la hemicelulosa y celulosa ⁴⁸.

La celulosa de BCM se obtuvo en forma de láminas, e incluso hay presencia de nanocelulosa desde el primer tratamiento, pero en una cantidad muy moderada. Esto se puede observar al momento de formar una película de celulosa, la cual tiene una apariencia algo transparente, de color blanco, resistente y flexible, figura 13. Lo más notorio en este paso es el cambio de color entre la muestra sin tratamiento, al final del tratamiento y posterior a los lavados y neutralizado, figura 14, donde se observa que el tratamiento funcionó.

La muestra presenta un color adecuado debido a la degradación de la lignina. Aunque, cabe mencionar que la lignina no se ha eliminado por completo, debido a que parte de esta está unida fuertemente a la celulosa ocasionando una gran resistencia a la degradación alcalina^[50]. Asimismo, parte de la hemicelulosa que está unida químicamente a la lignina mediante un enlace glucósido y este se transfiere a la celulosa cambiando el tipo de enlace a uno glucosídico (reacción de transglucosilación), esto en un medio alcalino^[50].



Figura 13.- Película de celulosa resultado del tratamiento alcalino, mostrando propiedades mecánicas y ópticas interesantes para su aplicación en distintos productos. Se observa que hay debajo una moneda de 10 pesos mexicanos.

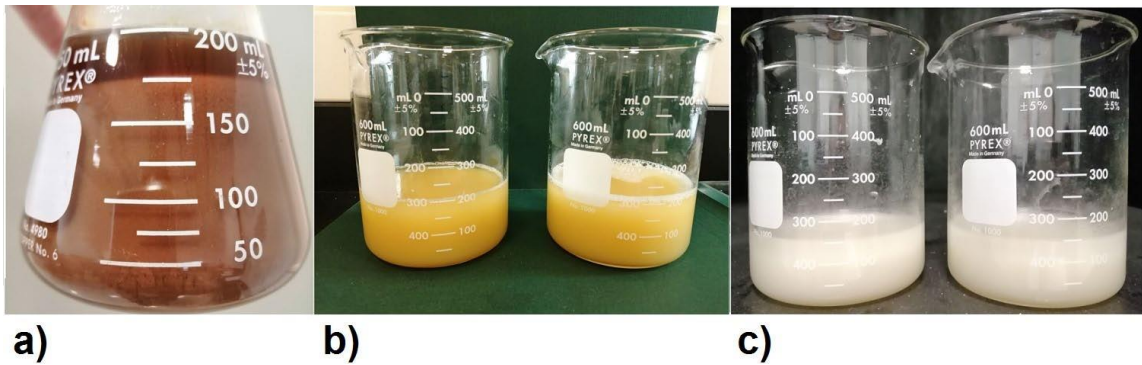


Figura 14.- a) Color de la muestra al inicio del tratamiento, b) Color de la muestra posterior al tratamiento, revelando la presencia de quinonas debido al color amarillo y c) Color de la muestra tras ser lavada y neutralizada, donde se observa además como algo de la muestra se comporta como goma impregnando al cristal, opacando esazona.

En la figura 14-b, el color amarillento del medio revela que los grupos cromóforos de la lignina, quinonas, fueron degradados mediante ataques electrofílicos y nucleofílicos^[54], que son el mecanismo de acción que tiene el proceso de delignificación.

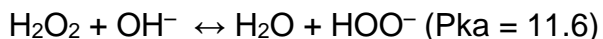
Este proceso se lleva a cabo en un medio alcalino, el cual comienza cuando un anión peróxido ataca al carbón carbonilo o al carbón vinílico en las quinonas en

una reacción nucleofílica que da lugar a peróxidos cíclicos de cuatro miembros (dioxetanos). Estos finalmente se reorganizan dando como resultado la formación de estructuras de oxirano, escisión del núcleo aromático o fragmentación por escisión del enlace C_α-C_β^[54]. Y es así como se comienza la degradación de la lignina separándola de la hemicelulosa y celulosa.

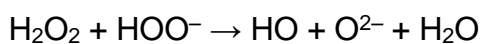
En este trabajo para realizar la solución de la delignificación, se tiene que dejar calentando a 65°C además de tener una agitación constante de 300 rpm. Esto se realiza debido a que la combinación del H₂O₂ y el NaOH provoca una reacción intensa de liberación de oxígeno, que se traduce en la generación de espuma^[55]. Esta puede llegar a varias veces el volumen original. Por esta razón se evita comenzar el proceso antes de generar esta reacción, de lo contrario la liberación de espuma se combina con la liberación de oxígeno generada por la delignificación^[56], figura 15, aumentando así la cantidad de espuma producida. Si el proceso se realiza de forma adecuada solo aumenta un poco debido a la liberación de oxígeno que representa el proceso de delignificación, este paso es fundamental y evidencia que se está atacando a la lignina^[56].

Posterior a la reacción de liberación de oxígeno entre el NaOH y el H₂O₂ en la solución se encuentran presentes distintas moléculas como el anión hidroperóxido (HOO⁻), radical hidroxilo (OH) y aniones superóxidos (O₂⁻), las cuales todas tienen un gran poder oxidativo y comienza a interactuar con la muestra^[55].

En condiciones alcalinas, el peróxido de hidrogeno se disocia para formar el anión hidroperóxido (HOO⁻), el cual es un fuerte agente nucleofílico.



Pero al momento que se produce este anión HOO⁻ comienza a reaccionar con el mismo H₂O₂ produciendo los demás agentes oxidantes.



Estos agentes oxidantes comienzan el proceso de delignificación, atacando anillos fenólicos presentes en las quinonas de la muestra. El mecanismo de

acción ataca preferencialmente, aunque no exclusivamente las estructuras fenólicas de los carbonos carbonilos y vinílicos. Ocasionalmente la degradación de estos grupos encargados de otorgar color. El color amarillo es característico de la lignina que ha sido tratada para la degradación de sus grupos cromóforos [54], indicando que el tratamiento si actuó adecuadamente en la lignina, aunque se puede asegurar que la lignina no ha sido removida completamente en este paso.

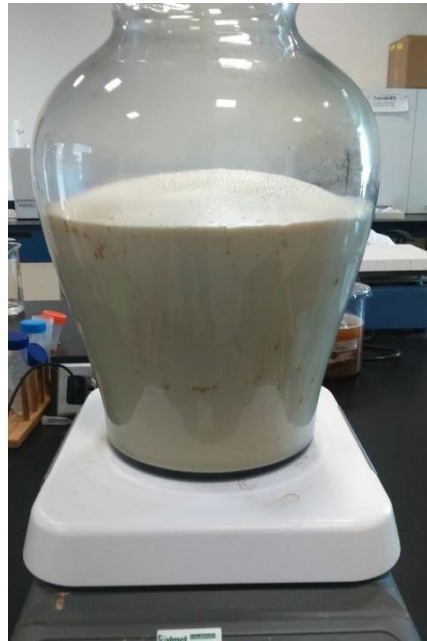


Figura 15.- Reacción previa para la liberación de oxígeno en la solución y se agregó la muestra, ocasionando que las reacciones tanto del proceso de delignificación y formación de agentes superoxidantes se sumarán produciendo así una gran cantidad de oxígeno y espuma, haciendo poco productivo el procedimiento.

Por otra parte, existen reportes demostrando que es complicado realizar un tratamiento completamente eficaz para poder aislar la fracción de celulosa de los demás componentes presentes, sin afectar a esta misma, especialmente de la lignina, hablando de la BCM. En distintos trabajos se ha abordado esta situación de distintas maneras, por ejemplo, se reporta una metodología donde primero se realiza una hidrólisis con ácido sulfúrico, en una relación sólido:líquido 1:8 g:g, a 120°C durante 17 minutos con agitación constante [57]

en un pequeño reactor con sistema de control de condiciones internas, la cual eliminó un 86.6% de hemicelulosas presentes. Con esto se elimina el pegamento entre la lignina y la celulosa (función principal de la hemicelulosa), ocasionando que la lignina se encuentre con mayor susceptibilidad para ser removida. Posteriormente se aplica un tratamiento alcalino con una solución de NaOH en una relación sólido:líquido 1:20 g:g , a 120°C por 90 minutos dentro del mismo reactor del tratamiento anterior. Con este tratamiento, las hemicelulosas al ser mayormente susceptibles a la degradación en un medio ácido, son eliminadas, provocando que aumente la concentración celulosa hasta un 95.7%, lignina en un 3.4% y ceniza en 0.3% [57]. Con este procedimiento se logró disminuir considerablemente la cantidad de lignina presente pero no se logró su eliminación total.

Hay 2 posibles explicaciones del porque es muy complicado la remoción de la lignina; la primera es; un pequeño porcentaje de lignina esta intrínsecamente conectado con los carbohidratos mediante un entrelazamiento mecánico o uniones químicas, y segundo, los residuos de lignina o sus productos degradados reaccionan con otros o con los mismos carbohidratos de la celulosa, para formar productos que son complicados de degradar [50].

El resultado del tratamiento alcalino arrojó una solución blanquecina con residuos impregnados en las paredes del recipiente. Estos residuos son tipo “goma” la cual se debe a la presencia de resinas provenientes de la hemicelulosa, fracción que no fue removida debido a que la hemicelulosa es mayormente susceptible al ataque de agentes ácidos [48], mientras que la celulosa y lignina no tanto. Características similares fueron obtenidas en otro estudio donde la presencia de resinas fue bastante obvia posterior al tratamiento básico [48, 50]. Y donde al igual que en este trabajo estas resinas causaron una unión fuerte entre la celulosa proporcionando resistencia y flexibilidad a la muestra ya convertida en película.

Esto concuerda con otros trabajos donde presentaban metodologías distintas, con mayor agresividad en el tratamiento y con resultados similares [44, 45, 46] a

partir de la misma fuente la BCM. La dificultad para tratar este material se debe a que presenta una mayor cantidad de hemicelulosa y lignina, como se detalla en la tabla 3 en el capítulo 2.3. Asimismo, como ya se mencionó, el material crudo posee todos estos biopolímeros entrelazadas uno con el otro para poder formar la pared celular con todas las características que se conocen. Esto aplica solo al material obtenido de la pared celular de las plantas.

Comprendiendo la complejidad de su distribución y el porcentaje de la celulosa presente, se entiende que exista una dificultad para poder aislar este biopolímero. Por tal motivo, se realizó el pretratamiento aplicado, con el propósito de poder obtener un mejor rendimiento posible, además, de poder realizar una metodología sencilla, disminuyendo el tiempo de reacción y no tener necesidad de aplicar un equipo muy sofisticado como en el ejemplo antes mencionado.

La cantidad de celulosa presente en las muestras reportadas, van desde 16.8 – 25.4%, ver tabla 3, representando una cantidad poco significativa. Siendo la hemicelulosa el polímero con una mayor presencia de hasta un 35%. Debido a la complejidad de la síntesis del material crudo, lo cual dependerá de la planta y sus condiciones, la proporción de celulosa no se encuentra en un solo lugar, sino que se distribuye a lo largo de toda la estructura.

Sumando el porcentaje de celulosa en la BCM, la complejidad de distribución y las características que poseen cada uno de estos polímeros, se logra comprender la complejidad de su aislamiento. Donde para poder obtener la celulosa son necesarios múltiples pasos; además, de una concentración elevada de ácidos y de requerir un gran tiempo para su obtención. Mishra p. (2017), aplicó un tratamiento alcalino en varias ocasiones con concentraciones distintas; NaOH (17% p/v) por 60 min a 60°C, después otro con clorito de sodio (0.7% p/v) a temperatura de 100 °C por 2 horas, el paso posterior fue aplicar bisulfito de sodio (5 % p/v) a temperatura ambiente por 1 hora. Y al final pasa a ser tratada nuevamente con NaOH (17.5% p/v) a temperatura ambiente por 8 horas. A diferencia de este ejemplo, en el trabajo aquí presentado solo se

requirió de un solo tratamiento alcalino por 1 hora obteniendo mejores resultados, ahorrando tiempo y reactivos. El punto clave en este proceso fue el tamaño de la muestra, a diferencia de lo ya reportado que era el grano entero de BCM.

4.2 OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOLAMINAS DE CELULOSA

Con la muestra lista, es decir, con una menor cantidad de lignina presente, además, de exponer a la hemicelulosa para su degradación, se pasa a realizar el tratamiento de hidrólisis. La solución se agrega a la suspensión de la muestra. Posteriormente, se coloca en la autoclave a 110°C por 45 minutos.

Es fácilmente observable la diferencia entre las muestras del tratamiento ácido y alcalino, figura 16, donde los residuos resinosos desaparecen, el color blanco es más puro y el medio ya no presenta turbidez, todo es debido a la eliminación de la hemicelulosa.

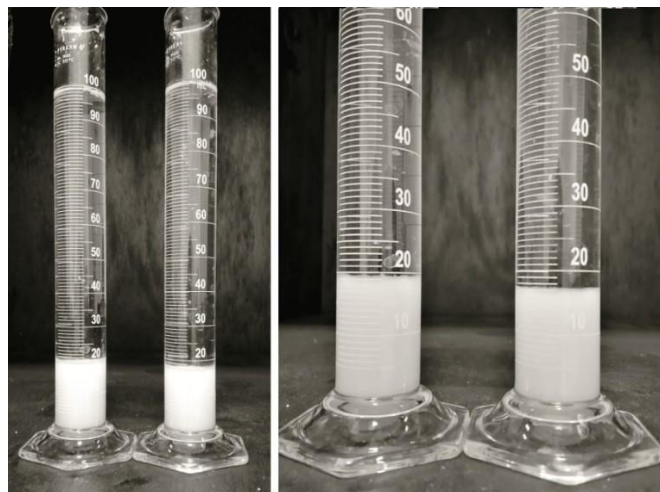


Figura 16.- Resultado final con el tratamiento ácido de 2 muestras, donde cada una se vació en una probeta sin desperdiciar muestra, solo esperando a que se sedimente y retirando el medio. Mostrando un color blanco, sin residuos de alguna otra materia orgánica.

Posterior al tratamiento, se pasó a realizar la centrifugación a 6000 RPM por 30 minutos a temperatura ambiente, después de un lavado se pasó a neutralizar con una solución de NaOH al 1% hasta un pH de 6. Con la muestra ya

neutralizada se realizan nuevamente lavados mediante la centrifuga hasta tener la muestra completamente libre de sales.

4.2.1 CARACTERIZACIÓN TÉRMICA

El contenido de la muestra y la estabilidad térmica del material fue investigado mediante DTA y TGA. En la figura 17 se muestran los termogramas de la muestra control, celulosa y nanocelulosa. Mientras que en la figura 18, se coloca un análisis específico para la nanocelulosa donde las curvas del TGA nos permiten observar las diferencias de los tratamientos. En la figura 19 se observa que la curva que corresponde a la muestra control (roja) tiene una temperatura menor del inicio de degradación que está en los 180°C lo cual corresponde a la temperatura de degradación de la hemicelulosa ^[58], posteriormente se observa como la curva tiene otro punto importante alrededor de los 350°C hasta los 600°C, al final se obtiene una mayor cantidad de residuos posteriores a la combustión del material. Estos residuos se combinan y comienzan a reaccionar produciendo otra elevación en la curva entre los 400 – 500°C. Además, de una mayor presencia de lignina donde su degradación comienza a los 340°C.

En la muestra de celulosa (amarillo), se observa que la degradación comienza posterior a la muestra de nanocelulosa (290°C), posiblemente debido a una mayor presencia de hemicelulosa, además, de la disminución de los demás componentes celulares, como proteínas. Esto concuerda con lo reportado ^[48] debido a que la hemicelulosa solo es vulnerable a los ataques ácidos diluidos, por tal motivo, la presencia de la hemicelulosa aumenta en esta muestra encontrándose en mayor presencia. La diferencia entre la curva de la celulosa y nanocelulosa es debido a que la muestra final tiene una mayor pureza, es decir, la presencia de nanocelulosa es mayor.

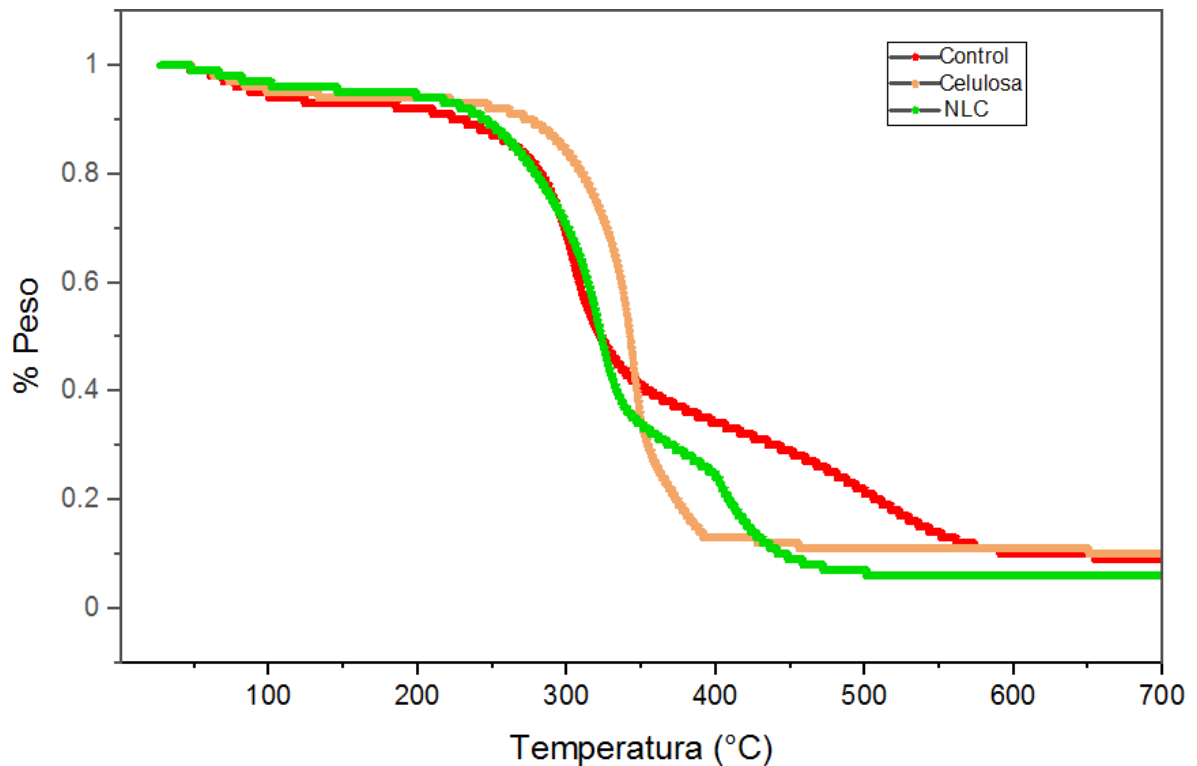


Fig. 17.- Curvas de TGA de la muestra control (rojo), muestra del tratamiento alcalino o celulosa (amarillo) y nanocelulosa (verde). Mostrando las características de las muestras y los efectos encontrados en las muestras posterior a los tratamientos.

Para el termograma de la nanocelulosa se identificó una zona característica de descomposición para NLC (200 – 385°C). Cuenta con tres eventos importantes de pérdida de peso: evaporación de agua adsorbida (52.7 – 103°C), degradación de nanocelulosa (200 – 385°C) y generación de residuos carbonizados (385 – 500°C). Este comportamiento se ha observado por otros autores y se atribuye a la presencia de grupos sulfato remanentes durante la hidrólisis ácida [59]. La descomposición térmica de la nanocelulosa involucra la despolimerización, oxidación, deshidratación, evolución del monóxido de carbono, dióxido de carbono, formación de grupos carbonilo y carboxilo y al final genera residuos carbónicos [59], en este trabajo la muestra cuenta con un 6% de estos residuos, como se observa a partir de los 500°C en adelante.

En altas temperaturas se descompone en una mezcla de elementos flamables y volátiles. Cabe mencionar que la descomposición oxidativa de la nanocelulosa ocurre principalmente en altas temperaturas donde se producen productos flamables ^[60]. Para llevar a cabo estos procesos y poderlos monitorear se necesita administrar calor al sistema ocasionando una diferencia de temperatura entre la muestra y un control, monitoreando las temperaturas. Esta diferencia se observa en la gráfica del DTA, figura 18, se distribuye a dos diferentes bandas de temperatura, que están poco espaciadas.

Posterior de la etapa de descomposición oxidativa, se encuentra que las pérdidas de masa de los materiales residuales de nanocelulosa son lentas en el rango de temperatura 385 – 500°C ^[60], otros autores han reportado valores similares en la degradación de los residuos formados por la celulosa y el tratamiento ^[61].

La degradación de la muestra, figura 18, se observa a través del análisis del DTA en 3 bandas importantes de la curva, en la primer banda se observa que la deshidratación de la muestra ocasionó una pérdida de peso de 4.94%, con un pico máximo de pérdida a 71.5°C, la segunda banda ocasionó una pérdida de 75.56% de la masa total con una temperatura máxima de degradación en 323°C y la última banda corresponde a los residuos generados tras la degradación de la nanocelulosa donde la pérdida de peso fue de un 19.49%, con una temperatura máxima de 432.5°C. Llegando a los 500°C permanecieron únicamente los residuos carbonosos de la muestra que no son flamables.

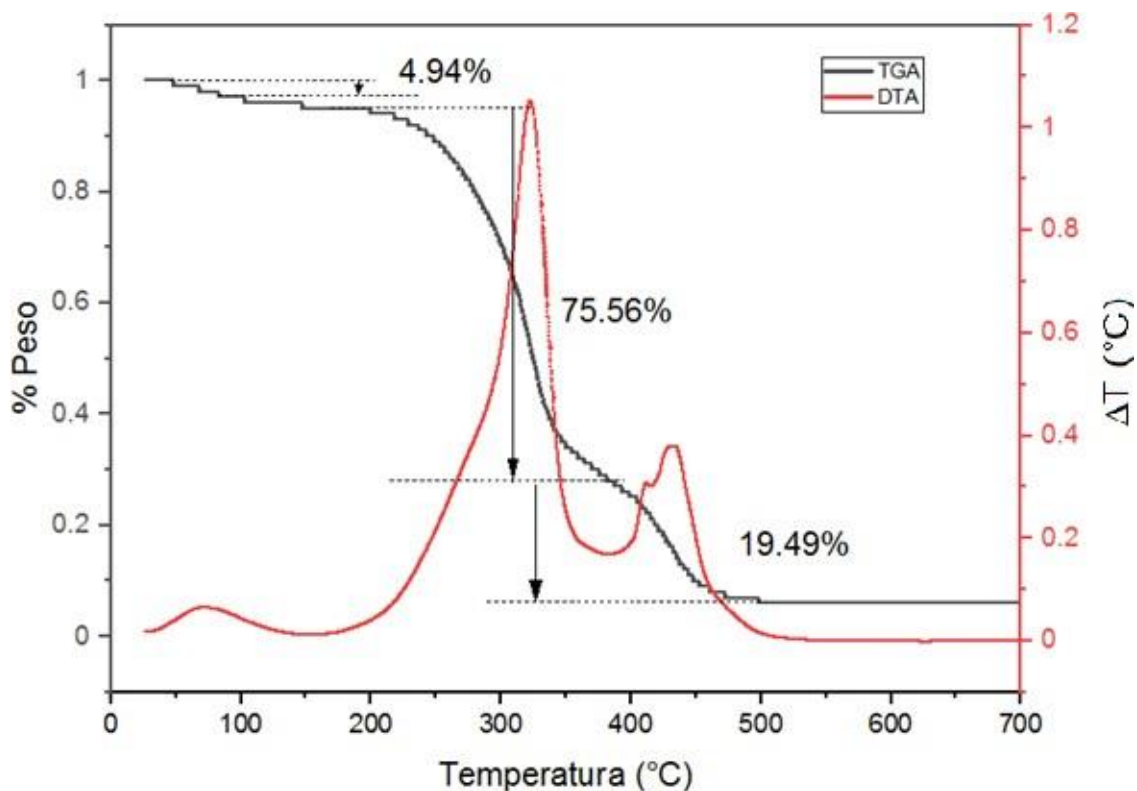


Figura 18.- Termogramas de TGA y DTA. En el TGA se muestra la curva de degradación del material, comparando el peso en función de la temperatura teniendo 3 curvas importantes de degradación y el DTA mostrando los puntos más altos de diferencia térmica donde la presencia de compuestos que combustión provoca la diferencia de las temperaturas entre la muestra y un control.

4.2.2 ESPECTRO FT-IR

Para conocer los grupos funcionales de la muestra y así determinar si corresponden a los ya reportados y característicos de la nanocelulosa, se realiza un análisis de FT-IR a la muestra, figura 19, en la que se observa el espectro de la NLC, además, la asignación de cada banda presente se coloca en la tabla 5. Los espectros encontrados entre las bandas de $3700 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ corresponden a los grupos $-\text{OH}$ de las moléculas de nanocelulosa ^[44]. Una banda intensa se observa en la región de 2896 cm^{-1} que se atribuye a las vibraciones de estiramiento de los enlaces $\text{C} - \text{H}$ ^[62]. Las bandas localizadas entre $1800 - 800 \text{ cm}^{-1}$ son consistentes con otros reportes y son debidas al movimiento y flexión de las unidades de anhídrolucopiranososa ^[64, 65, 66]. La

banda que se encuentra en 1632 cm^{-1} esto se corresponde con la flexión O-Hen el agua adsorbida. La banda de 899 cm^{-1} se asocia a la estructura típica de la celulosa (debido a los enlaces β -glicosídicos de la glucosa) y C-H del movimiento oscilante de la celulosa [44, 63, 64].

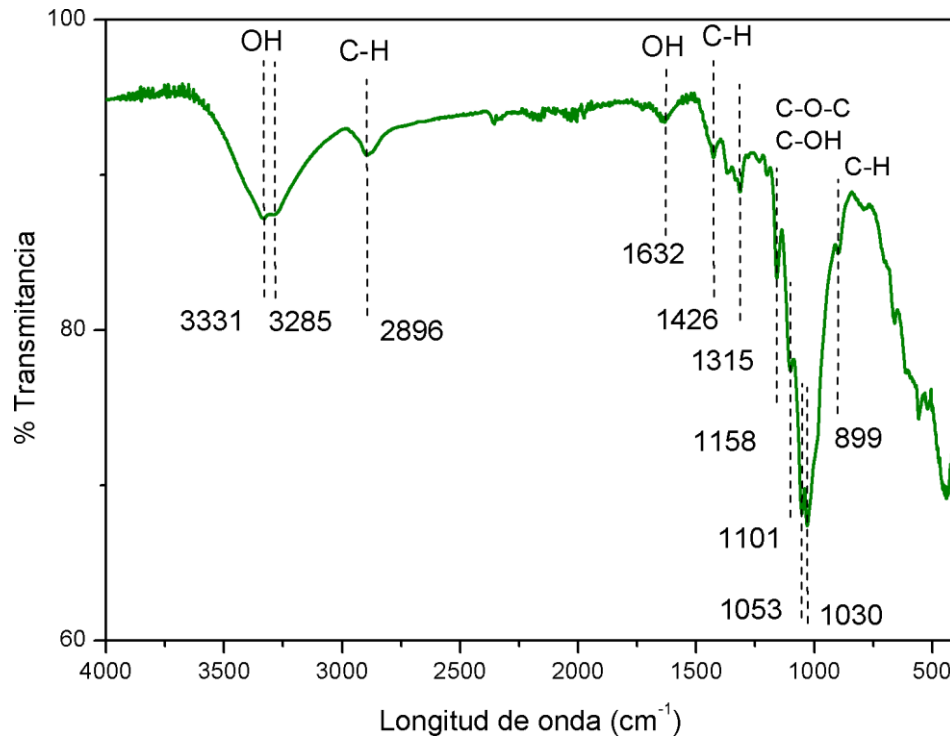


Fig. 19.- Espectro FT-IR de las nanoláminas de celulosa

Tabla 5.- Asignación de bandas de los espectros FT-IR de la NLC.

Número de onda (cm^{-1})	Asignación de bandas
3400 – 3200	Vibraciones de estiramiento de $-\text{OH}$
2896	Vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H.
1632	Flexión del agua absorbida OH
1426	Vibración de flexión en el plano HCH y OCH
1318	Movimiento del CH_2
1200 – 1000	Vibraciones de los grupos del anillo C – O – C, C – OH, C – H y laterales.
899	Asociado a los enlaces β -glicosídicos entre las unidades de glucosa de la celulosa.

4.2.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA ÓPTICA

Las muestras de nanocelulosa, se colocaron bajo un microscopio confocal, permitiendo la identificación de las nanoláminas y presencia de fibras de celulosa de varios cientos de μm de longitud, figura 23, indicando que la eficiencia de la técnica no fue del 100 %. Representando una ventaja para el objetivo principal, debido a que aportan características que aumentan las propiedades mecánicas en la película final [67]. Se ha reportado que la presencia de microfibras de celulosa se aplica como polímero de reforzamiento en distintos materiales [67, 68]. En este caso sería un reforzamiento de un nanomaterial derivado de la misma fuente. Produciendo una película final con propiedades adecuadas para la finalidad de la investigación.

Bajo el microscopio confocal, se observan las nanoláminas, así como las fibras producidas, figura 20, donde el ancho y largo de las nanoláminas se encuentra por debajo de los 15 y 20 μm , respectivamente. Mientras que existe una gran diferencia con las fibras con diámetros por debajo de los 3 μm pero con longitudes de cientos. En el caso de la matriz los valores inferiores para el largo son de entre 10 – 20 μm , y el ancho de 5 – 15 μm , todos los datos de los tamaños se colocan en la tabla 6.

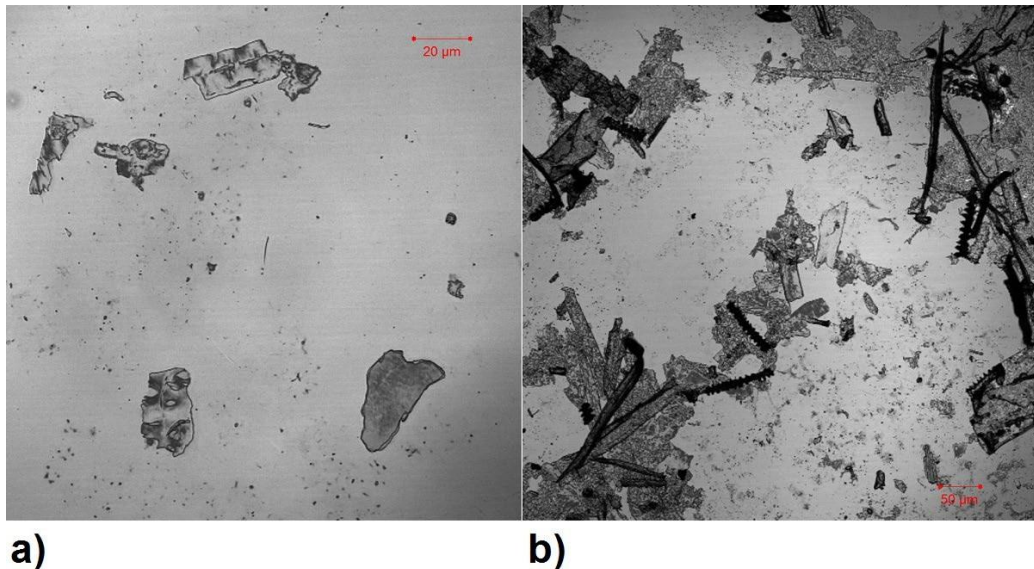


Fig. 20.- a) nanoláminas de celulosa y b) nanoláminas y microfibras de celulosa.

En la figura 21, se observa la distribución del tamaño de muestra, tanto de las nanoláminas como de las fibras. En el caso de las nanoláminas la mayor frecuencia se encuentra del largo en 20 – 33 μm mientras que de ancho en 15 – 33 μm , los valores mínimos encontrados fueron de 10.1 μm y 5.06 μm , respectivamente. Las fibras producidas tienen longitudes variadas de 21.28 – 371.62 μm , y diámetros de 4.08 – 35.54 μm . Estos resultados se deben a la baja concentración de ácido sulfúrico que no pudo atacar a toda la celulosa. Sin embargo, esto es conveniente debido a que cambia las propiedades finales de las películas. En un principio se buscaba la producción de películas con la NCL con menor tamaño, pero esta producía películas finales transparentes, figura 25, y con propiedades mecánicas pobres. Este resultado ocasiona que la finalidad del proyecto no pueda cumplirse.

Se realizó la separación de las fracciones de menor tamaño utilizando un filtro de nylon de 38 μm , permitiendo separar la mayor parte de las fibras, además, de la fracción de mayor tamaño de las nanoláminas. La NC de gran tamaño solo representa un 9% de la muestra, es decir, que el 91% de las nanoláminas paso el filtro. Mientras que las fibras solo un 7% logró pasar el filtro. Obteniendo una película transparente, pero con propiedades mecánicas deficientes, como se observa en la figura 22, donde se destaca su fragilidad debido al estado de la película.

Sin embargo, utilizando un filtro de nylon de 75 μm permitió que una mayor cantidad de muestra pasara, produciendo una película con propiedades mecánicas superiores a la película anterior, debido a que hay una mayor presencia de fibras, y sin afectar en gran medida la transparencia de final (imagen no mostrada). En la muestra final se tiene al menos un 34% de fibras que están por debajo de los 75 μm , aumentando así su rigidez y confiriéndole características deseadas para aplicaciones diversas en la industria.

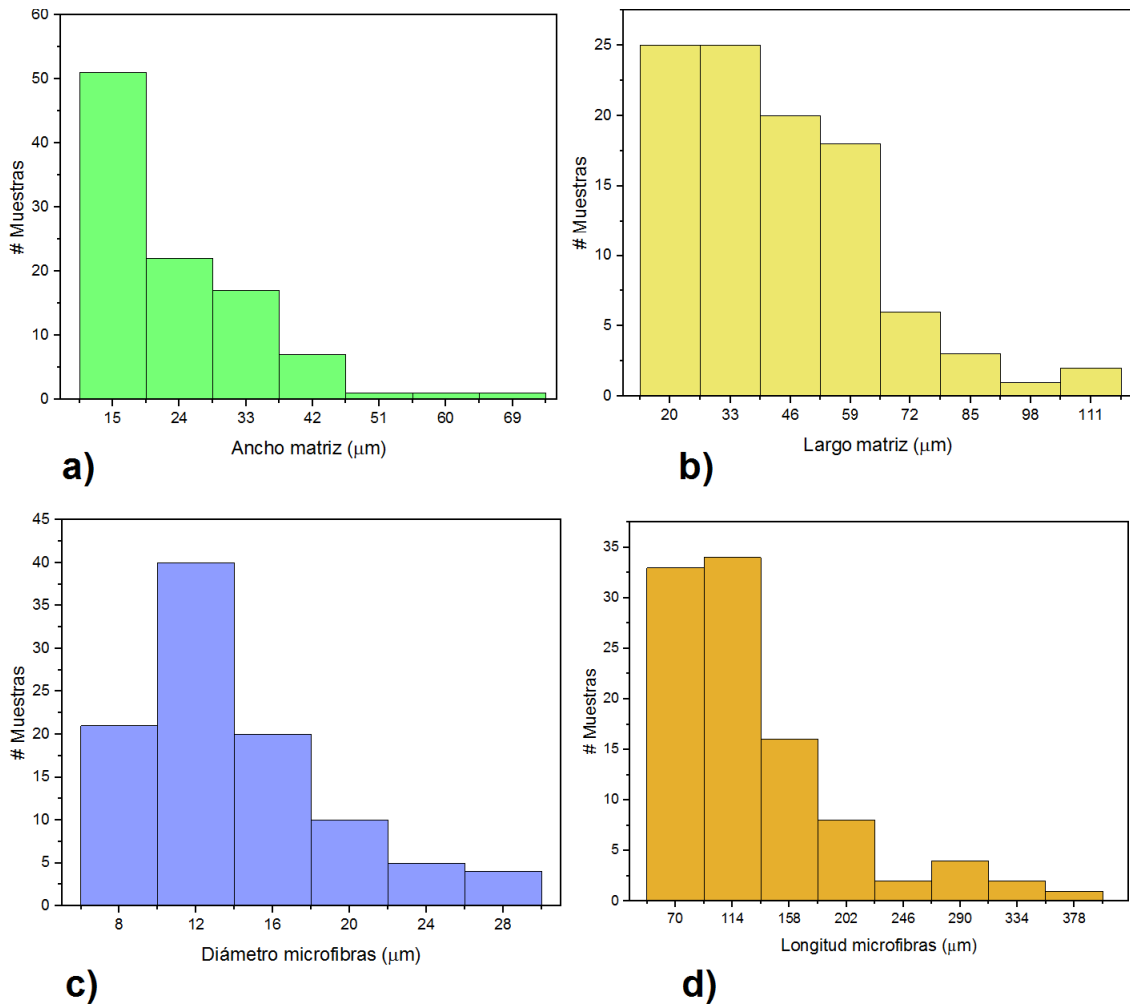


Figura. 21.- Sección superior corresponde al ancho a) y largo b) de las nanoláminas, mientras que la sección inferior es el diámetro c) y longitud d) de las fibras de celulosa.



Figura. 22.- Película transparente obtenida tras la separación de las secciones de menor tamaño mediante una malla de nylon de $38 \mu\text{m}$, reteniendo la mayor parte de las

fibras de celulosa y fragmentos grandes de nanoláminas, en la cual se observa una moneda de 10 pesos MXN.

En la mayoría de los casos las muestras presentan características por debajo de los 20 y 33 μm a excepción de las longitudes de las fibras que presentaron hasta 378 μm , en este caso lo más probable que haya ocurrido sería que en el momento del tamizado la fibra haya pasado de forma vertical los poros del tamiz. Sin embargo, solo el 35% de las fibras superan los 105 μm de longitud, debido al tamaño de estas fibras no hubo un rompimiento de las mismas, por tal motivo, no fueron afectadas de manera significativa por el tratamiento de hidrólisis.

Además, mediante la desviación del espectro de luz visible se verificó el grosor de la muestra, debido a que la luz que difractaba la muestra bajo la iluminación del microscopio era de un color azul, y violeta, lo cual representa longitudes de onda de 485 y por debajo de 380 nm ^[69], figura 23. Indicando que el tratamiento funcionó para al menos uno de sus tres lados de la celulosa.



Figura. 23.- Nanolamina de celulosa refractando el espectro de luz visible en una longitud de onda de entre 427 – 476 nm. Teniendo varios micrones de longitud y de ancho.

La muestra separada con el filtro de nylon de 75 μm tiene buena estabilidad coloidal, provocando que pudiera estar en suspensión durante horas sin haber una separación de fases importante.



Figura. 24.- Muestra final neutralizada y lavada mostrando estabilidad posterior a 12 horas.

La muestra que se encuentra en solución contiene tanto nanoláminas como fibras de celulosa, figura 24, pasando al menos 2 días en suspensión se puede llegar a apreciar una diferencia de fases, mostrando una sección de fibras en el fondo y otra sección de nanoláminas aún en suspensión.

4.2.4 Caracterización morfológica por microscopía electrónica de barrido

Para una mejor comprensión de la morfología de las nanoláminas se realizó un análisis mediante SEM, arrojando resultados interesantes de las nanoláminas, figura 25. La composición estructural de las nanoláminas se compone de nanofibras entrelazadas que no están de forma independiente sino que siguen embebidas a la matriz pero exponiendo suficiente sección de la nanofibra para poder distinguirla. Las nanofibras que componen a la nanolámina tienen diámetros por debajo de los 50 nanómetros pero con longitudes en el orden de los micrones, su visualización no era posible bajo el microscopio confocal pero debido a la imagen obtenida por SEM se definió concretamente su superficie.

La formación de este tipo de estructura se debe probablemente al tipo de pre-tratamiento físico y a la baja concentración de ácido. La molienda fina expone secciones de los distintos niveles de organización de la celulosa, los cuales están conformados por nanofibras de distintos tamaños, estos niveles de organización están cortados por en medio de la pared celular, por esa razón se presenta de esta manera. Igualmente, esto favorece al tratamiento, exponiendo

estas secciones provoca que el tratamiento sea efectivo para la remoción de lignina y hemicelulosa. Aunque, se conoce poco sobre las propiedades de biocompatibilidad de este tipo de material debido a su composición. La presencia de las nanofibras es un factor crucial para mejorar las características debido a que las nanofibras por si solas cuentan con propiedades interesantes y con aplicaciones variadas, sin embargo, aquí no están aisladas sino que forman parte de una estructura de mayor tamaño pero que de igual forma se encuentra a escala nanométrica. Se necesitan realizar estudios con mayor profundidad para definir correctamente sus propiedades.

De la misma manera se tomó otra micrografía a las microfibras de celulosa, figura 26, donde se observa la estructura con mayor definición de la microfibra. Esta imagen nos muestra una gran cantidad de microfibras de distintos tamaños y formas similares a las vistas bajo el microscopio confocal, y en el fondo se observan las nanoláminas.

Este tipo de estructura no ha sido ampliamente reportada, sin embargo, Chavez L., con una metodología similar reportó nanolaminas de celulosa con estructuras internas casi idénticas, es decir, también se observaban las nanofibras en las nanolaminas^[62, 69, 70]. La fuente de celulosa utilizada en estos estudios fue el bagazo de agave. Asimismo, la transparencia del material y las características físicas de la película son también bastante similares. Cabe mencionar que el contenido de lignina del agave es menor, alrededor de 9.8% ^[62], mientras que la BCM varía de 7 – 27%. Con el aumento de lignina también aumenta el porcentaje de hemicelulosas, ocasionando que los procesos de delignificación y de hidrólisis necesiten un tratamiento con mayor agresividad. No obstante, solo se reportó la presencia de las nanolaminas y no de las fibras.

Como ya se mencionó, la concentración de ácido fue baja, en comparación con lo ya reportado ^[44, 45, 46], utilizando la BCM. El tratamiento funciona, pero a pesar de esto, se necesita mejorar la eficiencia actual del tratamiento, debido a que aún se tiene una cantidad considerable de fibras presentes.



Figura 25.- Micrografía obtenida mediante SEM de la nanolámina de celulosa, mostrando su composición de nanofibras embebidas a la superficie.

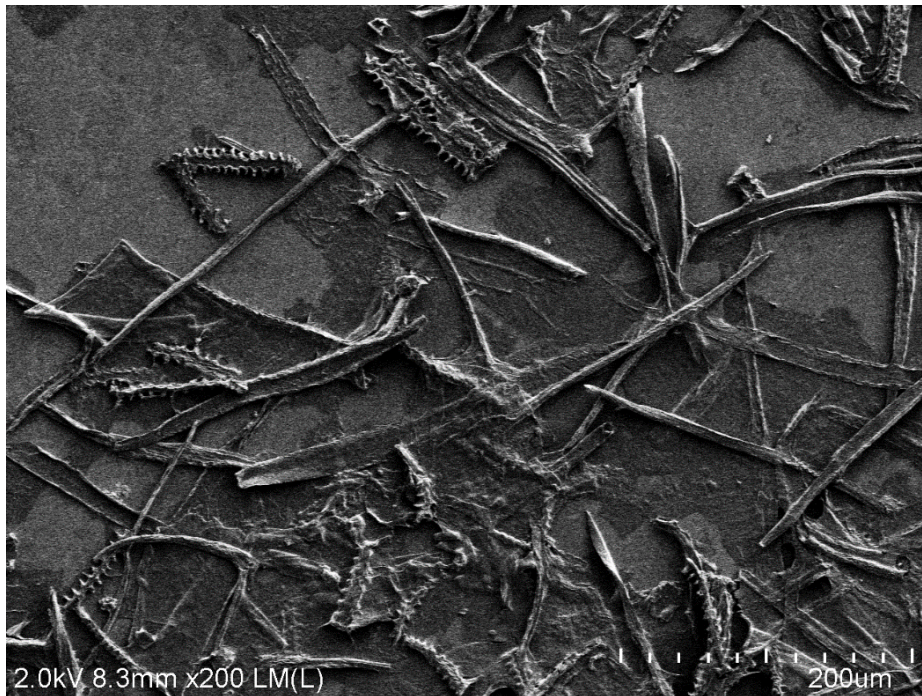


Figura 26.- Micrografía SEM de las microfibras de celulosa.

CAPÍTULO 5

5.1 CONCLUSIONES

Se logró un proceso de blanqueamiento efectivo y con una rapidez mayor a lo reportado que, además, logró producir una película con características aceptables sin la necesidad de realizar el tratamiento hidrólisis. Sin embargo, se requiere de realizar una investigación más profunda para determinar su factibilidad para poderla considerar como producto final para su aplicación comercial, debido a que aún contiene hemicelulosas y lignina.

Con el tratamiento completo logró la eliminación de la lignina a pesar de realizarla a baja concentración del ácido sulfúrico.

Además, se logró la producción de nanoláminas de celulosa con este procedimiento de tan solo 2 pasos, también, se logró la producción de películas transparentes con propiedades mecánicas interesantes.

Con esto se puede aceptar la hipótesis propuesta que es posible aprovechar el bagazo de malta cervecero como materia prima para la obtención de películas con nanoláminas de celulosa mediante una hidrólisis eficiente, con el fin de producir un biomaterial que sea biodegradable, resistente y con múltiples aplicaciones.

5.2 REFERENCIAS

1. Miranda I., Camarillo C., et al., (2019): "Aspectos estructurales, reológicos y dieléctricos de la etil celulosa", *Ingenierías*, Vol. 22, No. 83, pp: 40 - 53.
2. Megías M, Molist P, Pombal MA. (2020). *Atlas de histología vegetal y animal. La célula. Recuperado (23/05/1991) de: <http://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/1-introduccion.php>*.
3. Klemm D., Schmauder H., et al., (2005): "Part 6. Polysaccharides", *Cellulose*, Institute of Organic and Macromolecular Chemistry, pp: 275 – 287.
4. Carreño L., Mesa L., et al, (2012): "Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión", *Ingeniería y Ciencia*, Vol. 8, No. 16, pp. 307–335.
5. Heinze T. (2015) *Cellulose: Structure and Properties*. In: Rojas O. (eds) *Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials*. *Advances in Polymer Science*, vol 271. Springer, Cham, https://doi.org/10.1007/12_2015_319.
6. Medronho, B., Romano, A., Miguel, M.G. *et al.* (2012). "Rationalizing cellulose (in)solubility: reviewing basic physicochemical aspects and role of hydrophobic interactions." *Cellulose* **19**, 581–587. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9644-6>.
7. Roosevelt D.S. Bezerra, Paulo R.S. Teixeira, et al., (2015): "Chapter 4: Chemical Functionalization of Cellulosic Materials — Main Reactions and Applications in the Contaminants Removal of Aqueous Medium", *Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends*, pp: 93 – 113, DOI: 10.5772/61431.
8. Porto Alejandro, (2012): "Glúcidos", *Curso de biología*, México. Acceso en línea el 23/05/2020: <http://www.bionova.org.es/biocast/tema07.htm>
9. Wang, Y., Wang, X., Xie, Y. et al. Functional nanomaterials through esterification of cellulose: a review of chemistry and application. *Cellulose* 25, 3703–3731 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10570-018-1830-3>.
10. Kargarzadeh H., Ahmad I., et al., (2017): "Chapter 1: Methods for Extraction of Nanocellulose from Various Sources", *Handbook of Nanocellulose and Cellulose Nanocomposites*, Vol. 1, pp: 1- 50, <https://doi.org/10.1002/9783527689972.ch1>.
11. Klímek P., Wimmer R., et al., (2017): "Utilizing brewer's-spent-grain in wood-based particleboard manufacturing", *Journal of Cleaner Production*, vol. 141, 812 – 817. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.09.152>.
12. Driemeier C., Mendes F., et al, (2015). "Cellulose co-crystallization and related phenomena occurring in hydrothermal treatment of sugarcane bagasse". *Cellulose*. 22. 10.1007/s10570-015-0638-7.
13. Khalil A., Davoudpour Y., et al., (2014): "Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 99, pp: 649 – 665.
14. Zugenmaier P., (2001): "Conformation and packing of various crystalline cellulose fibers", *Progress in polymer science*, Vol. 26, pp: 1341 – 1417.
15. Ioelovich M., (2015). "Biofuels energy potential", *BioResources*, Vol. 10, Issue 1, pp: 1879 – 1914.
16. Ioelovich M., (2008). " Nanostructured cellulose: Review", *BioResources*, Vol3, Issue 4, pp: 1403 – 1418.

17. Lavanya D., Kulkarni P., et al., (2011). "Sources of cellulose and their applications – a review", International journal of drug formulation and research, Vol. 2, Issue 6, pp: 19 – 38.
18. Isogai A., (2013). "Wood nanocelluloses: fundamentals and applications as new bio-based nanomaterials", Journal of Wood Science, Vol. 53, pp: 449 – 459. <https://doi.org/10.1007/s10086-013-1365-z>.
19. García A., Outerelo R., Ruiz E., et al., (2012). "Estudio y diversidad de Tunicados, Cefalocordados y Vertebrados peces. Disección de la trucha", REDUCA (Biología), Vol. 5, Issue 3, pp: 71 – 80.
20. Ioelovich M., (2018). "Practical wax method for determination of distortions and sizes of cellulose crystallites", Scientific Israel--technological advantages, Vol. 20, Issue 2, pp: 8 – 15.
21. Xiang Z., Gao W., et al., (2016). "A comparison of cellulose nanofibrils produced from *Cladophora glomerata* algae and bleached eucalyptus pulp", Cellulose, Vol.23, pp: 493 – 503. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0840-7>.
22. Jacek P., Dourado F., et al., (2019). "Molecular aspects of bacterial nanocellulose biosynthesis", Microbial biotechnology, Vol. 12, pp: 633 – 649.
23. Chávez J., Martínez S., et al., (2004). "Celulosa bacteriana en *Gluconacetobacter xylinum*: Biosíntesis y aplicaciones", Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, Vol. 7, Issue 1, pp: 18 – 25.
24. Jozala A., Nedel R., et al., (2015). "Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* by employing alternative culture media", Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 99, pp: 1181 – 1190, <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6232-3>.
25. Sifontes M., Domine M., (2013). "Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial", Avances en Ciencias e Ingeniería, Vol. 4, Issue 4, pp: 15 – 46.
26. Watkind D., Nuruddin Md., et al., (2015). "Extraction and characterization of lignin from different biomass resources", Journal of Materials Research and Technology, Vol. 4, Issue 1, pp: 26 – 32, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmrt.2014.10.009>.
27. Bajpai, P., (2017). "Chapter 3: Structure and Properties of Cellulose and Nanocellulose.", Pulp and Paper Industry: Nanotechnology in Forest Industry, pp: 27 – 40, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811101-7.00003-4>.
28. Nasir M., Hashim R., et al., (2017). "Chapter 11 - Nanocellulose: Preparation methods and applications", Cellulose-Reinforced Nanofibre Composites, pp: 261 – 276, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100957-4.00011-5>.
29. Ioelovich M., (2016). "Chapter 9 - Nanocellulose—fabrication, structure, properties, and application in the area of care and cure", Fabrication and Self-Assembly of Nanobiomaterials, Vol. 1, pp: 243 – 288, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-41533-0.00009-X>.
30. Habibi Y., Goffin A., et al., (2008). "Bionanocomposites based on poly(ϵ -caprolactone)-grafted cellulose nanocrystals by ring-opening polymerization", Journal of Materials Chemistry, Vol. 18, pp: 5002 – 5010, <https://doi.org/10.1039/B809212E>.
31. Zhang K., Barhoum A., et al., (2019). "Chapter 13: Cellulose Nanofibers: Fabrication and Surface Functionalization Techniques", Handbook of Nanofibers, pp: 409 – 449, https://doi.org/10.1007/978-3-319-53655-2_58.

32. Mtibe A., Hendrica T., et al., (2018). "Chapter 8 - Fabrication and Characterization of Various Engineered Nanomaterials", Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications, pp: 151 – 171, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813351-4.00009-2>.
33. Dahlin R., Kurtis F., et al., (2011). "Polymeric Nanofibers in Tissue Engineering", Tissue Engineering, Vol. 17, Issue 5, pp: 349 – 364, <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2011.0238>.
34. loelovich M., (2013). "Nanoparticles of amorphous cellulose and their properties", American Journal of Nanoscience and Nanotechnology, Vol. 1, Issue 1, pp: 41 – 45, <https://doi.org/10.11648/j.nano.20130101.18>.
35. loelovich M., Leykin A., (2004). "Nanocellulose and its applications", Journal Scientific Israel – Technological Advantages, Vol. 6, Issue 3 – 4, pp: 17 – 25.
36. Mussato S., (2013). "Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications", Journal of the Ciencia of Food and Agriculture, Vol. 94, pp: 1264 – 1275, <https://doi.org/10.1002/jsfa.6486>.
37. Mussato S., Dragone G., Et al., (2006). "Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications", Journal of Cereal Science, Vol. 43, pp: 1 – 14, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001>.
38. Coello G., (2010). "Elaboración y valoración nutricional de tres productos alternativos a base de cebada para escolares del proyecto Runa Kawsay", Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Tesis de grado para la obtención del título:Bioquímico Farmacéutico, pp: 1 – 124.
39. Mishra P., Gregor T., et al., (2017). "BSG for cellulose nanofibers", BioResources, Vol. 12, Issue 1, pp: 107 – 116.
40. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, (2019). "Estadísticas a propósito de la actividad de Elaboración de cerveza", Cerveceros de México, Cámara de la cerveza, Acceso en Línea: 23/05/2020, <https://cervecerosdemexico.com/estadisticas-a-proposito-de/>
41. Cerveceros de México, (2019). "Estadísticas a propósito de la actividad de Elaboración de cerveza", Cerveceros de México, Cámara de la cerveza, Acceso en Línea: 23/05/2020, <https://cervecerosdemexico.com/2019/05/02/los-residuos-cerveceros-se-transforman-en-bio-combustible/#comment-48906>.
42. Rodríguez C., (2012). "Producción de Biogas a partir del Bagazo Cerveceros". Facultad de Ciencia Agronómicas Universidad de Chile.
43. Záyago E., Foladori G., et al., (2013). "Empresas nanotecnológicas en México: hacia un primer inventario", Estudios Sociales, Vol. 21, Issue 42, pp: 9 – 26.
44. Shahabi I., Khodaiyan F., et al., (2014). "Preparation and Characterization of Nanocellulose from Beer Industrial Residues Using Acid Hydrolysis/Ultrasound", Fibers and Polymers, Vol. 16, Issue 3, pp: 529 – 536, <https://doi.org/10.1007/s12221-015-0529-4>.
45. Berglund L., Noel M., et al., (2016). "Production potential of cellulose nanofibers from industrial residues:Efficiency and nanofiber characteristics", Industrial Crops and Products, Vol. 92, pp: 84 – 92, <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.003>.
46. Siqueira G., Oksman K., et al., (2016). "Re-dispersible carrot nanofibers with high mechanical properties and reinforcing capacity for use in composite materials", Composites Science and Technology, Vol. 123, pp: 49 – 56, <http://dx.doi.org/10.1016/j.compscitech.2015.12.001>.
47. Mussato S., Rocha G., et al., (2008). "Hydrogen peroxide bleaching of cellulose pulps obtained from brewer's spent grain", Cellulose, Vol. 15, pp: 641 – 649, <https://doi.org/10.1007/s10570-008-9198-4>.

48. Mussato S., Rocha G., et al., (2006). "Efecto de los tratamientos de hidrólisis ácida e hidrólisis alcalina en la estructura del bagazo de malta para la liberación de fibras de celulosa", *Interamerican Confederation of Chemical Engineering*, pp: 1 – 10.
49. Mussato S., Ines R., (2005). "Acid hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain to produce xilitol", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 85, pp: 2453 – 2460, <https://doi.org/10.1002/jsfa.2276>.
50. Mussato S., Dragone G., et al., (2006). "Optimum operating conditions for brewer's spent grain soda pulping", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 64, pp: 22 – 28, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.10.033>.
51. Romero I., Ruiz E., et al., (2017). "Brewer's spent grain valorization using phosphoric acid pretreatment for second generation bioethanol production", 25th Edition European Biomass Conference and Exhibition.
52. Mussato S., Moncada J., et al., (2013). "Techno-economic analysis for brewer's spent grains use on a biorefinery concept: The Brazilian case", *Bioresource Technology*, Vol. 148, pp: 302 – 310, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.046>.
53. Broeker T., Steffens M., et al., (2011). "P59 Delignification of brewery spent grains for bioethanol production" European Brewery Convention CONGRESS 2011,
54. - J. Gierer, Stockholm, Sweden. (1986): "Chemistry of delignification Part 2: Reactions of lignins during bleaching", *Wood Science and Technology*, Vol. 20, pp: 1 – 33.
55. - Li guo, Sun De, He Ling, et al. (2011): "Degradation of plant cellulose by microwave-Catalysis coupling Technology", *Advanced Materials Research*, Vol. 183 – 185, pp: 8 – 12.
56. - Gould J., (1985): "Studies on the Mechanism of Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues", *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 27, pp: 225 – 231.
57. - Mussate Solange and Ines C., (2005): "Acid hidrolisis and fermentation of brewer's spent grain to produce xilitol",
58. - Alvarado J., Rutiaga J., (2018): "Estudio de cinética en procesos termogravimétricos de materiales lignocelulósicos", Vol. 20, Issue 2, p: 221 – 238, <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2018005002601>
59. - Pech S., (2018): "Obtención y Modificación de Nanocristales de Celulosa de Residuos de Agave Tequilana Weber para la Producción de Nanorefuerzos para Poli (ácido láctico)", Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Posgrado en Materiales Poliméricos.
60. - Sanchez A., (2015): "Síntesis de nanopartículas derivadas de biopolímeros extraídos de biomasa por métodos térmicos", Universidad Autónoma de Nuevo León, Escuela de graduados en ciencias.
61. - Gao M., Yan Y., (2011): "Fire Retardant Cellulose Characterized by Thermal Degradation Behavior", *Advanced Materials Research*, Vol. 197-198, pp: 631 – 634., <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.197-198.63>
62. - Chávez L., Sepúlveda S., et al., (2018): "Eco-friendly isolation of cellulose nanoplatelets through oxidation under mild conditions", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 181, pp: 642 – 649.

63. - Herrera M., Sinche L. y Bonilla O., (2019): "Obtención de Nanocelulosa a partir de Celulosa de Puntas de Abacá", *Afinidad*, Vol. 76, pp: 123 – 131.
64. - N. A. Rosli, I. Ahmad and I. Abdullah, "Isolation and Characterization of Cellulose Nanocrystals from Agave angustifolia Fibre". *BioResources* 8(2), 2013.
65. - P. Lu and Y.-L. Hsieh, "Preparation and properties of cellulose nanocrystals: rods, spheres, and network". *Carbohydrate Polymers* 82(2): 329-336, 2010.
66. - Barragán P., Morales C., et al., (2016): "Obtención y caracterización de nanocelulosa a partir de tule (*Typha domingensis*)", *Revista de Energía Química y Física*, Vol.3, Issue 6, pp: 31 – 38.
67. - Mancera K., (2017): "Diseño y optimización multicriterio de procesos de fabricación, mediante extrusión de nanocompositos con base en polímeros reciclados reforzados con nanocelulosa cristalina.", Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnología.
68. - Serrano J., (2019): "Todo es según el color del cristal con que se mira", *Anales de química*, Vol. 115, No. 5, pp: 414 – 420.
69. - Silva J., Cantú M., et al., (2018): "Biopolymeric films obtained from parenchyma cells of agave salmiana leaves", *Cellulose*, Vol. 26, pp: 1869 – 1879. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2173-9>
70. - Chávez L., Sepúlveda S., et al., (2018): "Isolation and characterization of cellulose nanoplatelets from the parenchyma cells of Agave salmiana", *Cellulose*, Vol. 24, pp: 3741 – 3752.