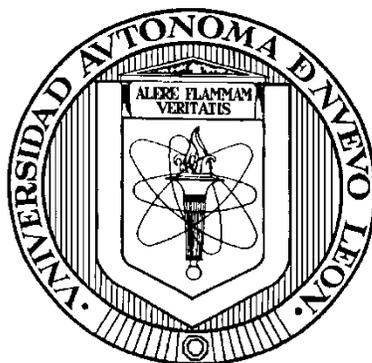


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ESCUELA DE GRADUADOS EN CIENCIAS



**SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DERIVADAS DE BIOPOLÍMEROS
EXTRAÍDOS DE BIOMASA POR MÉTODOS TÉRMICOS**

Por

IQ. ALEJANDRA SANCHEZ ORTIZ

**Como requisito parcial para obtener el
Grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS con
Orientación en PROCESOS SUSTENTABLES**

ENERO 2015

**SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DERIVADAS DE BIOPOLÍMEROS
EXTRAÍDOS DE BIOMASA POR MÉTODOS TÉRMICOS**

Aprobación de la Tesis:

Dra. Eileen Susana Carrillo Pedraza
Directora de Tesis

Dra. Ma. Araceli Hernández Ramírez
**Subdirectora de Estudios de
Posgrado**

Comité de Tesis:

Dra. Diana Bustos Martínez

Dra. Ma. Elena Rodríguez Cantú

Dra. Susana López Cortina

Resumen

La celulosa como un biopolímero sustentable y renovable, ha sido ampliamente estudiada para la generación de materiales que cuenten con características físicas y químicas versátiles. Los procesos para la extracción de celulosa se han modificado para lograr la conformación de celulosa nano y microfibrilada estos procesos son estudiados para conseguir mayores rendimientos y operaciones sustentables. En el presente proyecto para la formación de nanopartículas de celulosa se utiliza un proceso de irradiación de microondas, partiendo de una extracción primaria de la celulosa de dos residuos agroindustriales y un residuo de la industria del papel, mediante un pre-tratamiento posteriormente aplicar el proceso de hidrólisis asistida por microondas para la producción de las nanopartículas.

Índice

Resumen	3
Índice.....	4
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN.....	9
CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES.....	13
2.1 Residuos agroindustriales.....	13
2.1.1 Celulosa.....	14
2.1.2 Hemicelulosa y lignina.....	16
2.2 Extracción de celulosa.....	17
2.3 Nanopartículas de celulosa.....	20
2.3.1 Obtención de nanopartículas de celulosa.....	21
2.3.2 Procedimientos mecánicos.....	21
2.3.3 Procedimientos biológicos.....	22
2.3.4 Procedimientos químicos.....	23
2.3.5 Procedimientos combinados.....	26
2.4 Aplicaciones de las nanopartículas de celulosa.....	32
CAPÍTULO 3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	34
3.1 Hipótesis.....	34
3.2 Objetivo general.....	34
3.2.1 Objetivos específicos.....	34
CAPÍTULO 4 DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	35
4.1 Materiales y reactivos.....	35
4.2 Contenido de celulosa.....	36
4.2.1 Análisis de fibra detergente (Procedimiento Van Soest).....	37

4.3 Pre-tratamiento químico para la extracción de celulosa	37
4.3.1 Procedimiento de extracción de celulosa	38
4.4 Producción de nanopartículas de celulosa.....	39
4.4.1 Procedimiento asistido por microondas para la obtención de nanopartículas de celulosa	40
4.5 Caracterización	41
4.5.1 Análisis elemental	41
4.5.2 Espectroscopía de infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR).....	41
4.5.3 Difracción de rayos X (DRX)	41
4.5.4 Análisis termogravimétrico (TG/DTA)	42
4.5.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	43
CAPÍTULO 5 Resultados	44
5.1 Contenido de celulosa	44
5.2 Extracción de celulosa	46
5.2.1 Análisis elemental en las biomásas	48
5.2.2 Espectroscopía de infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR).....	48
5.2.3 Difracción de rayos X (DRX)	51
5.2.4 Análisis termogravimétrico (TG/DTA)	53
5.2.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	59
5.3 Producción de nanopartículas de celulosa.....	62
CAPÍTULO 6 Conclusiones	65
Referencias	67

Índice de figuras

CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES

Figura 2.1 Localización y disposición de los principales componentes poliméricos en las paredes celulares de las plantas [25].	13
Figura 2.2 Estructura química de la celulosa [53].	14
Figura 2.3 Estructura de la fibra de celulosa [72].	15
Figura 2.4 Representación de la pared celular vegetal [53, 74].	15
Figura 2.5 Polimorfos de la celulosa y su obtención [72, 78].	16
Figura 2.6 Efecto del pre-tratamiento en la matriz lignocelulósica [83].	17

CAPÍTULO 4 DESARROLLO EXPERIMENTAL

Figura 4. 1 Cuantificación de los componentes principales de las biomasas.	36
Figura 4.2 Esquema del efecto del pre-tratamiento en la biomasa [88].	37
Figura 4.3 Metodología para la extracción de celulosa.	39
Figura 4.4 Metodología de irradiación de microondas con el equipo Monowave 300 marca Anton-paar.	40

CAPÍTULO 5 RESULTADOS

Figura 5.1 Biomاسas antes y después del pre-tratamiento químico.	47
Figura 5.2 FT-IR de la cascarilla de soya antes y después del pre-tratamiento químico.	50
Figura 5.3 FT-IR del residuo de cartón antes y después del pre-tratamiento químico.	50
Figura 5.4 FT-IR de la cáscara de cacahuete antes y después del pre-tratamiento químico.	51
Figura 5.5 DRX de biomاسas antes y después del pre-tratamiento químico.	52

Figura 5.6 TGA de las biomásas antes del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.	53
Figura 5.7 TGA de las biomásas después del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.....	54
Figura 5.8 DTGA de las biomásas antes del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.....	56
Figura 5.9 DTGA de las biomásas después del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.....	56
Figura 5.10 TG/DTA de la cascarilla de soya antes y después del pre-tratamiento químico.....	57
Figura 5.11 TG/DTA del residuo de cartón antes y después del pre-tratamiento químico.....	58
Figura 5.12 TG/DTA de la cáscara de cacahuete antes y después del pre-tratamiento químico.....	58
Figura 5.13 Micrografías de biomásas antes del pre-tratamiento químico.	60
Figura 5.14 Micrografías de biomásas después del pre-tratamiento químico.....	61
Figura 5.15 Muestras después del efectuar el procedimiento asistido por microondas (140 C, 10 min, 600 rpm, > 30 bar, 10 – 50 bar) para la obtención de nanopartículas de celulosa. (a) Celulosa, (b) cáscara de cacahuete, (c) cascarilla de soya y (d) residuo de cartón	62
Figura 5.16 Muestras de celulosa tipo 101 después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.	63
Figura 5.17 Muestras de cascarilla de soya después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.	64
Figura 5.18 Muestras de residuo de cartón después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.	64
Figura 5.19 Muestras de cáscara de cacahuete después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.	64

Índice de tablas

CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES

Tabla 2.1 Contenido de sustancias poliméricas en los residuos agroindustriales.	14
Tabla 2.2 Comparación de pre-tratamientos a diferentes residuos agroindustriales. ...	17
Tabla 2.3 Dimensiones de nanopartículas de celulosa [33, 103].....	20
Tabla 2. 4 Procedimientos de obtención de nanopartículas de celulosa, de literatura. .	30
Tabla 2.5 Aplicaciones de las nanopartículas de celulosa, dependiendo de sus propiedades específicas [43].	32

CAPÍTULO 5 RESULTADOS

Tabla 5.1 Composición química de las biomosas.	44
Tabla 5.2 Comparación del porcentaje de celulosa a las biomosas por diferentes métodos.....	45
Tabla 5.3 Contenido de celulosa de biomosas y rendimiento del pre-tratamiento químico.....	47
Tabla 5.4 Análisis elemental de biomosas.	48
Tabla 5.5 Frecuencias características de la celulosa [227].	49
Tabla 5.6 Índice de cristalinidad (ICr) antes y después del pre-tratamiento químico. ...	53
Tabla 5.7 Porcentaje de celulosa en las biomasa obtenido por TGA.	55

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Los residuos se definen en la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR) [1] como aquellos materiales o productos cuyo propietario o poseedor desecha y que se encuentran en estado sólido o semisólido, líquido o gaseoso y se contienen en recipientes o depósitos; pueden ser susceptibles de ser valorizados o requieren sujetarse a tratamiento o disposición final conforme a lo dispuesto en la misma Ley. En función de sus características y orígenes, se les clasifica en tres grandes grupos: residuos sólidos urbanos (RSU), residuos de manejo especial (RME) y residuos peligrosos (RP).

Los Residuos de Manejo Especial (RME) están definidos en la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Residuos (LGPGIR, 2014) como aquéllos generados en los procesos productivos que no reúnen las características para ser considerados residuos sólidos urbanos o peligrosos, o que son producidos por grandes generadores de residuos sólidos urbanos. Los residuos agroindustriales pertenecen a la categoría de RME, ya que consisten en una amplia variedad de residuos provenientes de la agricultura [2], así como lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales [3]. Aproximadamente 1×10^{10} toneladas métricas de residuos lignocelulósicos son producidos a nivel mundial [4]. En promedio, se generan 23.4 % de lodos de plantas tratadoras de agua de la industria del papel y la pulpa por unidad de papel producida [5], y se generan 4.7 millones de toneladas mundialmente al año de este residuo [6].

A nivel nacional, según Robledo-Narváez *et al.* (2013) [7], se generan 5 millones de toneladas anuales de residuos agroindustriales. Según datos publicados por Valdez-Vazquez *et al.*, (2010) [8], el 79.40 % de dichos residuos corresponden a residuos

primarios, obtenidos al momento de la cosecha, entre los que están: hojas y tallos del maíz, tallos y vaina de sorgo, puntas y hojas de caña de azúcar, paja de trigo, paja de cebada y de frijol, así como cáscara de algodón. El resto, 20.60 %, corresponden a residuos secundarios obtenidos del procesamiento post-cosecha, entre los que están: bagazo de caña de azúcar, mazorcas y olotes, bagazo de maguey o agave, así como pulpa de café.

A la mayoría de la biomasa con bajo costo y alto rendimiento se le llama lignocelulósica, debido a los biopolímeros que la constituyen [9], esta definición incluye los residuos agroindustriales así como lodos residuales conocidos como residuos de manejo especial (RME).

La generación de lodos residuales en México asciende a más de 0.41 millones de metros cúbicos por año [10] y se estima que aproximadamente 21 toneladas derivadas de la industria del papel y la pulpa se confinan en rellenos sanitarios [11].

Las características de la biomasa son muy variadas, ya que dependen de la materia prima y el proceso que los generó, no obstante comparten una característica principal que es el contenido de materia orgánica, constituida por diferentes porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina. En 2005, Wyman *et al.* [12] mencionan que la biomasa contiene entre 40 – 50 % de celulosa, 25 – 35 % de hemicelulosa y 15 – 20 % de lignina; además de pequeñas cantidades de minerales, aceites, azúcares solubles y otros componentes.

Con el fin de aprovechar las propiedades estructurales de las sustancias contenidas en los residuos agroindustriales [13], en los últimos años algunas investigaciones se han orientado hacia la producción de enzimas de aplicación industrial como celulasas [14], pectinasas [15], xilanasas [16], queratinasas [17], proteasas [18], lipasas [19]; así como para la producción de bioplaguicidas [20], producción de polihidroxibutirato [21] que es materia prima para la producción de plásticos biodegradables y elastómeros; producción de biocombustibles como: bioetanol [22-25], biogás [26], biohidrógeno [27], bioSPK (Bio- Synthetic Paraffinic Kerosene) o HRJ (Hydroprocessed Renewable Jet) [28-30].

Por otro lado, la celulosa es el polímero más abundante en la naturaleza y está compuesto de cadenas lineales de polímeros de glucosa enlazadas en el carbono 1 y 4

[31], que se biosintetiza en microfibras, que contienen dominios cristalinos y amorfos [32]. La celulosa es un biopolímero muy importante, objeto de intensa investigación y desarrollo, y es materia prima sostenible para una gran industria [33].

Un campo importante de la aplicación de la celulosa es la producción de nanopartículas de celulosa, generalmente llamada nanocelulosa, y ha ganado interés en la comunidad científica por sus características [34], además ha tenido un desarrollo importante en la ciencia y tecnología, destacándose en la medicina, la biotecnología, la industria farmacéutica, textil y la industria de empaque de alimentos [35, 36].

Las nanopartículas de celulosa presentan baja densidad, baja expansión térmica resistencia y rigidez específica, alta relación entre dimensiones, alta área superficial y superficie modificable así como alto potencial de refuerzo [37, 38], además de ser abundantes en la naturaleza y biodegradables. Igualmente, las nanopartículas de celulosa comparten importantes propiedades de la celulosa, como: hidrofilia, capacidad a la modificación química y la formación de fibras semicristalinas con morfología específica [39].

Según Brinchi *et al.*, (2013) [40] las ventajas de las nanopartículas no solo están en sus propiedades físicas y químicas o en el hecho de ser biodegradables, renovables y sustentables, abundantes y con alta biocompatibilidad sino en las ventajas que ofrecen las dimensiones generando un amplio rango de posibilidades.

Las nanopartículas de celulosa han agregado un alto valor a productos con un rendimiento especial mediante la nanotecnología [41]. En el 2006, Weiss *et al.* [42] mencionan que la nanotecnología se enfoca en la fabricación, caracterización y manipulación de estructuras biológicas y no biológicas menores a 100 nm. Se ha propuesto que la nanotecnología cambiará nuestras vidas ya que los ingenieros encontrarán maneras más eficientes de satisfacer las necesidades humanas.

Además se ha estudiado la incorporación de nanopartículas de celulosa a matrices poliméricas para la formación de nanocompuestos. La propiedades de los nanocompuestos son afectados por el origen de la celulosa (tamaño y forma de la fibra) y el tipo de producción [43].

Como usos explorados de los nanocompuestos se encuentran: espumas, aerogeles, bloques de construcción para membranas de permeabilidad selectiva, mejoras en

materiales de adhesivos o en el adhesivo mismo, electrolitos poliméricos, filmes para papel seguridad, reforzador de filtros en la cristalización de poli(estireno-co-butil acrilato), producción de nanopartículas con dimensiones controladas de Ag, Au, Cu, Pt con surfactantes catiónicos CTABr así como la producción de nanopartículas semiconductoras de CdS, ZnS, PbS [40].

La fuente más común para obtener nanopartículas de celulosa, así como celulosa misma es la madera [44]; sin embargo, en años recientes, la deforestación ha llevado a utilizar residuos agroindustriales como fuente ya que está se considera amigable con el medio ambiente [45], además de ser de bajo costo [46].

Se ha reportado la obtención de nanopartículas de celulosa de diferentes residuos agroindustriales: bagazo de caña de azúcar [47], cáscara de plátano [48], linter de algodón [49], salvado de trigo [50], cascarilla de soya [51], cáscara de coco [46], cascarilla de arroz [52], por mencionar algunos. A estas biomásas, se les aplica un pre-tratamiento para liberar las fibras de celulosa de la matriz lignocelulósica en la que se encuentran [53], y después se desintegran las fibras de celulosa en nanopartículas. Numerosos métodos han sido aplicados para obtener las nanopartículas de celulosa de materiales celulósicos; hidrólisis enzimática [54] e hidrólisis ácida (con ácido sulfúrico o ácido clorhídrico) [55] han sido los métodos químicos más utilizados. Los métodos mecánicos más comunes son la molienda [56] y homogeneización a alta presión [57]. El utilizar microondas es otra manera de desintegrar la fibras de celulosa hasta escala nanométrica [58], ya que las microondas tienen efectos únicos como un calentamiento homogéneo rápido, poco tiempo de reacción y bajo consumo de energía [59].

Como lo mencionan Li *et al.*, (2014) [60] se pueden obtener nanopartículas con diferentes características dependiendo del material crudo, el método utilizado y el proceso de desintegración. Debido a que la sustentabilidad continúa siendo prioridad en muchas empresas e individuos, estimulando la investigación de materiales estructurales que sean biodegradables, de alto rendimiento y bajo peso [34], en este proyecto se planteó la síntesis de nanopartículas derivadas de celulosa extraída de biomasa, por pre-tratamiento, mediante hidrólisis asistida por microondas reduciendo la toxicidad de los residuos, disminuyendo el tiempo de reacción y aminorando la cantidad de residuos agroindustriales con alto contenido de celulosa.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1 Residuos agroindustriales

Siguiendo la definición de Lin y Tanaka (2006) [24], los residuos agroindustriales se refieren a biomasa, principalmente de origen vegetal, compuesta de celulosa, hemicelulosa y lignina. La composición específica de estos componentes depende de la fuente y generación del residuo; asimismo el arreglo de estos componentes dentro de la biomasa hace que presente una estructura compleja como se muestra en la figura 2.1.

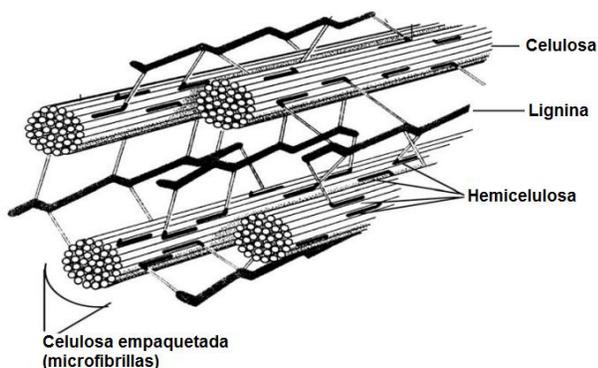


Figura 2.1 Localización y disposición de los principales componentes poliméricos en las paredes celulares de las plantas [25].

En el 2008, Morán *et al.* [61] señalan que la composición de los residuos agroindustriales generalmente son 60 – 80 % de celulosa y hemicelulosa, y 5 – 20 % de lignina. Según Siqueira *et al.*, (2010) [53], la pectina, pigmentos y otros extractos se pueden encontrar en menores cantidades; y debido a su alto contenido de celulosa y hemicelulosa a estos residuos también se les llaman residuos lignocelulósicos. En la Tabla 2.1 se muestra el contenido de diferentes residuos agroindustriales.

Tabla 2.1 Contenido de sustancias poliméricas en los residuos agroindustriales.

Residuo	Porcentaje de componentes			Referencia
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	
Cáscara de cacahuete	46.5	9.7	41.3	[62]
Salvado de trigo	12.23 ± 3.2	34.15 ± 8.9	2.78 ± 0.8	[63]
Cáscara de soya	48.2 ± 2.1	24.0 ± 3.0	5.78 ± 1.06	[51]
Cáscara de arroz	33	26	7	[52]
Residuo de cartón	40 – 60	20 – 40	10 - 25	[64]
Bagazo de caña	43.6	27.7	27.7	[49]
Residuos de maíz	33 – 35	21 – 24	17 – 22	[65]
Cáscara de naranja	35 – 50	15 – 25	20 – 25	[66]
Cáscara de nuez	25 – 30	25 – 30	30 – 40	[67]

2.1.1 Celulosa

La celulosa es considerada como el biopolímero más abundante del planeta y representa aproximadamente 1.5×10^{12} toneladas anuales de biomasa producidas [68].

La celulosa es un polisacárido orgánico que consta de una cadena lineal de glucosa unida por enlaces glucosídicos entre el carbono 1 y el 4 formando una cadena lineal [69] y su fórmula química es $(C_6H_{10}O_5)_n$ [70]. La estructura básica de la celulosa se presenta en la figura 2.2. El polímero lineal de glucosa forma una estructura similar a una cinta plana que es soportada por fuerzas de Van der Waals así como por enlaces de hidrógeno intra e inter moleculares que lo hacen presentar un arreglo cristalino [71].

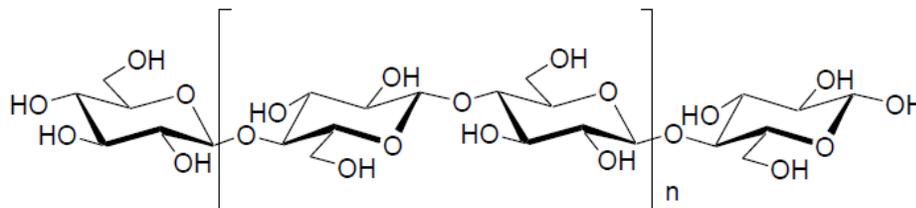


Figura 2.2 Estructura química de la celulosa [53].

En la biomasa vegetal, aproximadamente 36 moléculas individuales de celulosa son ensambladas de manera natural para formar unidades llamadas fibras elementales (nanofibrillas), que a su vez se empaquetan para formar largas unidades llamadas

celulosa microfibrilada (microfibrillas) con diámetro de 20 a 50 nm y varios micrómetros de longitud [72]. Las microfibrillas se empaquetan de manera unidireccional para formar las fibras de celulosa en la pared celular [53] con un ancho de 5 a 20 μm y una longitud de 0.5 hasta varios milímetros [73]. Esta formación se presenta en la figura 2.3 y figura 2.4.

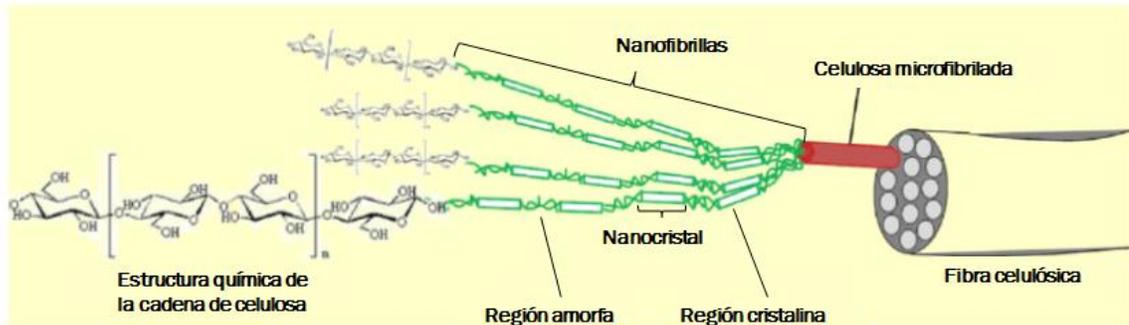


Figura 2.3 Estructura de la fibra de celulosa [72].

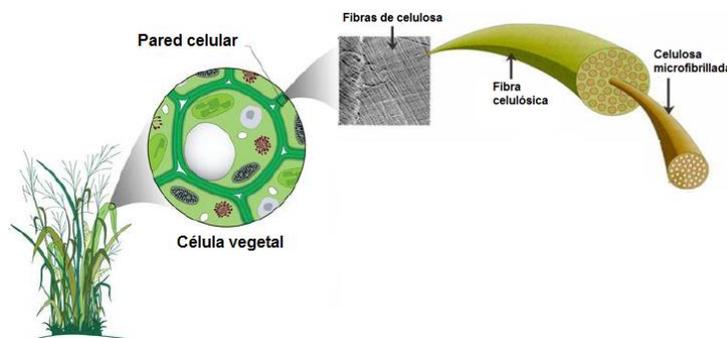


Figura 2.4 Representación de la pared celular vegetal [53, 74].

Según Liu y Sun (2010) [75], existen cuatro tipos polimorfos de celulosa: *I*, *II*, *III* y *IV*; que pueden interconvertirse (figura 2.5). La celulosa *I*, también llamada celulosa nativa debido a que es la forma encontrada en la naturaleza, es una mezcla de fases (I_α y I_β) dependiendo de su origen; I_α se produce en algas y bacterias, y la I_β es el componente principal de plantas superiores y tunicados [76]. La celulosa *II*, celulosa regenerada, se obtiene por mercerización con hidróxido de sodio acuoso de la celulosa *I*. La mayor diferencia entre estas dos formas de celulosa es el acomodo de sus átomos, ya que la celulosa *II* tiene empaquetado antiparalelo mientras que la celulosa *I* tiene dirección paralela [77]. Al tratar la celulosa con amoníaco líquido o con ciertas aminas permite la preparación de la celulosa *III* formando dos alomorfos, si se parte de celulosa *I* (III_1) o

de celulosa II (III_{II}). El tratamiento de celulosa III con glicerol a alta temperatura forma la celulosa IV dependiendo si se parte de celulosa III_I formando celulosa IV_I o de celulosa III_{II} formando IV_{II} [78].

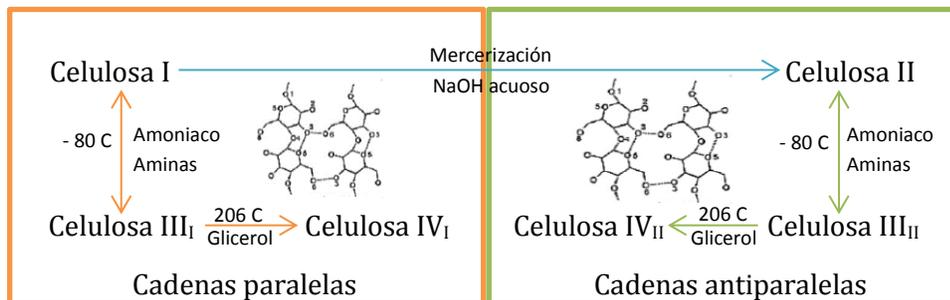


Figura 2.5 Polimorfos de la celulosa y su obtención [72, 78].

2.1.2 Hemicelulosa y lignina

Los otros componentes relevantes de los residuos agroindustriales son la hemicelulosa y lignina, que cubren la celulosa [79]. La hemicelulosa es un polímero heterogéneo lineal y ramificado usualmente compuesto por diferentes azúcares (L-arabinosa, D-galactosa, D-glucosa, D-manosa y D-xylosa) y algunos ácidos orgánicos (ácido acético, ácido glucurónico, entre otros) [80]. La hemicelulosa es una barrera física que reduce la accesibilidad a las fibras celulósicas [79]. La lignina está formada por unidades de fenilpropano enlazadas en una compleja y larga estructura; debido a su configuración molecular, la lignina es extremadamente resistente a la degradación enzimática [80] lo que la hace también una barrera física para la difusión de agua y es la responsable de la rigidez [79]. Tanto la hemicelulosa y lignina son polímeros amorfos mientras que la celulosa es un polímero semicristalino [81].

Recientes estudios han demostrado que se mejora la cristalinidad y la estabilidad térmica de las fibras celulósicas al remover la hemicelulosa y lignina [4]. Por lo tanto, un pre-tratamiento es necesario para modificar los enlaces en la matriz celulosa-hemicelulosa-lignina en los residuos agroindustriales y liberar la celulosa [69].

2.2 Extracción de celulosa

Un gran número de pre-tratamientos se han desarrollado y aplicado para modificar la estructura lignocelulósica de los residuos agroindustriales y hacer la celulosa accesible. Estos pre-tratamientos cambian la estructura de la biomasa lingocelulósica [82] y la composición relativa de la celulosa [52]. El pre-tratamiento rompe la hemicelulosa y lignina que rodea a la celulosa [4] como se muestra en la figura 2.6.

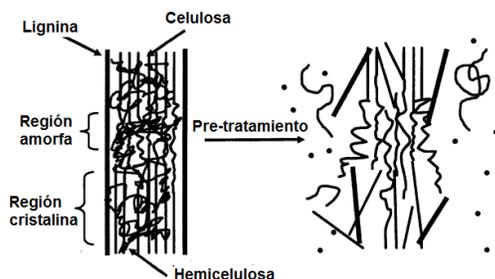


Figura 2.6 Efecto del pre-tratamiento en la matriz lignocelulósica [83].

En 2011, Agbor *et al.* [84] señalan una clasificación generalizada de los pre-tratamientos: químicos, biológicos y múltiples o combinados (físico-químicos). En la tabla 2.2 se muestran las comparaciones entre los pre-tratamientos para la extracción de celulosa de residuos agroindustriales.

Tabla 2.2 Comparación de pre-tratamientos a diferentes residuos agroindustriales.

Residuo	Pre-tratamiento	Reactivo	Temperatura /		Porcentaje de		Referencia	
			Presión / Potencia	Tiempo	Celulosa			
					SP	P		
Cáscara de soya	Químico	NaOH	50 - 100 C	32 h	48.2 ± 2.1	84.6 ± 4.0	[51]	
Ramas del pasto bermuda	Enzimático	<i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	Ambiente	6 semanas	29	32	[69]	
Fibras de plátano	Explosión de vapor	NaOH	20 lb	1 h	64.04 ± 2.83	82.37 ± 2.52	[85]	
Bagazo de anacardo de manzana	Químico asistido por microondas	NaOH	600 – 900 W	15 – 30 min	19.21 ± 0.35	37.2 ± 12	[86]	

SP: Sin pre-tratamiento; P: Pre-tratamiento

La matriz celulosa – hemicelulosa – lignina puede romperse en polímeros más pequeñas a través de ácidos o bases. El efecto del pre-tratamiento químico depende del contenido de lignina en la biomasa. Dependiendo del reactivo químico utilizado se pueden tener diferentes efectos en la estructura de los componentes [69]. Las soluciones alcalinas son más eficientes en la remoción de lignina, mientras que las soluciones ácidas son más eficientes al solubilizar hemicelulosa. Señalan Taherzadeh y Karimi (2008) [87] que se remueve 100% de hemicelulosa con el pre-tratamiento con ácido diluido; sin embargo, Kumar *et al.*, (2009) [88] mencionan que hay una conversión de celulosa a glucosa de aproximadamente 100%.

El utilizar NaOH, KOH, Ca(OH)₂ en el pre-tratamiento incrementa el área interna superficial del material por hinchamiento, esto causa una disminución en el grado de polimerización y una separación en los enlaces estructurales de hemicelulosa y lignina [84]. En 1980, Lesoing *et al.* [89] reportaron que cantidades significativas de hemicelulosa y poca cantidad de celulosa son solubilizadas en NaOH e Ca(OH)₂. Los pre-tratamientos con solución alcalina pueden llevarse a cabo a bajas temperaturas y períodos de tiempo relativamente largos y altas concentraciones de la base [87].

Para residuos agroindustriales, Brinchi *et al.* (2013) [40] mencionan que el método de extracción de celulosa usado en las industrias de papel y pulpa puede utilizarse como pre-tratamiento, ya que consiste en despolimerizar los compuestos no celulósicos y eventualmente solubilizar la lignina y hemicelulosa con soluciones químicas, para después blanquear el residuo con agentes oxidantes. El propósito del blanqueo es remover la lignina restante del tratamiento alcalino dejando más accesibles la fibras de celulosa [90]. En el blanqueo se obtiene un producto blanco con poca cantidad de impurezas y se mejora la resistencia (resistencia al amarilleo y fragilidad); estos efectos están conectados con la lignina en la biomasa [91]. Liu y Sun (2010) [75] indican que el tratamiento a biomasa con soluciones alcalinas puede aislar la celulosa y el utilizar soluciones cloradas pueden remover casi toda la lignina. Estos pasos permiten la eliminación de la hemicelulosa y lignina dejando la celulosa intacta [53].

El pre-tratamiento biológico utiliza microorganismos para la modificación o degradación de hemicelulosa y lignina, manteniendo la celulosa intacta [92]. Según Hamelinck *et al.*, (2005) [23] este tipo de pre-tratamientos son seguros y utilizan menor cantidad de energía que otros; sin embargo, es un pre-tratamiento caro, lento, con bajo rendimiento y se ha encontrado que los microorganismos han sido envenenados por derivados de

lignina. En 2008, Zhu *et al.* [93] han encontrado que este pre-tratamiento está limitado por la pequeña zona de superficie accesible y los contenidos de hemicelulosa y lignina.

En 2011, Abraham *et al.* [94] utilizaron el método de explosión de vapor como otro pre-tratamiento ya que causa que la hemicelulosa y la lignina se descompongan y pasen a la fracción de bajo peso molecular pudiéndose remover con agua. Durante este pre-tratamiento, la presión se reduce y hace que la biomasa lignocelulósica sufra una descompresión explosiva; una alta presión y consecuentemente una alta temperatura (160 – 260 C) por pocos segundos (30 s) a varios minutos (20 min) hacen que el agua dentro del sustrato se vaporice y se expanda rápidamente, desintegrando la biomasa [87, 95]. Según Sun y Cheng (2002) [96] los factores que afectan este pre-tratamiento son el tiempo de residencia, temperatura, tamaño y humedad de la muestra. Este pre-tratamiento hidroliza la hemicelulosa y la celulosa sufre poca despolimerización [69]. La explosión de vapor necesita de otro pre-tratamiento químico para remover todo el contenido de lignina [40].

En 2008, Hu y Wen [97] encontraron que el pre-tratamiento con microondas aumenta la superficie del material lignocelulósico. Algunos estudios han demostrado que la irradiación por microondas desintegra la hemicelulosa y lignina, cambiando la estructura de la biomasa [82]. Existen hipótesis de que esto es debido a que las microondas inducen “hot spots” en el residuo agroindustrial [98]. Se ha reportado que la irradiación de microondas a biomasa se ha llevado a cabo a altas temperatura (>160 C) [99]. En 2011, Soares-Rodriguez *et al.* [86] comprobaron que al combinar la irradiación con microondas con el pre-tratamiento alcalino se aceleran las reacciones de degradación parcial de la hemicelulosa y la remoción de la lignina, lo que hace que esta combinación sea más rápida que utilizando únicamente el pre-tratamiento alcalino.

Ya extraída la mayor cantidad de celulosa del residuo agroindustrial, se pueden generar nanopartículas mediante diferentes procedimientos. Según Johar *et al.*, (2012) [52], el porcentaje de celulosa nos da un indicio de la cantidad de nanopartículas que se pueden obtener.

2.3 Nanopartículas de celulosa

Las nanopartículas de celulosa son materiales prometedores que tienen diversas aplicaciones industriales como en plásticos estructurales, revestimientos inteligentes, cosméticos, productos farmacéuticos, materiales para captación de energía solar y muchos usos más que aún se están evaluando [90]. En 2008, Alemdar *et al.* [50] mencionan que estos cristales tienen 5 nm de ancho pero varían de longitud de acuerdo a la fuente de celulosa; y dichos cristales se organizan en grupos formando microfibrillas de celulosa con diámetro de hasta 60 nm y con varios micrómetros de longitud.

Según Tabil *et al.*, (2011) [69] hay básicamente dos familias de partículas de celulosa de tamaño nanométrico: nanocristales de celulosa y celulosa microfibrilada (microfibrillas). En la tabla 2.3 se explican los parámetros de dimensión de las nanopartículas de celulosa.

En 2011, Cherian *et al.* [100] mencionan que los nanocristales de celulosa también son llamados nanowhiskers (o solamente whiskers) e inclusive monocristales; en la literatura también se refieren como microcristales o microcristalitos a pesar de sus dimensiones nanométricas. El término “whiskers” es usado para designar nanopartículas cristalinas circulares alargadas mientras que las nanofibrillas se designan a nanopartículas largas y flexibles que constan de partes cristalinas y amorfas [101]. En la figura 2.3 se pueden observar estas regiones; Moon *et al.*, (2011) [102] señalan que la región cristalina consta de celulosa ensamblada con un alto contenido estructural mientras que la región amorfa consta de regiones desordenadas.

Tabla 2.3 Dimensiones de nanopartículas de celulosa [33, 103]

Tipo de nanopartículas	Sinónimos	Diámetro (nm)	Longitud (nm)	L/d
Celulosa nanocristalina	Nanocristales de celulosa, nanowhiskers, whiskers, monocristales, microcristales	5 – 70	100 – 250 nm	10 – 100
Celulosa microfibrilada	Microfibrillas, nanofibrillas, nanofibras, fibrillas	5 – 60	>10,000	> 1,000

2.3.1 Obtención de nanopartículas de celulosa

Según Li *et al.*, (2013) [104], la obtención de nanopartículas de celulosa se clasifican en dos categorías generales: “Top – botton” y “botton – up “. En la primera se obtienen de diferentes fuentes e incluye métodos mecánicos y/o químicos. En la segunda se ensamblan las nanoestructuras de celulosa desde las moléculas de celulosa y utiliza procesos de biosíntesis.

Los procesos y métodos de producción de nanopartículas de celulosa que son utilizados hoy en día son mecánicos, biológicos y químicos, así como combinados [91]. En la tabla 2.4 se muestran los diferentes métodos de obtención de nanopartículas de celulosa.

2.3.2 Procedimientos mecánicos

Los procesos mecánicos para la producción de nanopartículas de celulosa se pueden dividir en refinación y homogeneización a alta presión, molienda, trituración a bajas temperaturas (cryocrushing) y ultrasonido [68].

En la refinación, la suspensión de fibras diluidas se hace pasar por un hueco entre el extractor y un motor de discos equipados con ranuras y barras, en la cual la pulpa se expone a tensiones cíclicas secuenciales. Este proceso mecánico puede causar alteraciones irreversibles en las fibras celulósicas e incrementar sus potenciales de unión [105]. La homogeneización a alta presión incluye el pasar la suspensión de celulosa a alta presión en un recipiente a través de una pequeña boquilla; la alta velocidad, la presión así como el impacto y las fuerzas de cizallamiento en el fluido disminuyen el tamaño de las fibras a tamaño nanométrico [58]. Este proceso se considera eficiente para la refinación de fibras celulósicas, simplicidad y el hecho de no utilizar disolventes orgánicos [106]. Cuando la suspensión de fibras de las pulpas celulósicas es homogeneizada, el procedimiento se repite varias veces para incrementar el grado de fibrilación aumentando la demanda de energía, pudiendo alcanzar 30,000 kWh/t [103].

Otra forma para la producción de celulosa en tamaño nanométrico es por molienda. En equipos de molienda, existe una piedra estática y otra afilada rotando (~1500 rpm) y la

pasta de pulpa pasa entre estas dos piedras. Este procedimiento rompe los enlaces de hidrógeno por la fuerza de corte e individualiza las fibras a escala nanométrica. La molienda utiliza mucha energía y la relación entre consumo de energía y tiempo de fibrilación es una función de la cristalinidad [68].

La trituración a bajas temperaturas (cryocrushing) consiste en que las fibras celulósicas hinchadas se sumergen en nitrógeno líquido y posteriormente se trituran con mortero y navaja [58]. El aplicar fuerzas de alto impacto a la fibra celulósica congelada se rompe la pared celular por la presión ejercida por los cristales de hielo, liberando las microfibrillas [107]. Es un método raramente usado [72] ya que las fibras trituradas a bajas temperaturas se dispersan en agua usando un desintegrador [108].

Durante el proceso de ultrasonido las moléculas absorben energía ultrasónica y se produce una fuerte oscilación mecánica con olas de alta intensidad que consisten en la formación, expansión e implosión de burbujas microscópicas de gas que aísla las fibras de celulosa [68]. El ultrasonido puede ejercer presión extrema y variaciones de temperatura [109]. Este procedimiento induce cambios estructurales en la biomasa dependiendo de la energía del ultrasonido y la duración del mismo, además de ser un proceso intensivo de energía [4].

Según Henriksson *et al.*, (2007) [110] los métodos mecánicos tienden a dañar la estructura de la celulosa al reducir la masa molar y el grado de cristalinidad, además de desintegrar parcialmente la fibra siendo un método no efectivo ya que no alcanza la escala nanométrica. El mayor obstáculo de estos procedimientos de obtención de nanopartículas de celulosa es el alto consumo de energía, que normalmente implica valores de 20,000 – 30,000 kWh/ton [103], además que disminuyen el rendimiento y longitud de las nanopartículas de celulosa [68].

2.3.3 Procedimientos biológicos

La hidrólisis enzimática se ha utilizado para la producción de nanopartículas de celulosa con un bajo consumo de energía [54]. Este procedimiento tiene como resultado nanofibras cristalinas enlazadas con la fase amorfa [111].

Muchos estudios se realizan en pulpas blanqueadas y se hidrolizan con enzimas; siendo las celulasas las más utilizadas. Normalmente los procedimientos biológicos se combinan con procedimientos mecánicos para incrementar la accesibilidad de las fibras. [112].

Los cambios estructurales a escala nanométrica que tienen lugar en la biomasa durante la hidrólisis enzimática tienen un impacto en la accesibilidad de la enzima y la digestibilidad en la celulosa; el tamaño y la forma en las fibrillas así como el área de superficie disponible se altera continuamente por la acción de las enzimas [113].

2.3.4 Procedimientos químicos

El método ampliamente utilizado y más conocido es la hidrólisis ácida. Este proceso rompe las partes desordenadas y amorfas de la celulosa, liberando solamente cristales bien definidos [51].

Rånby (1951) [114] es considerado el pionero en la producción de suspensiones coloidales de celulosa cristalina mediante hidrólisis ácida controlada con ácido sulfúrico en fibras de celulosa.

Las nanopartículas de celulosa producidas con hidrólisis ácida son estructuras de celulosa que se producen bajo condiciones controladas de temperatura, agitación y tiempo [72]. Dependiendo de la fuente, las nanopartículas de celulosa tienen una variedad de aspecto (L/d, siendo L la longitud y d el diámetro), que van de 1 a 100 nm [115].

En 2011, Durán *et al.* [41] describieron la obtención de nanopartículas de celulosa de diferentes plantas y residuos agroindustriales variando la temperatura y el tiempo de reacción.

Los pasos generales para obtener nanopartículas de celulosa mediante hidrólisis ácida según Brinchi *et al.* (2013) [40] son los siguientes:

1. Hidrólisis con ácido fuerte al material puro de celulosa controlando estrictamente la temperatura, tiempo, agitación y otras condiciones (naturaleza y concentración del ácido y proporción de ácido a celulosa).

-
2. Dilución con agua para detener la reacción y repetir el lavado con centrifugación.
 3. Diálisis con agua destilada para remover todas las moléculas de ácido.
 4. Tratamiento mecánico, usualmente sonicación para dispersar las nanopartículas de celulosa como una suspensión estable.
 5. Secado de la suspensión para producir nanopartículas de celulosa sólidas.

Dong *et al.*, (1998) [116] fueron de los primeros investigadores en estudiar el efecto de las condiciones de la hidrólisis en las propiedades de las nanopartículas obtenidas, probando que con tiempos muy grandes se obtienen monocristales pequeños y se incrementa la superficie de carga. Beck-Candanedo *et al.*, (2005) [117] explica que el tiempo de reacción es el parámetro más importante a considerar en la hidrólisis ácida; se indicó que los tiempos de reacción demasiado largos pueden digerir completamente la celulosa produciendo moléculas de azúcar, por el contrario, los tiempos de reacción cortos producen grandes fibras no dispersadas y agregados.

La hidrólisis ácida puede llevarse a cabo con ácidos fuertes, como H_2SO_4 y HCl, a temperaturas no tan elevadas; obteniendo nanopartículas de celulosa con una baja capacidad de resistir temperaturas muy altas [46].

En 1998, Araki *et al.* [118] compararon el efecto de usar ácido sulfúrico o ácido clorhídrico para producir suspensiones estables de nanocristales de celulosa. Explicaron que el ácido sulfúrico proporciona suspensiones acuosas más estables que el ácido clorhídrico. En 2005, Angellier *et al.* [119] informaron que el ácido sulfúrico no sólo reduce la posibilidad de aglomeración de nanocristales, sino también limita su floculación en medio acuoso.

En 2006, Bondeson *et al.* [120] estudiaron las condiciones óptimas de la hidrólisis ácida y determinaron que con una concentración de 63.5 % (w/w) de ácido sulfúrico y un tiempo de reacción de 130 min, se produce celulosa microcristalina con una longitud de 200 a 400 nm, un ancho mayor a 10 nm y un rendimiento mayor al 30% del peso inicial. En 2012, Wang *et al.* [121] mencionan que el utilizar ácido sulfúrico fuerte, aproximadamente 64% (w/w) para producir suspensiones estables de nanopartículas de celulosa, reduce el tiempo de reacción a un par de horas y las temperaturas a 45 – 50 C teniendo un rendimiento mayor a 47%.

El utilizar ácido concentrado fuerte, como el sulfúrico tiene grandes inconvenientes como ser extremadamente corrosivo y oxidante, y peligroso para el personal que lo maneja y el medio ambiente [40]. Durante la hidrólisis ácida hay un grado de injerto del grupo sulfato sobre la superficie de las nanopartículas de celulosa [122] que compromete la termoestabilidad de las mismas [123].

En 2013, Brinchi *et al.* [40] señalaron que es necesario un procedimiento fiable para la producción de nanopartículas de celulosa con tamaño uniforme mediante hidrólisis ácida; además se ha reportado el uso de pasos adicionales (filtración, centrifugación diferencial o ultracentrifugación) para reducir la polidispersión de las nanopartículas y se ha buscado el incrementar el rendimiento de producción de nanopartículas de celulosa para reducir el costo final del proceso. Abraham *et al.*, (2011) [94] encontraron evidencia de que la hidrólisis ácida genera residuos que son tóxicos, ya que contienen azúcares en forma monomérica y oligomérica con ácido sulfúrico residual; además que el costo del proceso es elevado debido a que el equipo que se utiliza debe ser resistente a la corrosión.

Se ha propuesto un nuevo proceso para obtener nanopartículas de celulosa basado en la reacción TEMPO [53]. Saito *et al.*, (2006) [124] introdujeron la oxidación de celulosa aplicando 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxyl (TEMPO). Este método explica que los materiales celulósicos crudos se procesan mediante unas tijeras químicas nanométricas para obtener celulosa microfibrilada [40].

El principio básico de este método consiste en la oxidación de las fibras de celulosa por NaClO en presencia del catalizador TEMPO y NaBr a pH 10 – 11 a temperatura ambiente [72]. Este método deja accesibles los hidroxilos primarios en la superficie de las fibras y se oxidan a grupos aldehídos que se oxidan a grupos carboxilos con carga negativa [92]; como resultado, las nanofibrillas dentro de las fibras se desenrollan por la agitación mecánica y por las fuerzas repulsivas entre los carboxilatos ionizados y los puentes de hidrógeno [101]. Entre mayor cantidad de NaClO, mayor cantidad de grupos carboxilados se forman en la superficie, por ende aumenta el tiempo de oxidación y decrece la longitud de la nanofibrillas obtenidas [73, 125]. Normalmente, el procedimiento de oxidación TEMPO es seguido por tratamiento mecánico para eliminar la celulosa microfibrilada incompleta [72]. Se ha encontrado que este sistema de

oxidación permite tener una distribución uniforme de nanofibrillas (≈ 5 nm de ancho) y materiales libres de grupos aldehídos [103].

Los rendimientos no han sido reportados para la oxidación de las regiones amorfas que se hidrolizan para formar suspensiones dispersas acuosas, además se debe considerar que TEMPO es una sustancia cara y tóxica [40]. Se considera que al utilizar TEMPO baja drásticamente la acción mecánica para producir nanopartículas de celulosa, sin embargo el utilizar el TEMPO aumenta el costo del proceso [102].

2.3.5 Procedimientos combinados

En la explosión de vapor (steam explosion), se lleva a alta presión la muestra para después seguir una rápida descompresión. Para Sonia y Dasan (2012) [126], la explosión de vapor es una alternativa para la producción de nanopartículas de celulosa. Según Cherian *et al.* (2010) [95] este proceso combina las acciones mecánicas y químicas causando cambios físicos y químicos en el material lignocelulósico, que incluye la formación de fibras individuales y una despolimerización parcial de la hemicelulosa y lignina. La explosión de vapor es un método eficiente para separar las nanofibras de la biomasa lingocelulósica [95, 127] y producir nanopartículas de celulosa con alta pureza y cristalinidad [100].

La explosión de vapor fue introducida por Mason en 1927 para desfibrilar la madera para la producción de cartón [128]. Marchessault *et al.*, (1991) [129] menciona que la explosión de vapor es un proceso de auto hidrólisis. Los efectos de este proceso en la biomasa son los siguientes [130]:

1. La separación de enlaces glicosídicos accesibles.
2. La separación de los vínculos β -éter de la lignina.
3. La separación de enlaces complejos de lignina en carbohidratos.
4. Modificación química de lignina y los carbohidratos.

En este proceso la biomasa se corta y se lleva a alta presión por un corto tiempo (20 s a 20 min) a una temperatura de 200 – 270 C a una presión de 14 – 16 bar. La presión cae rápidamente y el material es expuesto a presión atmosférica normal que causa la explosión y rompe la estructura lignocelulósica [40].

Se ha encontrado que acoplar ácido a la explosión de vapor ayuda a desintegrar más las fibras [95].

Las ventajas de este procedimiento incluyen un impacto ambiental menor, baja energía, bajo costo de inversión y el uso de sustancias menos peligrosas. Este proceso debe repetirse varias veces hasta que se libere la celulosa microfibrillada [73].

En 2012, Keijsers *et al.* [131] mencionan que la principal desventaja de la explosión de vapor es que no ha sido posible llevarlo a gran escala y los residuos generados (biomasa comprimida) ocupan un volumen considerable en los desechos.

El método de irradiación por microondas para la producción de nanopartículas ha ganado popularidad en los últimos años debido a su velocidad o rapidez, también porque no es necesario aplicar alta presión ni utilizar soluciones tóxicas [132] y permite repetir las condiciones del proceso [133]. En 2002, Jones *et al.* [134] indican que con la energía de microondas se tiene un control mayor del proceso y una reducción en el tamaño de equipo y desperdicios. La técnica de irradiación con microondas produce nanopartículas con una muy baja dispersión de tamaño, aunque no siempre se logre un control preciso en la morfología; asimismo el utilizar muestras líquidas permite la disminución de las fluctuaciones de temperatura en el medio de reacción, proporcionando, así, un entorno más homogéneo [135]. El utilizar este método permite repetir las condiciones del proceso

Los métodos de calentamiento por microondas pueden proporcionar una plataforma escalable a nivel industrial [136]. Se ha encontrado que los productos de celulosa obtenidos por microondas son similares a los obtenidos térmicamente [137]. Como ejemplos recientes; en el 2013, Lu *et al.* [138], obtuvieron nanopartículas de celulosa de papel filtro con un ancho menor a 100 nm mediante hidrólisis ácida y la aplicación simultánea de ultrasonido y microondas (SUMAT) encontrando que el efecto sinérgico del ultrasonido y las microondas intensifica la hidrólisis ácida y mejora la producción de fragmentos de celulosa nanométrica provenientes del papel filtro; y en el 2014, Kos *et al.* [133], a partir de microcelulosa cristalina comercial produjeron nanopartículas de celulosa con diámetros de 126 a 1310 nm mediante hidrólisis ácida asistida por microondas en 10 minutos observando que al aumentar la temperatura disminuye el rendimiento de producción y es repetible.

El utilizar irradiación por microondas para la obtención de nanopartículas es atractivo ya que ofrece una mayor eficiencia de calentamiento en comparación con las anteriores técnicas [139]. En 2009, Guiotoku *et al.* [140] mencionan que la ventaja principal de las microondas es que produce un calor selectivo, rápido y homogéneo que reduce el tiempo de procesamiento y los costos. Este calor es debido a que la energía de microondas no se desperdicia para alcanzar un calentamiento mayor en la muestra [134]. Las microondas inducen calor a nivel molecular mediante la conversión directa de energía electromagnética [141]. Este tipo de calentamiento uniforme en la solución, da un control de tamaño de nanopartículas en la síntesis [142].

La energía de microondas es una forma de energía electromagnética con un rango de frecuencia de 300 MHz a 300 GHz [143] siendo el rango más efectivo para calentamiento de 0.915 a 2.45 GHz [144]. El calor por microondas es el resultado de la absorción de la energía de microondas por el material expuesto al campo electromagnético [145].

La eficiencia de los procesos de irradiación de microondas depende de la naturaleza del material, en términos de su forma física [146]. Los materiales que absorben la radiación de microondas son llamados dieléctricos, es por esto que el calor generado por microondas se le puede llamar calentamiento dieléctrico [134]. Los materiales dieléctricos contienen dipolos que se alinean en un campo eléctrico y rotan en un campo eléctrico alterno ocasionando que la energía interna almacenada se pierda a través de fricción, calentando el material [147]. Los materiales dieléctricos tienen dos propiedades importantes [148]: tienen pocos cargadores de carga libre y las moléculas o átomos que los componen exhiben un momento dipolar. El efecto de calentamiento se debe a la interacción del momento dipolar de las moléculas con la radiación electromagnética de alta frecuencia (2.45 GHz); el agua tiene un momento dipolar muy alto lo que lo hace uno de los mejores solventes en las reacciones asistidas por microondas [149].

El método de irradiación de microondas involucra al residuo agroindustrial en un ambiente acuoso. En 2011, Tabil *et al.* [69] indicaron que el rango de trabajo para una hidrólisis asistida por microondas va de 250 hasta 1000 W con 2450 MHz de potencia.

Mencionan Wu *et al.*, (2010) [150] que la irradiación de microondas para acelerar reacciones orgánicas ha ganado interés debido a que es un proceso benigno para el

medio ambiente. Se ha reportado el efecto benéfico de las microondas en la hidrólisis de celulosa en presencia de ácidos [151] así como líquidos iónicos [152] y con ultrasonido [144].

Budarin *et al.*, (2010) [153] encontraron que la irradiación por microondas tiene un efecto dramático en la descomposición de celulosa, observándose que después de 180° C se produjeron cenizas con una fracción líquida aceitosa; además Fan *et al.*, (2013) [154] señalaron que la temperatura máxima en un método asistido por microondas debe ser 180° C debido a la generación de gases incompresibles, como CO₂, y al aumento de celulosa amorfa inducida por la despolimerización de la celulosa cristalina.

En 2013, Wang *et al.* [109] indicaron que la cantidad de nanopartículas generadas disminuye al aumentar el tiempo de irradiación; esto se debe a que las moléculas dipolares como el agua, rotan vigorosamente haciendo colisionar las nanopartículas lo cual favorece la formación de micropartículas.

En 2011, Singh *et al.* [155] observaron que el tiempo de procesamiento de celulosa utilizando un calentamiento térmico en baño de agua es de 10 horas, siendo mucho mayor a los 8 min requeridos por un método de irradiación por microondas con potencia de 360 W. Utilizando la pulpa de yuca, Hermiati *et al.*, (2012) [156] realizaron hidrólisis ácida asistida por microondas tomándole solo pocos minutos (5 – 10 min), mientras que los procesos convencionales como hidrólisis ácida duraron 90 min y 48 – 72 horas para hidrólisis enzimática.

Tabla 2. 4 Procedimientos de obtención de nanopartículas de celulosa, de literatura.

Procedimiento	Biomasa	Método	Operación	Nanopartículas / Dimensiones	Referencia
Mecánico	Pulpa de madera, celulosa de tunicado, quitosano y colágeno	Molienda	Molino comercial con disco de diseño especial de Masuko Corp a 10 pasos.	Celulosa microfibrilada (Microfibrillas) / diámetro de 20 – 90 nm	[157]
	Paja de trigo	Cizallamiento	Fluko FA25 por 15 min.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / diámetro de 30 – 70 nm	[158]
	Pulpa de papa	Desintegración y homogeneización	Licadora Waring. Homogeneización a 15 pasos a 500 bars y 90 – 95 C.	Celulosa microfibrilada (Microfibrillas) / 5 nm de ancho	[159]
	Fibras de cáñamo (<i>Cannabis sativa L.</i>)	Cryocrushing y homogeneización	Cryocrushing y homogeneización de 20 pasos a 1 – 500 bar.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / diámetro de 50 – 100 nm	[107]
	Astillas de <i>Eucalytus saligna</i> y hojas de maíz de la variedad tlalqueño	Ultrasonicación térmica	Equipo Sonics Vibra-Cell Model VCX 130 con punta Model CV18 de acero inoxidable a 80°C por 4 h.	Celulosa microfibrilada / diámetro de 40 – 96 nm	[35]
Biológico	Fibras de curauá y bagazo de caña de azúcar	Enzimas celulasas	Agitador orbital a 50 C por 72 h y 150 rpm.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / diámetro de 40 – 55 nm	[111]
	Pulpa reciclada	Enzima endogluconasa	84 EGU de endogluconasa por 200 mg a 50 C por 60 min.	Celulosa nanocristalina (Nanocristales) / ancho de 30 – 80 nm	[160]
Químico	Cascarilla de soya	Hidrólisis ácida (H ₂ SO ₄)	64% (w/w) a 40 C por 30 min bajo agitación vigorosa y constante.	Celulosa nanocristalina (Nanocristales) / diámetro de 2.77 ± 0.67 nm	[51]
	Cáscara de papa	Hidrólisis ácida (H ₂ SO ₄)	64 wt% a 45 C por 60 – 90 min bajo agitación constante.	Celulosa nanocristalina (Nanocristales) / diámetro 10 nm y longitud 410 nm	[90]
	Cascarilla de arroz	Hidrólisis ácida (H ₂ SO ₄)	10 mol/L a 50 C por 40 min bajo agitación constante.	Celulosa nanocristalina (Nanocristales) / diámetro de 10 – 25 nm	[52]
	Bagazo de caña de azúcar	Hidrólisis ácida (H ₂ SO ₄)	60% (w/v) por 5 h a 50 C bajo fuerte agitación.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / dimensiones 170 nm x 35 nm	[161]
	Fibras de sisal	Hidrólisis ácida (H ₂ SO ₄)	60 wt% a 45 C por 30 min bajo continua agitación.	Celulosa microfibrilada (Nanofibras) / diámetro de 30.9 ± 12.5 nm	[61]
Químico	Pulpa kraft blanqueada no secada	TEMPO	Oxidación mediante TEMPO a temperatura ambiente por 30 min.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / ancho de 3 – 4 nm	[162]

	Pulpa kraft no secada	TEMPO	Oxidación mediante TEMPO y homogenización a 20 pasos.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / ancho de 2.5 – 4 nm	[163]
	Pulpa kraft de madera blanqueada	TEMPO	Oxidación mediante TEMPO a temperatura ambiente y agitación a 500 rpm.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / ancho de 3– 4 nm	[124]
	Fibra de las hojas de piña	Explosión de vapor (Steam explosion)	En ácido oxálico 11% hasta alcanzar la presión de 138 kPa, se libera la presión; se restablece hasta alcanzar 138 kPa por 15 min.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / ancho de 5 – 15 nm	[100]
	Fibras de plátano crudo, de yute y de la hoja de piña	Explosión de vapor (Steam explosion)	En ácido oxálico 5% hasta alcanzar la presión de 137 Pa por 1 h, se libera la presión; se llevan a agitación mecánica seguida de sonicación.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / diámetro de 5 – 40 nm	[94]
	Pseudo tallo de la planta de plátano (<i>Musa sapientum</i>)	Explosión de vapor (Steam explosion)	En ácido oxálico (concentración de 5%, 7%, 9% y 11%) hasta alcanzar la presión de 20 lb; se restablece hasta alcanzar 20 lb por 15 min y se repite 8 veces.	Celulosa microfibrilada (Nanofibrillas) / diámetro de 15 – 27 nm	[85]
Combinados	Papel filtro (102 #, ϕ 125 mm)	Hidrólisis ácida (H_2SO_4) con ultrasonido y microondas	Equipo CW2000 con 40 kHz y 50 W de ultrasonido y 2450 MHz de microondas simultáneamente a 55 – 75 C variando de 0 a 3 h.	Celulosa nanocristalina (whiskers) / ancho menor a 100 nm	[141]
	Celulosa microcristalina comercial (Acros Organics, extra pura, tamaño de partícula promedio de 90 μ m)	Hidrólisis ácida (H_2SO_4) con microondas	Equipo Monowave 300 Anton Paar por 10 min a 600 rpm, con rango de 70 a 90 C y una concentración del ácido a 50 – 64 % (w/w).	Celulosa microfibrilada / diámetro de 126 – 1310 nm	[133]
	Bagazo de caña de azúcar	Microondas y homogenización	En cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio (BmimCl) 1% (w/w) se mezcló en Qpro-M 130 C por 2 h bajo agitación magnética. Se homogenizo a alta presión de 40 a 140 MPa a un máximo de 50 pasos.	Celulosa nanocristalina (Nanocristales) / diámetro de 10 – 20 nm	[164]

2.4 Aplicaciones de las nanopartículas de celulosa

Las nanopartículas de celulosa pueden convertirse en una importante clase de nanomateriales renovables, con muchas aplicaciones potenciales en el campo de la electrónica, en la industria textil, en productos de alta absorbencia, termoplásticos, de embalaje de alimentos, farmacéuticos, medicamentos y cosméticos [36]; este interés es debido a sus dimensiones nanométricas, alta área superficial, morfología única, baja densidad y fuerza mecánica; además de que son fáciles de modificar químicamente, fácilmente disponibles, renovables y biodegradables [165, 166].

Debido a la relación entre estructura y propiedades específicas, la aplicación de las nanopartículas de celulosa se clasifican de acuerdo a la siguiente tabla.

Tabla 2.5 Aplicaciones de las nanopartículas de celulosa, dependiendo de sus propiedades específicas [43].

Propiedades específicas de las nanopartículas de celulosa	Aplicaciones	Ejemplos
Alta relación entre dimensiones, estabilidad dimensional, capacidad de modificación superficial.	Compósitos y materiales de construcción	Compósitos poliméricos.
Propiedades de fortalecimiento y formación.	Materiales porosos y estructuras fibrosas de red	Papel, aerogeles, materiales de aislamiento, membranas, filtros.
Capacidad de formación de película y propiedades de barrera.	Recubrimientos y superficies funcionales	Empaques de comida, recubrimientos antimicrobianos, sensores y papeles bioactivos de diagnóstico.
Estabilidad dimensional a altas temperaturas y altas concentraciones de sal, propiedades de superficie y alta eficiencia de colisión con partículas de tamaño similar.	Aditivos funcionales	Recuperación de petróleo, súperabsorbentes, pinturas, espesadores, floculantes, aditivos de resistencia.

Se ha encontrado que las nanopartículas de celulosa pueden actuar como refuerzo de una matriz polimérica en materiales nanocompuestos [167]. En 1995, Favier *et al.* [168] fueron los primeros que reportaron el uso de fibrillas de celulosa nanocristalina como filtros de refuerzo en nanocompósitos a base de poli(estirenocobutil acrilato)(poli(S-co-BuA) y desde esta publicación se ha incrementado el interés de producir nanocompósitos poliméricos reforzados con nanopartículas de celulosa [169].

Se han incorporado nanopartículas de celulosa en diferentes matrices poliméricas [170], como en polisiloxanos y polisulfonatos [165], poli(caprolactonas) [171], látex de poli-(estireno-co-butil acrilato) [172, 173], copolímeros de etileno vinil alcohol [174], acetato de butirato de celulosa [175], poliuretano [176], polipropileno [177], carboximetil celulosa [178, 179], poli(oxietileno) [180, 181], poli(vinil acetato) [182, 183], poli(vinil alcohol) [184, 185], poli(etileno-vinil acetato) [186], poli-(vinil clorito) [187], epóxidos [188]. La incorporación a biopolímeros como en biopolímeros como féculas [189-192], proteína de soya [193], quitosano [194] y celulosa regenerada [195] también ha sido reportada.

Algunos de estos nanocompuestos producidos, son transparentes y tienen fuerzas de tensión más grandes que el acero y un bajo coeficiente de expansión térmica; entre sus aplicaciones se encuentran las películas de barrera, antimicrobianas, transparentes, pantallas flexibles, implantes biomédicos, plantillas para componentes electrónicos, supercapacitores y muchos más [102].

Además del desarrollo de nuevos materiales y procesos basados en las nanopartículas de celulosa, el estudio de las interacciones a escala nanométrica será beneficioso para entender mejor e implementar tecnologías y materiales que actualmente se utilizan [196].

CAPÍTULO 3

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

La extracción de biopolímeros de biomasa genera nanopartículas derivadas de celulosa mediante hidrólisis asistida por microondas.

3.2 Objetivo general

Sintetizar nanopartículas extraídas de celulosa de biomasa mediante hidrólisis asistida por microondas.

3.2.1 Objetivos específicos

1. Seleccionar la biomasa a partir de la caracterización de la misma.
2. Obtener la celulosa a partir de la biomasa seleccionada.
3. Obtener nanopartículas de celulosa.
4. Caracterizar los productos obtenidos.

CAPÍTULO 4

DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 Materiales y reactivos

En el desarrollo de este trabajo se utilizaron como materia prima 5 residuos agroindustriales:

- Cáscara de cacahuete procedente de Frituras Tehuacán, S. A.
- Cascarilla de soya procedente de Proteínas Naturales Ragasa
- Residuo de cartón procedente de Smurfit Kappa Mill
- Residuo de maíz procedente de Molinos Azteca
- Salvado de trigo procedente de Molinos Sant Joan

Se utilizó también un blanco de celulosa cristalina tipo 101 proveniente de Sigma ® para comparar.

Las muestras fueron otorgadas por las empresas en diversos empaques y se preservaron a baja temperatura para evitar la proliferación de microorganismos.

Se secaron 250 gramos de cada muestra a 75 C en la estufa marca Precision y se trituraron en un molino vibracional BenchMill de la marca Rock Lab a tamaño de malla número 40 (450 µm) para análisis de caracterización de la muestra, así como para la extracción de celulosa y producción de las nanopartículas.

Se utilizó el equipo Microwave Synthesis Reactor Monowave 300 para realizar la síntesis de nanopartículas de celulosa.

Para la extracción de celulosa se utilizó una solución de hidróxido de sodio 2 % (w/w) y una solución de NaClO al 5 % (w/w); y para la producción de las nanopartículas de celulosa se utilizó como solvente agua desmineralizada.

4.2 Contenido de celulosa

Según Johar *et al.*, (2012) [52] el conocer la cantidad de celulosa da un indicio de la cantidad de nanopartículas que se pueden obtener.

Una variedad de métodos han sido usados para determinar el contenido de celulosa en la biomasa; el análisis de fibra por método de Van Soest determina el peso residual de las muestras después de remover varios constituyentes [197], y obtiene los contenidos de los componentes individuales del residuo al ser tratados con soluciones detergentes ácida y neutra [198].

Utilizando la metodología propuesta por Van Soest *et al.*, (1991) [199], se realizó la determinación de fibra detergente neutra (NDF) y fibra detergente ácida (ADF) usando el método de bolsa filtro con el equipo Ankom (Ankom Technology Corporation) [200]. Con este método se determina la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina [201], como se muestra en la figura 4.1.

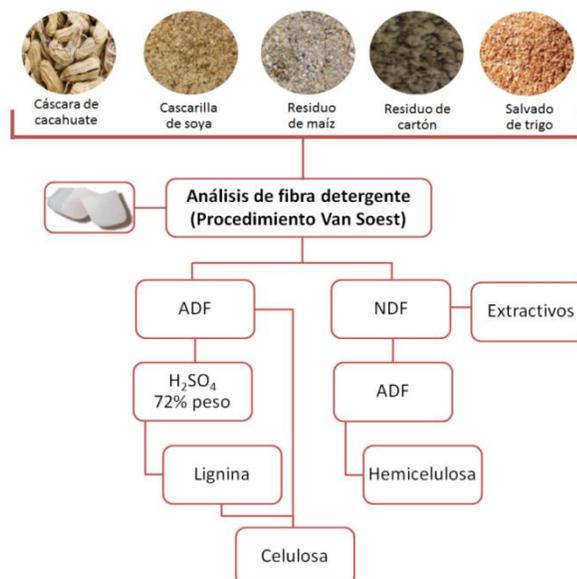


Figura 4. 1 Cuantificación de los componentes principales de las biomásas.

4.2.1 Análisis de fibra detergente (Procedimiento Van Soest)

Cada biomasa se colocó en una bolsa de nylon filtro (F52) y para el análisis de fibra se utilizó el equipo ANKOM 2000.

Para la determinación de lignina se realizó la determinación de fibra ácida (ADF) y después, las muestras se agitaron con H_2SO_4 72% en peso y lavaron con abundante agua y para luego enjuagarse con $CH_3(CO)CH_3$. Este procedimiento también es llamado determinación ácida de lignina (ADL) [199].

Se determinó la cantidad de hemicelulosa utilizando el procedimiento de determinación de fibra neutra (NDF) y el procedimiento de determinación de fibra ácida (ADF) a la misma muestra. El valor fue obtenido por la diferencia entre NDF y ADF.

La cantidad de celulosa se calculó mediante la sustracción de la cantidad de lignina obtenida y el porcentaje de ADF obtenido en la determinación de hemicelulosa.

4.3 Pre-tratamiento químico para la extracción de celulosa

La extracción de celulosa presente en la biomasa se ve obstaculizada por factores estructurales [88]. La celulosa y hemicelulosa se encuentra densamente empaquetada por la lignina, que tiene varias funciones incluyendo protección [202]. El pre-tratamiento tiene como objetivo hacer más accesible la celulosa alterando la estructura de la biomasa [83] como se muestra en la figura 4.2.

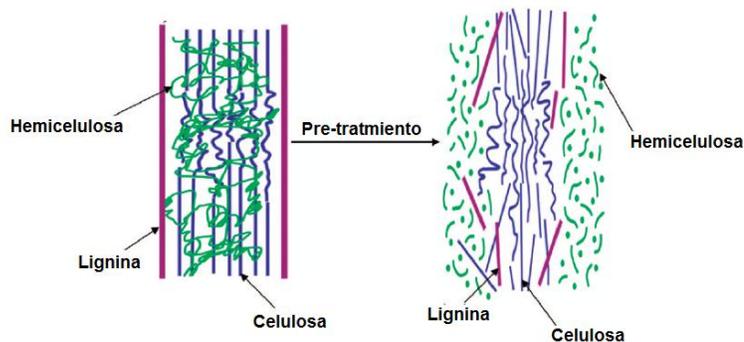


Figura 4.2 Esquema del efecto del pre-tratamiento en la biomasa [88].

En 2008, Taherzadeh y Karimi [87] mencionan que el pre-tratamiento químico en la biomasa utiliza sustancias para liberar la celulosa y remover y/o modificar la hemicelulosa y lignina. En 2010, Siqueira *et al.* [53] indicaron que la biomasa se debe sumergir en una solución alcalina para luego blanquearla; estos pasos permiten la eliminación de lignina y hemicelulosa, dejando la celulosa intacta.

Generalmente, el utilizar las soluciones alcalinas es más efectivo en residuos agroindustriales ya que remueven la lignina y varias sustituciones de ácido úrico en la hemicelulosa, lo que hace más accesible a la celulosa [203]. El efecto principal de utilizar una solución de hidróxido de sodio es la delignificación, ya que el NaOH diluido causa hinchamiento en la biomasa lo que hace que se incremente el área superficial interna separando los enlaces estructurales entre la lignina y los carbohidratos, perturbando la estructura de la lignina [22]. El blanqueo remueve la lignina restante [90] y se lleva a cabo con agentes oxidantes, siendo el más común una solución de NaClO [36].

4.3.1 Procedimiento de extracción de celulosa

Cada residuo agroindustrial se llevó a un tamaño de malla número 40 para disminuir la variabilidad del tamaño.

Posteriormente, la biomasa se sumergió en una solución de hidróxido de sodio de 2 % en peso por 4 horas a 105 C bajo agitación mecánica constante [51]. Después, el material se filtró y el residuo sólido se lavó para remover la alcalinidad. Se suspendió el filtrado cuando se obtuvo un filtrado incoloro.

El residuo del filtrado se blanqueó con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % en peso por 3 horas a 30 C con agitación constante [75]. A continuación se filtró la suspensión y luego se lavó con agua desmineralizada hasta obtener en el filtrado un pH \approx 7.

En la figura 4.3 se puede observar la metodología utilizada para extraer la celulosa de las biomásas.



Figura 4.3 Metodología para la extracción de celulosa.

El residuo sólido obtenido después del blanqueo se secó a 70 C por 12 horas, y se le calculó el contenido de celulosa mediante el análisis de fibra detergente del método Van Soest, además de diversas técnicas de caracterización como análisis elemental, FT-IR, DRX, TGA/DTA, SEM.

4.4 Producción de nanopartículas de celulosa

El proceso para obtener nanopartículas de celulosa consiste en desintegrar las fibras de celulosa a lo largo de su eje longitudinal [34] mediante procesos mecánicos [68], biológicos [54], químicos [40, 124] y combinados [95, 144].

Según Moon *et al.*, (2011) [102] la producción de nanopartículas de celulosa a partir de biomasa ocurre en dos etapas, la primera es el pre-tratamiento en donde ocurre la remoción de materiales no celulósicos y el aislamiento de fibras individuales de celulosa, y la segunda etapa involucra la separación de las fibras de celulosa produciéndose las nanopartículas.

En el 2011, Spence *et al.* [34] mencionan que la transformación de fibras de celulosa a nanopartículas de celulosa consiste en la interrupción de las regiones amorfas que rodean las fibras y que están en las fibras dejando segmentos cristalinos intactos. Se ha demostrado en varios estudios que la irradiación de microondas puede cambiar la estructura de la celulosa presente en la biomasa [82], es decir, desintegra las fibras de celulosa hasta escala nanométrica [58].

En este trabajo se realizó un método asistido por microondas para obtener las nanopartículas de celulosa a partir de biomasa debido a que el utilizar microondas

puede intensificar la transferencia de calor y mejorar la actividad de reacción del material [141].

4.4.1 Procedimiento asistido por microondas para la obtención de nanopartículas de celulosa

Cada biomasa ya pre-tratada con un tamaño de malla número 40 se coloca en el vial para microondas con el solvente a razón 1:50, y se coloca en el microondas Monowave 300 marca Anton-Para, como se muestra en la figura 4.4.

En el equipo de microondas se trabaja con un rango de temperatura 140 – 160 C, de tiempo de 10 – 15 min y a potencia de 10 – 50 W, manteniendo constante la agitación a 600 rpm y la presión menor a 30 bar.



Figura 4.4 Metodología de irradiación de microondas con el equipo Monowave 300 marca Anton-paar.

Lo resultante se centrifuga a 3000 rpm por 10 min en la centrifuga modelo Centra-CL2 marca Thermoelectron Corp y se aplica ultrasonido por 5 min en el baño de ultrasonido marca Branson modelo 2510.

Todas las muestras se dejaron secar a 105 C para evaporar el solvente y se caracterizaron por SEM y TEM.

4.5 Caracterización

4.5.1 Análisis elemental

La composición elemental de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre en las biomásas con y sin pre-tratamiento se llevó a cabo en el equipo de análisis elemental Perkin Elmer 2400 con una temperatura de combustión de 974 C, temperatura de reducción de 501 C y presión a 612.1 mmHg.

4.5.2 Espectroscopía de infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR)

En general, la espectroscopía de FTIR es una herramienta potencial para la asignación de bandas de absorción a las estructuras moleculares específicas [204].

Se sabe que esta técnica es sensible a cambios estructurales y se ha utilizado mucho en investigaciones relacionadas con la celulosa [205]. Se ha reportado el uso de FTIR por su rapidez al mostrar la estructura de la biomasa así como los cambios químicos [206].

Se realizó una espectroscopia de infrarrojo con transformadas de Fourier a las muestras para identificar los cambios estructurales en las biomásas después del pre-tratamiento. El equipo utilizado es Perkin Elmer Spectrum One con un rango de número de onda de 4000 a 650 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y 10 scans por cada muestra.

4.5.3 Difracción de rayos X (DRX)

Actualmente, los estudios de difracción de rayos X en la biomasa se enfocan en la cristalinidad de la muestra [207]. La cristalinidad se define como la fracción de partes cristalinas; en otros términos, también describe la estructura ordenada de la celulosa [208].

Diferentes métodos para analizar patrones de DRX se han desarrollado para calcular la cristalinidad dependiendo de cómo se separa o se modela la parte cristalina y la parte amorfa [207], pero el método más usado es el Segal [209]. Este método asignó el

término índice de cristalinidad (I_{Cr}) para representar el grado de cristalinidad en la muestra.

El valor de I_{Cr} se calcula usando la ecuación (1):

$$I_{Cr} = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad (1)$$

Donde I_{002} representa la región cristalina y amorfa de la celulosa y I_{am} representa solamente la parte amorfa [51]. Se ha encontrado que la intensidad del pico I_{002} se encuentra a 22.5 grados de 2θ y I_{am} a 18° de 2θ cuando se utiliza un ánodo de cobre con radiación $K\alpha$ [207, 210].

Se le realizó una difracción de rayos X a las biomásas antes y después del pre-tratamiento con el equipo Siemens D500 con ánodo de Cu (radiación $K\alpha = 1.5418 \text{ \AA}$) con voltaje de 40KV e intensidad de 30mA; las condiciones de trabajo del estudio fueron 2θ entre 5° y 90° con una abertura de paso de 0.05°.

El índice de cristalinidad de las muestras se calculó mediante el método Segal [209] con un error estándar de 6.5% cuando se utiliza un ánodo de cobre con radiación $K\alpha$ [207] y se comparó con el valor obtenido por procedimiento de Rietvel [211]; y el tamaño de cristal se calculó con la ecuación de Scherrer Cullity (1978) [212].

4.5.4 Análisis termogravimétrico (TG/DTA)

La estabilidad térmica de un material depende de las características inherentes de las muestras así como las interacciones moleculares entre las diferentes macromoléculas; la ruptura de un enlace de las macromoléculas se lleva a cabo cuando la energía térmica suministrada supera la energía de disociación de enlace de los enlaces químicos respectivos [213].

Según Morán *et al.*, (2008) [61] la celulosa, la hemicelulosa y la lignina poseen temperaturas de descomposición diferentes, conforme a sus diferentes estructuras químicas.

La degradación térmica, principalmente de la celulosa, es compleja y puede involucrar muchas reacciones, es muy difícil el obtener los parámetros cinéticos precisos; sin

embargo, el análisis termogravimétrico se ha utilizado como una evaluación rápida de la estabilidad térmica [214]. El conocer la estabilidad térmica es muy importante para la posible aplicación de las fibras como reforzador de biocompósitos porque la temperatura de proceso de muchos termoplásticos excede los 200 C [60].

Se realizó un análisis termogravimétrico de las muestras en polvo obtenidas antes y de después del pre-tratamiento en un rango de temperatura de 25 a 1000 C en ambiente inerte. El equipo utilizado es TA Instruments modelo 2960 con las siguientes condiciones: muestra de 1.5 – 9.5 mg, una rampa de calentamiento de 10 C/min y un flujo de nitrógeno de 100 ml/min. A modo de referencia, se utilizó celulosa sintética (Sigmacell cellulose type 101).

4.5.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Esta técnica permite conocer la información sobre la homogeneidad, dispersión y orientación de las nanopartículas de celulosa en la muestra, además de la presencia de agregados y conglomerados [115].

Esta técnica ha sido muy utilizada para determinar la estructura de diversas nanopartículas de celulosa provenientes de biomasa, así como la biomasa misma [36, 51, 215, 216].

En este trabajo se utilizó un microscopio SEM con cañón de emisión de campo (FE-SEM) de Cátodo Frío, modelo JEOL-6701F para observar el tipo de estructura antes y después del pre-tratamiento, así como después de la irradiación por microondas.

Para las muestras antes y después del pre-tratamiento, las muestras fueron sólidas y se llevaron a 250 aumentos con un voltaje máximo de 5 kV, además, se realizó un análisis de energía dispersiva de rayos X (EDS) para realizar un análisis elemental en las muestras.

Las muestras se diluyeron en etanol 99.99 %, se le aplicó ultrasonido por 5 min y se tomaron dos gotas de muestra para colocar en una rejilla de cobre para TEM. Las muestras se llevaron a analizar utilizando un voltaje máximo de 20 kV y 4000 aumentos.

CAPÍTULO 5

Resultados

Se midió el contenido de celulosa en las muestras de biomásas proporcionadas por la industria, seleccionando las que presentaran el contenido más alto de celulosa. A las biomásas escogidas se les extrajo la celulosa mediante un pre-tratamiento químico y consecuentemente se realizó un método asistido por microondas para obtener nanopartículas de celulosa y se caracterizaron las muestras obtenidas.

5.1 Contenido de celulosa

La composición química de las biomásas se determinó usando el análisis de fibra detergente (procedimiento Van Soest) [199]. Realizando cálculos entre la NDF y ADF se obtuvo que el porcentaje de celulosa y hemicelulosa en la muestra, mientras que el porcentaje de lignina se calculó por método ADL. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.1.

Tabla 5.1 Composición química de las biomásas.

Muestra	% NDF	% ADF	Porcentaje (%)			
			Lignina	Hemicelulosa	Celulosa	Extractivos
Cáscara de cacahuete	76.81	71.74	38.93	5.07	32.80	23.19
Cascarilla de soya	68.25	54.49	4.97	13.76	49.52	31.75
Residuo de cartón	70.34	67.89	23.36	2.46	44.52	29.66
Residuo de maíz	23.09	14.00	1.31	9.09	12.68	76.91
Salvado de trigo	27.05	14.21	2.20	12.84	12.01	72.95

Resultados calculados en base seca.

Según Van Soest (1988) [217], ADF contiene la matriz lignocelulósica digerible

(celulosa y lignina) mientras que NDF contiene la no digerible (hemicelulosa unida con la lignina), y este método es utilizado en la estimación de digestibilidad de alimentos en animales.

Se puede atribuir la diferencia de los componentes estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina) a las especies de las muestras y el tiempo en el que fueron cosechadas, lo que está vinculado con la ubicación geográfica [218]; esto es observado en el contenido de hemicelulosa en la cascarilla de soya y el salvado de trigo, ya que ambas biomásas son cosechadas en verano.

El desarrollo evolutivo de las muestras afectan la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina; y esto se nota en el alto contenido de lignina en la cáscara de cacahuate a la que le confiere una estructura más rígida que las muestras que conocemos como suaves (cascarilla de soya, residuo de maíz y salvado de trigo).

La composición de la biomasa puede variar debido a su fuente y métodos de obtención [219]. La cascarilla de soya y el residuo de cartón presentan la mayor cantidad de celulosa. El residuo de cartón proviene de los lavados que se le dan al cartón para limpiarlo, lo que explica su alto contenido de celulosa [220]. La cascarilla de soya se obtiene del proceso de extracción del aceite de soya [51] y se ha reportado que este residuo presenta un alto contenido de celulosa.

Se observa que los residuos agroindustriales contienen un alto contenido de extractivos como proteínas y cenizas; el residuo de maíz presenta un mayor contenido de extractivos y se atribuye al metabolismo vinculado a la fotosíntesis.

Se puede observar en la tabla 5.2 una comparación del porcentaje de celulosa obtenido para cada biomasa con los reportados por diversos autores usando el mismo procedimiento Van Soest; además se incluyen los resultados obtenidos por otros métodos realizados: método de purificación propuesto por Filho [221] y ASTM D588-42 (1995).

Tabla 5.2 Comparación del porcentaje de celulosa a las biomásas por diferentes métodos.

Muestra	Porcentaje de celulosa (%)				Referencia
	Experimental*	Van Soest	Filho	ASTM D588-42	
Cáscara de cacahuate	32.80	34.6	43.16	NA	[222]
Cascarilla de soya	49.52	53	42.39	NA	[223]

Residuo de cartón	44.52	NA	52.82	53.08	-
Residuo de maíz	12.68	37.1	NA	NA	[224]
Salvado de trigo	12.01	8.81	NA	10.85	[223]

NA: No aplica.

* Resultados calculados en base seca por procedimiento Van Soest.

Se observaron diferencias en el porcentaje de celulosa calculado por los diferentes métodos pero esto es debido a la naturaleza de los mismos, como se mencionó anteriormente. El procedimiento Van Soest es el más empleado para el tipo de biomasa utilizada en este trabajo, mientras ASTM D588-42 es utilizada para calcular un tipo de celulosa (α -celulosa) en el papel mientras el método Filho es un método utilizado mayormente para purificar el bagazo de caña de azúcar [225].

De las biomásas estudiadas, la cascarilla de soya contiene el porcentaje más alto de celulosa (49.52%) seguido por el residuo de cartón (44.52%) y la cáscara de cacahuate (32.80%). El porcentaje de celulosa en el salvado de trigo (12.68%) y el residuo de maíz (12.01%) es más bajo.

Las diferencias observadas entre los valores obtenidos por el procedimiento Van Soest y lo reportado en referencias son atribuidas al equipo y método utilizado, así como la ubicación geográfica de la biomasa como lo menciona Godin *et al.*, (2013) [218] y el proceso generó el residuo. Sin embargo, se observa que las biomásas se encuentran en el rango encontrado en las referencias, exceptuando el residuo de maíz que presenta una diferencia de 24.42 unidades la cual se adjudica al tipo de muestra obtenida.

5.2 Extracción de celulosa

La cascarilla de soya, el residuo de cartón y la cáscara de cacahuate presentaron la mayor cantidad de celulosa, es por eso que se les aplicó un pre-tratamiento químico con el objetivo de liberar a la celulosa [226].

En la figura 5.1 se observan los cambios físicos en la biomasa después del pre-tratamiento químico; en cuanto a los cambios químicos, se muestran en el análisis elemental, FT-IR, TG/DTA y DRX.

El cambio en la coloración en la biomasa indica que gran parte de los componentes no celulósicos se removieron [51] y por consiguiente las biomásas pre-tratadas tienen un mayor contenido de celulosa disponible, mostrado en la tabla 5.3.



Figura 5.1 Biomásas antes y después del pre-tratamiento químico.

Tabla 5.3 Contenido de celulosa de biomásas y rendimiento del pre-tratamiento químico.

Muestra	Porcentaje de celulosa (%)		Rendimiento del pre-tratamiento (%)
	Antes del pre-tratamiento	Después del pre-tratamiento	
Cascajilla de soya	49.52	77.02	80.13
Residuo de cartón	44.52	61.44	52.41
Cáscara de cacahuete	32.80	65.49	71.88

Resultados calculados en base seca por el procedimiento Van Soest.

Después del pre-tratamiento químico, el contenido de celulosa en todas las biomásas aumentó; para la cascajilla de soya fue de 49.52% a 77.02%, el residuo de cartón de 44.52% a 61.44% y para la cáscara de cacahuete de 32.80% a 65.49%.

Este aumento es esperado ya que cuando la biomasa se trata con una solución alcalina, el área interna superficial del material se incrementa por hinchamiento y esto causa una disminución en el grado de polimerización y una separación en los enlaces estructurales de hemicelulosa y la lignina [69]. El blanqueo remueve la lignina restante del tratamiento alcalino dejando más accesibles la celulosa [90]. Este cambio en la composición química antes y después del tratamiento químico resulta en un mejor

grado de cristalinidad de la celulosa que lleva a mejores propiedades térmicas y mayor resistencia de las nanopartículas de celulosa que se podrían extraer [50].

El rendimiento del pre-tratamiento químico más bajo lo presentó el residuo de cartón y se atribuye la naturaleza del residuo.

5.2.1 Análisis elemental en las biomásas

En la tabla 5.4 se muestra el análisis para conocer la composición elemental de las biomásas antes y después del pre-tratamiento de las muestras; observándose en el porcentaje de carbono un aumento de 3.56 unidades para la cascarilla de soya y una disminución de 5.69 y 7.51 unidades en el residuo de cartón y la cáscara de cacahuete, respectivamente. Esta pérdida se atribuye a la remoción de hemicelulosa y lignina presentes en las biomásas.

Tabla 5.4 Análisis elemental de biomásas.

Muestra	Pre-tratamiento químico	% C	% H	% N	% S
Cascarilla de soya	Antes	39.87	5.30	1.67	0.50
	Después	41.83	6.20	0.00	0.54
Residuo de cartón	Antes	38.90	6.89	0.77	0.89
	Después	33.21	5.49	0.12	0.49
Cáscara de cacahuete	Antes	47.77	7.86	0.76	0.70
	Después	40.26	7.20	0.00	0.55

Equipo Perkin Elmer 2400.

5.2.2 Espectroscopía de infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR)

La espectroscopía de FT-IR un método no destructivo que estudia las propiedades físico-químicas de los materiales [50]. Los espectros ayudan a identificar los cambios estructurales en las biomásas debido al pre-tratamiento químico.

Las figuras 5.2, 5.3 y 5.4 muestran los espectros de la cascarilla de soya, residuo de cartón y cáscara de cacahuete, respectivamente, antes y después del pre-tratamiento químico comparándolas con un blanco de celulosa cristalina tipo 101 proveniente de Sigma ®; y en la tabla 5.5 se muestran las frecuencias características de la celulosa

propuestas por Carrillo *et al.*, (2004) que están presentes en los espectros de las biomasas.

Tabla 5.5 Frecuencias características de la celulosa [227].

Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación	Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación
3488	Estiramiento intramolecular de O-H	1420	Flexión simétrica de CH ₂
3447	Estiramiento intramolecular de O-H	1375	Flexión de C-H
3405	Estiramiento intramolecular de O-H	1335	Flexión en el plano por O-H
3350	Estiramiento intramolecular de O-H	1315	Ondeo de CH ₂
3175	Estiramiento intramolecular de O-H	1278	Flexión de C-H
2970	Estiramiento de C-H	1200	Flexión en el plano por O-H
2945	Estiramiento de C-H	1155	Estiramiento asimétrico en C-O-C
2900	Estiramiento de C-H	1111	Estiramiento asimétrico en el anillo
2853	Estiramiento asimétrico de CH ₂	1055	Estiramiento C-O
1635	-OH del agua absorbida	1035	Estiramiento C-O
1455	Flexión en el plano por O-H	890	Estiramiento C-H

Para todos los espectros de FT-IR, las bandas de absorción dominantes en la región entre 3400 a 3300 cm⁻¹ son por vibraciones de estiramiento O-H, las bandas de absorción en 2950 y 2800 cm⁻¹ son por las vibraciones simétricas y asimétricas de C-H y las bandas de absorción en 1750 a 1600 cm⁻¹ se asignan a C=O en los carbonilos o grupos éster, o C=C presentes en las regiones aromáticas de la hemicelulosa y/o lignina [228, 229]. La banda de absorción en aproximadamente 1500 cm⁻¹ se asigna a agua absorbida en la muestra, pero se cree que también se traslapa con el estiramiento del anillo aromático C=C de la lignina [70], ya que no se observa en las muestras pre-tratadas químicamente.

Las bandas de absorción en 1100 a 850 cm⁻¹ se asocian a vibraciones de estiramiento de C-O y vibraciones de balanceo (rocking) de C-H presentes en la celulosa [230]. Se observa también bandas de absorción características de la celulosa: en 1170 a 1080 cm⁻¹ se localiza el anillo piranosa [231] y aproximadamente en 900 cm⁻¹ se localiza la banda de absorción de vibración de estiramiento del anillo C-H fuera del plano [232].

El espectro de FT-IR antes y después del tratamiento químico de la cascarilla de soya se ilustra en la figura 5.2. La banda de absorción en 1642 cm⁻¹ presente antes del tratamiento es ancha debido al alto contenido de nitrógeno unido al carbono en la muestra y se empalma con las bandas de C=C [228].

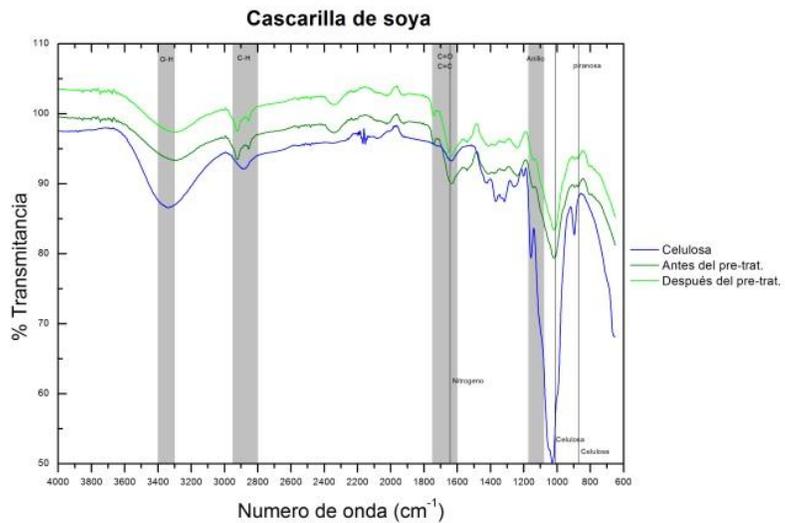


Figura 5.2 FT-IR de la cascarilla de soya antes y después del pre-tratamiento químico.

En la figura 5.3 se muestra el espectro de FT-IR del residuo de cartón, se observa una banda de absorción en 3350 cm^{-1} posiblemente a que hay agua remanente en la muestra [228] ; también presenta en 1026 y 872 cm^{-1} las bandas de absorción características de anillo de piranosa [229] y estiramiento del C-H de la celulosa [232], respectivamente.

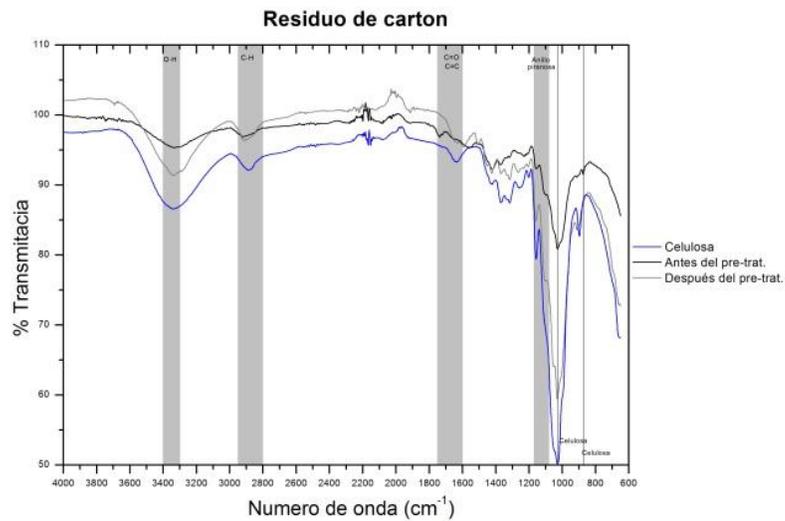


Figura 5.3 FT-IR del residuo de cartón antes y después del pre-tratamiento químico.

El espectro de FT-IR de figura 5.4, la banda de absorción en 1745 cm^{-1} en la cáscara de cacahuate sin tratamiento se atribuye a las vibraciones de estiramiento un grupo carboxílico en la lignina [16]; esta banda no está presente después de que la biomasa se trata químicamente. Según Yang *et al.* (2007) [231] reportaron las bandas en 2950 y 2845 cm^{-1} son vibración simétricas y asimétricas C-H e indican la presencia de hemicelulosa, y la ausencia de estas bandas es debido al efecto del pre-tratamiento químico. Además se observa la presencia de las bandas de absorción características de la celulosa en 1024 y 897 cm^{-1} .

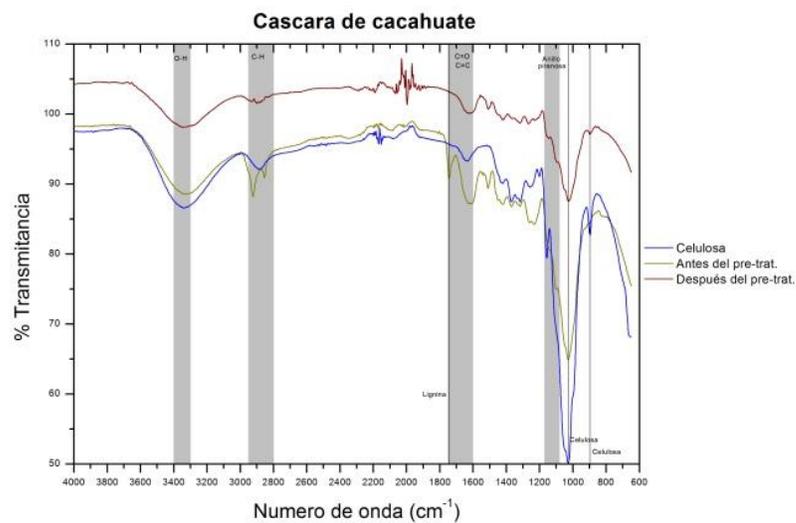


Figura 5.4 FT-IR de la cáscara de cacahuate antes y después del pre-tratamiento químico.

La disminución de intensidad de las bandas de absorción indicadas para la hemicelulosa y lignina demuestran que el pre-tratamiento químico removió dichas sustancias poliméricas dejando la celulosa accesible.

5.2.3 Difracción de rayos X (DRX)

La celulosa muestra una naturaleza cristalina mientras que la lignina es amorfa; como resultado, la cristalinidad de las muestras debe mejorar después de remover la lignina [233]. Siguiendo esto, se realizó la difracción de rayos X de las muestras para observar los cambios en la estructura cristalina después del pre-tratamiento químico.

En la figura 5.5 se muestran los perfiles de DRX de las muestras antes y después del pre-tratamiento químico.

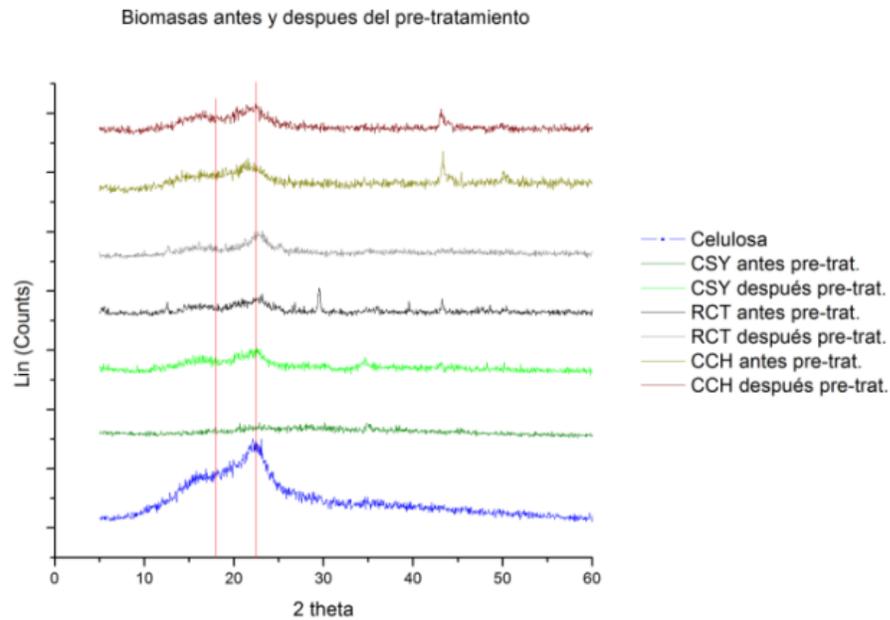


Figura 5.5 DRX de biomasas antes y después del pre-tratamiento químico.

Se aprecia que los difractogramas de las biomasas pre-tratadas son similares al de la celulosa sintética, viendo el cambio más evidente en la cascarilla de soya (CSY), siguiéndole la cáscara de cacahuete (CCH); mientras que el residuo de cartón (RCT) solo incrementó su intensidad en los picos característicos de la celulosa. Se observa también que después del pre-tratamiento químico, las biomasas presentan el pico de difracción a 22° (2θ) típico de la estructura de la celulosa [234], que corresponde al plano cristalográfico (004) de la celulosa [133]. Este pico de difracción indica que la estructura cristalina de las muestras pre-tratadas químicamente se ha mantenido intacta, y se puede comparar con el pico de difracción de la celulosa microcristalina que reporta Kos *et al.*, 2014 [133], así como el obtenido con la celulosa sintética.

La cristalinidad de la celulosa es un factor determinante en las propiedades mecánicas y térmicas en las nanopartículas [138], normalmente se relaciona con resistencia y dureza de las fibras [235]. El método de Segal es utilizado para obtener el índice de cristalinidad de las muestras [209], se muestran los resultados en la tabla 5.6; en este

método se especifica que la máxima intensidad cristalina es en 22.5° y la intensidad amorfa es a 18° de ángulo 2θ [207].

Tabla 5.6 Índice de cristalinidad (ICr) antes y después del pre-tratamiento químico.

Biomasa	Pre-tratamiento químico	$I_{002} = 22.5^\circ$	$I_{am} = 18^\circ$	ICr
Cascarilla de soya	Antes	43	28	34.88
	Después	237	66	72.15
Residuo de cartón	Antes	70	39	44.29
	Después	83	20	75.90
Cáscara de cacahuete	Antes	124	100	19.35
	Después	202	116	42.57

Se observó que la cristalinidad aumenta significativamente cuando las biomásas fueron pre-tratadas químicamente y esto se atribuye a un mejor empaquetamiento de las cadenas de celulosa [236] como resultado de la remoción eficiente de hemicelulosa y liginina.

5.2.4 Análisis termogravimétrico (TG/DTA)

Los resultados de TGA de las biomásas antes y después del tratamiento químico se compararon con el TGA de celulosa sintética, como se muestran en la figura 5.6 y 5.7, respectivamente.

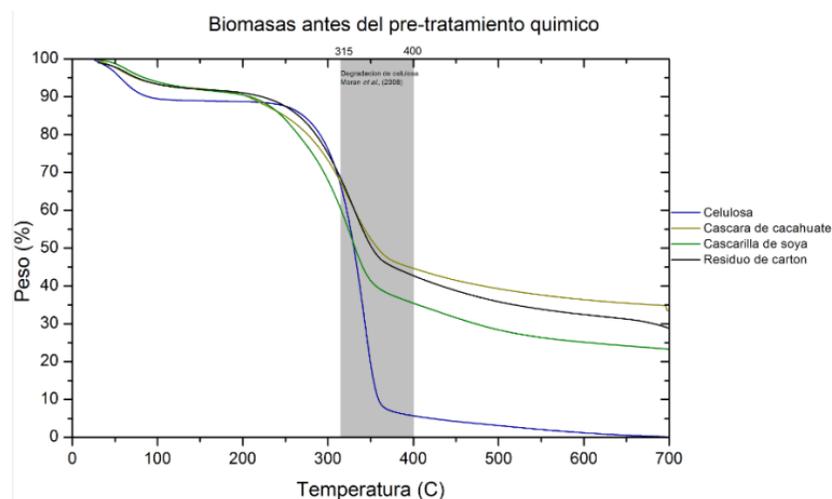


Figura 5.6 TGA de las biomásas antes del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.

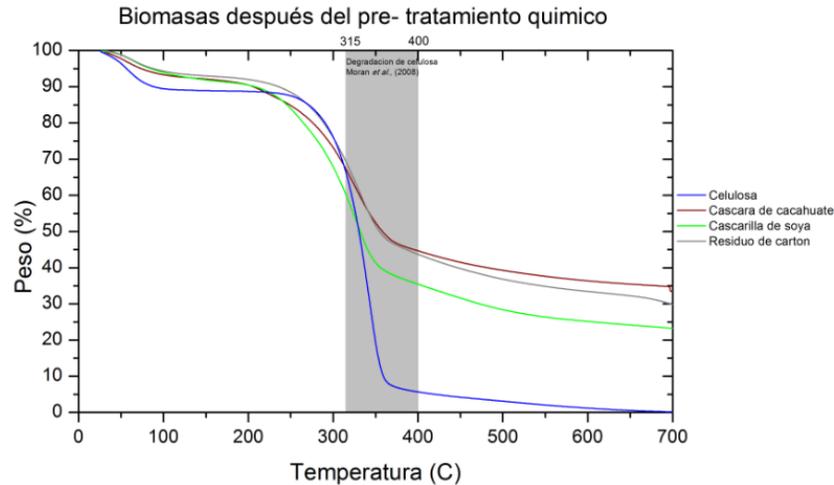


Figura 5.7 TGA de las biomosas después del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.

Todas las curvas de TGA muestran pérdida de peso entre 30 y 150 C, que es debido a la evaporación de agua y la pérdida de algunos compuestos de bajo peso molecular en las muestras [60]. La etapa de degradación observada en las curvas de TGA en el rango 200 – 700 C corresponde básicamente al proceso de degradación como despolimerización, deshidratación y descomposición de unidades glicosídicas, debido a la baja temperatura de descomposición de la celulosa, hemicelulosa, y lignina [218].

La descomposición de la celulosa normalmente se empieza a 232 C, y el mayor peso perdido se observa alrededor de 327 C [138], y a 400 C casi se ha degradado completamente [62]; para la celulosa sintética, la degradación inició a 220 C y a 340 C se perdió la mayor cantidad de peso.

Las biomosas muestran tendencias similares de descomposición: (1) evaporación del agua en las biomosas, (2) volatilización de componentes químicos de alta reactividad (celulosa, hemicelulosa y parcialmente lignina) acompañados por oxidación volátil, (3) volatilización del resto de la lignina y otros extractivos acompañados por la oxidación de material volátil y cenizas [20]. El residuo remanente después del calentamiento a 550 C indica la presencia de materiales carbonaceos en la atmósfera nitrogenada [50].

Debido a que los componentes estructurales de las biomosas presentan temperaturas de descomposición diferentes conforme a sus diferentes estructuras químicas, es posible calcular el porcentaje de celulosa. Utilizando el rango de degradación de celulosa propuesto por Morán *et al.* (2008) [61] que abarca de 315 a 400 C, se calculó

la cantidad de celulosa en las biomasas, mostrado en la tabla 5.7. Se observa una diferencia entre estos valores y los obtenidos por el procedimiento Van Soest, y esta radica en la naturaleza del método.

Tabla 5.7 Porcentaje de celulosa en las biomasa obtenido por TGA.

Biomasa	Pre-tratamiento químico	Porcentaje de celulosa (%)
Cascarilla de soya	Antes	28.60
	Después	49.77
Residuo de cartón	Antes	27.30
	Después	32.33
Cáscara de cacahuete	Antes	27.84
	Después	31.57

Resultados calculados en base seca.

Las curvas de DTGA mostradas en las figuras 5.8 y 5.9 para las biomasas antes y después del pre-tratamiento comparadas con celulosa sintética permiten identificar las temperaturas a las cuales tienen lugar las mayores velocidades de pérdida de masa. Se aprecia que durante la descomposición de la biomasa antes del pre-tratamiento químico aparecen dos picos: el primero entre 205 – 215 C y se atribuye a la hemicelulosa debido a que este biopolímero es ramificado, sin orden y está formado por varios sacáridos; y el segundo entre 305 – 330 C se atribuye a descomposición de celulosa que no posee ramificaciones y el biopolímero ordenado.

Después del pre-tratamiento el pico asignado a la hemicelulosa desaparece, ya que la cantidad de materiales no celulósicos fueron removidos por el pre-tratamiento químico. También es notable que la descomposición de la celulosa es a menor temperatura de la que propone Morán *et al.*, (2008) [61] pero esta diferencia podría deberse a la hemicelulosa o lignina presente en los residuos, así como el ordenamiento en el que se encuentra la celulosa.

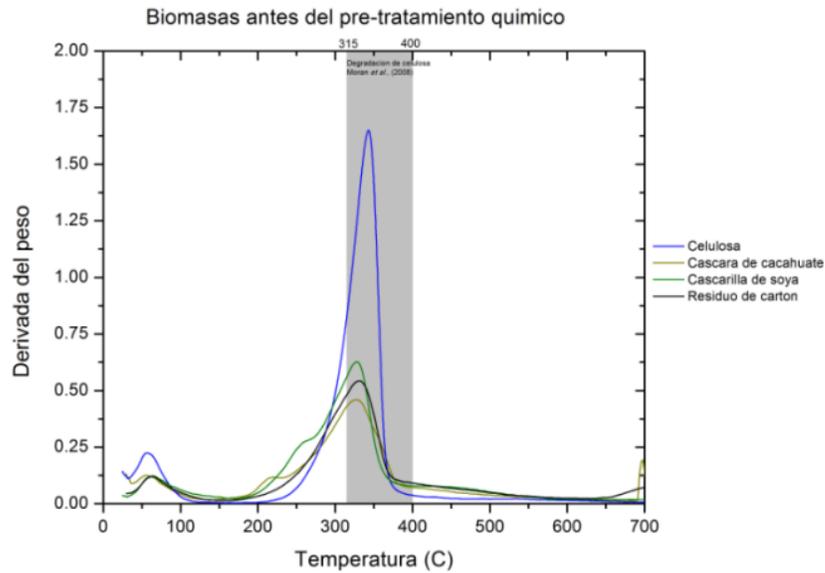


Figura 5.8 DTGA de las biomosas antes del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.

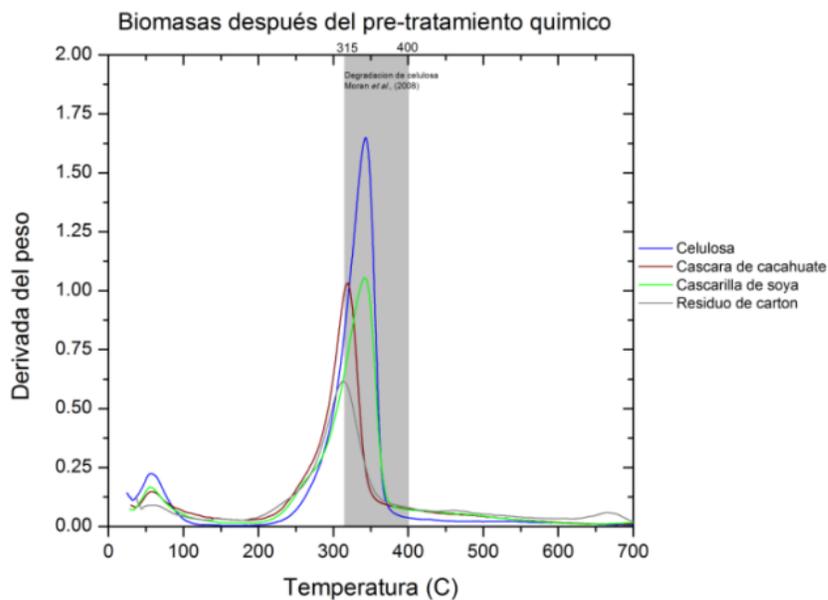


Figura 5.9 DTGA de las biomosas después del pre-tratamiento químico comparadas con la celulosa.

La mayor temperatura de degradación en las biomosas pre-tratadas químicamente indica que este tipo de biomasa tiene mayor estabilidad térmica comparadas las biomosas sin pre-tratamiento químico; esto es debido a la proporción substancial de pectinas, hemicelulosa y lignina presentes en la biomasa antes del pre-tratamiento presentan estabilidad térmica menor que la celulosa [229]. Una temperatura alta de

degradación térmica puede expandir su aplicación como material biocompatible en aplicaciones de alta temperatura (> 200 C) [60].

En el caso de la cascarilla de soja, figura 5.10, se observa que la temperatura de degradación aumentó después de que se le aplicó el pre-tratamiento químico y que inicia la degradación de la celulosa, hemicelulosa y lignina a 210 C antes, y a 255 C después del pre-tratamiento químico.

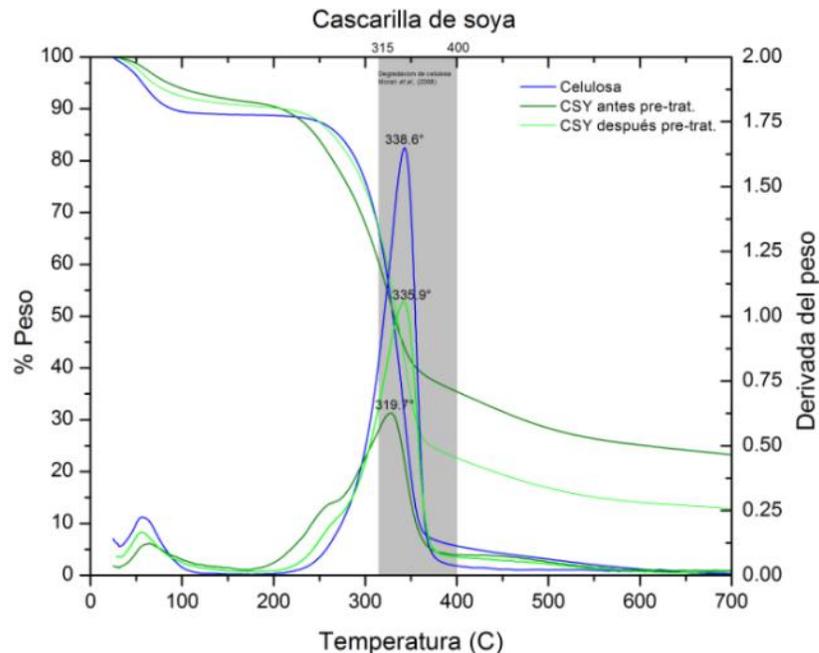


Figura 5.10 TG/DTA de la cascarilla de soja antes y después del pre-tratamiento químico.

El residuo de cartón, mostrado en la figura 5.11, se empieza a degradar aproximadamente a 225 C antes y después de que se le aplicó el pre-tratamiento químico. Debido a la naturaleza del residuo no se observa un cambio significativo en la degradación de la celulosa; sin embargo, la temperatura de degradación disminuye 15 C después del pre-tratamiento químico y se atribuye a que después del pre-tratamiento la muestra se lavó y filtró para remover algunos componentes presentes en el residuo de cartón que no se fueron con el pre-tratamiento químico por la naturaleza del mismo pre-tratamiento.

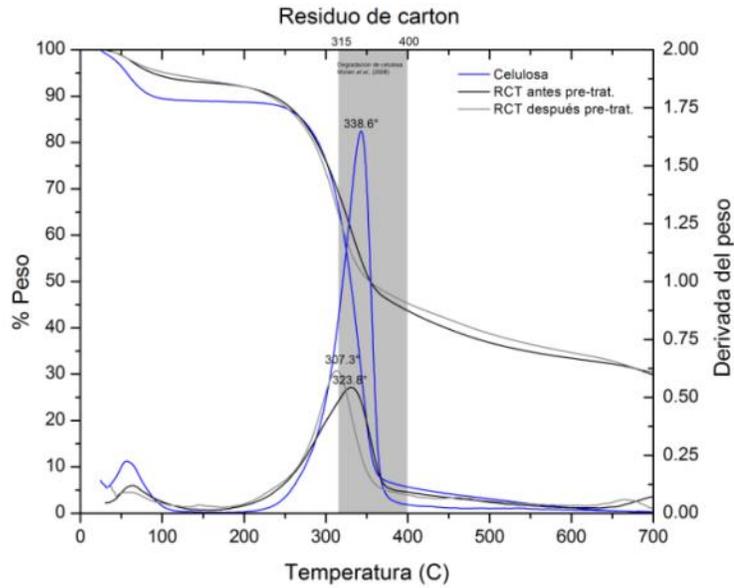


Figura 5.11 TG/DTA del residuo de cartón antes y después del pre-tratamiento químico.

En la figura 5.12 se muestra que antes del pre-tratamiento químico la cáscara de cacahuate empieza la degradación de los componentes estructurales de la biomasa a 260 C, y a 400 C corresponde a la degradación total de la celulosa y lignina. No se observó un cambio significativo en la temperatura de degradación de la muestra pre-tratada químicamente pero se puede atribuir a la atmósfera usada [237].

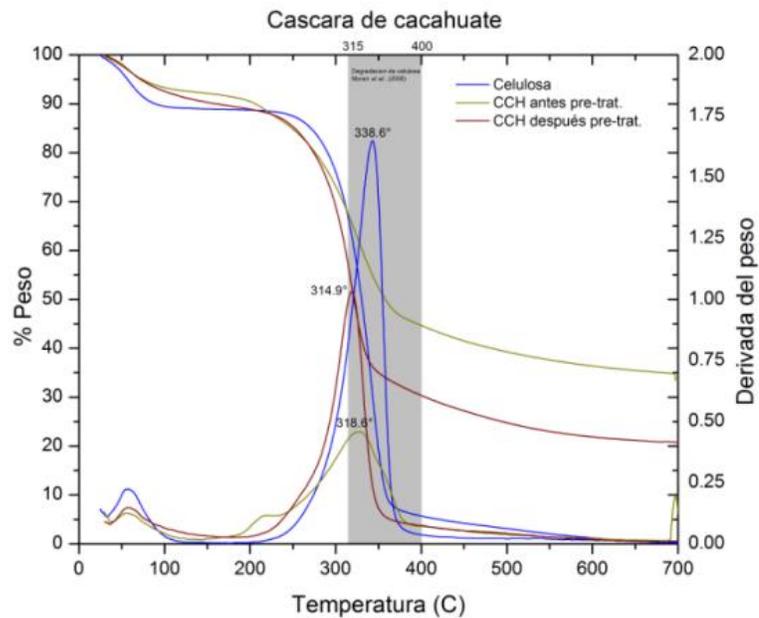


Figura 5.12 TG/DTA de la cáscara de cacahuate antes y después del pre-tratamiento químico.

5.2.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

5.2.5.1 Pre-tratamiento químico

Las micrografías tomadas por SEM se realizaron para investigar el cambio estructural de las biomasas por efecto del pre-tratamiento químico.

Las diferencias en términos de tamaño, superficie y aglomeración son debidas al tipo de biomasa estudiada.

En la figura 5.13 se observa que a 100 μm las biomasas forman cúmulos irregulares y de grosor variable para la cascarilla de soya y la cáscara de cacahuate; sin embargo, en el residuo de cartón se puede observar fibras de 50 – 70 μm de diámetro rodeadas de cúmulos.

En la misma figura 5.13 pero a 1 μm , en la cascarilla de soya y la cáscara de cacahuate se observan que las fibras gruesas están compuestas por microfibras individuales adheridas. Para el residuo de cartón se observan partículas circulares posiblemente de componentes inorgánicos en los cúmulos que rodean las fibras. Se aprecia que las fibras se encuentran sobre una cama suave, parecida a aceites o ceras, como lo describe Mandal y Chakrabarty (2011) [161].

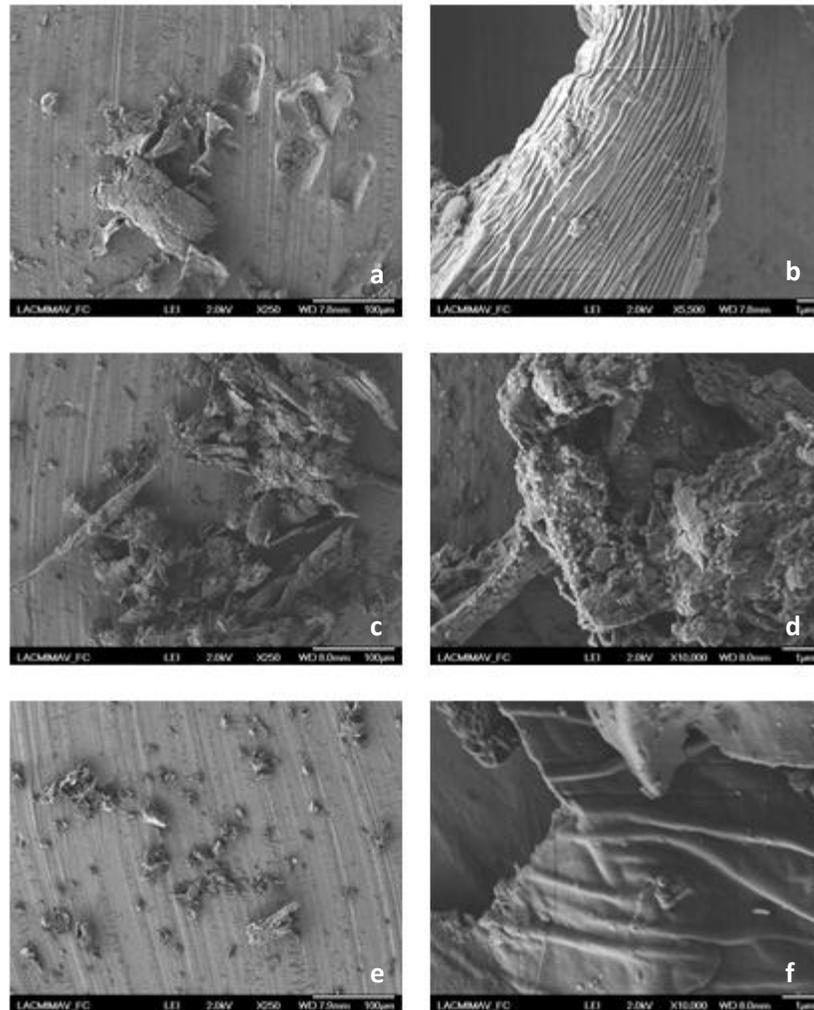


Figura 5.13 Micrografías de biomazas antes del pre-tratamiento químico. (a) Cascarilla de soja a 100 μm , (b) cascarilla de soja a 1 μm , (c) residuo de cartón a 100 μm , (d) cascarilla de soja a 1 μm , (e) cáscara de cacahuete a 100 μm , y, (f) cáscara de cacahuete a 1 μm .

FE-SEM de Cátodo Frío, Modelo JEOL-6701F. 250 aumentos.

El tratar las muestras con soluciones alcalinas hace que la hemicelulosa se hidrolice y sea soluble en agua; y después el tratarlas con hipoclorito de sodio hace que la lignina se remueva del complejo y haya una despolimerización. En la figura 5.14, se muestran las biomazas después del pre-tratamiento químico en donde se aprecia la remoción de los materiales no celulósicos dejando libre microfibras con diámetros de 20 – 70 μm , se aprecia el refinamiento de la estructura fibrosa asociada con la reducción del diámetro y el rompimiento de la estructura.

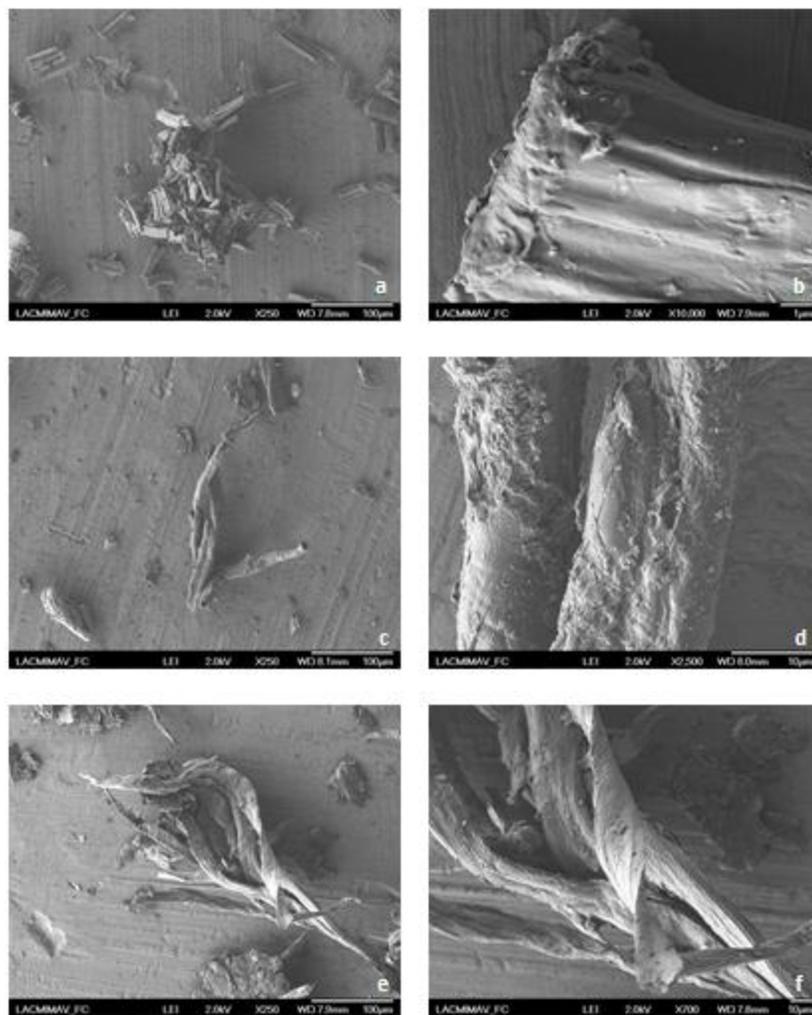


Figura 5.14 Micrografías de biomazas después del pre-tratamiento químico. (a) Cascarrilla de soja a 100 μm , (b) cascarrilla de soja a 1 μm , (c) residuo de cartón a 100 μm , (d) cascarrilla de soja a 10 μm , (e) cáscara de cacahuete a 100 μm , y, (f) cáscara de cacahuete a 10 μm .

FE-SEM de Cátodo Frío, Modelo JEOL-6701F. 250 aumentos.

Para la cascarrilla de soja (figura 5.14a) se observa que se eliminaron los conglomerados dejando libre fibras con grosor de 20 μm , y al acercarse hasta 1 μm (figura 5.14b) se aprecia que la fibra no presenta impurezas.

En la micrografía del residuo de cartón mostrada en la figura 5.14c se observan fibras aisladas a 100 μm , mientras que en la figura 5.14d se observan algunos remanentes de impurezas de la fibra a 10 μm .

En la figura 5.14e, se observan fibras de la cáscara de cacahuete con un grosor de aproximadamente 15 μm ; y al aumentar hasta 10 μm , no se aprecian impurezas en la fibra.

5.3 Producción de nanopartículas de celulosa

Se realizó la metodología propuesta para el procedimiento asistido por microondas para la obtención de nanopartículas de celulosa; y las muestras se obtuvieron como se muestra en la figura 5.15.

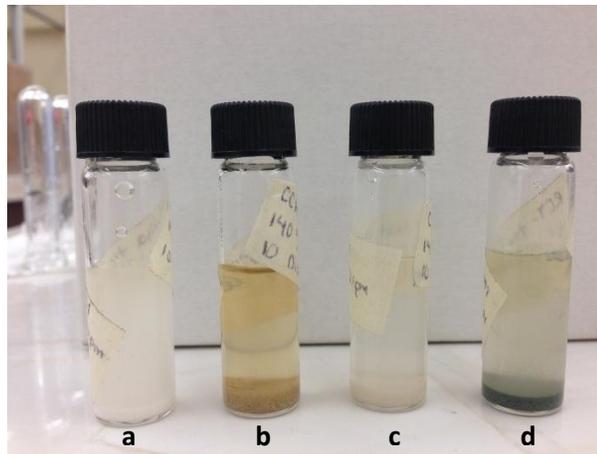


Figura 5.15 Muestras después del efectuar el procedimiento asistido por microondas (140 C, 10 min, 600 rpm, > 30 bar, 10 – 50 bar) para la obtención de nanopartículas de celulosa. (a) Celulosa, (b) cáscara de cacahuete, (c) cascarilla de soya y (d) residuo de cartón

Se puede observar que las partículas más pesadas se sedimentan y existe dispersión de partículas en el líquido, pareciendo coloides, que es característica de la presencia de partículas de tamaño nanométrico y micrométrico [238].

Se han preparado muestras para la caracterización SEM como se indica en la sección de metodología y se observó fibras con diámetros menores a 300 nm en las muestras. Estos diámetros son menores a los obtenidos por Koss *et al.*, 2014 [133], quienes realizaron hidrólisis ácida asistida por microondas a celulosa microcristalina. El diámetro promedio del blanco obtenido en este trabajo fue de 68.7 nm que está en el rango obtenido por Lu *et al.*, 2013 [138] con un método combinado de hidrólisis ácida con ultrasonido y microondas (SUMAT).

En la muestra compuesta por celulosa cristalina tipo 101 (blanco) se observaron fibras de tamaño nanométrico acumuladas con fibras de diámetro mayor, como se muestra en la figura 5.16. El diámetro promedio en las nanofibras obtenidas fue de 68.7 nm. Se aprecia en la misma figura que las fibras de diámetros mayores están a su vez compuestas por fibras.

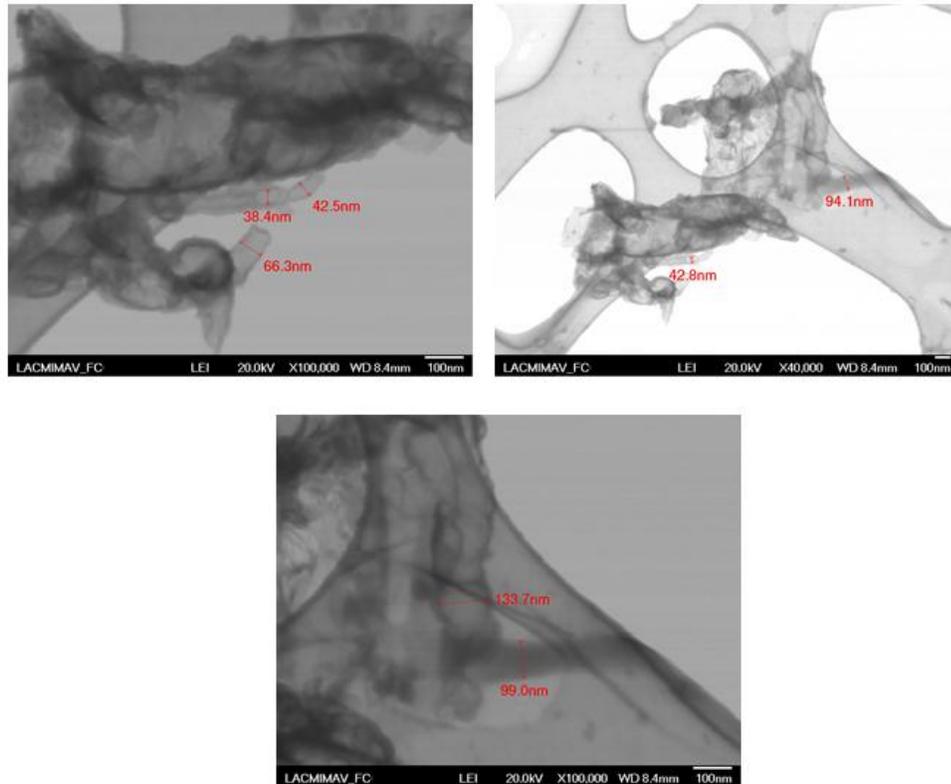


Figura 5.16 Muestras de celulosa tipo 101 después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.

Para la cascarilla de soya, mostrado en la figura 5.17, el diámetro de las fibras es de 150 a 290 nm y con longitudes de varios micrometros. Estas fibras se encuentran rodeadas de cúmulos, que posiblemente sean retazos de fibras.

En la figura 5.18, se observa las micrografías del residuo de cartón. Las fibras tienen un diámetro promedio de 272.8 nm y se encuentran rodeados de partículas, mostrándose saturadas y apelmazadas.

En las muestras de cáscara de cacahuate, hay fibras con diámetro mayor a 200 nm y se observan que estas fibras están enrolladas.

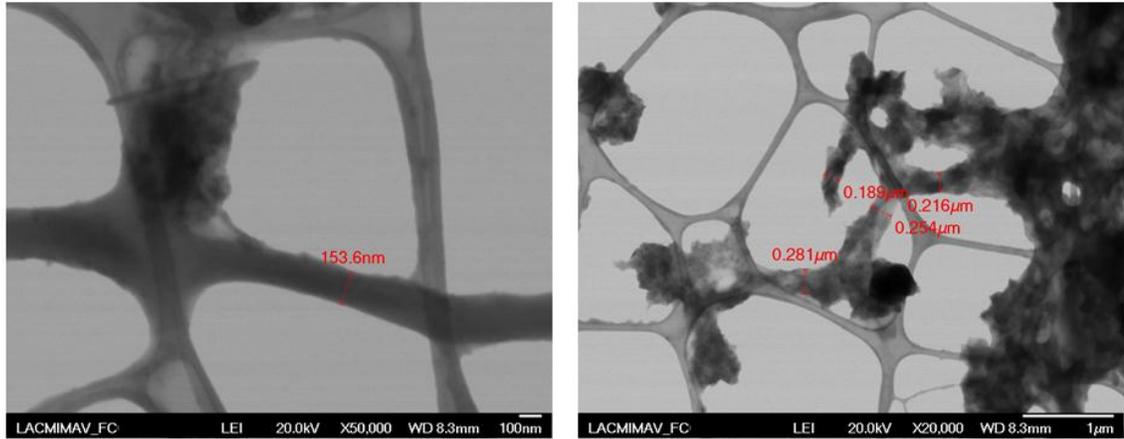


Figura 5.17 Muestras de cascarilla de soja después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.

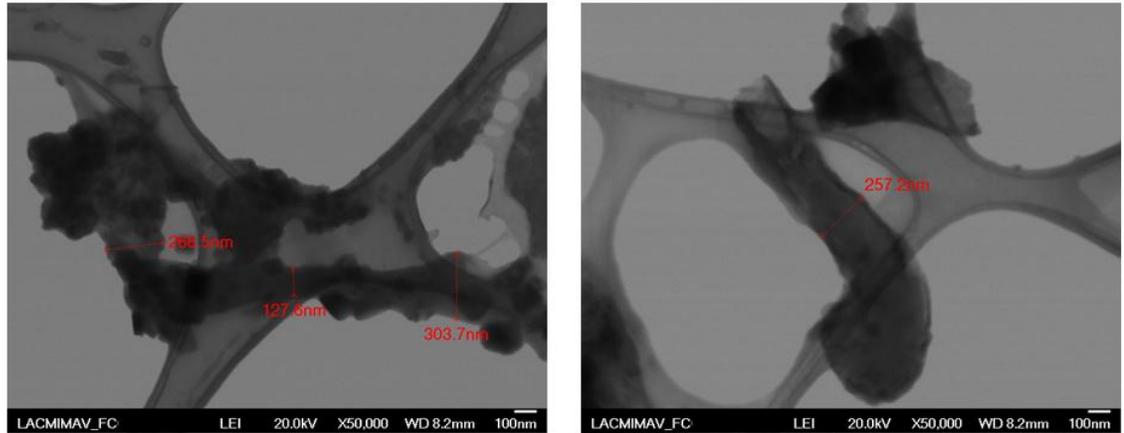


Figura 5.18 Muestras de residuo de cartón después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.

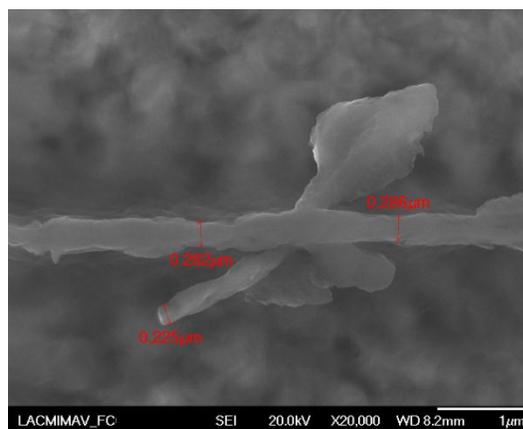


Figura 5.19 Muestras de cáscara de cacahuate después del efectuar el procedimiento asistido por microondas analizadas por STEM.

CAPÍTULO 6

Conclusiones

- De las cinco biomásas estudiadas en este proyecto, la cascarilla de soya, el residuo de cartón y la cáscara de cacahuete presentan mayor viabilidad para la producción de nanopartículas de celulosa debido a que contienen 49.59, 44.52 y 32.80 % de celulosa, respectivamente; mientras que las muestras de residuo de maíz y salvado de trigo contienen 12.68 y 12.01 % de celulosa, respectivamente. El análisis de fibra muestra que la biomasa de mayor porcentaje es la cascarilla de con un 49.52% de celulosa la cual coincide con la reportada por Flauzino Neto *et al.*, 2013 [51].
- El pretratamiento químico realizado a las biomásas favoreció la disponibilidad de la celulosa, aumenta la composición relativa de la misma en la biomasa en un 50 % debido al rompimiento estructural que permite eliminar la hemicelulosa y lignina solubilizados en solución alcalina la cascarilla de soya es la biomasa con el mayor contenido de celulosa después del pre-tratamiento químico.
- El pretratamiento químico remueve la hemicelulosa y la lignina demostrado en las bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales de la celulosa sintética, la banda del anillo piranosa de $1180 - 1050 \text{ cm}^{-1}$ y el estiramiento C-H en $1150 - 850 \text{ cm}^{-1}$; en las muestras de la cascarilla de soya, el residuo de cartón y la cáscara de cacahuete.
- La cascarilla de soya y la cáscara de cacahuete presentan un cambio significativo en los picos característicos de la celulosa por DRX después del pre-tratamiento químico mostrando un incremento en el ordenamiento de la celulosa y reflejado un aumento en el ICr (índice de cristalinidad).

-
- El índice de cristalinidad (ICr), depende de la cantidad de celulosa en la biomasa, celulosa que pasa de ser beta a alpha, el mismo que después del pre-tratamiento es mayor en la cascarilla de soya ($34.88 < 72.15$), luego en el residuo de cartón ($44.29 < 75.90$) y por último en la cáscara de cacahuate ($19.35 < 42.57$). Esto indica que la estructura de la cascarilla de soya presenta una mayor resistencia a la degradación térmica y sugiere una estructura más estable que antes del pre-tratamiento químico.
 - En la microscopía electrónica de barrido se hace evidente el efecto del pre-tratamiento químico ya que se aprecia fibras limpias de las muestras y se observa la remoción de componentes no celulósicos, como magnesio, cloro, calcio, potasio, fósforo y azufre en forma de sales.
 - Después de efectuar el procedimiento asistido para la producción de nanopartículas de celulosa, se pueden observar soluciones coloidales que indican la presencia de partículas de tamaño nanométrico y micrométrico.
 - En el proceso asistido por microondas para la celulosa 101 se obtuvieron fibras separadas de grosor de tamaño nanométrico en el rango de 38.5 a 135 nm y un cambio estructural. Esto nos indica que la estructura de la celulosa extraída de la biomasa puede ser modificada por tratamiento térmico asistido por microondas.
 - En el proceso asistido por microondas reduce las impurezas y el tamaño de las fibras, lográndose diámetros en el intervalo 150 - 290 nm para la cascarilla de soya, 272.8 nm para el residuo de cartón y 225 – 286 nm para la cáscara de cacahuate. Estos diámetros son menores a lo reportado por Kos *et al.*, 2014 [133] y Wang *et al.*, 2012 [109].
 - El proceso de hidrólisis asistido por microondas en los residuos agroindustriales genera cambios estructurales en las muestras generando fibras con diámetros nanométricos, siendo un proceso rápido, reproducible y benigno con el medio ambiente.

Referencias

- [1] Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Diario Oficial de la Federación. p. 1 - 46.
- [2] Singh-Nee'Nigam P, Pandey A. Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation. Utilisation of Agro-Residues. 2009.
- [3] Schievano A, D'Imporzano G, Adani F. Substituting energy crops with organic wastes and agro-industrial residues for biogas production. Journal of Environmental Management. 2009;90:2537-41.
- [4] Rehman MSU, Kim I, Chisti Y, Han J-I. Use of ultrasound in the production of bioethanol from lignocellulosic biomass. EEST Part A: Energ Sci Res. 2013;30:1391-410.
- [5] Miner R. Environmental Considerations and Information Needs Associated With an Increased Reliance on Recycled Fiber. Journal of analytical and applied pyrolysis. 1991;86:66-73.
- [6] Likon M, ; Trebše, Polonca. Recent Advances in Paper Mill Sludge Management, Industrial Waste. In: Show PK-Y, editor.: InTech, ; 2012.
- [7] Robledo-Narváez PN, Muñoz-Páez KM, Poggi-Varaldo HM, Ríos-Leal E, Calva-Calva G, Ortega-Clemente LA, et al. The influence of total solids content and initial pH on batch biohydrogen production by solid substrate fermentation of agroindustrial wastes. Journal of environmental management. 2013;128:126-37.
- [8] Valdez-Vazquez I, Acevedo-Benítez JA, Hernández-Santiago C. Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2010;14:2147-53.
- [9] Cotana F, Brinchi L, Gelosia M, Coccia V, Petrozzi A. NANOCRYSTALLINE CELLULOSE FROM LIGNOCELLULOSIC BIOMASS: APPLICATIONS AND FUTURE PROSPECTS.
- [10] Jiménez B, Mndez J, Barrios J, Salgado G, Sheinbaum C. Characterization and evaluation of potential reuse options for wastewater sludge and combined sewer system sediments in Mexico. Water Science & Technology. 2004;49:171-8.
- [11] Monte MC, Fuente E, Blanco A, Negro C. Waste management from pulp and paper production in the European Union. Waste Management. 2009;29:293-308.

-
- [12] Wyman CE, Dale BE, Elander RT, Holtzapple M, Ladisch MR, Lee YY. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource technology*. 2005;96:1959-66.
- [13] Saval S. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *La SMBB a 30 años de su fundación*. 2012:14.
- [14] Botella C, Ory Id, Webb C, Cantero D, Blandino A. Hydrolytic enzyme production by *Aspergillus awamori* on grape pomace. *Biochemical Engineering Journal*. 2005;26:100-6.
- [15] Castilho LR, Medronho RA, Alves TL. Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agroindustrial residues with *Aspergillus niger*. *Bioresource technology*. 2000;71:45-50.
- [16] Lakshmi GS, Rao CS, Rao RS, Hobbs PJ, Prakasham RS. Enhanced production of xylanase by a newly isolated *Aspergillus terreus* under solid state fermentation using palm industrial waste: A statistical optimization. *Biochemical Engineering Journal*. 2009;48:51-7.
- [17] Rai SK, Konwarh R, Mukherjee AK. Purification, characterization and biotechnological application of an alkaline β -keratinase produced by *Bacillus subtilis* RM-01 in solid-state fermentation using chicken-feather as substrate. *Biochemical Engineering Journal*. 2009;45:218-25.
- [18] Thanapimmetha A, Luadsongkram A, Titapiwatanakun B, Srinophakun P. Value added waste of *Jatropha curcas* residue: Optimization of protease production in solid state fermentation by Taguchi DOE methodology. *Industrial Crops and Products*. 2012;37:1-5.
- [19] Godoy MG, Gutarra ML, Maciel FM, Felix SP, Bevilaqua JV, Machado OL, et al. Use of a low-cost methodology for biodegradation of castor bean waste and lipase production. *Enzyme and microbial technology*. 2009;44:317-22.
- [20] Lopez-Mondejar R, Bernal-Vicente A, Ros M, Tittarelli F, Canali S, Intrigliolo F, et al. Utilisation of citrus compost-based growing media amended with *Trichoderma harzianum* T-78 in *Cucumis melo* seedling production. *Bioresource technology*. 2010;101:3718-23.
- [21] Nath A, Dixit M, Bandiya A, Chavda S, Desai A. Enhanced PHB production and scale up studies using cheese whey in fed batch culture of *Methylobacterium* sp. ZP24. *Bioresource technology*. 2008;99:5749-55.

-
- [22] Balat M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*. 2011;52:858-75.
- [23] Hamelinck CN, Hooijdonk Gv, Faaij AP. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term. *Biomass and Bioenergy*. 2005;28:384-410.
- [24] Lin Y, Tanaka S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied microbiology and biotechnology*. 2006;69:627-42.
- [25] Murphy J, McCarthy K. Ethanol production from energy crops and wastes for use as a transport fuel in Ireland. *Applied Energy*. 2005;82:148-66.
- [26] Liang Y, Zheng Z, Hua R, Luo X. A preliminary study of simultaneous lime treatment and dry digestion of smooth cordgrass for biogas production. *Chemical Engineering Journal*. 2011;174:175-81.
- [27] Ni M, Leung DY, Leung MK, Sumathy K. An overview of hydrogen production from biomass. *Fuel Processing Technology*. 2006;87:461-72.
- [28] Kallio P, Pásztor A, Akhtar MK, Jones PR. Renewable jet fuel. *Current Opinion in Biotechnology*. 2014;26:50-5.
- [29] Liu G, Yan B, Chen G. Technical review on jet fuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2013;25:59-70.
- [30] Kick T, Herbst J, Kathrotia T, Marquetand J, Braun-Unkhoff M, Naumann C, et al. An experimental and modeling study of burning velocities of possible future synthetic jet fuels. *Energy*. 2012;43:111-23.
- [31] Panthapulakkal S, Sain M. Preparation and characterization of cellulose nanofibril films from wood fibre and their thermoplastic polycarbonate composites. *International Journal of Polymer Science*. 2012;2012.
- [32] Haafiz MKM, Hassan A, Zakaria Z, Inuwa IM. Isolation and characterization of cellulose nanowhiskers from oil palm biomass microcrystalline cellulose. *Carbohydrate Polymers*. 2014;103:119-25.
- [33] Klemm D, Kramer F, Moritz S, Lindström T, Ankerfors M, Gray D, et al. Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. *Angewandte Chemie International Edition*. 2011;50:5438-66.
- [34] Spence K, Habibi Y, Dufresne A. Nanocellulose-based composites. *Cellulose Fibers: Bio-and Nano-Polymer Composites*: Springer; 2011. p. 179-213.
- [35] García Martínez RM, Flores Ramírez N, Martínez Flores HE, Vasquez García SR. Valoración de Dos Métodos de Obtención de Nanopartículas: Emulsión Inversa y

Ultrasonificación Térmica. FORO DE INGENIERÍA E INVESTIGACIÓN EN MATERIALES. Morelia, México: Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de la UMSNH; 2009. p. 67-72.

[36] Giri J, Adhikari R. A Brief review on extraction of nanocellulose and its application. BIBECHANA. 2012;9:81-7.

[37] Ghaderi M, Mousavi M, Yousefi H, Labbafi M. All-cellulose nanocomposite film made from bagasse cellulose nanofibers for food packaging application. Carbohydrate Polymers. 2014;104:59-65.

[38] Kumar A, Negi YS, Choudhary V, Bhardwaj NK. Characterization of Cellulose Nanocrystals Produced by Acid-Hydrolysis from Sugarcane Bagasse as Agro-Waste. Journal of Materials Physics and Chemistry. 2014;2:1-8.

[39] Islam MT, Alam MM, Zoccola M. REVIEW on MODIFICATION of NANOCELLULOSE for APPLICATION in COMPOSITES.

[40] Brinchi L, Cotana F, Fortunati E, Kenny J. Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. Carbohydrate Polymers. 2013;94:154-69.

[41] Duran N, Lemes AP, Duran M, Freer J, Baeza J. A minireview of cellulose nanocrystals and its potential integration as co-product in bioethanol production. Journal of the Chilean Chemical Society. 2011;56:672-7.

[42] Weiss J, Takhistov P, McClements DJ. Functional materials in food nanotechnology. Journal of food science. 2006;71:R107-R16.

[43] Hentze H-P. From Nanocellulose Science towards Applications. Developments in advanced biocomposites. 2010:71.

[44] Carlsson DO. Structural and Electrochemical Properties of Functionalized Nanocellulose Materials and Their Biocompatibility. 2014.

[45] Sharma PR, Varma AJ. Functionalized celluloses and their nanoparticles: Morphology, thermal properties, and solubility studies. Carbohydrate Polymers. 2014;104:135-42.

[46] Rosa M, Medeiros E, Malmonge J, Gregorski K, Wood D, Mattoso L, et al. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. Carbohydrate Polymers. 2010;81:83-92.

[47] Teixeira EdM, Bondancia TJ, Teodoro KBR, Corrêa AC, Marconcini JM, Mattoso LHC. Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations. Industrial Crops and Products. 2011;33:63-6.

-
- [48] Pelissari F, Sobral PA, Menegalli F. Isolation and characterization of cellulose nanofibers from banana peels. *Cellulose*. 2014;21:417-32.
- [49] Morais JPS, Rosa MdF, Nascimento LD, Nascimento DMd, Alexandre LC. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. *Carbohydrate Polymers*. 2012.
- [50] Alemdar A, Sain M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues—Wheat straw and soy hulls. *Bioresource technology*. 2008;99:1664-71.
- [51] Flauzino Neto WP, Silvério HA, Dantas NO, Pasquini D. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue—Soy hulls. *Industrial Crops and Products*. 2013;42:480-8.
- [52] Johar N, Ahmad I, Dufresne A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Industrial Crops and Products*. 2012;37:93-9.
- [53] Siqueira G, Bras J, Dufresne A. Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. *Polymers*. 2010;2:728-65.
- [54] Pääkkö M, Ankerfors M, Kosonen H, Nykänen A, Ahola S, Österberg M, et al. Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*. 2007;8:1934-41.
- [55] Corrêa A, Morais Teixeira E, Pessan L, Mattoso L. Cellulose nanofibers from curaua fibers. *Cellulose*. 2010;17:1183-92.
- [56] Nogi M, Iwamoto S, Nakagaito AN, Yano H. Optically Transparent Nanofiber Paper. *Advanced Materials*. 2009;21:1595-8.
- [57] Nakagaito A, Yano H. Toughness enhancement of cellulose nanocomposites by alkali treatment of the reinforcing cellulose nanofibers. *Cellulose*. 2008;15:323-31.
- [58] Frone AN, Panaitescu DM, Donescu D. Some aspects concerning the isolation of cellulose micro-and nano-fibers. *UPB Buletin Stiintific, Series B: Chemistry and Materials Science*. 2011;73:133-52.
- [59] Li S-M, Jia N, Ma M-G, Zhang Z, Liu Q-H, Sun R-C. Cellulose—silver nanocomposites: Microwave-assisted synthesis, characterization, their thermal stability, and antimicrobial property. *Carbohydrate Polymers*. 2011;86:441-7.
- [60] Li M, Wang L-j, Li D, Cheng Y-L, Adhikari B. Preparation and characterization of cellulose nanofibers from de-pectinated sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers*. 2014;102:136-43.

-
- [61] Morán JI, Alvarez VA, Cyras VP, Vázquez A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*. 2008;15:149-59.
- [62] Kuprianov VI, Arromdee P. Combustion of peanut and tamarind shells in a conical fluidized-bed combustor: A comparative study. *Bioresource technology*. 2013.
- [63] Favaro L, Basaglia M, Casella S. Processing wheat bran into ethanol using mild treatments and highly fermentative yeasts. *Biomass and Bioenergy*. 2012.
- [64] Kinnarinen T, Shakhanova M, Hietanen E, Salmimies R, Häkkinen A, Louhi-Kultanen M. Effect of mixing on enzymatic hydrolysis of cardboard waste: Saccharification yield and subsequent separation of the solid residue using a pressure filter. *Bioresource technology*. 2012;110:405-11.
- [65] Pasangulapati V, Ramachandriya KD, Kumar A, Wilkins MR, Jones CL, Huhnke RL. Effects of cellulose, hemicellulose and lignin on thermochemical conversion characteristics of the selected biomass. *Bioresource technology*. 2012;114:663-9.
- [66] Tejada LP, Tejada C, Villabona A, Alvear MR, Castillo CR, Henao DL, et al. Producción de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña. *Rev Educación en Ingeniería*. 2010;10:120-5.
- [67] Cuervo L, Folch JL, Quiroz RE. Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. *Bio Tecnología*. 2009;13:11-25.
- [68] Abdul Khalil H, Bhat A, Ireana Yusra A. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2012;87:963-79.
- [69] Tabil L, Adapa P, Kashaninejad M. Biomass feedstock pre-processing—part 1: pre-treatment. *Biofuel's Engineering Process Technology*. 2011.
- [70] Li R, Fei J, Cai Y, Li Y, Feng J, Yao J. Cellulose whiskers extracted from mulberry: A novel biomass production. *Carbohydrate Polymers*. 2009;76:94-9.
- [71] Brown Jr M, Saxena IM, Kudlicka K. Cellulose biosynthesis in higher plants. *Trends in plant science*. 1996;1:149-56.
- [72] Lavoine N, Desloges I, Dufresne A, Bras J. Microfibrillated cellulose—Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2012;90:735-64.
- [73] Kalia S, Boufi S, Celli A, Kango S. Nanofibrillated cellulose: surface modification and potential applications. *Colloid and Polymer Science*. 2014;292:5-31.
- [74] ARROYO ROSAS K. BIOCOSMOS DE ALMIDON TERMOPLASTICO CON MICROFIBRAS DE CELULOSA 2009.

-
- [75] Sun R. Cereal straw as a resource for sustainable biomaterials and biofuels: chemistry, extractives, lignins, hemicelluloses and cellulose: Access Online via Elsevier; 2010.
- [76] Atalla RH, Vanderhart DL. Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms. *Science*. 1984;223:283-5.
- [77] Aulin C, Ahola S, Josefsson P, Nishino T, Hirose Y, Österberg M, et al. Nanoscale Cellulose Films with Different Crystallinities and Mesostructures □ Their Surface Properties and Interaction with Water. *Langmuir*. 2009;25:7675-85.
- [78] O'SULLIVAN AC. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*. 1997;4:173-207.
- [79] Karimi K, Shafiei M, Kumar R. Progress in physical and chemical pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biofuel Technologies: Springer*; 2013. p. 53-96.
- [80] Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA, Kuan-Yeow S, Xinxin G. Use of Agro-industrial wastes in solid-state fermentation processes. *Industrial waste Croatia: InTech*. 2012:121-40.
- [81] Sheltami RM, Abdullah I, Ahmad I, Dufresne A, Kargarzadeh H. Extraction of cellulose nanocrystals from mengkuang leaves (*Pandanus tectorius*). *Carbohydrate Polymers*. 2012;88:772-9.
- [82] Kashaninejad M, Tabil LG. Effect of microwave–chemical pre-treatment on compression characteristics of biomass grinds. *Biosystems Engineering*. 2011;108:36-45.
- [83] Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander R, Lee Y, Holtzapple M, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*. 2005;96:673-86.
- [84] Agbor VB, Cicek N, Sparling R, Berlin A, Levin DB. Biomass pretreatment: fundamentals toward application. *Biotechnology advances*. 2011;29:675-85.
- [85] Cherian BM, Pothan LA, Nguyen-Chung T, Mennig Gn, Kottaisamy M, Thomas S. A novel method for the synthesis of cellulose nanofibril whiskers from banana fibers and characterization. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56:5617-27.
- [86] Rodrigues THS, Rocha MVP, de Macedo GR, Gonçalves LR. Ethanol production from cashew apple bagasse: improvement of enzymatic hydrolysis by microwave-assisted alkali pretreatment. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2011;164:929-43.

-
- [87] Taherzadeh MJ, Karimi K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International journal of molecular sciences*. 2008;9:1621-51.
- [88] Kumar P, Barrett DM, Delwiche MJ, Stroeve P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2009;48:3713-29.
- [89] Lesoing G, Klopfenstein T, Rush IG, Ward J. Chemical treatment of wheat straw. 1981.
- [90] Chen D, Lawton D, Thompson M, Liu Q. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. *Carbohydrate Polymers*. 2012;90:709-16.
- [91] Saleh MHSDE, Muhamad MDII, Mamat SNH. CELLULOSE NANOFIBER ISOLATION AND ITS FABRICATION INTO BIO-POLYMER-A REVIEW. *International Conference on Agricultural and Food Engineering for Life (Cafei2012)2012*. p. 28.
- [92] Abdul Khalil H, Davoudpour Y, Islam MN, Mustapha A, Sudesh K, Dungani R, et al. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: a review. *Carbohydrate Polymers*. 2014;99:649-65.
- [93] Zhu L, O'Dwyer JP, Chang VS, Granda CB, Holtzaple MT. Structural features affecting biomass enzymatic digestibility. *Bioresource technology*. 2008;99:3817-28.
- [94] Abraham E, Deepa B, Pothan L, Jacob M, Thomas S, Cvelbar U, et al. Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibres: A novel approach. *Carbohydrate Polymers*. 2011;86:1468-75.
- [95] Cherian BM, Leão AL, de Souza SF, Thomas S, Pothan LA, Kottaisamy M. Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. *Carbohydrate Polymers*. 2010;81:720-5.
- [96] Sun Y, Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*. 2002;83:1-11.
- [97] Hu Z, Wen Z. Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment. *Biochemical Engineering Journal*. 2008;38:369-78.
- [98] Janker-Obermeier I, Sieber V, Faulstich M, Schieder D. Solubilization of hemicellulose and lignin from wheat straw through microwave-assisted alkali treatment. *Industrial Crops and Products*. 2012;39:198-203.
- [99] Zhu S, Wu Y, Yu Z, Liao J, Zhang Y. Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis. *Process Biochemistry*. 2005;40:3082-6.

-
- [100] Cherian BM, Leão AL, de Souza SF, Costa LMM, de Olyveira GM, Kottaisamy M, et al. Cellulose nanocomposites with nanofibres isolated from pineapple leaf fibers for medical applications. *Carbohydrate Polymers*. 2011;86:1790-8.
- [101] Eichhorn S, Dufresne A, Aranguren M, Marcovich N, Capadona J, Rowan S, et al. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *Journal of Materials Science*. 2010;45:1-33.
- [102] Moon RJ, Martini A, Nairn J, Simonsen J, Youngblood J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*. 2011;40:3941-94.
- [103] Siró I, Plackett D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose*. 2010;17:459-94.
- [104] Li Q, McGinnis S, Sydnor C, Wong A, Renneckar S. Nanocellulose life cycle assessment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2013;1:919-28.
- [105] Nakagaito A, Yano H. The effect of morphological changes from pulp fiber towards nano-scale fibrillated cellulose on the mechanical properties of high-strength plant fiber based composites. *Applied Physics A*. 2004;78:547-52.
- [106] Keerati-u-rai M, Corredig M. Effect of dynamic high pressure homogenization on the aggregation state of soy protein. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009;57:3556-62.
- [107] Wang B, Sain M. The effect of chemically coated nanofiber reinforcement on biopolymer based nanocomposites. *BioResources*. 2007;2:371-88.
- [108] Janardhnan S, Sain MM. Isolation of cellulose microfibrils—an enzymatic approach. *BioResources*. 2007;1:176-88.
- [109] Wang Z, Sun X-x, Lian Z-x, Wang X-x, Zhou J, Ma Z-s. The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the properties of soy protein isolate/microcrystalline wheat-bran cellulose film. *Journal of Food Engineering*. 2012.
- [110] Henriksson M, Henriksson G, Berglund L, Lindström T. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *European Polymer Journal*. 2007;43:3434-41.
- [111] de Campos A, Correa AC, Cannella D, de M Teixeira E, Marconcini JM, Dufresne A, et al. Obtaining nanofibers from curauá and sugarcane bagasse fibers using enzymatic hydrolysis followed by sonication. *Cellulose*. 2013:1-10.

-
- [112] Rebouillat S, Pla F. State of the Art Manufacturing and Engineering of Nanocellulose: A Review of Available Data and Industrial Applications. *Journal of Biomaterials & Nanobiotechnology*. 2013;4.
- [113] Penttilä PA, Várnai A, Fernández M, Kontro I, Liljeström V, Lindner P, et al. Small-angle scattering study of structural changes in the microfibril network of nanocellulose during enzymatic hydrolysis. *Cellulose*. 2013;20:1031-40.
- [114] Rånby BG. Fibrous macromolecular systems. Cellulose and muscle. The colloidal properties of cellulose micelles. *Discussions of the Faraday Society*. 1951;11:158-64.
- [115] Azizi Samir MAS, Alloin F, Dufresne A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules*. 2005;6:612-26.
- [116] Dong XM, Revol J-f, Gray DG. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose. *Cellulose*. 1998;5:19-32.
- [117] Beck-Candanedo S, Roman M, Gray DG. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules*. 2005;6:1048-54.
- [118] Araki J, Wada M, Kuga S, Okano T. Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1998;142:75-82.
- [119] Angellier H, Putaux JL, Molina-Boisseau S, Dupeyre D, Dufresne A. Starch nanocrystal fillers in an acrylic polymer matrix. *Macromolecular Symposia: Wiley Online Library*; 2005. p. 95-104.
- [120] Bondeson D, Mathew A, Oksman K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. *Cellulose*. 2006;13:171-80.
- [121] Wang Q, Zhu J, Reiner R, Verrill S, Baxa U, McNeil S. Approaching zero cellulose loss in cellulose nanocrystal (CNC) production: recovery and characterization of cellulosic solid residues (CSR) and CNC. *Cellulose*. 2012;19:2033-47.
- [122] Revol JF, Bradford H, Giasson J, Marchessault RH, Gray DG. Helicoidal self-ordering of cellulose microfibrils in aqueous suspension. *International journal of biological macromolecules*. 1992;14:170-2.
- [123] Roman M, Winter WT. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules*. 2004;5:1671-7.

-
- [124] Saito T, Nishiyama Y, Putaux J-L, Vignon M, Isogai A. Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules*. 2006;7:1687-91.
- [125] Saito T, Kimura S, Nishiyama Y, Isogai A. Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules*. 2007;8:2485-91.
- [126] Sonia A, Priya Dasan K. Chemical, morphology and thermal evaluation of cellulose microfibrils obtained from *Hibiscus sabdariffa*. *Carbohydrate Polymers*. 2013;92:668-74.
- [127] Naik S, Goud VV, Rout PK, Dalai AK. Production of first and second generation biofuels: a comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2010;14:578-97.
- [128] Vignon M, Garcia-Jaldon C, Dupeyre D. Steam explosion of woody hemp chenevotte. *International journal of biological macromolecules*. 1995;17:395-404.
- [129] Marchessault R. Steam explosion: a refining process for lignocellulosics. *Steam Explosion Techniques, Fundamentals and Industrial Application*, ed by Focher B, Marzetti A and Crescenzi E Gordon and Breach Science Publishers, Philadelphia. 1991:1-20.
- [130] Deepa B, Abraham E, Cherian BM, Bismarck A, Blaker JJ, Pothan LA, et al. Structure, morphology and thermal characteristics of banana nano fibers obtained by steam explosion. *Bioresource technology*. 2011;102:1988-97.
- [131] Keijsers ER, Yilmaz G, van Dam JE. The cellulose resource matrix. *Carbohydr Polym*. 2013;93:9-21.
- [132] Hou A, Wang X, Wu L. Effect of microwave irradiation on the physical properties and morphological structures of cotton cellulose. *Carbohydrate Polymers*. 2008;74:934-7.
- [133] Kos T, Anžlovar A, Kunaver M, Huskić M, Žagar E. Fast preparation of nanocrystalline cellulose by microwave-assisted hydrolysis. *Cellulose*. 2014;21:2579-85.
- [134] Jones D, Lelyveld T, Mavrofidis S, Kingman S, Miles N. Microwave heating applications in environmental engineering—a review. *Resources, conservation and recycling*. 2002;34:75-90.
- [135] Zanella R. Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*.5.

-
- [136] Gerbec JA, Magana D, Washington A, Strouse GF. Microwave-enhanced reaction rates for nanoparticle synthesis. *Journal of the American Chemical Society*. 2005;127:15791-800.
- [137] Allan GG, Krieger BB, Work DW. Dielectric loss microwave degradation of polymers: Cellulose. *Journal of Applied Polymer Science*. 1980;25:1839-59.
- [138] Lu H, Gui Y, Zheng L, Liu X. Morphological, crystalline, thermal and physicochemical properties of cellulose nanocrystals obtained from sweet potato residue. *Food Research International*. 2013;50:121-8.
- [139] Wan Z, Xiong Z, Ren H, Huang Y, Liu H, Xiong H, et al. Graft copolymerization of methyl methacrylate onto bamboo cellulose under microwave irradiation. *Carbohydrate Polymers*. 2011;83:264-9.
- [140] Guiotoku M, Rambo C, Hansel F, Magalhães W, Hotza D. Microwave-assisted hydrothermal carbonization of lignocellulosic materials. *Materials Letters*. 2009;63:2707-9.
- [141] Lu Z, Fan L, Zheng H, Lu Q, Liao Y, Huang B. Preparation, characterization and optimization of nanocellulose whiskers by simultaneously ultrasonic wave and microwave assisted. *Bioresource technology*. 2013;146:82-8.
- [142] Yin H, Yamamoto T, Wada Y, Yanagida S. Large-scale and size-controlled synthesis of silver nanoparticles under microwave irradiation. *Materials Chemistry and Physics*. 2004;83:66-70.
- [143] Oghbaei M, Mirzaee O. Microwave versus conventional sintering: A review of fundamentals, advantages and applications. *Journal of Alloys and Compounds*. 2010;494:175-89.
- [144] Leonelli C, Mason TJ. Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 2010;49:885-900.
- [145] Clark DE, Folz DC, West JK. Processing materials with microwave energy. *Materials Science and Engineering: A*. 2000;287:153-8.
- [146] Kappe CO. Controlled microwave heating in modern organic synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*. 2004;43:6250-84.
- [147] Kelly R, Rowson N. Microwave reduction of oxidised ilmenite concentrates. *Minerals Engineering*. 1995;8:1427-38.
- [148] Osepchuk JM. A history of microwave heating applications. *Microwave Theory and Techniques, IEEE Transactions on*. 1984;32:1200-24.

-
- [149] Zhu J, Zhou M, Xu J, Liao X. Preparation of CdS and ZnS nanoparticles using microwave irradiation. *Materials Letters*. 2001;47:25-9.
- [150] Wu Y, Fu Z, Yin D, Xu Q, Liu F, Lu C, et al. Microwave-assisted hydrolysis of crystalline cellulose catalyzed by biomass char sulfonic acids. *Green Chemistry*. 2010;12:696-700.
- [151] Fan J, De Bruyn M, Budarin VL, Gronnow MJ, Shuttleworth PS, Breeden S, et al. Direct Microwave-Assisted Hydrothermal Depolymerization of Cellulose. *Journal of the American Chemical Society*. 2013;135:11728-31.
- [152] Ha SH, Mai NL, An G, Koo Y-M. Microwave-assisted pretreatment of cellulose in ionic liquid for accelerated enzymatic hydrolysis. *Bioresource technology*. 2011;102:1214-9.
- [153] Budarin VL, Clark JH, Lanigan BA, Shuttleworth P, Macquarrie DJ. Microwave assisted decomposition of cellulose: A new thermochemical route for biomass exploitation. *Bioresource technology*. 2010;101:3776-9.
- [154] Fan J, Zhu Z, Budarin V, Gronnow M, Gomez LD, Macquarrie D, et al. Microwave-enhanced formation of glucose from cellulosic waste. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 2013.
- [155] Singh V, Kumar P, Sanghi R. Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides—A review. *Progress in Polymer Science*. 2012;37:340-64.
- [156] Hermiati E, Mangunwidjaja D, Sunarti T, Suparno O, Prasetya B. Microwave-assisted Acid Hydrolysis of Starch Polymer in Cassava Pulp in the Presence of Activated Carbon. *Procedia Chemistry*. 2012;4:238-44.
- [157] Taniguchi T, Okamura K. New films produced from microfibrillated natural fibres. *Polymer International*. 1998;47:291-4.
- [158] Kaushik A, Singh M, Verma G. Green nanocomposites based on thermoplastic starch and steam exploded cellulose nanofibrils from wheat straw. *Carbohydrate Polymers*. 2010;82:337-45.
- [159] Dufresne A, Dupeyre D, Vignon MR. Cellulose microfibrils from potato tuber cells: processing and characterization of starch–cellulose microfibril composites. *Journal of Applied Polymer Science*. 2000;76:2080-92.
- [160] Filson PB, Dawson-Andoh BE, Schwegler-Berry D. Enzymatic-mediated production of cellulose nanocrystals from recycled pulp. *Green Chemistry*. 2009;11:1808-14.

-
- [161] Mandal A, Chakrabarty D. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. *Carbohydrate Polymers*. 2011;86:1291-9.
- [162] Fujisawa S, Okita Y, Fukuzumi H, Saito T, Isogai A. Preparation and characterization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril films with free carboxyl groups. *Carbohydrate Polymers*. 2011;84:579-83.
- [163] Johnson RK, Zink-Sharp A, Rennecker SH, Glasser WG. A new bio-based nanocomposite: fibrillated TEMPO-oxidized celluloses in hydroxypropylcellulose matrix. *Cellulose*. 2009;16:227-38.
- [164] Li J, Wei X, Wang Q, Chen J, Chang G, Kong L, et al. Homogeneous isolation of nanocellulose from sugarcane bagasse by high pressure homogenization. *Carbohydrate Polymers*. 2012.
- [165] Habibi Y, Lucia LA, Rojas OJ. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical reviews*. 2010;110:3479-500.
- [166] Hossain KMZ, Jasmani L, Ahmed I, Parsons AJ, Scotchford CA, Thielemans W, et al. High cellulose nanowhisker content composites through cellosize bonding. *Soft Matter*. 2012;8:12099-110.
- [167] Peng B, Dhar N, Liu H, Tam K. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. 2011;89:1191-206.
- [168] Favier V, Chanzy H, Cavaille J. Polymer nanocomposites reinforced by cellulose whiskers. *Macromolecules*. 1995;28:6365-7.
- [169] Savadekar NR, Mhaske ST. Synthesis of nano cellulose fibers and effect on thermoplastics starch based films. *Carbohydrate Polymers*. 2012;89:146-51.
- [170] Miao C, Hamad WY. Cellulose reinforced polymer composites and nanocomposites: a critical review. *Cellulose*. 2013;20:2221-62.
- [171] Lönnberg H, Larsson K, Lindström T, Hult A, Malmström E. Synthesis of Polycaprolactone-Grafted Microfibrillated Cellulose for Use in Novel Bionanocomposites—Influence of the Graft Length on the Mechanical Properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2011;3:1426-33.
- [172] Saïd Azizi Samir MA, Alloin F, Paillet M, Dufresne A. Tangling effect in fibrillated cellulose reinforced nanocomposites. *Macromolecules*. 2004;37:4313-6.
- [173] Malainine ME, Mahrouz M, Dufresne A. Thermoplastic nanocomposites based on cellulose microfibrils from *Opuntia ficus-indica* parenchyma cell. *Composites Science and Technology*. 2005;65:1520-6.

-
- [174] Fernández A, Sánchez MD, Ankerfors M, Lagaron JM. Effects of ionizing radiation in ethylene-vinyl alcohol copolymers and in composites containing microfibrillated cellulose. *Journal of Applied Polymer Science*. 2008;109:126-34.
- [175] Grunert M, Winter W. Nanocomposites of Cellulose Acetate Butyrate Reinforced with Cellulose Nanocrystals. *Journal of Polymers and the Environment*. 2002;10:27-30.
- [176] Özgür Seydibeyoğlu M, Oksman K. Novel nanocomposites based on polyurethane and micro fibrillated cellulose. *Composites Science and Technology*. 2008;68:908-14.
- [177] Ljungberg N, Bonini C, Bortolussi F, Boisson C, Heux L, Cavallé. New Nanocomposite Materials Reinforced with Cellulose Whiskers in Atactic Polypropylene: Effect of Surface and Dispersion Characteristics. *Biomacromolecules*. 2005;6:2732-9.
- [178] Pahimanolis N, Salminen A, Penttilä P, Korhonen J, Johansson L-S, Ruokolainen J, et al. Nanofibrillated cellulose/carboxymethyl cellulose composite with improved wet strength. *Cellulose*. 2013;20:1459-68.
- [179] Neto WPF, Silvério HA, Vieira JG, da Costa e Silva Alves H, Pasquini D, de Assunção RMN, et al. Preparation and Characterization of Nanocomposites of Carboxymethyl Cellulose Reinforced with Cellulose Nanocrystals. *Macromolecular Symposia*. 2012;319:93-8.
- [180] Alloin F, D'Apréa A, Dufresne A, Kissi N, Bossard F. Poly(oxyethylene) and ramie whiskers based nanocomposites: influence of processing: extrusion and casting/evaporation. *Cellulose*. 2011;18:957-73.
- [181] Azizi Samir MAS, Alloin F, Sanchez J-Y, Dufresne A. Cellulose nanocrystals reinforced poly(oxyethylene). *Polymer*. 2004;45:4149-57.
- [182] Gong G, Pyo J, Mathew AP, Oksman K. Tensile behavior, morphology and viscoelastic analysis of cellulose nanofiber-reinforced (CNF) polyvinyl acetate (PVAc). *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. 2011;42:1275-82.
- [183] Kaboorani A, Riedl B, Blanchet P, Fellin M, Hosseinaei O, Wang S. Nanocrystalline cellulose (NCC): A renewable nano-material for polyvinyl acetate (PVA) adhesive. *European Polymer Journal*. 2012;48:1829-37.
- [184] Cho M-J, Park B-D. Tensile and thermal properties of nanocellulose-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2011;17:36-40.

-
- [185] Li W, Zhao X, Huang Z, Liu S. Nanocellulose fibrils isolated from BHKP using ultrasonication and their reinforcing properties in transparent poly (vinyl alcohol) films. *Journal of Polymer Research*. 2013;20:1-7.
- [186] Mahi H, Rodrigue D. Linear and non-linear viscoelastic properties of ethylene vinyl acetate/nano-crystalline cellulose composites. *Rheologica Acta*. 2012;51:127-42.
- [187] Chazeau L, Cavaille JY, Canova G, Dendievel R, Boutherin B. Viscoelastic properties of plasticized PVC reinforced with cellulose whiskers. *Journal of Applied Polymer Science*. 1999;71:1797-808.
- [188] Shimazaki Y, Miyazaki Y, Takezawa Y, Nogi M, Abe K, Ifuku S, et al. Excellent thermal conductivity of transparent cellulose nanofiber/epoxy resin nanocomposites. *Biomacromolecules*. 2007;8:2976-8.
- [189] Lu Y, Weng L, Cao X. Morphological, thermal and mechanical properties of ramie crystallites—reinforced plasticized starch biocomposites. *Carbohydrate Polymers*. 2006;63:198-204.
- [190] Mathew AP, Dufresne A. Morphological Investigation of Nanocomposites from Sorbitol Plasticized Starch and Tunicin Whiskers. *Biomacromolecules*. 2002;3:609-17.
- [191] Cao X, Chen Y, Chang PR, Stumborg M, Huneault MA. Green composites reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. *Journal of Applied Polymer Science*. 2008;109:3804-10.
- [192] Orts WJ, Shey J, Imam SH, Glenn GM, Guttman ME, Revol J-F. Application of cellulose microfibrils in polymer nanocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*. 2005;13:301-6.
- [193] Lu Y, Weng L, Zhang L. Morphology and Properties of Soy Protein Isolate Thermoplastics Reinforced with Chitin Whiskers. *Biomacromolecules*. 2004;5:1046-51.
- [194] de Mesquita JoP, Donnici CL, Pereira FV. Biobased Nanocomposites from Layer-by-Layer Assembly of Cellulose Nanowhiskers with Chitosan. *Biomacromolecules*. 2010;11:473-80.
- [195] Qi H, Cai J, Zhang L, Kuga S. Properties of Films Composed of Cellulose Nanowhiskers and a Cellulose Matrix Regenerated from Alkali/Urea Solution. *Biomacromolecules*. 2009;10:1597-602.
- [196] Ozin GA, Cademartiri L. *Nanochemistry: What Is Next?* *Small*. 2009;5:1240-4.
- [197] Gessner MO. *Proximate lignin and cellulose. Methods to Study Litter Decomposition*: Springer; 2005. p. 115-20.

-
- [198] Perez-Hidalgo M, Guerra-Hernandez E, García-Villanova B. Determination of insoluble dietary fiber compounds: cellulose, hemicellulose and lignin in legumes. *Ars pharmaceutica*. 1997;38:357-64.
- [199] Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*. 1991;74:3583-97.
- [200] Vogel KP, Pedersen JF, Masterson SD, Toy JJ. Evaluation of a Filter Bag System for NDF, ADF, and IVDMD Forage Analysis. *Crop Sci*. 1999;39:276-9.
- [201] Dien BS, Jung H-JG, Vogel KP, Casler MD, Lamb JFS, Iten L, et al. Chemical composition and response to dilute-acid pretreatment and enzymatic saccharification of alfalfa, reed canarygrass, and switchgrass. *Biomass and Bioenergy*. 2006;30:880-91.
- [202] Ragauskas AJ, Huang F. Chemical Pretreatment Techniques for Biofuels and Biorefineries from Softwood. *Pretreatment Techniques for Biofuels and Biorefineries*: Springer; 2013. p. 151-79.
- [203] Silverstein RA, Chen Y, Sharma-Shivappa RR, Boyette MD, Osborne J. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresource technology*. 2007;98:3000-11.
- [204] Olsson A-M, Salmén L. The association of water to cellulose and hemicellulose in paper examined by FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Research*. 2004;339:813-8.
- [205] Hinterstoisser B, Åkerholm M, Salmén L. Effect of fiber orientation in dynamic FTIR study on native cellulose. *Carbohydrate Research*. 2001;334:27-37.
- [206] Pandey KK. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. *Journal of Applied Polymer Science*. 1999;71:1969-75.
- [207] Xu F, Shi Y-C, Wang D. X-ray scattering studies of lignocellulosic biomass: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2013;94:904-17.
- [208] Park S, Baker JO, Himmel ME, Parilla PA, Johnson DK. Research Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol Biofuels*. 2010;3.
- [209] Segal L, Creely J, Martin A, Conrad C. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*. 1959;29:786-94.
- [210] Zakir Hossain KM, Jasmani L, Ahmed I, Parsons AJ, Scotchford CA, Thielemans W, et al. High cellulose nanowhisker content composites through cellosize bonding. *Soft Matter*. 2012;8:12099-110.

-
- [211] Rietveld H. Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement. *Acta Crystallographica*. 1967;22:151-2.
- [212] Langford Jt, Wilson A. Scherrer after sixty years: a survey and some new results in the determination of crystallite size. *Journal of Applied Crystallography*. 1978;11:102-13.
- [213] Maiti S, Jayaramudu J, Das K, Reddy SM, Sadiku R, Ray SS, et al. Preparation and characterization of nano-cellulose with new shape from different precursor. *Carbohydrate Polymers*. 2013;98:562-7.
- [214] Poletto M, Pistor V, Zattera AJ. Structural Characteristics and Thermal Properties of Native Cellulose. *Cellulose-fundamental aspects* Ed Van de Ven, T and Gdbout, L InTech. 2013:45-68.
- [215] Zhao H, Kwak JH, Conrad Zhang Z, Brown HM, Arey BW, Holladay JE. Studying cellulose fiber structure by SEM, XRD, NMR and acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*. 2007;68:235-41.
- [216] Klemm D, Schumann D, Kramer F, Heßler N, Koth D, Sultanova B. Nanocellulose Materials – Different Cellulose, Different Functionality. *Macromolecular Symposia*. 2009;280:60-71.
- [217] Van Soest P. Effect of environment and quality of fibre on the nutritive value of crop residues. *Plant Breeding and the Nutritive Value of Crop Residues Proceedings of a workshop held at ILCA, Addis Ababa, Ethiopia* JD Reed, BS Capper, and PJH Neate, ed ILCA, Addis Ababa, Ethiopia 1988. p. 71-96.
- [218] Godin B, Lamaudière Sp, Agneessens R, Schmit T, Goffart J-P, Stilmant D, et al. Chemical composition and biofuel potentials of a wide diversity of plant biomasses. *Energy & Fuels*. 2013;27:2588-98.
- [219] Chau C-F, Huang Y-L. Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. Cv. Liucheng. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003;51:2615-8.
- [220] Kinnarinen T, Häkkinen A. Influence of enzyme loading on enzymatic hydrolysis of cardboard waste and size distribution of the resulting fiber residue. *Bioresource technology*. 2014;159:136-42.
- [221] de Assunção R, Vieira JG, Meireles CdS, Cerqueira DA, da Silva Barud H, Ribeiro SJ, et al. Characterization of methylcellulose produced from sugar cane bagasse cellulose: Crystallinity and thermal properties. *Polymer degradation and stability*. 2007;92:205-10.

-
- [222] Collins JL, Post AR. Peanut Hull Flour as a Potential Source of Dietary Fiber. *Journal of food science*. 1981;46:445-8.
- [223] Dintzis F, Legg L, Deatherage W, Baker F, Inglett G, Jacob R, et al. Human gastrointestinal action on wheat, corn and soy hull bran-preliminary findings. *Cereal Chem*. 1979;56:123-7.
- [224] Guo P, Mochidzuki K, Cheng W, Zhou M, Gao H, Zheng D, et al. Effects of different pretreatment strategies on corn stalk acidogenic fermentation using a microbial consortium. *Bioresource technology*. 2011;102:7526-31.
- [225] Rodrigues Filho G, Alves Leal D, da Silva Peres D, Ruggiero R. Alternatives for the reduction of Cu(II) ion levels in hemodialysis membranes produced from sugar-cane bagasse. *Journal of Membrane Science*. 1996;111:143-6.
- [226] Mtui GY. Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and production of value added products. *African Journal of Biotechnology*. 2009;8.
- [227] Carrillo F, Colom X, Sunol J, Saurina J. Structural FTIR analysis and thermal characterisation of lyocell and viscose-type fibres. *European Polymer Journal*. 2004;40:2229-34.
- [228] Apaydın-Varol E, Pütün AE. Preparation and characterization of pyrolytic chars from different biomass samples. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2012;98:29-36.
- [229] Chen W, Yu H, Liu Y, Hai Y, Zhang M, Chen P. Isolation and characterization of cellulose nanofibers from four plant cellulose fibers using a chemical-ultrasonic process. *Cellulose*. 2011;18:433-42.
- [230] Xu T, Liu X. Peanut Shell Activated Carbon: Characterization, Surface Modification and Adsorption of Pb²⁺ from Aqueous Solution. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2008;16:401-6.
- [231] Yang H, Yan R, Chen H, Lee DH, Zheng C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*. 2007;86:1781-8.
- [232] Adel AM, El-Wahab ZHA, Ibrahim AA, Al-Shemy MT. Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials. Part I. Acid catalyzed hydrolysis. *Bioresource technology*. 2010;101:4446-55.
- [233] Kaushik A, Singh M. Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from wheat straw using steam explosion coupled with high shear homogenization. *Carbohydrate Research*. 2011;346:76-85.

-
- [234] Nishiyama Y, Sugiyama J, Chanzy H, Langan P. Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose I α from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Journal of the American Chemical Society*. 2003;125:14300-6.
- [235] Wang L, Han G, Zhang Y. Comparative study of composition, structure and properties of *Apocynum venetum* fibers under different pretreatments. *Carbohydrate Polymers*. 2007;69:391-7.
- [236] Mondragon G, Fernandes S, Retegi A, Peña C, Algar I, Eceiza A, et al. A common strategy to extracting cellulose nanoentities from different plants. *Industrial Crops and Products*. 2014;55:140-8.
- [237] Rosa SML, Rehman N, de Miranda MIG, Nachtigall SMB, Bica CID. Chlorine-free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. *Carbohydrate Polymers*. 2012;87:1131-8.
- [238] Chan WW. *Formation of Colloidal Crystals from Nanoparticle Stabilized Colloidal Suspensions*: University of Illinois; 2005.