



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

**REFUERZOS CELULÓSICOS PROCEDENTES DE
RESIDUOS AGRÍCOLAS. APLICACIÓN DE LA
NANOCELULOSA EN LA PREPARACIÓN DE
BIOCOMPOSITES BIODEGRADABLES.**

Tesis doctoral presentada por
SARA MONTES

Para optar al grado de
DOCTORA EN INGENIERÍA DE MATERIALES RENOVABLES

Directores:

Dr. JALEL LABIDI

Dr. HANS-JÜRGEN GRANDE

Donostia-San Sebastián

2020

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer a mis Directores de tesis el haberme guiado sabiamente en este camino; al Dr. Jalel Labidi, por su dedicación y apoyo a lo largo de estos años y al Dr. Hans-Jürgen Grande cuyo acicate me ha permitido avanzar con paso firme para alcanzar mis objetivos.

Agradezco también a la Comisión Europea por la financiación recibida a través del proyecto ECLIPSE (Grant Agreement no. 280786). Asimismo, quisiera agradecer a CIDETEC el haberme brindado la oportunidad de formarme como investigadora y haber confiado siempre en mí para afrontar los diferentes retos que se han ido presentando durante estos casi 16 años de relación.

No puedo tampoco olvidar a todos los compañeros y compañeras que han pasado por el grupo de Polímeros y Composites y con los que he compartido muy buenas experiencias y, por qué no decirlo, *“a pint of science”*. Tengo también que hacer una mención especial a mis compañeras Eurne y Virginia por todo su apoyo en el laboratorio y a Alaitz Rekondo por los ánimos brindados en los tiempos más complicados. Y por supuesto a Iñaki, quien gracias a su alegría contagiosa, me ha hecho pasar muy buenos momentos.

Mi trayectoria como investigadora se ha visto indudablemente influenciada por las experiencias vividas durante toda mi vida profesional, por lo que agradezco también a mis queridos amigos de Vitoria, Eva, Yolanda y Jose, quienes me acogieron durante los años que pasé en esa maravillosa ciudad.

Y en último lugar, aunque no por orden de importancia, estoy enormemente agradecida a mi familia: a mis padres por su dedicación incondicional, a mis hijos Xabier y Janire porque son el motor de mi vida y a Oscar en cuya fortaleza me he apoyado siempre. Sin ellos, nada de esto hubiera sido posible.

ÍNDICE

OBJETIVO Y MOTIVACIÓN

I.	Introducción.....	2
II.	Objetivos.....	4
III.	Metodología	5
IV.	Bibliografía.....	7

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

		10
--	--	----

1.1.	Composición de la biomasa lignocelulósica	10
1.2.	Estructura de la celulosa.....	12
1.3.	Los raquis de banano como fuente de celulosa	14
1.4.	Líquidos iónicos	16
1.5.	Bioplásticos y biocomposites.....	21
1.5.1.	Introducción	21
1.5.2.	Obtención de bioplásticos.....	23
1.5.3.	Preparación de compuestos basados en bioplásticos: obtención de biocomposites	25
1.6.	Conclusiones.....	26
1.7.	Bibliografía.....	27

CAPÍTULO 2: FRACCIONAMIENTO DE RAQUIS DE BANANA MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE LÍQUIDOS IÓNICOS.....

		36
--	--	----

2.1.	Introducción.....	36
2.2.	Parte experimental	38
2.2.1.	Materiales	38
2.2.2.	Preparación de los raquis de banana.....	39
2.2.3.	Síntesis de líquidos iónicos.....	40
2.2.4.	Extracción con líquidos iónicos	43
2.2.5.	Diseño de experimentos	44
2.3.	Métodos de caracterización	46
2.3.1.	Caracterización de la viscosidad	46

**TESI ZUZENDARIAREN BAIMENA TESIA
AURKEZTEKO**

**AUTORIZACIÓN DEL/LA DIRECTORA/A DE
TESIS PARA SU PRESENTACIÓN**

Zuzendariaren izen-abizenak /Nombre y apellidos del/la director/a: Jalel Labidi Bouchrika

IFZ /NIF: 72555842L

Tesiaren izenburua / Título de la tesis: Refuerzos celulósicos procedentes de residuos agrícolas. Aplicación de la nanocelulosa en la preparación de biocomposites biodegradables

Doktorego programa / Programa de doctorado: Ingeniería de Materiales Renovables

Doktoregaiaren izen-abizenak / Nombre y apellidos del/la doctorando/a: Sara Montes

Unibertsitateak horretarako jartzen duen tresnak emandako ANTZEKOTASUN TXOSTENA ikusita, baimena ematen dut goian aipatzen den tesia aurkez dadin, horretarako baldintza guztiak betetzen baititu.

Visto el INFORME DE SIMILITUD obtenido de la herramienta que a tal efecto pone a disposición la universidad, autorizo la presentación de la tesis doctoral arriba indicada, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Tokia eta data / Lugar y fecha: San Sebastian a 1 de julio 2020

Sin. / Fdo.: Tesiaren zuzendaria / El/La director/a de la tesis

2.3.2.	Caracterización morfológica	46
2.3.3.	Caracterización por FTIR	47
2.3.4.	Caracterización térmica	47
2.3.5.	Caracterización por RMN ¹ H de los LIs	47
2.3.6.	Caracterización estructural	47
2.4.	Resultados y discusión.....	48
2.4.1.	Viscosidad de los líquidos iónicos	48
2.4.2.	Caracterización de los raquis de banana	48
2.4.3.	Fraccionamiento de los raquis de banana	55
2.4.4.	Caracterización de la celulosa obtenida	59
2.4.5.	Diseño de experimentos	61
2.5.	Conclusiones.....	67
2.6.	Bibliografía.....	68
CAPÍTULO 3: FUNCIONALIZACIÓN DE NANOCRISTALES DE CELULOSA EN LACTATO DE COLINA		76
3.1.	Introducción	76
3.2.	Parte experimental.....	79
3.2.1.	Materiales	79
3.2.2.	Síntesis del lactato de colina.....	79
3.2.3.	Obtención de los CNC	80
3.2.4.	Funcionalización de CNC.....	80
3.2.5.	Preparación de nanocomposites de F-CNC/PLA	82
3.3.	Métodos de caracterización	82
3.3.1.	Caracterización físico-química	82
3.3.2.	Caracterización morfológica	82
3.3.3.	Caracterización estructural	83
3.3.4.	Propiedades térmicas	83
3.3.5.	Propiedades mecánicas.....	83
3.4.	Resultados y discusión.....	83
3.4.1.	Preparación of CNC.....	83
3.4.2.	Funcionalización de los CNC.....	85

3.5. Preparación de nanocomposites de PLA	90
3.5.1. Caracterización morfológica	91
3.5.2. Caracterización mecánica	91
3.6. Conclusiones	93
3.7. Bibliografía.....	94

CAPÍTULO 4: REFUERZO SINÉRGICO DEL GRAFENO ESTABILIZADO CON NANOCRISTALES DE CELULOSA EN NANOCOMPOSITES DE POLI(VINIL ALCOHOL)	102
4.1. Introducción.....	102
4.2. Parte experimental	104
4.2.1. Materiales	104
4.2.2. Preparación de nanocrisales de celulosa (CNC).....	105
4.2.3. Preparación de GR-CNC.....	105
4.2.4. Preparación de los nanocomposites de GR-CNC/PVA	106
4.2.5. Preparación de los nanocomposites de PVA de referencia	106
4.3. Métodos de caracterización	106
4.3.1. Caracterización morfológica	106
4.3.2. Propiedades ópticas	106
4.3.3. Caracterización estructural	107
4.3.4. Propiedades térmicas.....	107
4.3.5. Propiedades mecánicas.....	107
4.4. Resultados y discusión	108
4.4.1. Caracterización de los nano-refuerzos basados en grafeno	108
4.4.2. Preparación y caracterización de films de PVA.....	109
4.4.3. Propiedades ópticas de los films de PVA	110
4.4.4. Propiedades térmicas de los films de PVA.....	111
4.4.5. Propiedades mecánicas de los films de PVA.....	115
4.5. Conclusiones	118
4.6. Bibliografía.....	119

CAPÍTULO 5: EFECTO DE LA COMBINACIÓN DE NANOCRISTALES DE CELULOSA Y NANOLÁMINAS DE GRAFENO EN LAS PROPIEDADES DE FILMS DE POLI(ÁCIDO LÁCTICO)	126
5.1. Introducción	126
5.2. Parte experimental	128
5.2.1. Materiales	128
5.2.2. Preparación de nanocristales de celulosa (CNC)	128
5.2.3. Preparación de films basados en PLA	129
5.3. Métodos de caracterización	130
5.3.1. Caracterización morfológica	130
5.3.2. Caracterización estructural	131
5.3.3. Propiedades térmicas	131
5.3.4. Propiedades mecánicas.....	132
5.3.5. Propiedades barrera a los gases	133
5.3.6. Actividad antifúngica de los films	134
5.4. Resultados y discusión.....	135
5.4.1. Caracterización de los nanocristales de celulosa.....	135
5.4.2. Caracterización morfológica de los nanocomposites de PLA	136
5.4.3. Propiedades mecánicas de los films de PLA	138
5.4.4. Caracterización térmica	141
5.4.5. Propiedades barrera a los gases	144
5.4.6. Propiedades antifúngicas.....	147
5.5. Conclusiones	150
5.6. Bibliografía.....	152
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS	160
6.1. Conclusiones	160
6.2. Líneas futuras	162
<i>Publicaciones y Congresos</i>	121
APÉNDICE I: TÉCNICAS EXPERIMENTALES	123

TABLA DE FIGURAS

Figura 1. Diversas fuentes de biomasa lignocelulósica.....	3
Figura 1.1. Estructura de microfibrillas de celulosa unidas por lignina y hemicelulosa (Scientific World Journal 2014).....	10
Figura 1.2. Estructura molecular de la cadena de celulosa.....	11
Figura 1.3. Representación esquemática parcial de la molécula de lignina. Monómeros fenilpropánicos precursores de la lignina [8].....	12
Figura 1.4. Estructura jerárquica de la celulosa [14].....	13
Figura 1.5. Diferentes polimorfos de la celulosa.....	14
Figura 1.6. Plantación de bananos (izda.) y raquis procedentes de su cultivo (dcha.).....	15
Figura 1.7. Aniones y cationes utilizados en la preparación de líquidos iónicos convencionales.....	18
Figura 1.8. Los bioplásticos según la definición de la European Bioplastic Association.....	22
Figura 1.9. Principales polímeros extraídos de la biomasa, sintetizado a partir de intermediarios bio-derivados o producidos por microorganismos.....	24
Figura 2.1. Estructura química de los líquidos iónicos comerciales: a) acetato de 1-etil-3-metilimidazolio, b) L-(+)-lactato de 1-etil-3-metilimidazolio y c) tosilato de 1-etil-3-metilimidazolio.....	39
Figura 2.2. Fibras de raquis de banana a) antes de tamizar y b) la fracción tamizada de 400 micras.....	40
Figura 2.3. Aspecto del [EMIM ⁺][XS ⁻] sintetizado.....	41
Figura 2.4. [Cho ⁺][Lac ⁻] sintetizado.....	42
Figura 2.5. Aspecto del [BMIM ⁺][Ace ⁻] sintetizado.....	43
Figura 2.6. Raquis de banana triturados a) fotografía de los raquis recibidos de Banacol y b) imagen de los raquis triturados obtenida por microscopía óptica a 50x.....	49
Figura 2.7. Análisis del tamaño de partícula correspondiente a los raquis de banana triturados.....	50

Figura 2.8. Espectros de FTIR de raquis de banana triturados: a) rango de 4000 a 400 cm^{-1} y b) ampliación del rango de 1800 a 1000 cm^{-1}	51
Figura 2.9. Análisis termogravimétrico de los raquis de banana triturados.....	52
Figura 2.10. Estabilidad térmica dinámica de los Lis.	54
Figura 2.11. Diferentes procesos de obtención de celulosa mediante el uso de Lis... ..	56
Figura 2.12. Raquis de banana (izda.) y residuo rico en celulosa (dcha.) después de la extracción en $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$	57
Figura 2.13. Espectros de IR correspondientes a la celulosa procedente de pulpeo y la obtenida con los diferentes Lis.	59
Figura 2.14. Caracterización por rayos X de la celulosa aislada utilizando diferentes líquidos iónicos.	61
Figura 2.15. Variación del rendimiento con la concentración de LI y la temperatura. ..	65
Figura 2.16. Variación del rendimiento con la temperatura y el tiempo de extracción.....	65
Figura 2.17. Variación del rendimiento con la concentración de LI y el tiempo de extracción.....	66
Figura 3.1 Espectro de FTIR de los CNC obtenidos por hidrólisis ácida de MCC.....	84
Figura 3.2. Micrografía de FE-SEM de una muestra de CNC liofilizados.....	85
Figura 3.3. Espectros de FTIR del 2-(carbomethoxy)ethyltrimethoxysilane (2CMETS) y de los CNC funcionalizados (F-CNC)siguiendo diferentes condiciones de reacción.	88
Figura 3.4. Espectros de dispersión de rayos X de ángulo amplio (WAXS) correspondientes a los F-CNC (a) preparados en condiciones optimizadas y (b) en exceso de silano.	89
Figura 3.5. Films de PLA preparados por compresión: (a) PLA puro y (b) PLA con 1 % en peso de F-CNC.	90
Figura 3.6. Micrografías de FE-SEM de superficies fracturadas criogénicamente de (a) el PLA puro y (b) nanocomposite de PLA con un 1 % en peso de F-CNC.	91
Figura 3.7. Curvas representativas tracción-deformación correspondientes al PLA puro y a un nanocomposite de PLA reforzado con un 1% en peso de F-CNC.	92
Figura 4.1. Imágenes representativas de FE-SEM correspondientes al nanomaterial híbrido GR-CNC en el cual la relación GR:CNC es de 74:26.	103

Tabla de figuras

Figura 4.2. Imagen de FE-SEM del GR-CNC con una relación 5:95 (GR:CNC).	109
Figura 4.3. Espectros de absorción UV-Vis de los films de PVA. Inserción: fotografías de los films de PVA: i) PVA puro, ii) T/PVA, iii) CNC/PVA, iv) GR-CNC/PVA y v) GR-T/PVA.	110
Figura 4.4. Fotografías de films de GR-CNC/PVA con un mayor contenido en grafeno (1 % en peso de carga total de GR-CNC).	111
Figura 4.5. Termogramas correspondientes a los diferentes films de PVA.	112
Figura 4.6 Curvas de DSC de los diferentes films de PVA.....	114
Figura 4.7. Gráficos de tensión-deformación de los films de PVA con un 1% de diferentes nano-refuerzos.	117
Figura 5.1. Micrografía de FE-SEM de nanocristales de celulosa liofilizados.....	135
Figura 5.2. Patrones de difracción de rayos X de MCC y CNC obtenidos por hidrólisis ácida de MCC.....	136
Figura 5.3. Imágenes ópticas de los films de PLA.....	137
Figura 5.4. Micro-estructura de las superficies de fractura de (a) PLA-T, (b) PLA-CNC, (c) PLA-CNC95/GR5 (d), PLA-CNC50/GR50 y (e) PLA-GR.....	138
Figura 5.5. Curvas representativas tensión-deformación de los films basados en PLA.....	140
Figura 5.6. Curvas de TGA de la referencia PLA-T y de los nanocomposites de PLA con un 1% en peso de carga.	142
Figura 5.7. Imágenes de la muestra control y de los films de PLA tras la incubación del <i>Aspergillus</i> sp.	149
Figura 5.8. Viabilidad de las esporas fúngicas de los films de PLA.....	150

TABLA DE TABLAS

Tabla 2.1. Niveles de cada factor y valores codificados.....	45
Tabla 2.2. Condiciones experimentales aplicadas a la extracción de lignina con [Cho ⁺][Lac ⁻].....	45
Tabla 2.3. Viscosidad de los diferentes LIs.....	48
Tabla 2.4. Estabilidad térmica en aire de los diferentes líquidos iónicos utilizados en la extracción.....	55
Tabla 2.5. Fraccionamiento de raquis de banana.....	56
Tabla 2.6. Resultado del DOE.....	62
Tabla 2.7. Análisis de varianza y regresión lineal múltiple.....	63
Tabla 3.1. % de S en peso (expresado como azufre elemental) correspondiente a los CNC sulfatados y desulfatados.....	85
Tabla 3.2. Condiciones de reacción utilizadas en la funcionalización de CNC en presencia del líquido iónico lactato de colina.....	87
Tabla 3.3. Comportamiento mecánico de los films basados en PLA.....	92
Tabla 4.1. Estabilidad térmica de los films de PVA.....	113
Tabla 4.2. Temperaturas de fusión (T_m) y grado de cristalinidad (χ^c) ^a de los films de PVA.....	114
Tabla 4.3. Propiedades mecánicas de los films de PVA conteniendo un 1% en peso de refuerzo.....	116
Tabla 5.1. Composición de las formulaciones basadas en PLA.....	130
Tabla 5.2. Comportamiento mecánico de los films basados en PLA.....	139
Tabla 5.3. Estabilidad térmica de los films basados en PLA.....	143
Tabla 5.4. Caracterización térmica de los films de PLA.....	143
Tabla 5.5. Velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) y coeficiente de permeabilidad de oxígeno (P) del PLA-T y los nanocomposites de PLA.....	145
Tabla 5.6. Resultados de la inhibición fúngica de los films de PLA.....	148

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIACIONES

GP	Grado de polimerización
PLA	Poliácido láctico
PVA	Polivinil alcohol
LIs	Líquidos iónicos
TLV	Time limit value
MAC	Maximum allowable concentration (Concentración máxima permisible)
LD50	Dosis de una sustancia o radiación que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba.
Bioplásticos	Plásticos derivados de la biomasa y/o biodegradables.
Biocomposites	Plásticos reforzados con fibras naturales.
[EMIM ⁺][Ac ⁻]	Acetato de 1-etil-3-metil imidazolio
[EMIM ⁺][Lac ⁻]	Lactato de 1-etil-3-metil imidazolio
[BMIM ⁺][Ace ⁻]	Acesulfamato de 1-butil-3metil imidazolio
[Cho ⁺][Lac ⁻]	Lactato de colina
[EMIM ⁺][Tosy ⁻]	Tosilato de 1-etil-3-metil imidazolio
[EMIM ⁺][XS ⁻]	Xileno sulfonato de 1-etil-3-metil imidazolio
Y	Rendimiento
X	

m_0	Masa inicial
m_f	Masa final
X_T	Variable independiente temperatura normalizada
X_t	Variable independiente tiempo normalizada
X_c	Variable independiente cantidad de líquido iónico normalizada
T_{Onset}	Temperatura de onset
$Td_{máx}$	Temperatura de degradación máxima
CNC	Celulose nanocrystals (Nanocristales de celulosa)
F-CNC	Nanocristales de celulosa funcionalizados
MCC	Celulosa microcristalina (Microcrystalline cellulose)
GR	Grafeno
GR-CNC	Refuerzo híbrido grafeno-nanocristales de celulosa
T_m	Temperatura de fusión
χ	Cristalinidad del polímero
ΔH_m	Entalpía de fusión
ΔH_0	Entalpía de fusión de un polímero 100% cristalino
ω	Fracción en peso del polímero en la mezcla

σ_b	Resistencia a la tracción
ε_b	Alargamiento a rotura
E	Módulo elástico
T_d	Temperatura de descomposición
T_{cc}	Temperatura de cristalización
T_g	Temperatura de transición vítrea
ΔH_{cc}	Entalpía de cristalización
OTR	Velocidad de transmisión de oxígeno (oxygen transmission rate)
P	Coefficiente de permeabilidad
WVRT	Velocidad de transmisión de vapor de agua (water vapor transmission rate)
FGI	Inhibición del crecimiento fúngico

Objetivo y motivación

*“La imaginación es la facultad del descubrimiento, preeminentemente.
Es lo que penetra en los mundos nunca vistos a nuestro alrededor, los
mundos de la ciencia.”*

Ada Lovelace

I. Introducción

El petróleo sigue siendo hoy por hoy uno de los principales motores de la economía mundial. Este valioso recurso natural es la principal fuente de energía y de materias primas de la industria y del transporte en los países desarrollados. Sin embargo, no se trata de un recurso inagotable, por lo que su producción mundial, según predicen algunas teorías como la del pico de Hubbert [1], tras alcanzar un nivel máximo de extracción, llegará a su cenit y después caerá rápidamente. Con independencia de cómo de cerca esté ese momento, se hace necesario caminar hacia la búsqueda de alternativas sostenibles.

Una alternativa prometedora como fuente de energía y de materias primas renovables es la biomasa, definida como el conjunto de la materia orgánica de origen vegetal, animal o procedente de la transformación natural o artificial de la misma [2]. En este sentido, resulta de especial interés la biomasa lignocelulósica o procedente de las plantas (Figura 1), compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, siendo la celulosa el componente mayoritario de la misma. Este biopolímero ha suscitado gran interés en los últimos años por su gran disponibilidad y versatilidad para ser usada como fuente de materias primas. Por un lado, a partir de la celulosa es posible sintetizar otros polímeros de origen renovable y, por otro, la celulosa puede formar parte de materiales plásticos cuando es añadida como refuerzo. La estructura de la celulosa está formada por regiones amorfas alternadas con regiones altamente cristalinas. Con el tratamiento adecuado se pueden aislar las regiones cristalinas obteniéndose los denominados nanocristales de celulosa, los cuales presentan propiedades singulares tales como una alta resistencia mecánica. Así, estos nanomateriales se han utilizado, entre otros fines, como refuerzo en diferentes matrices poliméricas, tanto renovables como no renovables, mejorando ostensiblemente las propiedades del material de partida.



Figura 1. Diversas fuentes de biomasa lignocelulósica.

Para obtener estos nanocristales es requisito necesario el aislamiento previo de la celulosa del resto de los componentes. Los métodos convencionales para la extracción de la celulosa incluyen el uso de reactivos no exentos de toxicidad o la utilización de disolventes orgánicos. Sin embargo, la búsqueda de materias primas alternativas al petróleo requiere de una aproximación holística, en la cual se tengan en cuenta también los procesos necesarios para la obtención de la materia prima de modo sostenible, de manera que se reduzca o elimine el daño potencial para el medio ambiente. En este sentido, los líquidos iónicos, sales orgánicas con puntos de fusión por debajo de 100 °C, han sido ampliamente investigados como disolventes “verdes” para su empleo en el procesado de la biomasa por su capacidad para disolver la celulosa [3]. No obstante, el fraccionamiento de la biomasa para la obtención de la celulosa requiere de una cierta selectividad que permita obtener la celulosa de manera aislada, y en la medida de lo posible, que mantenga la estructura cristalina de la misma.

II. Objetivos

En este contexto, los objetivos de la presente tesis doctoral son: i) investigar la utilización de líquidos iónicos en la obtención de la celulosa procedente de un residuo vegetal de la biomasa (raquis de la banana) y ii) la obtención de nanocristales de celulosa para su aplicación en la preparación de biocomposites de matriz biodegradable y la investigación de las propiedades de los materiales resultantes.

Para ello, el trabajo se ha estructurado en dos bloques principales:

- 1) La obtención de celulosa presente en el residuo del tallo de la planta de banana, o raqui de banana, utilizando para ello líquidos iónicos. En este bloque, se ha investigado la efectividad y selectividad de los diferentes líquidos iónicos seleccionados, en particular las correspondientes a un líquido iónico obtenido a partir de fuentes renovables. Asimismo, se ha realizado un diseño de experimentos para encontrar las condiciones óptimas de extracción utilizando dicho líquido iónico.
- 2) La obtención de nano-refuerzos basados en celulosa y el desarrollo de biocomposites totalmente biodegradables que puedan utilizarse para aplicaciones como el *packaging* o para la fabricación de films con fines agrícolas. La dispersión de los nano-refuerzos en la matriz polimérica se ha realizado mediante dos estrategias diferentes en función de la naturaleza de la matriz polimérica utilizada: de forma directa, en el caso de matrices hidrófilas, o bien mediante modificación previa para mejorar su compatibilidad, como en el caso de las matrices hidrófobas.

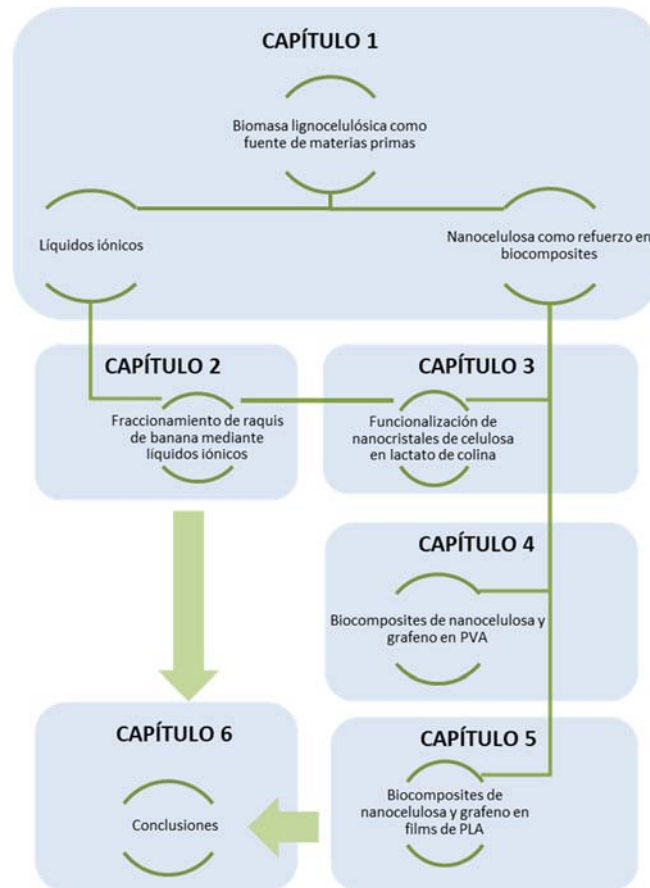
III. Metodología

La metodología utilizada se describe a continuación:

- En el *capítulo 1* se ha realizado una introducción de los principales materiales utilizados en la realización de la parte experimental de la presente tesis. En primer lugar, se ha descrito la biomasa lignocelulósica y su composición, así como la materia prima de partida utilizada en los experimentos de extracción, es decir, el tallo fibroso del racimo de la banana o raqui de banana. Posteriormente se han descrito los líquidos iónicos y sus principales características físicas. Finalmente, se han definido los bioplásticos y sus diferentes fuentes de obtención, así como la preparación de biocomposites como medio para mejorar las propiedades originales de los bioplásticos.
- El *capítulo 2* se ha enfocado en la obtención de celulosa mediante el fraccionamiento de los raquis de banana. Para ello, se ha estudiado la capacidad de deslignificación de diferentes líquidos iónicos. A partir de este estudio inicial, se ha realizado un diseño experimental con el lactato de colina, un líquido iónico bio-derivado, con el fin de establecer las condiciones óptimas de extracción.
- En el *capítulo 3* se ha abordado la modificación superficial de nanocristales de celulosa para mejorar su compatibilidad con el poli(ácido láctico). Asimismo, se ha investigado la utilización de lactato de colina como medio de reacción. La obtención de los nano-refuerzos se ha realizado a partir de celulosa microcristalina comercial con el fin de garantizar la homogeneidad de la materia prima de partida. Los nanocristales de celulosa se han obtenido mediante hidrólisis ácida utilizando ácido sulfúrico.
- En el *capítulo 4* se ha investigado el efecto sinérgico del grafeno estabilizado por nanocristales de celulosa en la preparación de biocomposites de poli (vinil alcohol). Para estos nanocomposites se han estudiado las propiedades ópticas, térmicas y mecánicas principalmente.

Objetivo y Motivación

- En el *capítulo 5* se ha estudiado el efecto de combinar nanoláminas de grafeno con nanocristales de celulosa en la obtención de films de poli(ácido láctico). Además de las propiedades térmicas y mecánicas, se han evaluado las propiedades barrera a los gases, así como las propiedades anti-fúngicas de los films obtenidos.
- Finalmente, el *capítulo 6* recoge las principales conclusiones obtenidas en cada capítulo de la tesis con el objetivo de realizar un balance general de la investigación llevada a cabo y proponer futuras vías de investigación en los temas en los que se ha trabajado.



IV. Bibliografía

- [1] <http://www.neoteo.com/teoria-del-pico-de-hubbert-el-fin-del-petroleo>
- [2] Abril, A.; Navarro, E. Etanol a partir de biomasa lignocelulósica. Edition: 2012, Publisher: Aleta Ediciones, Editor: Aleta Ediciones, ISBN: 978-84-15225-50-8.
- [3] Yoo, C.; Pu, Y.; Ragauskas, A.J. Ionic liquids: Promising green solvents for lignocellulosic biomass utilization. *Curr Opin Green Sustain Chem* **2017**, 5, 5–11.

1

Introducción

“Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas.”

Marie Curie

1.1. Composición de la biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica procedente de residuos agrícolas y forestales, de la industria papelera y de los cultivos energéticos, constituye una potencial fuente sostenible de combustibles y productos químicos capaces de remplazar los productos derivados del petróleo.

Los materiales lignocelulósicos están compuestos de celulosa, hemicelulosa y lignina, los principales componentes de la pared celular de las plantas [1, 2]. De manera simplificada, se puede decir que cada fibra de celulosa se encuentra embebida en una matriz flexible compuesta principalmente por lignina y hemicelulosa, tal y como se ilustra en la Figura 1.1. El conjunto de todas ellas proporciona rigidez estructural a las paredes celulares de los vegetales.

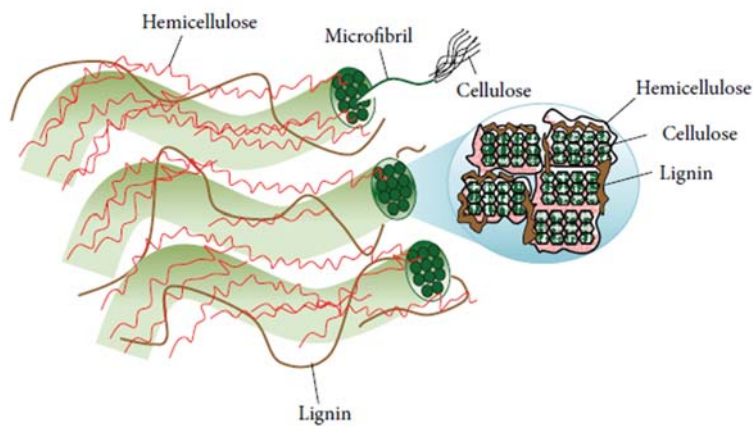


Figura 1.1. Estructura de microfibrillas de celulosa unidas por lignina y hemicelulosa (Scientific World Journal 2014).

La celulosa, identificada por primera vez por Anselm Payen en 1838 [3], es considerada uno de los recursos orgánicos renovables más abundantes de la Tierra y se encuentra no solo en las plantas sino también en bacterias, algas y ciertos animales marinos [4].

Desde un punto de vista de la composición química, este polímero natural consiste en unidades de D-glucopyranosa unidas por enlaces β -1,4 glucosídicos [5]. Se considera que la unidad repetitiva denominada celobiosa está formada por dos anillos de anhidroglucosa. Su estructura se muestra en la Figura 1.2:

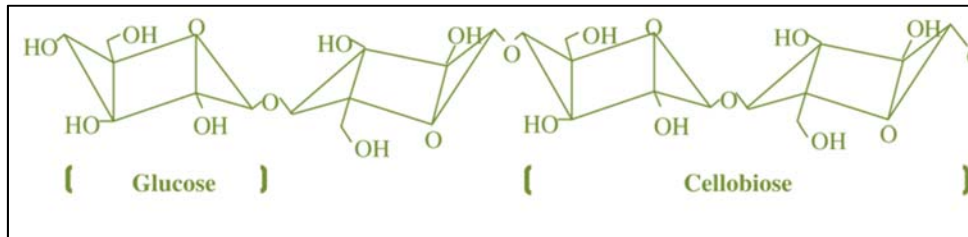


Figura 1.2. Estructura molecular de la cadena de celulosa.

Los otros dos constituyentes de las paredes celulares de las plantas son las hemicelulosas y la lignina. Las hemicelulosas consisten en heteropolisacáridos y juegan un papel crucial en la capacidad de unión de las fibras, es decir, la capacidad para formar enlaces entre las fibras de celulosa. En contraste con la celulosa que es cristalina, fuerte y resistente a la hidrólisis, la hemicelulosa tiene una estructura aleatoria, amorfa y es fácilmente hidrolizable por ácidos o bases diluidos [6, 7].

Por su parte, la lignina es un compuesto químico complejo y el único polímero aromático presente en la biomasa lignocelulósica con un elevado peso molecular (Figura 1.3). La cantidad de lignina en la madera es de 20-35% dependiendo del tipo de especie. Este biopolímero está constituido por unidades fenilpropano, resultantes de la oxidación de tres alcoholes aromáticos: p-cumaril, coniferil y sinapil (los precursores fenilpropánicos de la lignina). Las ligninas difieren en la proporción relativa de los tres monómeros y éstos por su grado de metoxilación.

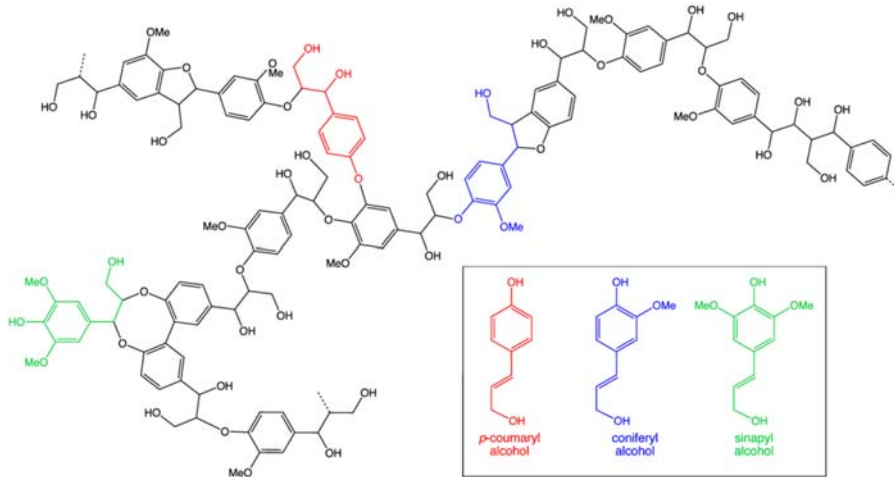


Figura 1.3. Representación esquemática parcial de la molécula de lignina.
Monómeros fenilpropánicos precusores de la lignina [8].

Las propiedades físicas y químicas de la lignina varían no solo entre diferentes especies de madera, sino también de acuerdo con el método de extracción utilizado para su aislamiento. Además, la estructura molecular y los grupos funcionales difieren de un tipo de lignina a otro [9]. Todas estas características de la lignina influirán en el proceso de extracción de la celulosa.

1.2. Estructura de la celulosa

La longitud de las cadenas de celulosa puede variar dependiendo de la fuente o incluso dependiendo de la parte de la planta considerada. Así por ejemplo, la celulosa nativa en la madera tiene un grado de polimerización (GP) de aproximadamente 10.000 unidades de glucopiranosas mientras que las fibras de valonia presentan un GP de 26.000 y en el caso del algodón el GP está alrededor de 15.000 [10, 11].

La molécula de celulosa es lineal y forma fácilmente puentes de hidrógeno inter- e intramoleculares debido a la presencia de tres grupos hidroxilo en su unidad repetitiva. La celulosa es insoluble en agua y en la mayoría de los disolventes orgánicos comunes. Esta insolubilidad se atribuye precisamente a la gran cantidad de

enlaces de hidrógeno intra- e intermoleculares; los primeros hacen que las cadenas de celulosa sean rígidas mientras que los últimos dan lugar a la asociación de cadenas de celulosa en haces cristalinos denominados microfibrillas. Las microfibrillas, que son el componente estructural básico de la celulosa, pueden a su vez agruparse para formar fibras macroscópicas (Figura 1.4). Las microfibrillas individuales pueden tener diámetros que oscilan entre los 2 y los 20 nm [12, 13].

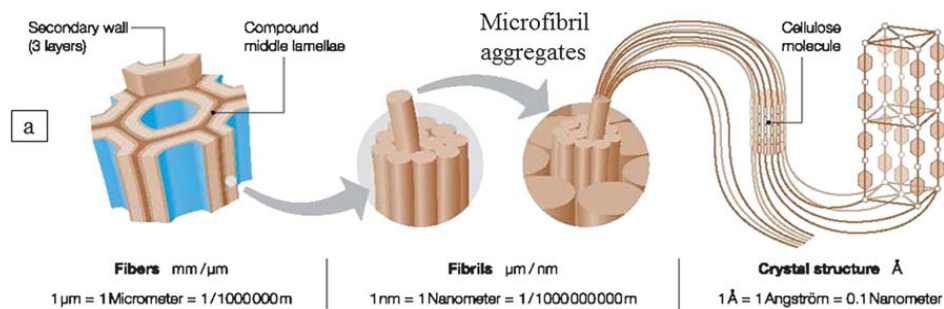


Figura 1.4. Estructura jerárquica de la celulosa [14].

La celulosa está constituida por regiones cristalinas en las cuales hay intercaladas segmentos amorfos. En las regiones cristalinas, las cadenas están altamente empaquetadas formando cristalitas, los cuales están estabilizados por una fuerte interacción de puentes de hidrógeno inter e intramoleculares, dando lugar a polimorfos o alomorfos, es decir, diferentes formas cristalinas, dependiendo de la fuente, el método de extracción o el tratamiento [15]. Así, se han identificado hasta seis polimorfos de la celulosa denominados I, II, III_I, III_{II}, IV_I y IV_{II}.

En su forma nativa la celulosa se denomina celulosa-I. La celulosa regenerada es denominada celulosa II y se obtiene después de la precipitación a partir de su disolución alcalina. Estas dos formas representan los dos principales polimorfos de la celulosa [16, 17], los cuales se pueden interconvertir dependiendo del tratamiento químico y de la fuente (Figura 1.5).

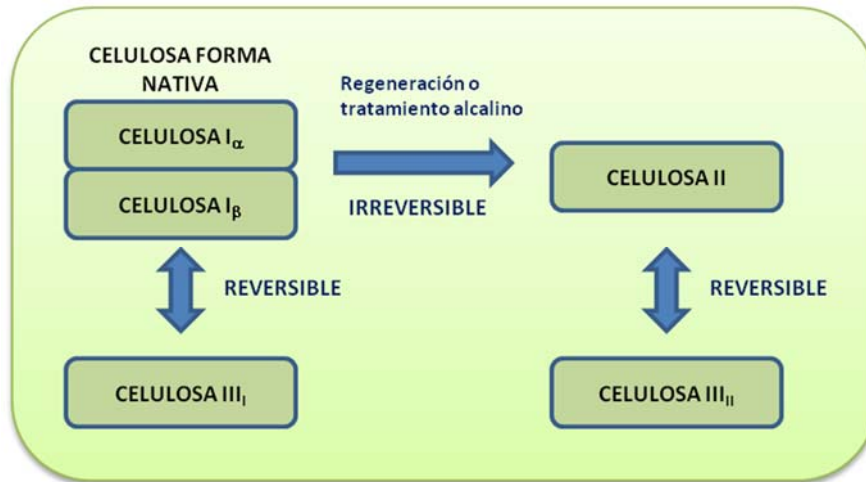


Figura 1.5. Diferentes polimorfos de la celulosa.

1.3. Los raquis de banano como fuente de celulosa

En la primera parte de esta tesis se han utilizado raquis de banano (*Musa paradisiaca*) como fuente de celulosa, los cuales fueron suministrados por la empresa colombiana Banacol. Como se explica a lo largo de esta sección, los raquis de banano constituyen una fuente de celulosa muy valiosa tanto por su disponibilidad como abundancia.

El banano es el segundo mayor cultivo frutal después de los cítricos, con una producción de alrededor del 16% de la producción global de fruta en el mundo. Es una planta de la familia de las herbáceas que se cultiva en unos 130 países a lo largo del trópico y subtrópico de Capricornio [18].

En 2016 la producción de plátano y banano fue de 145 millones de toneladas [19]. La industria platanera produce una gran cantidad de residuos vegetales, pues de esta planta solamente se aprovecha su fruto. El resto, fundamentalmente el raquis o pinzote (parte de la planta que sostiene las bananas) se desecha en grandes cantidades en cada recolección [20].



Figura 1.6. Plantación de bananos (izda.) y raquis procedentes de su cultivo (dcha.).

Se han explorado diferentes alternativas para el aprovechamiento de los raquis, tales como su uso con fines industriales [21, 22], en la preparación de compost y obtención de humus de lombrices [23], lixiviados para su uso como biofertilizantes [24], así como su empleo en alimentación animal y humana [25, 26].

Debido a que el raquis es una parte de la planta con buena densidad de fibra, es posible utilizarlo como materia prima para la obtención de celulosa [21]. En este sentido, diversos autores han analizado la composición química de los raquis de banana como fuente de celulosa, encontrando que su contenido está comprendido entre un 31% y un 48 % en función de la variedad de árbol y de los tratamientos utilizados para la extracción, entre otros factores [27, 18].

La celulosa obtenida de los raquis de banana se ha evaluado para diferentes aplicaciones, tales como materia prima para la obtención de biocombustibles [28, 29], en la obtención de fibras para tableros de madera [30] o como refuerzo en matrices poliméricas termoplásticas tales como el polietileno [31, 32].

Pero sin duda, una de las aplicaciones de la celulosa que más atención ha atraído en los últimos tiempos es el desarrollo de *bionanocomposites*. Este término designa tanto a los nanocomposites en los cuales el nano-refuerzo es de origen renovable y la matriz es un polímero derivado del petróleo [33], como a los nanocomposites en los cuales la matriz es un biopolímero que se combina con nanopartículas sintéticas o

inorgánicas [34, 35]. En este sentido, resultan de especial interés los bionanocomposites formados por la combinación de matrices de origen renovable como el poliláctico (PLA) con nano-refuerzos de origen natural [36], los cuales serán objeto de estudio en los siguientes capítulos de la presente tesis.

1.4. Líquidos iónicos

A pesar de su abundancia y de su potencial para producir energía limpia y productos bio-derivados, la biomasa lignocelulósica es una materia prima compleja y difícil de tratar. Uno de los retos para poder aprovechar íntegramente su potencial como fuente de materia prima renovable es la separación eficiente de sus componentes. Los métodos tradicionales de separación son caros y utilizan gran cantidad de productos químicos. Por ejemplo, el proceso Kraft, utilizado en la industria papelera desde hace más de 100 años, es uno de los más extendidos para la deslignificación de la madera, pero se trata de un proceso que consume gran cantidad de energía, son necesarios gran cantidad de pasos intermedios y requiere el uso de productos químicos y un alto consumo de agua. Asimismo, este proceso da lugar a la fragmentación de la lignina, lo que puede reducir su utilidad como materia prima [37–39]. Otros métodos de pulpeo, los denominados organosolv, están basados en el uso de disolventes orgánicos para disolver la lignina y la hemicelulosa, pero presentan igualmente una serie de inconvenientes, por lo que ninguno de ellos ha sido capaz de reemplazar al proceso Kraft [40].

Por tanto, existe un gran interés en el desarrollo de nuevos disolventes capaces de fraccionar la biomasa lignocelulósica, manteniendo intactas las propiedades de los biopolímeros que la componen [41].

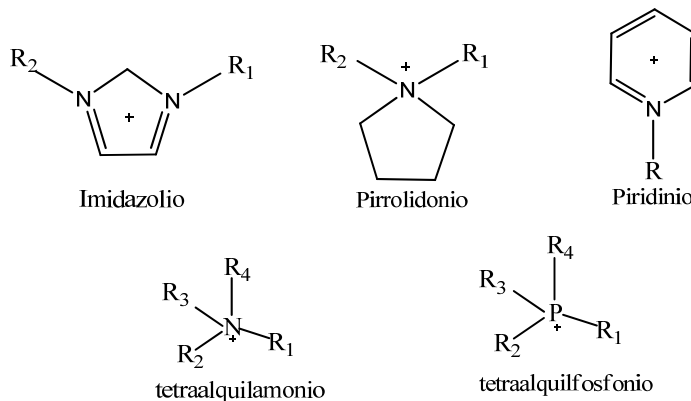
En este sentido, los líquidos iónicos (LIs), sales orgánicas compuestas por iones que funden por debajo de 100 °C, son considerados como disolventes respetuosos como el medio ambiente, debido a su prácticamente despreciable presión de vapor, su alta estabilidad térmica, así como su facilidad para ser reciclados [42]. Estas propiedades los han hecho muy atractivos como alternativa a los disolventes orgánicos

convencionales, volátiles e inestables. Además, los líquidos iónicos presentan otras excelentes propiedades físicas, entre las que se incluyen la capacidad para disolver compuestos polares y apolares de diferente naturaleza, incluyendo compuestos orgánicos, inorgánicos y poliméricos [43].

Esta variedad de propiedades se atribuye a la prácticamente ilimitada combinación de aniones y cationes que pueden utilizarse en la preparación de líquidos iónicos, lo cual lleva a una gran variedad de comportamientos que pueden diseñarse a medida en función de la propiedad deseada. Los líquidos iónicos más conocidos son los basados en los cationes imidazolio, piridinio, pirrolidonio, amonio cuaternario y tetraalquil fosfonio (Figura 1.7).

Como la variedad química de líquidos iónicos ha crecido, los líquidos iónicos se han dividido en varias subcategorías, ampliamente conocidas por su denominación en inglés: room-temperature ILs (RTILs), task-specific ILs (TSILs), Polyionic liquids (PILs) y supported IL membranes (SILMs) [44].

Cationes comunes



Aniones comunes

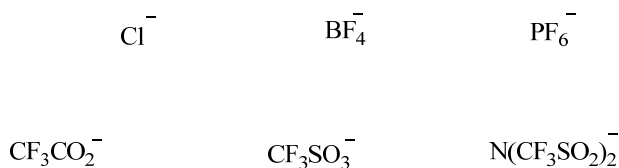


Figura 1.7. Aniones y cationes utilizados en la preparación de líquidos iónicos convencionales.

Algunas de las propiedades más interesantes de los líquidos iónicos en lo que a su utilización como disolventes se refiere son: la temperatura de fusión, la viscosidad, la estabilidad térmica, la polaridad, la miscibilidad con agua y por supuesto la toxicidad [45]. Una de las propiedades más importantes y singulares de los líquidos iónicos es su baja presión de vapor a presiones y temperaturas moderadas. Como su volatilidad es tan pequeña, se les considera disolventes no volátiles. Datos tan importantes en disolventes orgánicos como los valores de la presión de vapor, punto de ebullición, presión crítica o calor de vaporización, entre otros, carecen de interés general en el caso de los líquidos iónicos y por ello no es necesario realizar su determinación.

Temperatura de fusión

La temperatura de fusión (T_m) de los LIs depende enormemente del tipo de anión, ya que el catión tiene una menor influencia. La mayoría de los LIs muestra una transición vítrea, la cual tiene lugar cuando se enfría el líquido hasta formar un sólido amorfo. El material vítreo puede cristalizar por efecto del calor, lo cual va seguido de la fusión de la muestra. Las propiedades térmicas están gobernadas por las fuerzas de Van der Waals y las interacciones electrostáticas, las cuales vienen determinadas por el tamaño del ion, las interacciones por enlaces de hidrógeno y la deslocalización de la carga [45, 46].

Densidad

La densidad es uno de los datos que más se ha medido para la mayor parte de los líquidos iónicos ya que es necesario para cualquier aplicación. En general, son más densos que el agua. La masa molar del anión afecta significativamente a la densidad global del líquido iónico [47]. En el caso de los LIs basados en imidazolio, la densidad del líquido iónico puede modificarse cambiando la longitud del sustituyente del anillo imidazólico. A medida que crece el número de carbonos de la cadena disminuye la densidad [48].

En general, LIs con iones de tamaño similar tienden a ser más densos porque los iones alternantes positivo y negativos pueden empaquetarse de manera más eficiente [48].

Viscosidad

La viscosidad es una propiedad que afecta a la difusión de los solutos y a otros parámetros importantes como la agitación de la mezcla. Los líquidos iónicos son mucho más viscosos que otros disolventes como el agua y su viscosidad es más parecida a la de los aceites. La viscosidad disminuye con la temperatura. La dependencia de la temperatura puede describirse con la ecuación de Arrhenius para cationes asimétricos y sin grupos funcionales en las cadenas laterales, y con la ecuación de Vogel-Tammann-Fulcher para cationes simétricos. En otros casos, no

existen modelos adecuados que describan el comportamiento de la viscosidad con la temperatura [49].

Miscibilidad con el agua

La naturaleza hidrofílica o hidrofóbica de un LI determina sus propiedades de solvatación en otros disolventes, incluido el agua. Muchas aplicaciones requieren el conocimiento del grado de miscibilidad con el agua en lo que se refiere a los procesos de separación de fase o a la posible contaminación del agua residual. La miscibilidad de los LIs en agua depende principalmente de la naturaleza hidrofílica del anión y de la naturaleza hidrofóbica del catión, determinada por la longitud de las cadenas alquílicas [48]. En general la solubilidad en agua disminuye al disminuir la temperatura. Todos los líquidos iónicos son higroscópicos en alguna extensión y absorben agua de la atmósfera.

Toxicidad e impacto ambiental

La toxicidad química en aire se mide mediante la determinación del TLV (time limit value) y el MAC (concentración máxima permisible de un gas, vapor o aerosol en el puesto de trabajo), ambos establecidos para una jornada de trabajo de 8 horas y una semana laboral de 40 horas al que puedan estar expuestos casi todos los trabajadores repetidamente día tras día, sin manifestar efectos adversos. En el caso de los líquidos iónicos, dada su baja presión de vapor, estos indicadores son irrelevantes.

Otro tipo de medidas como las de LD50 (dosis de una sustancia o radiación que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba) son adecuadas para conocer su efectividad cuando se ingieren por la boca o por la piel. Esta medida de la toxicidad pone de manifiesto que hay grandes diferencias entre distintos líquidos iónicos y que sus valores son similares a los obtenidos con disolventes convencionales.

En lo que respecta a su impacto ambiental, la composición estructural de los líquidos iónicos parece ser el factor principal para su biodegradabilidad [50]. Las cadenas no

ramificadas o que contienen grupos hidrolizables (P. Ej. grupos éster) promueven la biodegradabilidad. Asimismo, compuestos sintetizados de fuentes naturales como la colina, los aminoácidos y los ácidos orgánicos pueden también conducir a la biodegradabilidad de los líquidos iónicos. Sin embargo, otros elementos estructurales contribuyen a la formación de líquidos iónicos recalcitrantes a la biodegradabilidad, tales como los cationes N-sustituidos imidazolio, tetrabutilamonio y morfolinio y los aniones ciano y fluoroorgánicos.

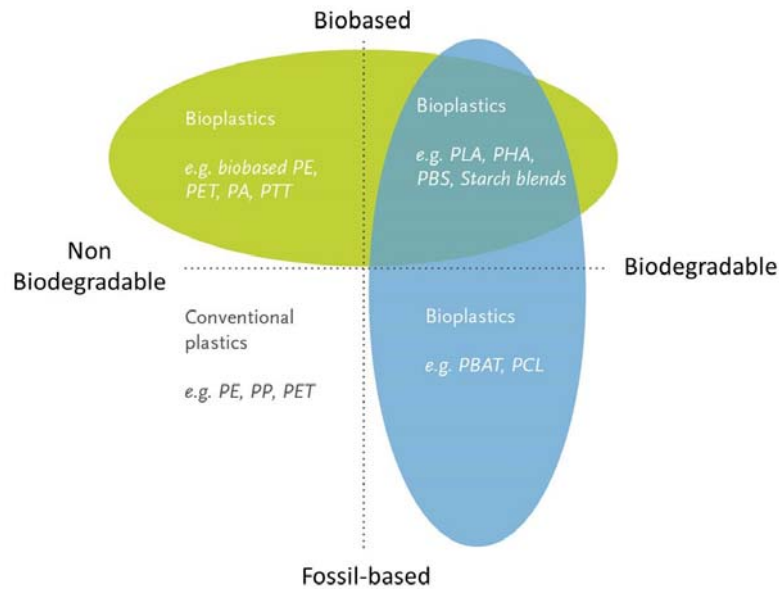
1.5. Bioplásticos y biocomposites

1.5.1. Introducción

En las últimas décadas, el encarecimiento del petróleo y la perspectiva de escasez futura, el creciente interés tanto social como institucional por las cuestiones medioambientales, unido a las restricciones legislativas en esta materia, ha promovido la búsqueda de alternativas al empleo de materias primas de origen fósil con el fin de minimizar el impacto derivado de su utilización a gran escala.

El caso de los plásticos, cuya producción no ha dejado de crecer desde principios de los años cincuenta [51], no es una excepción. Hoy por hoy la industria del plástico utiliza mayoritariamente el crudo de petróleo para la fabricación de estos materiales presentes en nuestra vida cotidiana. Sin embargo, la búsqueda de soluciones más sostenibles ha llevado a investigar en el desarrollo de plásticos procedentes de fuentes renovables. Así, los denominados bioplásticos [52], definidos originalmente como plásticos fabricados total o parcialmente con materias primas de origen renovable, constituyen en la actualidad un campo de interés para múltiples sectores industriales (automoción, construcción, envase y embalaje, etc.). Una definición de bioplásticos más amplia de acuerdo con la European Bioplastic Association [53] es la que incluye en esta categoría no sólo a los materiales derivados de la biomasa, sino también a aquellos que son biodegradables o a los que presentan ambas características simultáneamente. Por lo tanto, entrarían a formar parte de esta definición tanto los plásticos convencionales no biodegradables obtenidos de fuentes

renovables, como es el caso del polietileno o del polietilentereftalato, como aquellos que tienen un origen fósil pero que son biodegradables, como la policaprolactona



(Figura 1.8).

Figura 1.8. Los bioplásticos según la definición de la European Bioplastic Association.

Desde el punto de vista comercial, se trata de un mercado en alza con una tasa de crecimiento de entre un 20 y un 100% en función del sector. Por ejemplo, el sector del envase y embalaje es uno de los que mayor demanda de este tipo de materiales presenta, incluyendo las grandes marcas del sector de la alimentación y bebidas. En 2018, la producción global de bioplásticos fue de unas 3,8 millones de toneladas, de las cuales más del 50% de la demanda correspondió al sector del envase (www.bioplasticsmagazine.com).

Pese a todas las ventajas derivadas del uso de los bioplásticos, siguen existiendo barreras que limitan su uso generalizado:

- **El elevado coste.** El coste de los bioplásticos es en general superior al de los plásticos convencionales procedentes del petróleo, incluso para el mismo tipo

de material. Este es el caso del PE cuyo homólogo de origen renovable tiene un coste unas 5 veces superior al de origen fósil.

- **Las propiedades de los materiales.** Muchos bioplásticos no son capaces de cumplir con los requerimientos necesarios para determinadas aplicaciones, por lo que la sustitución de plásticos convencionales por bioplásticos no siempre es posible desde un punto de vista técnico.
- **El origen de la materia prima.** La fabricación de bioplásticos a partir de materias primas renovables procedentes de cultivos (maíz, caña de azúcar o remolacha azucarera), entra en competencia con la dedicación de los terrenos de cultivo a la alimentación humana y del ganado.

En este contexto, los esfuerzos de la investigación en el campo de los bioplásticos se han encaminado al desarrollo de nuevos materiales capaces de satisfacer las necesidades de cada aplicación, así como a la búsqueda de nuevas fuentes de materias primas que no requieran el uso de cultivos para su producción. Unido a todo ello, la tendencia ha sido la de utilizar procesos sostenibles que aporten un balance positivo en el análisis del ciclo de vida de la producción de estos materiales.

1.5.2. Obtención de bioplásticos

Los bioplásticos derivados de fuentes renovables, pueden ser obtenidos por extracción de la biomasa (almidón, gelatina, quitina, celulosa, etc.), por síntesis química a partir de monómeros obtenidos de la biomasa (ácido láctico y otros poliésteres, aceites vegetales) o bien producidos por microorganismos (polihidroxialcanoatos, etc.). En la actualidad, existe una gran cantidad de bioplásticos que se pueden obtener a partir de fuentes renovables, tal y como se indica en la Figura 1.9.

A pesar de la gran variedad de plásticos bio-derivados, algunos se encuentra todavía en un estado muy temprano de comercialización. En la última década se han realizado grandes esfuerzos en superar las limitaciones técnicas de bioplásticos como

por ejemplo el poliácido láctico. En este caso, se han construido plantas para su producción a gran escala y se han establecido nichos de mercado.

Para otros plásticos biobasados como la poliamida 11 (PA 11) o el polietileno (PE), las tecnologías son relativamente maduras por lo que no ha habido grandes retos técnicos que superar, y los esfuerzos se han centrado en encontrar fuentes de materia prima más competitivas [54].

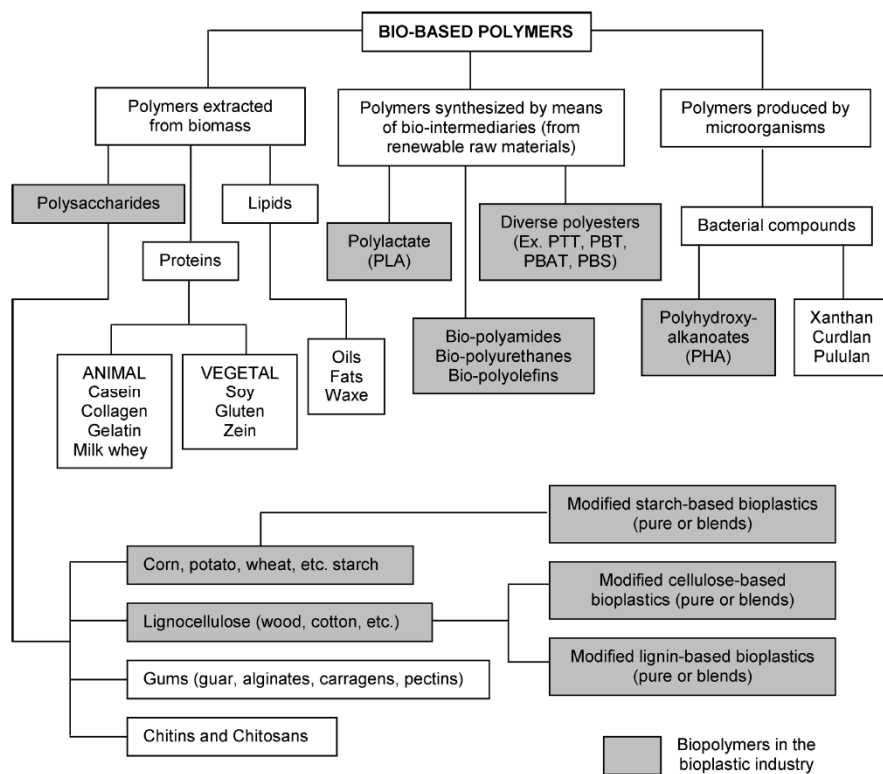


Figura 1.9. Principales polímeros extraídos de la biomasa, sintetizado a partir de intermediarios bio-derivados o producidos por microorganismos.

1.5.3. Preparación de compuestos basados en bioplásticos: obtención de biocomposites

Una de las estrategias más habituales para mejorar las propiedades de un polímero consiste en su modificación mediante la adición de refuerzos, plastificantes, aditivos específicos, cargas, etc., dando lugar a lo que se conoce como *compounds* o compuestos. De esta forma se pueden mejorar, entre otras, las propiedades térmicas y mecánicas de la matriz polimérica, así como añadir algún tipo de funcionalidad al material final, como por ejemplo, retardancia a la llama.

En el caso de los bioplásticos, una manera de superar algunas de las limitaciones inherentes a estos materiales, es la incorporación de refuerzos, y en especial de refuerzos a base de fibras naturales, obteniéndose así lo que se denomina un biocomposite [55, 3]. Las fibras naturales son refuerzos de gran interés debido a sus propiedades, tales como: baja densidad, rigidez y propiedades mecánicas, biodegradabilidad, elevada disponibilidad y por supuesto su procedencia de fuentes renovables. Por su parte, la celulosa, uno de los principales componentes de la pared celular de las plantas, ha sido ampliamente empleada como refuerzo en bioplásticos [56]. Tal y como se ha explicado en secciones previas, este polímero natural está formado por largas cadenas de β -D-glucosa que forman fibrillas [3], agrupaciones con dimensiones de entre 2 y 20 nm de diámetro y microfibrillas formadas por paquetes de fibrillas. Cuando las microfibrillas se someten a los tratamientos mecánicos, químicos o enzimáticos adecuados, se puede eliminar la parte amorfa de la celulosa, dando lugar a la formación de los denominados nanocristales de celulosa [57].

Los nanocristales de celulosa son partículas en forma de “alambre” correspondientes a la parte cristalina de la celulosa. Son conocidos también como nanowhiskers, nanofibras, microcristalitos, etc., si bien nanocristales de celulosa es la nomenclatura más ampliamente aceptada. Comparado con la celulosa, los nanocristales presentan una mayor área superficial, mayor resistencia específica, etc. [15, 58, 59]. Estos nanomateriales se han utilizado para la preparación de biocomposites incorporados a

diferentes matrices biodegradables tales como: el polivinilalcohol [60], el poliácido láctico [61], los polihidroxialcanoatos [62], el quitosano [63] o el almidón [64], entre otras.

1.6. Conclusiones

La biomasa lignocelulósica constituye una fuente potencial y sostenible de combustibles y materias primas para remplazar los productos derivados del petróleo. Sus componentes principales, celulosa, hemicelulosa y lignina, conforman la pared celular de las plantas. La celulosa tiene una estructura fibrilar y su grado de polimerización varía de una planta a otra, e incluso de una parte de la planta a otra. La celulosa está constituida por regiones cristalinas en las cuales hay intercaladas segmentos amorfos. Esta particular estructura abre la posibilidad a un abanico de aplicaciones, entre las que destaca su utilización como refuerzo de matrices poliméricas.

Uno de los requisitos fundamentales para que un residuo pueda ser utilizado como fuente de materia prima es su disponibilidad. En este sentido, la biomasa lignocelulósica es un residuo que se encuentra disponible en grandes cantidades (procedente de la agricultura, la explotación forestal o la industria papelera, entre otras fuentes) y que puede obtenerse en ámbitos geográficos muy diferentes. En la presente tesis se han elegido los raquis de banano como fuente de celulosa, ya que éstos se generan en grandes cantidades durante el cultivo del banano y poseen un alto contenido en celulosa.

Entre los diferentes métodos de extracción de celulosa podemos encontrar métodos tradicionales de pulpeo, como el método Kraft o el denominado organosolv. A pesar de su efectividad en el tratamiento de la lignocelulosa, el uso de estos métodos conlleva una serie de inconvenientes asociados (altos consumos de energía, uso de productos químicos potencialmente tóxicos, uso de disolventes orgánicos volátiles, etc.), lo que ha llevado a la búsqueda de alternativas más sostenibles. Una de las

alternativas más prometedoras es el uso de líquidos iónicos, que por sus características físico-químicas han sido considerados como disolventes “verdes”.

La investigación en el campo de los líquidos iónicos en el tratamiento de la biomasa ha demostrado que son compuestos muy efectivos capaces de disolver completamente la biomasa. No obstante, con el fin de avanzar en este campo, el foco de interés se dirige hacia la búsqueda de compuestos con alta selectividad hacia alguno de los componentes (celulosa o lignina), con el objetivo de maximizar el aprovechamiento de la biomasa utilizada.

En la presente tesis doctoral, se busca utilizar líquidos iónicos, que además de aportar selectividad en la extracción, procedan de fuentes renovables.

Finalmente, una de las aplicaciones más prometedoras de la celulosa es su utilización como refuerzo en la preparación de biocomposites, y más concretamente la utilización de los nanocristales obtenidos a partir de celulosa. En la presente tesis, los nanocristales de celulosa se combinarán con grafeno para crear nano-refuerzos híbridos que serán incorporados en matrices de bioplásticos como el polivinil alcohol y el PLA.

1.7. Bibliografía

- [1] Zhang, M. J.; Qi, W.; Liu, R.; Su, R. X.; Wu, S. M.; He, Z. M. Fractionating lignocellulose by formic acid: characterization of major components. *Biomass Bioenerg.* **2010**, *34*, 525–532.
- [2] Zhang, Y. H. P.; Ding, S. Y.; Mielenz, J. R.; Cui, J. B.; Elander, R. T.; Laser, M.; Himmel, M. E.; McMillan, J. R.; Lynd, L. R. Fractionating recalcitrant lignocellulose at modest reaction conditions. *Biotechnol Bioeng.* **2007**, *97*, 214–223.
- [3] Kalia, S.; Dufresne, A.; Mathew, B.; Cherian, Kaith, B.S.; Avérous, L.; Njuguna, J. Cellulose based bio and nanocomposites – a review. *Int J Polym Sci.* **2011**, 1–35.

- [4] Eichhorn, S. J.; Dufresne, A.; Aranguren, M.; Marcovich, N. E.; Capadona, J. R.; Rowan, S. J.; Weder, C.; Thielemans, W.; Roman, M.; Renneckar, S.; Gindl, W.; Veigel, S.; Keckes, J.; Yano, H.; Abe, K.; Nogi, M.; Nakagaito A. N.; Mangalam, A.; Simonsen, J.; Benight, A. S.; Bismarck, A.; Berglund, L. A.; Peijs T. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *J Mater Sci.* **2010**, *45*, 1–33.
- [5] Rincón, J.M. and Silva, E.E. Bioenergía: Fuentes, conversión y sustentabilidad. Red Iberoamericana de Aprovechamiento de Residuos Orgánicos en Producción de Energía (26 de marzo de 2015).
- [6] Satyanarayana, K.G.; Sukumaran, K.; Mukherjee, P.S.; Pavithran, C.; Pillai, S.G.K. Natural fibre-polymer composites. *Cem. Concr. Compos.* **1990**, *12*, 117–136.
- [7] Rong, M.Z.; Zhang, M.Q.; Liu, Y.; Yang, G.C.; Zeng, H.M. The effect of fiber treatment on the mechanical properties of unidirectional sisal-reinforced epoxy composites. *Compos. Sci. Technol.* **2001**, *61*, 1437–1447.
- [8] <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lignin.png>
- [9] Chen, H. Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice, Chapter 2 Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose © Chemical Industry Press, Beijing and Springer Science & Business Media Dordrecht 2014.
- [10] Sjöström, E. Wood Chemistry Fundamentals and Applications; Academic Press: New York, NY, USA, 1981.
- [11] Daniel, J.R. Cellulose structure and properties. In *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*; Kroschwitz, J.I., Ed.; Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 1985; Volume 3, pp. 86-123.
- [12] Azizi Samir, M.A.S.; Alloin, F.; Dufresne, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 612–626.

- [13] Lu, J.; Askeland, P.; Drzal, L.T. Surface modification of microfibrillated cellulose for epoxy composite applications. *Polymer* **2008**, *49*, 1285–1296
- [14] Tingaut, P.; Zimmermann, T.; Sèbe, G. Cellulose nanocrystals and microfibrillated cellulose as building blocks for the design of hierarchical functional materials. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 20105–20111.
- [15] Habibi, Y.; Lucia, L.A.; Rojas, O.J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3479–3500.
- [16] Dufresne, A. Polymer nanocomposites from Biological Sources. In *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 2nd ed.; Nalwa, H.S., Ed.; American Scientific Publisher: Valencia, CA, USA; in press.
- [17] Siqueira, G.; Bras, J.; Dufresne, A. Cellulosic Bionanocomposites: A Review of Preparation, Properties and Applications. *Polymers* **2010**, *2*, 728–765.
- [18] Mohapatra, D.; Mishra, S.; Sutar, N. Banana and its by-product utilisation: an overview. *J Sci Ind Res.* **2010**, *69*, 323–329.
- [19] <http://www.puertoantioquia.com.co/portal/es/noticias/item/29-produccion-de-banano-en-el-mundo.html>
- [20] Gañán P.; Zuluaga R.; Restrepo, A.; Labidi, J.; Mondragon, I. Plantain fibre bundles isolated from Colombian agro-industrial residues. *Bioresour Technol.* **2008**, *99*(3), 486–491.
- [21] Turrado, J.; Saucedo, A.; Sanjuan, R.; Sulbaran, B. Pinzote de Musa balbisiana y Musa acuminata como fuente de fibras para papel. *Inf. Tecnol.* **2009**, *20*(4), 117–122.
- [22] Ratnaprasad, A.M.; Rao, K.M. Mechanical properties of banana empty fruit bunch fibre reinforced polyester composites. *Indian j. fibre text. res.* **2009**, *34*(2), 162–167.

- [23] Reyes, F.G. Cuantificación de los desechos sólidos de la producción bananera en el Cantón El Guabo. Tesis de Ingeniera Agrónoma. Universidad Técnica de Machala. Machala (Ecuador), 2013, pp77.
- [24] Garcés, H.M. Comparación de la calidad y efectos de lixiviados obtenidos a partir de raquis de banano (*Musa acuminata*) y plátano (*Musa balbisiana*) mediante transformación aeróbica y anaeróbica en condiciones de invernadero. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Universidad del Litoral. Guayaquil, 2010, pp 66.
- [25] Cruz, J.C.; Gutiérrez, G.A. Alimentación de bovinos con ensilado de mezclas de banano de rechazo y raquis en diferentes proporciones. *Avances en Investigación Agropecuaria* **2006**, *10*, 29–39.
- [26] Mazzeo, M.; León, L.; Mejía, L.F.; Guerrero, L.E.; Botero, J.D. Aprovechamiento industrial de residuos de cosecha y poscosecha del plátano en el Departamento de Caldas. *Revista de Educación e Ingeniería* **2010**, *9*, 128–139.
- [27] Mukhopadhyay, S.; Fanguero, R.; Arpaç, Y.; Şentürk, U. Banana Fibers – Variability and Fracture Behaviour. *J Eng Fiber Fabr.* **2008**, *3* (2), 39–45.
- [28] Monica Santa-Maria, M.; Ruiz-Colorado, A. A.; Gaston, C.; Jeoh, T. Assessing the Feasibility of Biofuel Production from Lignocellulosic Banana Waste in Rural Agricultural Communities in Peru and Colombia *Bioenerg. Res.* **2013**, *6*, 1000–1011.
- [29] Padam, B.S.; Tin, H.S.; Chye, F.Y.; Abdullah, M.I. Banana by-products: an under-utilized renewable food biomass with great potential. *J Food Sci Technol.* **2014**, *51*(12), 3527–3545.
- [30] Quintana, G.; Velásquez, J.; Betancourt, S.; Gañán, P. Binderless fiberboard from steam exploded banana bunch. *Ind Crops Prod.* **2009**, *29*, 60–66.
- [31] González-Chi, P. I.; Vázquez-Rodríguez, G.; Gomez-Cruz, R. Thermoplastic composites reinforced with banana (*musa paradisiaca*) wastes. *Int J Polym Mater.* **2002**, *51*, 685–694.

- [32] Ortega, Z.; Benítez, A. N.; Monzón, M.D.; Hernández, P.M.; Angulo, I.; Marrero, M. D. Study of Banana Fiber as Reinforcement of Polyethylene Samples Made by Compression and Injection Molding. *J. Biobased Mater. Bioenergy*. **2010**, *4*(2), 114–120.
- [33] Mohanty, A.K.; Misra, M.; Drzal, L.T.; Selke, S.E.; Harte, B.R.; Hinrichsen, G. Natural fibers, biopolymers, and biocomposites: An introduction. In *Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites*; Mohanty, A.K., Misra, M., Drzal, L.T., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2005.
- [34] Darder, M.; Aranda, P.; Ruiz-Hitzky, E. Bionanocomposites: A new concept of ecological, bioinspired, and functional hybrid materials. *Adv. Mat.* **2007**, *19*, 1309–1319.
- [35] Oksman, K.; Mathew, A.P.; Bondeson, D.; Kvien, I. Manufacturing process of cellulose whiskers/poly(lactic acid) nanocomposites. *Compos. Sci. Technol.* **2006**, *66*, 2776–2784.
- [36] Petersson, L.; Kvien, I.; Oksman, K. Structure and thermal properties of poly(lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposites materials. *Compos. Sci. Technol.* **2007**, *67*, 2535–2544.
- [37] US Department of Energy, *Basic Energy Sciences Workshop: Catalysis for Energy*; Bethesda, MD, United States, August 6-8, 2007.
- [38] Gierer, J. Chemical aspects of kraft pulping. *Wood Sci. Technol.* **1980**, *14*, 241–266.
- [39] Wegner, T. H.; Jones, E. P. In *A Fundamental Review of the Relationships between Nanotechnology and Lignocellulosic Biomass*; Lucian A. Lucia, O. J. R., Ed.; The Nanoscience and Technology of Renewable Biomaterials; Wiley, West Sussex, 2009.

- [40] Sun, N.; Rodriguez, H.; Rahman, M.; Rogers, R.D. Where are ionic liquid strategies most suited in the pursuit of chemicals and energy from lignocellulosic biomass? *Commun.* **2011**, *47*, 1405–1421.
- [41] Tan, S. Y.; MacFarlane, D. R.; Upfal, J.; Edey, L.A.; Doherty, W.O.S.; Patti, A. F.; Pringle J.M.; Scott, J.L. Extraction of lignin from lignocellulose at atmospheric pressure using alkylbenzenesulfonate ionic liquid. *Green Chem.* **2009**, *11*, 339–345.
- [42] Muhammad, N.; Man, Z.; Khalil, M.A.B. Ionic liquid—a future solvent for the enhanced uses of wood biomass. *Eur. J. Wood Prod.* **2012**, *70*, 125–133.
- [43] Lee, S.H.; Lee, S.B. The Hildebrand solubility parameters, cohesive energy densities and internal energies of 1-alkyl-3-methylimidazolium- based room temperature ionic liquids. *Chem Commun.* **2005**, *27*, 3469–3471.
- [44] Lei, Z.; Chen, B.; Koo, Y.; MacFarlane, D. R. Introduction: Ionic liquids. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 6633–6635.
- [45] Laus, G.; Bentivoglio, G.; Schottenberger, H.; Kahlenberg, V.; Kopacka, H.; Röder, T.; Sixta, H. Ionic liquids: current developments, potential and drawbacks for industrial applications. *Lenzinger Ber.* **2005**, *84*, 71–85.
- [46] Stegemann, H.; Rhode, A.; Reiche, A.; Schnittke, A.; Füllbier H. Room temperature molten polyiodides. *Electrochim. Acta.* **1992**, *37*, 379–383.
- [47] Chiappe, C.; Pieraccini, D. Ionic liquids: solvent properties and organic reactivity. *J. Phys. Org. Chem.* **2005**, *18*, 275–297.
- [48] Romero Salvador, A. Líquidos iónicos a temperatura ambiente: un nuevo medio para las reacciones químicas. *Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat.* **2008**, *102(1)*, 79–90.
- [49] Okoturo, O. O.; Vander Noot, T. J. Temperature dependence of viscosity for room temperature ionic liquids. *J. Electroanal. Chem.* **2004**, *568*, 167–181.

- [50] Costa, S.P.F.; Azevedo, A.M.O.; Pinto P.C.A.G.; Saraiva, M.L.M.F.S. Environmental Impact of Ionic Liquids: Recent Advances in (Eco)toxicology and (Bio)degradability. *ChemSusChem*. **2017**, *10*(11), 2321–2347.
- [51] Peinado, M. (2015). Estudio de la biodegradabilidad y desintegración de películas a base de almidón y PVA que incorporan diferentes sustancias antimicrobianas. <http://www.plasticseurope.es/centro-de-conocimiento/sala-de-prensa/comunicados-de-prensa-2014/13-de-mayo-de-2014-la-industria-plastica-mide-medidas-para-incrementar-su-competitividad.aspx>
- [52] Chen, Y.J. Bioplastics and their role in achieving global sustainability. *J. Chem. Pharm. Res.* **2014**, *6*(1), 226-231.
- [53] <http://www.european-bioplastics.org> [Consulta: 08 de octubre de 2019]
- [54] Li Shen, L.; Worrell, E.; Patel, M. Present and future development in plastics from biomass. *Biofuels Bioprod. Bioref.* **2010**, *4*, 25–40.
- [55] Faruka, O.; Bledzka, A.K.; Fink, H.P.; Sain, M. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*(11), 1552–1596.
- [56] George, J.; Sabapathi, SN. Cellulose nanocrystals: synthesis, functional properties, and applications. *Nanotechnol Sci Appl.* **2015**, *8*, 45–54.
- [57] Domingues, R.M.; Gomes, M.E.; Reis, R.L. The potential of cellulose nanocrystals in tissue engineering strategies. *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 2327–2346.
- [58] Chen, Y.; Liu, C.; Chang, P.R.; Cao, X.; Anderson, D.P. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: Effect of hydrolysis time. *Carbohydr Polym.* **2009**, *76*, 607-615.
- [59] Angellier, H.; Molina-Boisseau, S.; Naceur Belgacem, M.; Dufresne, A. Surface Chemical Modification of Waxy Maize Starch Nanocrystals. *Langmuir* **2005**, *21*, 2425-2433.
- [60] Kavien, I.; Oksman, K. Orientation of cellulose nanowhiskers in polyvinyl alcohol. *Appl Phys A Mater Sci Process.* **2007**, *87*, 641–643.
- [61] Bondeson, D.; Oksman, K. Polylactic acid/cellulose whisker nanocomposites modified by polyvinyl alcohol. *Compos Part A Appl Sci Manuf.* **2007**, *38*, 2486-2492.

- [62] Wang, B.; Sain, M. The effect of chemically coated nanofiber reinforcement on biopolymer based nanocomposites. *Bioresources* **2007**, *2*, 371-388.
- [63] Li, Q.; Zhou, J.; Zhang, L. Structure and properties of the nanocomposite films of chitosan reinforced with cellulose whiskers. *J Polym Sci B Polym Phys.* **2009**, *47*, 1069-1077.
- [64] Mathew, A.P.; Dufresne, A. Morphological Investigation of Nanocomposites from Sorbitol Plasticized Starch and Tunicin Whiskers. *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 609–617.

2

Fraccionamiento de raquis de banana mediante la utilización de líquidos iónicos

“La ciencia hace a la gente tratar de luchar desinteresadamente para llegar a la verdad y la objetividad, enseña a la gente a aceptar la realidad, con asombro y admiración, por no mencionar el asombro y alegría que el orden natural de las cosas produce en el verdadero científico.”

Lise Meitner

2.1. Introducción

La biomasa lignocelulósica constituye una fuente renovable tanto de energía como de materias primas, las cuales se pueden obtener a partir de sus componentes principales: lignina, hemicelulosa y celulosa. Así, la lignina puede ser un fuente de compuestos aromáticos y otros derivados, la hemicelulosa puede utilizarse como fuente de xilosa y furfural, mientras que la celulosa puede dar lugar a un amplio rango de productos que van desde el papel y derivados de celulosa hasta su utilización como fuente de azúcares para uso en fermentaciones o en la producción de otros productos químicos de base como el 5-hidroximetilfurfural [1-8].

La aplicación de pre-tratamientos a la lignocelulosa tiene como objetivo la separación de manera fraccionada de sus componentes con el fin de maximizar todo su potencial como fuente de materias primas. Sin embargo, la eficiencia de estos pre-tratamientos se ve afectada por la presencia de lignina, la cual disminuye el valor de los materiales lignocelulósicos en aquellos casos en los cuales los carbohidratos son los que proporcionan la materia prima para la obtención de productos y biocombustibles [9]. Asimismo, la presencia de lignina puede afectar a los procesos posteriores que se aplican a la celulosa, como por ejemplo, la hidrólisis enzimática por celulasas o la fermentación de azúcares para la obtención de bioetanol.

Por tanto, el reto para poder aprovechar todo el potencial de los biopolímeros lignocelulósicos es su separación eficiente, utilizando para ello métodos que además de ser sostenibles mantengan la calidad del producto [10] y sean económicamente viables [11, 12]. Los métodos tradicionales de separación utilizan gran cantidad de productos químicos [1]. Por ejemplo, el método Kraft, utilizado desde hace más de 100 años y que domina el proceso de deslignificación, es un proceso de alto consumo energético debido a que opera a altas presiones y temperaturas, utilizando muchos pasos secuenciales y que requiere de la utilización de gran cantidad de productos químicos y de altos consumos de agua [13-15].

Con el fin de evitar estos inconvenientes, se han desarrollado otros métodos de pulpeo alternativos para extraer la lignina y la hemicelulosa basados en el uso de disolventes orgánicos. Estos métodos, denominados organosolv, presentan sus particulares problemas por lo que no han sido capaces de desplazar al proceso Kraft [16]. Por tanto, existe la necesidad de desarrollar métodos medioambientalmente sostenibles para el fraccionamiento de la biomasa que no comprometan las propiedades de los materiales lignocelulósicos nativos [17].

En este sentido, tal y como se ha descrito en el Capítulo 1, los líquidos iónicos (LIs), sales orgánicas formadas por iones con un punto de fusión por debajo de 100 °C, han mostrado resultados prometedores como disolventes de la celulosa, con muchas ventajas comparados con las aproximaciones tradicionales [18, 19]. Los LIs son muy polares debido a su carácter iónico, dando lugar a una mayor capacidad para disolver la celulosa [20, 21]. Existe un gran número de factores que influyen en la habilidad de los LIs para disolver la celulosa, tales como la baja viscosidad que promueve la disolución debido principalmente al aumento de la movilidad de los iones, el grado de polimerización del biopolímero o la composición del LI. Así, los cationes más efectivos en la disolución de celulosa son los basados en metilimidazolio y metilpiridinio con cadenas laterales que contienen sustituyentes alil-, etil- o butil-. En cuanto a los aniones, los más prometedores para la disolución de la celulosa son el cloruro, el acetato o el formato [21].

Una alternativa novedosa a la disolución total de la biomasa y su posterior regeneración es la disolución selectiva de la lignina utilizando líquidos iónicos [22, 23]. Esta aproximación no requiere de un secado extensivo de la biomasa o de los LIs antes del tratamiento y evita la necesidad de añadir anti-disolventes para la subsiguiente recuperación de la celulosa [10]. A pesar de su efectividad en el proceso de deslignificación, la mayoría de estos líquidos iónicos pueden resultar medioambientalmente tóxicos y tienen una baja biodegradabilidad, además de obtenerse a partir del petróleo [24-26].

En esta misma línea se ha estudiado el potencial de otros líquidos iónicos menos

tóxicos para la extracción selectiva de lignina, basados por ejemplo en el uso de aniones no tóxicos y disponibles a precio competitivo, tales como el acesulfamo [10]. Más recientemente se ha publicado el uso de líquidos iónicos bio-derivados, en los cuales se utiliza como catión la colina (una amina cuaternaria considerada como un nutriente esencial), combinada con diferentes aminoácidos que actúan como aniones. Estos LIs se pueden preparar de manera sencilla mediante una reacción de neutralización y pueden obtenerse a partir de fuentes renovables [27], presentando además un gran potencial como disolventes selectivos de la lignina [28].

En el presente trabajo se ha evaluado la capacidad de diferentes líquidos iónicos para fraccionar los raquis de banana, un residuo agrícola procedente del cultivo del banano, separando la lignina del resto de componentes. Los líquidos iónicos utilizados están formados por cationes derivados del imidazolio y diferentes aniones: tosilato, lactato, acetato, acesulfamo y xilenosulfonato. Asimismo, se ha sintetizado el lactato de colina ([Cho⁺][Lac⁻]), un líquido iónico biodegradable [29, 30] derivado de la colina, del cual se ha estudiado igualmente su capacidad de fraccionamiento de los raquis de banana. Partiendo de este estudio se ha llevado a cabo un diseño experimental con el fin de establecer las condiciones óptimas para la deslignificación de los raquis de banana usando [Cho⁺][Lac⁻].

2.2. Parte experimental

2.2.1. Materiales

Los raquis de banana se recibieron de BANACOL S.A. (Colombia). La composición de los raquis de banana, de acuerdo con la bibliografía es 48.7 % de celulosa, 16.1 % hemicelulosas, 12.2 % lignina y 7.9 % cenizas (peso en seco) [31]. La pasta de celulosa blanqueada procedente de raquis de banana, y utilizada con fines comparativos, se recibió del Grupo de Investigación de Nuevos Materiales de la Universidad Pontificia Bolivariana. Dicha pasta se obtuvo siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía [31] y que, de manera resumida, consiste en un primer tratamiento alcalino de la muestra con el fin de solubilizar las hemicelulosas y algunas partes de

los componentes de la lignina, seguido de un ataque con dióxido de cloro para eliminar la lignina. Posteriormente se realiza otra extracción en medio alcalino para eliminar las hemicelulosas residuales y los compuestos solubles en álcali fruto de la reacción previa. Finalmente se realiza un tratamiento ácido para desmineralizar el material celulósico. La fracción insoluble resultante en cada paso se filtra y se lava con agua hasta pH neutro.

Los líquidos iónicos comerciales (Figura 2.1): acetato de 1-etil-3-metilimidazolio (CAS: 143314-17-4), L-(+)-lactato de 1-etil-3-metilimidazolio (CAS: 878132-19-5), tosilato de 1-etil-3-metilimidazolio (CAS: 328090-25-1) se compraron a Sigma-Aldrich. Los reactivos de partida para la síntesis de otros líquidos iónicos: xilensulfonato de sodio (CAS: 1300-72-7), cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio (CAS: 65039-09-0), cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio (CAS: 79917-90-1), acesulfamato sódico (CAS: 55589-62-3), hidróxido de colina al 46 % en peso en H₂O (CAS: 123-41-1) y acetona (CAS: 67-64-1) se compraron a Sigma-Aldrich y el ácido láctico 90 % en peso en H₂O fue suministrado por GALACTIC (Bélgica). Los disolventes deuterados utilizados en la caracterización por H¹RMN de los líquidos iónicos sintetizados fueron: cloroformo deuterado (CAS: 865-49-6), acetona deuterada (CAS: 666-52-4) y agua deuterada (CAS: 7789-20-0) se compraron a Sigma-Aldrich.

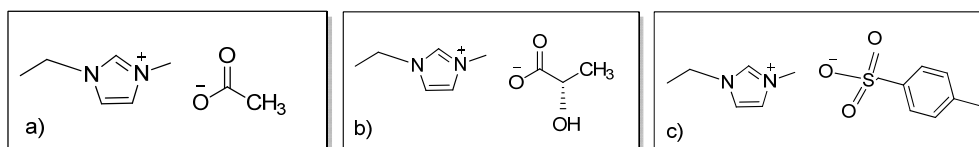


Figura 2.1. Estructura química de los líquidos iónicos comerciales: a) acetato de 1-etil-3-metilimidazolio, b) L-(+)-lactato de 1-etil-3-metilimidazolio y c) tosilato de 1-etil-3-metilimidazolio.

2.2.2. Preparación de los raquis de banana

Antes de su utilización los raquis de banana fueron tamizados utilizando una

tamizadora Analysette 3 de Fritsch, seleccionándose la fracción de 400 micras para llevar a cabo la extracción con los diferentes líquidos iónicos (Figura 2.2).

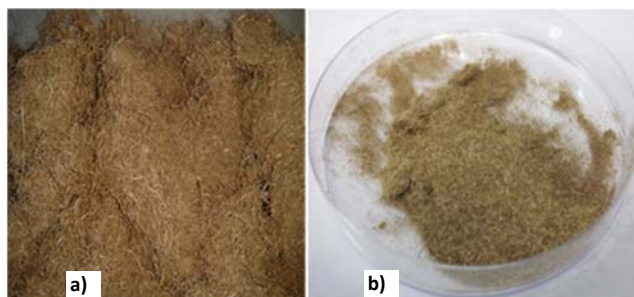
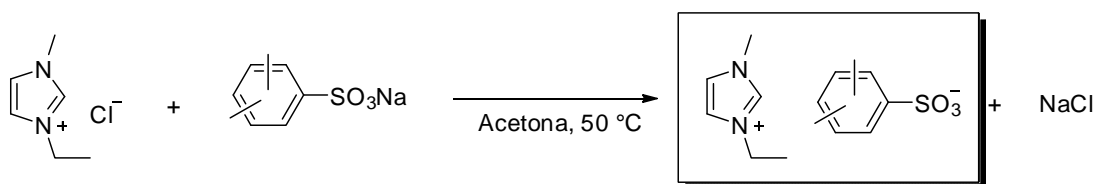


Figura 2.2. Fibras de raquis de banana a) antes de tamizar y b) la fracción tamizada de 400 micras.

2.2.3. Síntesis de líquidos iónicos.

2.2.3.1. Síntesis de xilenosulfonato de 1-etil-3-metilimidazolio [EMIM+][XS-]

En un matraz de 250 ml, se mezclaron el cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio (1 equiv., 100 mmol, 14.66 g) y el xilenosulfonato de sodio (100 mol, 20.80 g) en acetona (100 ml). La emulsión se agitó a 50°C durante toda la noche (Esquema 2.1). Después de este tiempo, la mezcla se enfrió en un baño de hielo y se filtró sobre una placa porosa (nº 4). La fase orgánica se evaporó en el rotavapor y se obtuvo un aceite viscoso, el cual fue analizado por RMN (500 MHz, acetona-d6).



Esquema 2.1. Síntesis del [EMIM+][XS-].

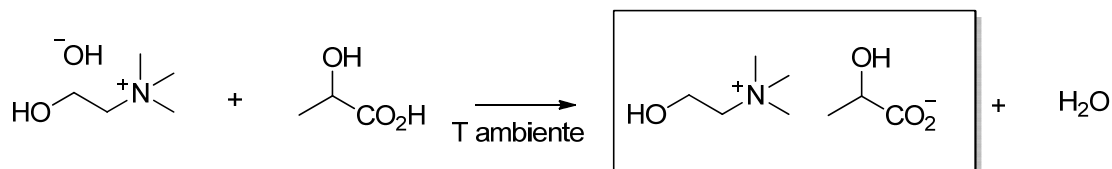
^1H RMN (500 MHz, acetona- d_6): 9.60 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.76-6.86 (m, 3H), 7.70 (s, 1H), 4.30 (q, 2H, $J=7.3$ Hz), 3.95 (s, 3H), 2.58 (s, teórico 3H), 2.22 (s, teórico 3H), 1.43 (t, 3H, 7.3 Hz).



Figura 2.3. Aspecto del $[\text{EMIM}^+][\text{XS}^-]$ sintetizado.

2.2.3.2. Síntesis de lactato de colina $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$

La disolución de hidróxido de colina (15.47 g 46 wt% en agua, 58.74 mmol) y el ácido láctico (5.88 g 90 wt% en agua, 58.74 mmol) se mezclaron a temperatura ambiente. La mezcla se mantuvo agitando toda la noche (Esquema 2.2). Tras la eliminación del agua en el rota vapor se obtuvo un líquido de color amarillento. Rendimiento cuantitativo (11.35 g).



Esquema 2.2. Síntesis de $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$.

^1H RMN (500 MHz, D_2O): δ 4.10 (q, 1H, $J=6.9$ Hz), 4.07-4.04 (m, 2H), 3.51 (t, 2H, $J=5.06$ Hz), 3.20 (s, 9H), 1.32 (d, 3H, $J=6.9$ Hz).

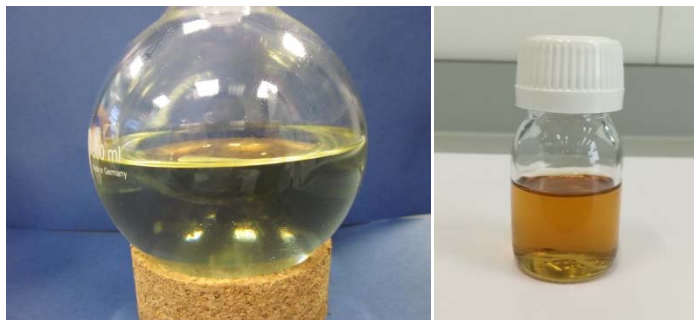
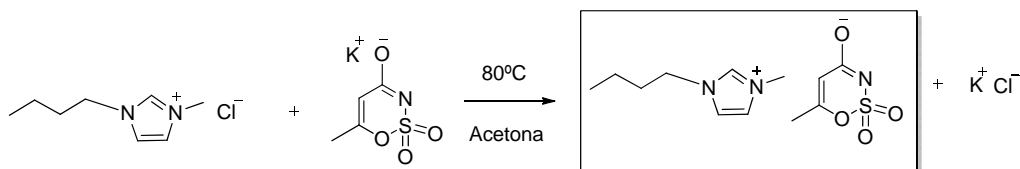


Figura 2.4. $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$ sintetizado.

2.2.3.3. Síntesis de acesulfamato de 1-butil-3 metilimidazolio $[\text{BMIM}^+][\text{Ace}^-]$

14.5 g de acesulfamo sódico se disolvieron en 50 mL de agua desionizada a 80°C . Sobre la disolución se añadieron 10.83 g de cloruro de 1-butil-3metilimidazolio. La disolución se dejó agitando a 80°C durante 24h (Esquema 2.3). El agua se eliminó en el rota vapor y se terminó de eliminar mediante liofilización. Posteriormente se añadieron 75 mL de acetona seca para precipitar el KCl. El producto se filtró en un filtro de poro 4. La disolución se volvió a evaporar para eliminar la acetona. El producto final obtenido era sólido a temperatura ambiente. Se obtienen 17.794 gr.



Esquema 2.3. Síntesis de $[\text{BMIM}^+][\text{Ace}^-]$.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 9.71 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 5.43 (d, 1H, $J=0.8$ Hz), 4.22 (t, 2H, $J=7.4$ Hz), 3.99 (s, 3H), 2.0 (d, 3H, $J=0.8$ Hz), 1.85-1.79 (m, 2H), 1.37-1.29 (m, 2H), 0.91 (t, 3H, $J=7.4$ Hz).



Figura 2.5. Aspecto del [BMIM⁺][Ace⁻] sintetizado.

2.2.4. Extracción con líquidos iónicos

50 mg de raquis de banana previamente tamizados (ver apartado 2.2.2) se colocaron en un vial en presencia en cada caso de 1 g del líquido iónico con el que se realizó la extracción. Las extracciones se llevaron a cabo a 80 °C durante 48 horas. Dependiendo de la interacción entre el líquido iónico y los raquis de banana, durante el proceso de extracción tuvo lugar o bien la total disolución de la lignocelulosa o bien la extracción selectiva de uno de los componentes, en este caso la lignina.

Al finalizar el tiempo de reacción, se añadieron a la disolución 20 mL de NaOH 0.1N manteniendo la agitación durante 45 minutos. El precipitado se separó mediante centrifugación. La celulosa obtenida se lavó varias veces con agua destilada y se centrifugó. Finalmente, se liofilizó para eliminar toda el agua y se procedió a su caracterización.

Por otro lado, cuando el líquido iónico extrajo principalmente la lignina, el vial presentaba un residuo sólido, el cual se recuperó mediante centrifugación. Este sólido se lavó varias veces con agua destilada y se centrifugó. Al igual que en el caso anterior, se liofilizó y se caracterizó.

2.2.5. Diseño de experimentos

Para la realización del diseño de experimentos se utilizó el líquido iónico [Cho⁺][Lac⁻]. El protocolo de extracción fue el mismo que el descrito en el apartado 2.2.4. Se partieron de 50 mg de raquis de banana y, en este caso, la celulosa se obtuvo como un residuo sólido que se recuperó por centrifugación tras el tratamiento con [Cho⁺][Lac⁻] en cada una de las condiciones experimentales establecidas en el diseño de experimentos. Una vez lavada y liofilizada se pesó para calcular el rendimiento del proceso.

El cálculo del rendimiento en tanto por ciento de la extracción (Y) se realizó aplicando la ecuación (1):

$$Y = \frac{(m_0 - m_f)}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

Donde m_0 es la masa inicial de raquis de banana y m_f es la masa final de celulosa tras el proceso de extracción.

El modelo de diseño de experimentos aplicado con el fin de determinar la configuración óptima para cada factor es un diseño de superficie de respuesta. Este modelo usa una serie de puntos alrededor de uno central y varios puntos adicionales para estimar los términos de interacción de primer y segundo orden de un polinomio [32].

La correlación entre las variables independientes y la respuesta fue expresada en función de los términos de un polinomio de segundo orden (ecuación 2):

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n b_i X_{ni} + \sum_{i=1}^n c_i X_{ni}^2 + \sum_{i=1; j=1}^n d_{ij} X_{ni} X_{nj} \quad (i < j) \quad (2)$$

Donde

$$X = 2 \frac{X - \bar{X}}{X_{max} - X_{min}} \quad (3)$$

Y , es la variable dependiente (rendimiento), X_n son las variables independientes (X_T temperatura, X_t tiempo y X_c cantidad de líquido iónico) normalizadas desde -1 a +1 y a_0 , b_i , c_i y d_{ij} son constantes. X , es el valor experimental de la variable correspondiente; \bar{X} es el valor promedio de la variable; X_{max} y X_{min} son los valores

máximo y mínimo de dicha variable. Las variables independientes se evaluaron a tres niveles: un nivel de -1 fue asignado al más bajo, de 0 al medio y +1 al más alto, tal y como aparece en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Niveles de cada factor y valores codificados.

Variables	Valores codificados		
	-1	0	1
Temperatura (°C)	80	110	150
Tiempo (horas)	20	34	48
Cantidad de líquido iónico (g)	1	1,25	1,5

Los resultados experimentales se sometieron a un análisis de regresión usando el programa STATGRAPHICS. Los valores de las variables independientes para los 27 experimentos del diseño experimental, más dos repeticiones del experimento central para medir el error del método, se muestran en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Condiciones experimentales aplicadas a la extracción de lignina con [Cho⁺][Lac⁻].

Experimento	X_T	X_t	X_c	Experimento	X_T	X_t	X_c
1	1	1	0	16	0	0	-1
2	0	0	0	17	-1	1	-1
3	-1	0	-1	18	0	1	1
4	-1	-1	0	19	1	0	1

5	-1	0	0	20	1	0	0
6	-1	-1	1	21	1	-1	1
7	-1	1	0	22	1	1	1
8	1	-1	-1	23	1	1	-1
9	-1	0	1	24	0	-1	1
10	-1	-1	-1	25	0	1	-1
11	-1	1	1	26	0	0	1
12	1	0	-1	27	0	-1	0
13	0	1	0	28	0	0	0
14	0	-1	-1	29	0	0	0
15	1	-1	0				

2.3. Métodos de caracterización

2.3.1. Caracterización de la viscosidad

La determinación de la viscosidad de los líquidos iónicos se llevó a cabo en un reómetro de platos paralelos AR2000 EX de TA Instruments empleando un plato de 40 mm de diámetro. Las medidas se realizaron a presión atmosférica y 20 °C realizando un barrido de velocidad de cizalla. Al tratarse de líquidos newtonianos la viscosidad se ha tomado como el promedio de la recta (constante) obtenida en el ensayo.

2.3.2. Caracterización morfológica

La morfología de los raquis de banana fue analizada por microscopía óptica utilizando

un microscopio Motic Digital en modo transmitancia a unos aumentos de 50x.

2.3.3. Caracterización por FTIR

La identificación de los componentes mayoritarios de los raquis de banana triturados, los productos obtenidos tras la extracción con líquidos iónicos así como los propios líquidos iónicos se llevó a cabo en un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) Nicolet Avatar 360 equipado con un reflector de ATR. Los espectros de infrarrojo se recogieron con una resolución de 2 cm^{-1} y se realizaron 32 barridos.

2.3.4. Caracterización térmica

La estabilidad térmica de los diferentes líquidos iónicos utilizados y de los raquis de banana se investigó utilizando el análisis termogravimétrico (TGA) y se llevó a cabo en una termobalanza a una velocidad de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ en presencia de nitrógeno, desde temperatura ambiente hasta 600°C en el caso de los líquidos iónicos y hasta 1000°C en el caso de los raquis de banana.

2.3.5. Caracterización por RMN ^1H de los LIs

Los espectros de RMN ^1H se registraron en un espectrómetro Bruker AVANCE III 500 MHz.

2.3.6. Caracterización estructural

Los patrones de difracción de rayos X correspondientes a: i) los raquis de banana antes de la extracción; ii) la celulosa obtenida tras el proceso de extracción con los diferentes líquidos iónicos y iii) la pasta de celulosa procedente de raquis de banana, se recogieron en un difractómetro de rayos X (XRD) de Bruker AXS-D8 Advance con radiación Cu Ka. Las medidas se llevaron a cabo a valores de 2θ comprendidos entre 5° y 40° .

2.4. Resultados y discusión

2.4.1. Viscosidad de los líquidos iónicos

Los datos de viscosidad a 20 °C de cada líquido iónico se muestran en la Tabla 2.3. Tal y como se observa en dicha tabla, en función de la naturaleza del anión y del catión existe una gran diferencia en la viscosidad de los diferentes líquidos iónicos estudiado. Así, para un mismo catión ([EMIM⁺]) la diferencia de anión da lugar a viscosidades muy diferentes como es el caso del acetato o lactato (de estructura similar) frente al xilenosulfonato o tosilato. En el caso del [Cho⁺][Lac⁻], éste presenta la viscosidad más baja de todos los LIs estudiados.

Tabla 2.3. Viscosidad de los diferentes LIs.

Líquido iónico	η (mPa.s)
[EMIM ⁺][Tosy ⁻]	5214
[BMIM ⁺][Ace ⁻]	800
[EMIM ⁺][XS ⁻]	258
[EMIM ⁺][Lac ⁻]	175
[EMIM ⁺][Ac ⁻]	162
[Cho ⁺][Lac ⁻]	112

2.4.2. Caracterización de los raquis de banana

Los raquis de banana proporcionados por BANACOL fueron caracterizados morfológica, físico-química y térmicamente mediante microscopía óptica, espectrometría de FTIR y análisis termogravimétrico respectivamente.

2.4.2.1. Morfología de los raquis

Los raquis de banana triturados presentaban un color marrón con fibras enmarañadas, tal y como se puede observar en la Figura 2.6-a. Mediante microscopía óptica (Figura 2.6-b) se determinó que las fibras tenían un diámetro promedio de $44.5 \mu\text{m}$ y una gran dispersión de tamaños, lo cual podía afectar tanto a la penetración del extractante como a la velocidad de extracción [33].

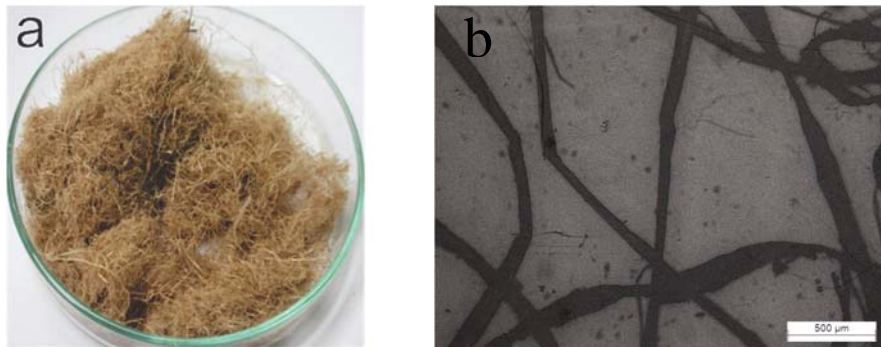


Figura 2.6. Raquis de banana triturados a) fotografía de los raquis recibidos de Banacol y b) imagen de los raquis triturados obtenida por microscopía óptica a 50x.

Para determinar la polidispersidad de tamaños de partícula, se llevó a cabo un tamizado de los raquis de banana triturados, utilizando desde un tamaño de malla número 4 hasta una malla número 400 (estándar ASTM E11:01). Los resultados de este cribado se muestran en Figura 2.7.

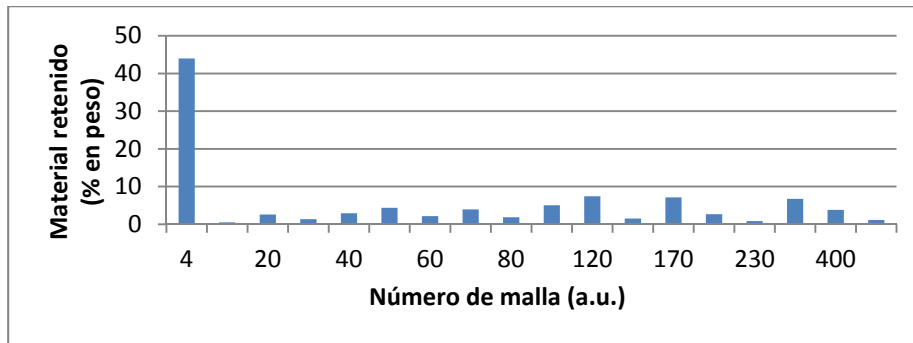


Figura 2.7. Análisis del tamaño de partícula correspondiente a los raquis de banana triturados.

De acuerdo con los resultados mostrados en la Figura 2.7, cerca del 45% del material quedó retenido en la malla de 4, correspondiente a las fibras más largas. El resto se distribuyó entre las diferentes mallas en porcentajes diferentes desde el 0.5% hasta el 7%. Es importante destacar que la principal diferencia entre las distintas fracciones es la longitud de la fibra pero no su diámetro.

Con el fin de evitar diferencias en la extracción debido a la polidispersidad de la longitud de las fibras, se seleccionó la fracción correspondiente al material tamizado que pasaba por la malla de 40 pero no por la de 50.

2.4.2.2. Caracterización de los raquis de banana mediante FTIR

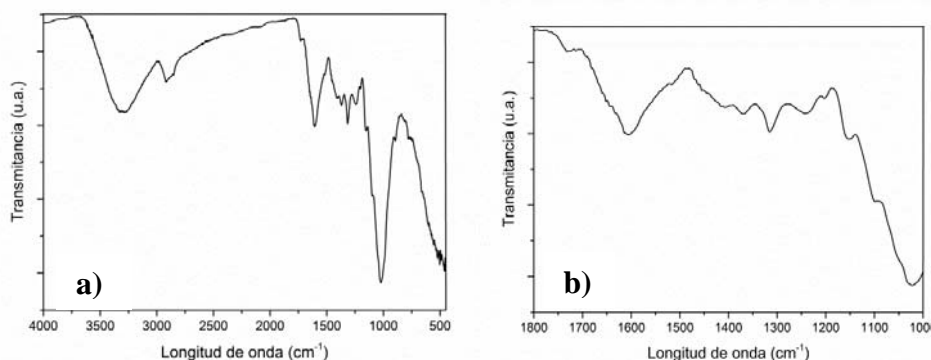


Figura 2.8. Espectros de FTIR de raquis de banana triturados: a) rango de 4000 a 400 cm^{-1} y b) ampliación del rango de 1800 a 1000 cm^{-1} .

La Figura 2.8a muestra las bandas correspondientes a la estructura de la lignina y a las de los carbohidratos presentes en los raquis de banana. Así, en la región de 3300-3000 cm^{-1} aparecen las bandas de tensión correspondientes a los grupos -OH ; a 2919 cm^{-1} aparece el pico característico asociado a la vibración de los grupos -CH de la celulosa y la hemicelulosa; el pico a 1415 cm^{-1} corresponde a la vibración de flexión del $\text{C}_6\text{-CH}_2$ debida a la deformación de aleteo o *wagging*; a 1370 cm^{-1} se encuentra la banda correspondiente a la deformación en el plano del grupo -CH ; 1155 cm^{-1} es la tensión anti-simétrica del C-O-C ; 1035 cm^{-1} es la vibración de tensión de C-O/C-C en el $\text{C}_6\text{-H}_2\text{-O}_6$ y el pico a 896 cm^{-1} corresponde al enlace β -glucosídico y 661 cm^{-1} a la flexión fuera del plano de los grupos -OH .

Por su parte en la Figura 2.8b se muestra la zona ampliada de 1800 a 1000 cm^{-1} donde aparecen las bandas de vibración correspondientes a la lignina. Así, la banda situada a 1731 cm^{-1} corresponde a la tensión del grupo -C=O , a 1644 cm^{-1} se encuentra la banda de tensión del enlace C=C del anillo aromático y a 1250 cm^{-1} la

banda correspondiente a la tensión del grupo -C-O- en la unión éter de la lignina [34-36].

2.4.2.3. Caracterización térmica de los raquis de banana

El termograma correspondiente a los raquis de banana triturados muestra una deshidratación inicial desde 60 °C hasta 100 °C, tal y como se observa en la Figura 2.9.

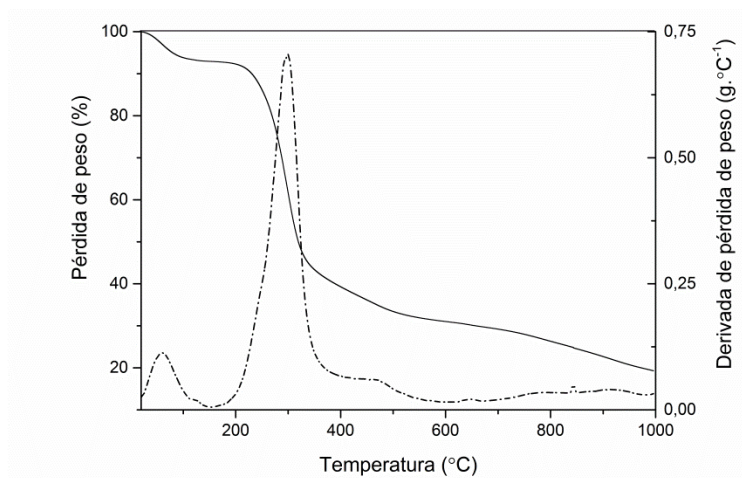


Figura 2.9. Análisis termogravimétrico de los raquis de banana triturados.

En la misma figura se observa un pequeño pico de degradación en torno a 133 °C, asociado a la pérdida de agua unida a la muestra. Posteriormente aparece un pico más ancho que comienza hacia 176 °C con un máximo a 293 °C y un pequeño hombro a 249 °C [37]. El pico máximo corresponde a la temperatura de descomposición de la celulosa, mientras que las pectinas y hemicelulosa se degradan a temperaturas inferiores [38]. Por otro lado, la lignina puede presentar un rango de temperatura de degradación que va desde los 200 °C hasta los 700 °C, dependiendo de la fuente de obtención y de su estructura [39-40]. Su descomposición aparece como una pérdida de peso después del punto máximo de degradación hacia 464 °C y supone

aproximadamente una pérdida de peso del 25%.

2.4.2.4. Caracterización térmica de los LIs

En la Figura 2.10 se muestran los termogramas correspondientes a la estabilidad térmica de los diferentes líquidos iónicos estudiados. La mayoría de los líquidos iónicos presentaban una pérdida de peso inicial (hasta 150 °C) que podría atribuirse a la pérdida de agua absorbida, seguida generalmente de un salto principal de descomposición (con la excepción del [EMIM⁺][Tosy⁻] y el [BMIM⁺][Ace⁻]).

En la Tabla 2.4 se muestra tanto la temperatura a la cual comienza la degradación (T_{Onset}) como la temperatura a la cual la velocidad de descomposición es máxima ($Td_{máx}$). En este caso para los LIs formados por [EMIM⁺], la mayor estabilidad térmica, atendiendo tanto a la T_{Onset} como a la $Td_{máx}$, corresponden al [EMIM⁺][XS⁻] y al [EMIM⁺][Tosy⁻], mientras que la menor estabilidad térmica corresponde al [EMIM⁺][Ac⁻] y [EMIM⁺][Lac⁻], en concordancia con los resultados encontrados en la bibliografía [41]. Por su parte el [BMIM⁺][Ace⁻] y el [Cho⁺][Lac⁻] presentan una estabilidad térmica muy similar.

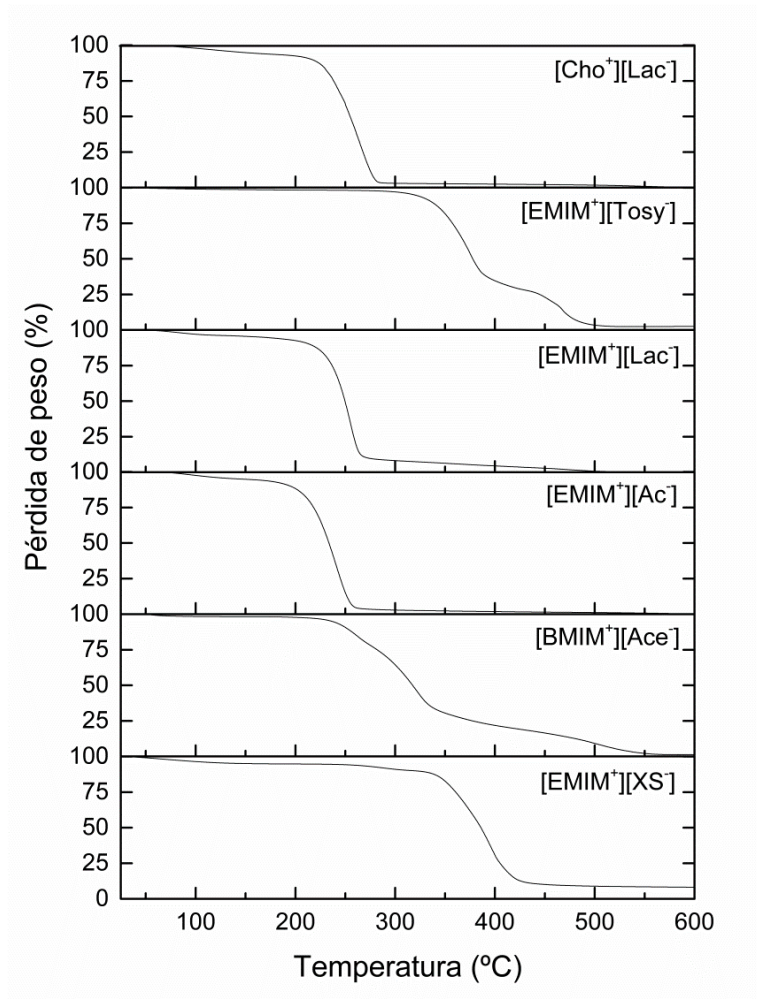


Figura 2.10. Estabilidad térmica dinámica de los LIs.

En general, la estabilidad térmica de los LIs depende de varios factores: su estructura, tipo de catión y anión, sustitución del catión, etc. De acuerdo con la bibliografía, el anión juega el papel más importante en la estabilidad térmica del líquido iónico. Se ha visto que la estabilidad térmica de los LIs con diferentes aniones está relacionada con la naturaleza coordinadora del anión, la nucleofilicidad y la hidrofobicidad. Por

otro lado, los LIs basados en imidazolio son más estables que los basados en otros cationes como el tetralquilamonio [41].

Otros factores como la presencia de contaminantes (como el agua o los haluros), las condiciones experimentales (tipo de atmósfera, velocidad de ensayo, peso de la muestra, etc.) pueden tener también un efecto relevante en la estabilidad térmica obtenida experimentalmente.

Tabla 2.4. Estabilidad térmica en aire de los diferentes líquidos iónicos utilizados en la extracción.

Líquido iónico	T_{Onset} (°C)	$Td_{máx}$ (°C)
[EMIM ⁺][Ac ⁻]	201	241
[EMIM ⁺][Lac ⁻]	225	255
[BMIM ⁺][Ace ⁻]	225	262
[Cho ⁺][Lac ⁻]	224	263
[EMIM ⁺][Tosy ⁻]	321	375
[EMIM ⁺][XS ⁻]	334	396

Teniendo en cuenta que la temperatura de extracción se encuentra muy por debajo de las temperaturas de descomposición de los líquidos iónicos seleccionados, no se espera que se vaya a producir una degradación de los mismos durante el proceso de extracción.

2.4.3. Fraccionamiento de los raquis de banana

Tal y como se recoge en la literatura científica, algunos líquidos iónicos tienen la capacidad de disolver completamente la lignocelulosa, mientras que otros son más selectivos con alguno de sus componentes (generalmente la lignina). Del mismo modo, en el presente trabajo, la extracción de celulosa se ha producido siguiendo

uno u otro proceso, dependiendo de la capacidad del líquido iónico utilizado para extraer la lignina o disolver completamente la biomasa (Figura 2.11).

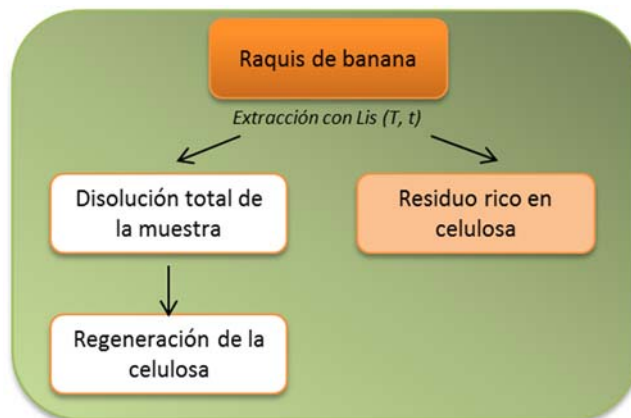


Figura 2.11. Diferentes procesos de obtención de celulosa mediante el uso de Lis.

La extracción con líquidos iónicos se llevó a cabo a 80 °C durante 48 horas. Los rendimientos obtenidos, así como el tipo de proceso de extracción (disolución total de los raquis o extracción selectiva) se muestran en la Tabla 2.5.

Tabla 2.5. Fraccionamiento de raquis de banana.

Líquido iónico	Extraído (% en peso)	Residuo celulósico (% en peso)	Proceso de extracción
[EMIM ⁺][Lac ⁻]	16.2	81.4	Disolución total
[BMIM ⁺][Ace ⁻]	13.4	80.1	Extracción de lignina
[Cho ⁺][Lac ⁻]	15.8	77.4	Extracción de lignina
[EMIM ⁺][XS ⁻]	4.8	61.2	Extracción de lignina
[EMIM ⁺][Tosy ⁻]	4.4	52.8	Extracción de lignina
[EMIM ⁺][Ac ⁻]	8.3	47.6	Disolución total



Figura 2.12. Raquis de banana (izda.) y residuo rico en celulosa (dcha.) después de la extracción en $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$.

En primer lugar, cabe destacar que el $[\text{EMIM}^+][\text{Lac}^-]$ y el $[\text{EMIM}^+][\text{Ac}^-]$ disuelven totalmente los raquis de banana, mientras que el resto de líquidos iónicos estudiados dan lugar a una deslignificación de los mismos. La disolución de la celulosa mediante la utilización de LIs ha sido ampliamente estudiada. Es sabido que los líquidos iónicos debido a su carácter iónico, son altamente polares, lo cual da lugar a una gran capacidad para disolver biopolímeros como la celulosa. Existen además otros factores que pueden afectar a la capacidad de los LIs para disolver la celulosa, tales como una baja viscosidad, la cual favorece la movilidad de los iones, o el peso molecular del biopolímero en cuestión [42].

Tanto los cationes como los aniones parecen estar involucrados en la disolución de la celulosa, a través de las interacciones por puentes de Hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la celulosa y los iones presentes en el LI. Así, los cationes que mejor disuelven la celulosa son los basados en metil-imidazolio y metil-piridinio [43-45]. En cuanto a los aniones, los líquidos iónicos más prometedores en la disolución de la celulosa de acuerdo con la bibliografía son los basados en cloruro, acetato, formato y

lactato, cuya capacidad de disolución es atribuida a su fuerte interacción con los grupos —OH de la celulosa. Se cree que los iones, especialmente los aniones de los LIs pueden romper los enlaces de hidrógeno inter- e intra-moleculares de la celulosa [46].

Sin embargo, en función de la aplicación final, resulta de especial interés la extracción selectiva de la lignina ya que por un lado, ésta es un fuente renovable de compuestos aromáticos y combustibles y, por otro, la celulosa obtenida tras la deslignificación puede mantener su estructura cristalina y por tanto sus propiedades. Así los líquidos iónicos estudiados que dan lugar a una extracción selectiva de la lignina son el [BMIM⁺][Ace⁻], el [Cho⁺][Lac⁻], el [EMIM⁺][XS⁻] y el [EMIM⁺][Tosy⁻]. De estos, y tal y como se aprecia en la Tabla 2.5, aquellos líquidos iónicos con los cuales se obtiene un mayor rendimiento (residuo rico en celulosa >75%), son el [BMIM⁺][Ace⁻] y el [Cho⁺][Lac⁻]. Igualmente, son estos mismos LIs los que mayor porcentaje de lignina extraen.

A pesar de que los mecanismos de disolución de la lignina no son todavía bien entendidos, se ha propuesto que las fuerzas primarias que promueven la disolución de la lignina en un disolvente (incluyendo los LIs) son, por un lado, la formación de enlaces de H y, por otro, las interacciones no covalentes π - π entre la lignina y el disolvente.

Según la bibliografía son los aniones de los LIs los que dominan el comportamiento de disolución. Para una serie de LIs basados en imidazolio, se comprobó que los aniones conteniendo azufre eran más potentes disolviendo lignina Kraft que los cloruros y los bromuros, y que aniones como el tetrafluoroborato y el hexafluorofosfato no eran capaces de disolverla. Asimismo, se ha comprobado que existen LIs cuyos aniones no disuelven la celulosa, tales como como el [EMIM⁺][XS⁻]o el [BMIM⁺][Ace⁻]. En este último caso se ha postulado que aniones con carga deslocalizada como [Ace⁻] no disuelven la celulosa y se espera que interactúen con la lignina debido a su carácter aromático [42, 47].

Otros factores, como la viscosidad, pueden favorecer el proceso de extracción, ya que a menor viscosidad, mejor será la mojabilidad de la materia prima por parte del líquido iónico. Así la menor viscosidad del $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$ (112 mPa.s) podría favorecer la extracción de la lignina, si la comparamos por ejemplo con el $[\text{BMIM}^+][\text{Ace}^-]$ (800 mPa.s).

2.4.4. Caracterización de la celulosa obtenida

2.4.4.1. Análisis por FTIR

La Figura 2.13 muestra los espectros de IR de la celulosa obtenida con cada uno de los líquidos iónicos utilizados. Se ha incluido con fines comparativos la celulosa procedente de pulpeo.

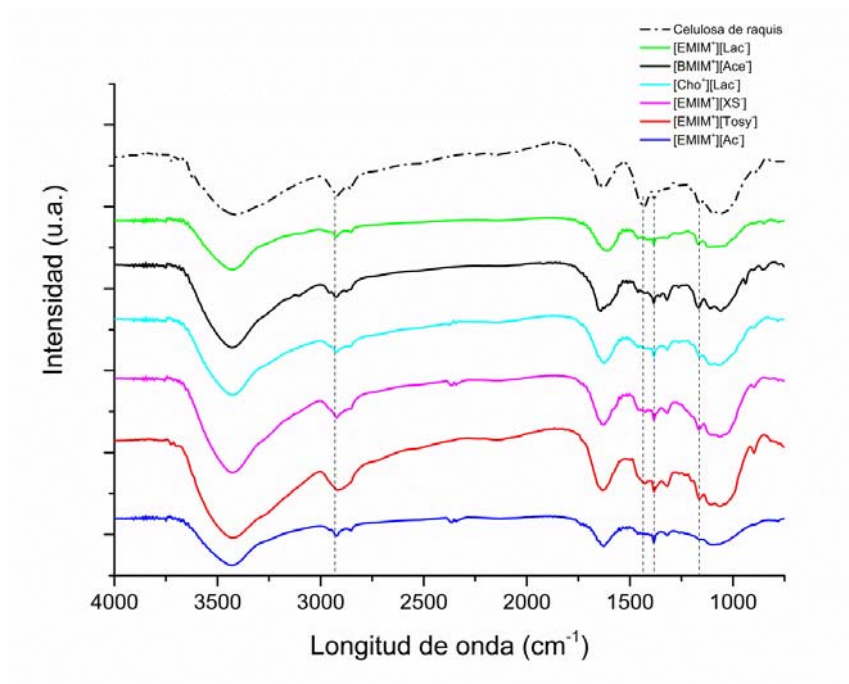


Figura 2.13. Espectros de IR correspondientes a la celulosa procedente de pulpeo y la obtenida con los diferentes LIs.

Tal y como se puede observar, la celulosa obtenida tras el tratamiento con los diferentes LIs presenta las bandas características de la celulosa descritas en el apartado 2.4.2.2. Estas bandas son principalmente las que aparecen a 3300-3000 cm^{-1} de los grupos $-\text{OH}$, el pico característico a 2919 cm^{-1} , la vibración de flexión del $\text{C}_6\text{-CH}_2$ a 1415 cm^{-1} , deformación del grupo $-\text{CH}$ a 1370 cm^{-1} y tensión del C-O-C a 1155 cm^{-1} .

2.4.4.2. Análisis por espectroscopía de rayos-X

En la Figura 2.14 se muestra la caracterización por Rayos-X de la celulosa obtenida para cada líquido iónico y condiciones de extracción de manera comparativa con la pasta de celulosa blanqueada. En dicha figura se pueden observar los picos característicos de la celulosa picos en forma de hombro alrededor de 14° y 16° y un pico más estrecho e intenso tipo I (dos alrededor de 22° [48]). Estos picos se mantienen en el caso de la celulosa obtenida mediante la extracción selectiva de la lignina, mientras que en aquella celulosa obtenida por regeneración tras su disolución en el correspondiente líquido iónico (celulosa extraída utilizando $[\text{EMIM}^+][\text{Lac}^-]$ y el $[\text{EMIM}^+][\text{Ac}^-]$) dicha estructura se ha perdido y los picos característicos no aparecen bien definidos.

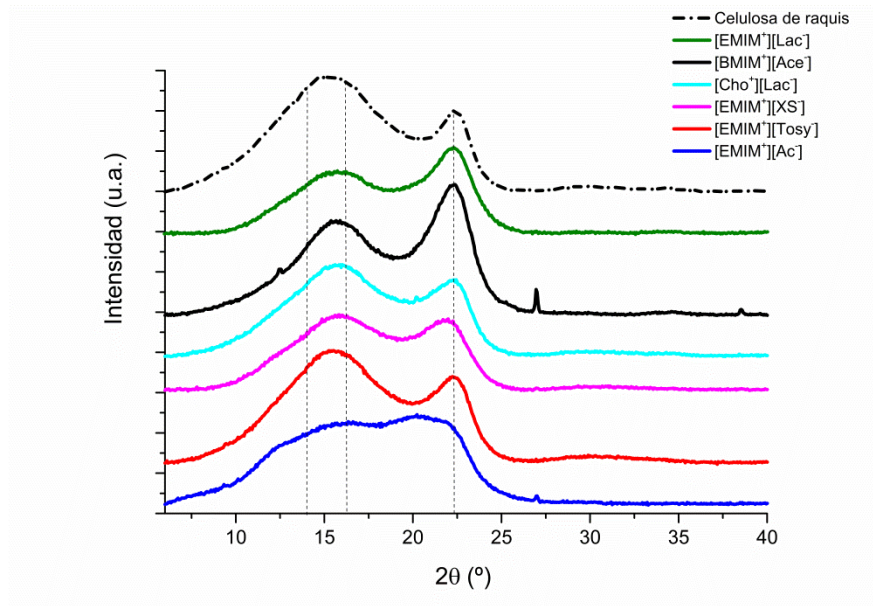


Figura 2.14. Caracterización por rayos X de la celulosa aislada utilizando diferentes líquidos iónicos.

2.4.5. Diseño de experimentos

El diseño de experimentos (DOE, *design of experiments*) es una técnica estadística que permite identificar y cuantificar las causas de un efecto dentro de un estudio experimental. En un diseño experimental se manipulan deliberadamente una o más variables, vinculadas a las causas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés. La Tabla 2.6 muestra los resultados del rendimiento obtenido para cada uno de los experimentos.

Tabla 2.6. Resultado del DOE.

Experimento	Y (%)	Experimento	Y (%)
1	47,4	16	56,8
1	42,8	16	51,4
2	50,8	17	43,0
2	50,6	17	57,6
3	28,4	18	42,0
3	27,8	18	44,8
4	45,0	19	15,8
4	45,4	19	45,4
5	32,48	20	48,0
5	34,4	20	47,6
6	38,4	21	36,6
6	39,8	21	38,6
7	14,8	22	38,0
7	38,6	22	40,8
8	37,4	23	45,2
8	37,6	23	49,4
9	36,4	24	32,2
9	34,4	24	33,2
10	39,2	25	36,0

10	42,0	25	45,4
11	35,6	26	52,2
11	34,2	26	41,2
12	58,0	27	43,2
12	53,6	27	51,4
13	51,8	28	50,6
13	49,2	28	50,3
14	36,2	29	51,2
14	42,2	29	50,8
15	33,0		
15	47,0		

Aplicando el software STATGRAPHICS Centurion a los datos experimentales de la Tabla 2.6, se obtuvo la ecuación de predicción (ecuación 4), la cual representa el rendimiento en función de las variables normalizadas:

$$Y = 48,6417 - 3,0X_c + 2,64222X_T + 1,07222X_t - 5,79407X_T^2 - 2,0174X_t^2 - 2,70073X_c^2 + 2,45833X_t X_T - 1,9333X_c X_T - 1,04167X_c X_t \quad (4)$$

Los resultados de los análisis estadísticos se muestran en la Tabla 2.7.

Tabla 2.7. Análisis de varianza y regresión lineal múltiple.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente-F	Valor de P
X_T	125,664	1	125,664	2,59	0,1241
X_t	20,6939	1	20,6939	0,43	0,5216

Capítulo 2: Fraccionamiento de raquis de banana mediante la utilización de líquidos iónicos

X_c	162,0	1	162,0	3,34	0,0834
X_T^2	223,203	1	223,203	4,60	0,0451
X_t^2	27,0593	1	27,0593	0,56	0,4644
X_c^2	48,4949	1	48,4949	1,00	0,3300
$X_t X_T$	72,5208	1	72,5208	1,49	0,2365
$X_c X_T$	44,8533	1	44,8533	0,92	0,3484
$X_c X_t$	13,0208	1	13,0208	0,27	0,6104
Error total	922,053	19	48,5291		
Total	1721,87	28			

$$R^2 = 46,4505 \%$$

$$\text{Error estándar del est.} = 6,96628$$

$$\text{Error absoluto medio} = 4,57144$$

El análisis de la varianza muestra que el modelo se ajusta únicamente para algo menos de la mitad de los datos experimentales. En este sentido, cabe destacar la influencia del error sistemático en la obtención de los datos experimentales. El proceso de extracción está compuesto por una gran cantidad de etapas, las cuales hacen incrementar el error sistemático, sobre todo teniendo en cuenta la pequeña cantidad de muestra de la que se ha partido en cada experimento.

No obstante, el modelo se ha utilizado para hacer una estimación de los factores más significativos y de la respuesta combinada de los diferentes factores. Así, se ha considerado un nivel de significación del 95 %, es decir, una probabilidad (P) del 5 % como criterio para determinar si los efectos son significativos o no. De este modo, el

factor X_T^2 es el que presenta un nivel de significación del 95% dentro del diseño experimental llevado a cabo.

Las Figura 2.15, Figura 2.16 y Figura 2.17, muestran la influencia combinada del tiempo, la temperatura y la concentración de líquido iónico en el rendimiento.

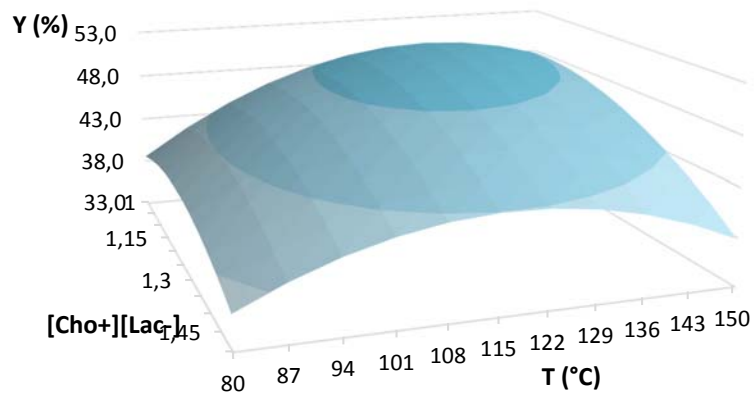


Figura 2.15. Variación del rendimiento con la concentración de LI y la temperatura.

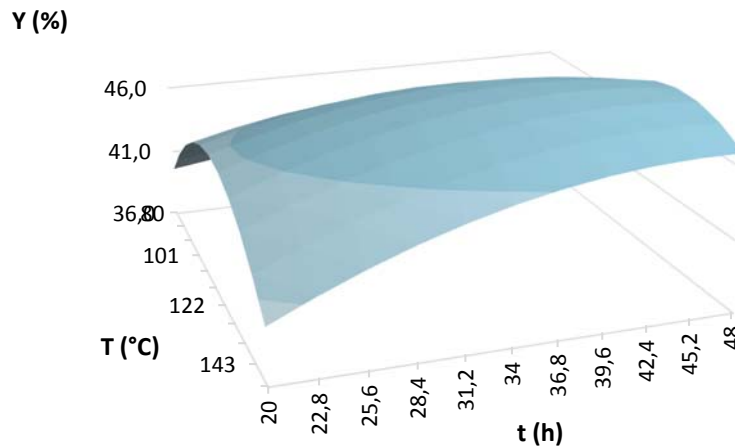


Figura 2.16. Variación del rendimiento con la temperatura y el tiempo de extracción.

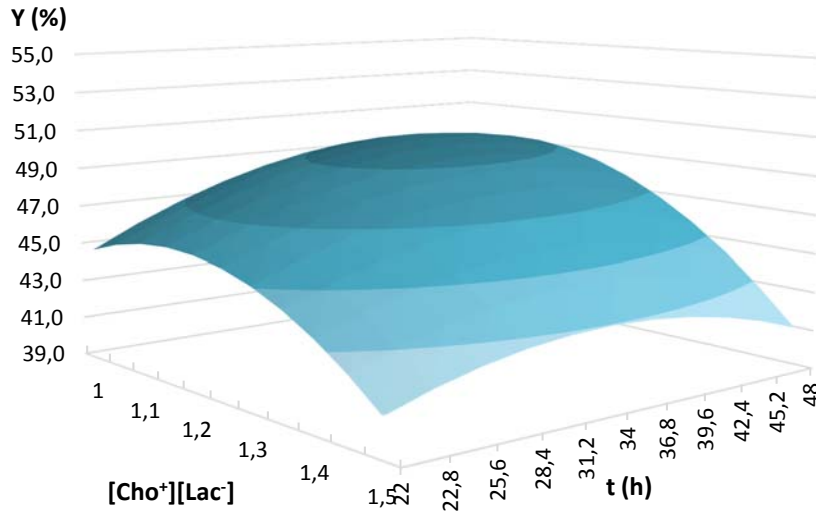


Figura 2.17. Variación del rendimiento con la concentración de LI y el tiempo de extracción.

La variación del rendimiento con la concentración de LI y temperatura, muestra que el máximo rendimiento se obtiene con cantidades bajas o intermedias de LI y a temperaturas medias y altas.

En cuanto a la influencia de la temperatura y el tiempo, el mayor rendimiento se obtiene a tiempos medios-altos y temperaturas medias.

Finalmente, en el caso de la variación del rendimiento con la concentración de LI y el tiempo, el mayor rendimiento se obtiene a tiempos medios y altos y baja concentración de $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$.

En resumen, el mayor rendimiento se obtendría con temperaturas medias, tiempos medios y altos y la menor de las concentraciones de $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$. Estos resultados ponen de manifiesto que las condiciones experimentales seleccionadas, en cuanto a la cantidad de $[\text{Cho}^+][\text{Lac}^-]$ eran desde el inicio valores que permitían obtener los

mayores rendimientos. La necesidad de que el líquido iónico moje correctamente los raquis de banana obliga a poner una determinada cantidad inicial de líquido iónico en el valor más bajo de la variable. En lo que respecta a la temperatura, ésta influye en la viscosidad del líquido iónico, por lo que al incrementar la temperatura la viscosidad es menor y el rendimiento de la extracción es mayor.

2.5. Conclusiones

En el presente trabajo se ha comparado la capacidad de diferentes líquidos iónicos para extraer de manera selectiva la lignina presente en los raquis de banana. Entre los líquidos iónicos estudiados se encuentran los formados por cationes derivados del imidazolio y diferentes aniones: tosilato, lactato, acetato, acesulfamato y xilenosulfonato. Asimismo, se ha sintetizado el lactato de colina, un líquido iónico derivado de la amina cuaternaria colina y que es además biodegradable. Se ha podido comprobar que, mientras algunos de los líquidos iónicos estudiados disuelven totalmente los raquis de banana, otros son capaces de extraer de manera selectiva la lignina. En el caso de los LIs [EMIM⁺][Lac⁻] y [EMIM⁺][Ac⁻], su particular combinación catión/anión llevaron a la disolución total de la biomasa de partida. El resto de los LIs estudiados, extrajeron de una manera más selectiva la lignina, obteniéndose los mayores porcentajes de extracción para el [BMIM⁺][Ace⁻] y el [Cho⁺][Lac⁻].

De acuerdo con la literatura científica son varios los factores que pueden influir en la extracción selectiva de la lignina. Por un lado, los líquidos iónicos que contienen azufre en su estructura disuelven mejor la lignina. Asimismo, determinados líquidos iónicos no disuelven la celulosa, como el [EMIM⁺][XS⁻]o el [BMIM⁺][Ace⁻]. En este último caso se ha postulado que aniones con carga deslocalizada como el [Ace⁻] se espera que interactúen con la lignina debido a su carácter aromático. En el caso del [Cho⁺][Lac⁻] es posible que entren en juego otros factores que puedan afectar al rendimiento de la extracción como puede ser la viscosidad.

La deslignificación de la biomasa, en contraposición a la disolución total y posterior regeneración, puede ser el proceso más adecuado para la obtención de nanocristales

de celulosa, en la cual es importante mantener intacta la estructura cristalina de la celulosa. En este sentido, la difracción de rayos X mostró que el residuo de celulosa obtenido tras la extracción mantenía la estructura cristalina en aquellos casos en los que se había dado la extracción selectiva de la lignina, mientras que en los casos en los que la biomasa se había disuelto por completo, la celulosa regenerada era mayoritariamente amorfa.

En lo que respecta al DOE llevado a cabo con el [Cho⁺][Lac⁻], a partir del modelo de predicción y el análisis de varianza se dedujo que el factor más significativo era el cuadrado de la temperatura. Asimismo, del análisis de la superficie de respuesta se dedujo que la concentración más baja de líquido iónico empleada era la necesaria para mojar correctamente los raquis de banana y por tanto el mayor rendimiento se obtenía ya a concentraciones bajas. El aumento de la temperatura y el tiempo tenía un efecto positivo en la extracción.

El [Cho⁺][Lac⁻] es capaz de extraer de manera selectiva la lignina de los raquis de banana obteniéndose un residuo rico en celulosa. Su eficacia es similar a la de otros líquidos iónicos cuya capacidad para deslignificar otras fuentes de biomasa ha sido descrita previamente en la literatura científica. Este hecho, unido a su atoxicidad y la posibilidad de prepararlo a partir de materias primas bio-derivadas, abren la posibilidad de su aplicación como pretratamiento de otras fuentes de biomasa.

2.6. Bibliografía

- [1] Kamm, B.; Gruber, P.R.; Kamm, M. (eds.), *Biorefineries – Industrial Processes and Products. Status Quo and Future Directions*. Wiley-VCH, Weinheim (2010).
- [2] Rødsrud, G.; Lersch, M.; Sjöde, A. History and future of world's most advanced biorefinery in operation. *Biomass Bioenerg.* **2012**, *46*, 46–59.
- [3] Sibilla, F.; Domínguez de María, P. Integrating white biotechnology in lignocellulosic biomass transformations: from enzyme-catalysis to metabolic engineering, in *The Role of Catalysis for the Sustainable Production of Bio-Fuels*

- and Bio-Chemicals, ed by Lappas A, Stöcker M and Triantafyllidis K. Elsevier, 445–466 (2013).
- [4] Domínguez de María, P. Recent developments in the biotechnological production of hydrocarbons: paving the way for bio-based platform chemicals. *Chem Sus Chem*. **2011**, *4*, 327–329.
- [5] Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y.Y.; Holtzapple, M.; Ladisch, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technol*. **2005**, *96*, 673–686.
- [6] Rinaldi, R.; Schüth F. Acid hydrolysis of cellulose as the entry point into biorefinery schemes. *Chem Sus Chem*. **2009**, *2*, 1096–1107.
- [7] Klemm, D.; Heublein, B.; Fink, H.P.; Bohn, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angew Chem Int Ed*. **2005**, *44*, 3358–3393.
- [8] Wiermans, L.; Pérez-Sánchez, M.; Domínguez de María, P. Lipase mediated oxidative delignification in non-aqueous media: formation of dearomatized lignin oil and cellulase-accessible polysaccharides. *Chem Sus Chem*. **2013**, *6*, 251–255.
- [9] Tan, S.S.Y.; MacFarlane, D.R.; Upfal, J.; Edey, L.A.; Doherty, W.O.S.; Patti, A.F.; Pringle, J.M.; Scotta, J.L. Extraction of lignin from lignocellulose at atmospheric pressure using alkylbenzenesulfonate ionic liquid. *Green Chem*. **2009**, *11*, 339–345
- [10] Pinkert, A.; Goeke, D.F.; Marsh, K.N.; Pang, S. Extracting wood lignin without dissolving or degrading cellulose: Investigations on the use of food additive-derived ionic liquids. *Green Chem*. **2011**, *13(11)*, 3124–3136.
- [11] Sun, N.; Rodriguez, H.; Rahman M.; Rogers, R.D. Where are ionic liquid strategies most suited in the pursuit of chemicals and energy from lignocellulosic biomass? *Chem. Commun*. **2011**, *47*, 1405–1421.

- [12] Zakzeski, J.; Bruijninx, P. C. A.; Jongerius, A. L.; Weckhuysen, B. M. The Catalytic Valorization of Lignin for the Production of Renewable Chemicals. *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 3552–3599.
- [13] Wegner, T. H.; Jones, E.P. in *The Nanoscience and Technology of Renewable Biomaterials*, ed. L. A. Lucia and O. J. Rojas, JohnWiley & Sons, Ltd, Chichester, **2009**, chapter 1, pp. 1–41.
- [14] Gierer, J. Chemical aspects of kraft pulping. *Wood Sci. Technol.* **1980**, *14*, 241–266.
- [15] Hamaguchi, M.; Cardoso, M. Vakkilainen, E. Alternative Technologies for Biofuels Production in Kraft Pulp Mills—Potential and Prospects. *Energies* **2012**, *5*, 2288–2309.
- [16] Brosse, N.; Hussin, M.H.; Rahim, A.A. Organosolv Processes. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg (**2017**).
- [17] Simonsen, J. and Habibi, Y. in *The Nanoscience and Technology of Renewable Biomaterials*, ed. L. A. Lucia and O. J. Rojas, JohnWiley & Sons, Ltd, Chichester, **2009**, chapter 10, pp. 273–292.
- [18] Fort, D. A.; Remsing, R. C.; Swatloski, R. P.; Moyna, P.; Moyna, G.; Rogers, R.D. Can ionic liquids dissolve wood? Processing and analysis of lignocellulosic materials with 1-*n*-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Green Chem.* **2007**, *9*, 63–69.
- [19] Tadesse, H.; Luque, R. Advances on biomass pretreatment using ionic liquids: An overview. *Energy Environ Sci.* **2011**, *4*(10), 3913–3929.
- [20] Swatloski, R.P.; Spear, S.K.; Holbrey, J.D.; Rogers R.D. Dissolution of cellulose with ionic liquids. *J Am Chem Soc.* **2002**, *124*(18), 4974–4975.
- [21] Remsing, R. C.; Swatloski, R. P.; Rogers, R. D., Moyna, G. Mechanism of cellulose dissolution in the ionic liquid 1-*n*-butyl-3-methylimidazolium chloride: a ¹³C and ^{35/37}Cl NMR relaxation study on model systems. *Chem. Commun.* **2006**, *12*, 1271–1273.

- [22] Fu, D.; Mazza, G.; Tamaki, Y. Lignin extraction from straw by ionic liquids and enzymatic hydrolysis of the cellulosic residues. *J Agric Food Chem.* **2010**, *58*(5), 2915–2922.
- [23] Lee, S.H.; Doherty, T.V.; Linhardt, R.J.; Dordick, J.S. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnol Bioeng.* **2009**, *102*(5), 1368–1376.
- [24] Romero, A.; Santos, A.; Tojo, J.; Rodriguez, A. Toxicity and biodegradability of imidazolium ionic liquids. *J Hazard Mater* **2008**, *151*(1), 268–273.
- [25] Coleman, D.; Gathergood, N. Biodegradation studies of ionic liquids. *Chem Soc Rev.* **2010**, *39*(2), 600–637.
- [26] Oliveira, M.V.S.; Vidal, B.T.; Melo, C.M.; De Miranda, R. C.M.; Soares, C.M.F.; Coutinho, J.A.P.; Ventura, S. P.M.; Mattedi, S.; Lima, A.S. (Eco)toxicity and biodegradability of protic ionic liquids. *Chemosphere* **2016**, *147*, 460–466
- [27] Liu Q.P.; Hou X.D.; Li N.; Zong M.H. Ionic liquids from renewable biomaterials: Synthesis, characterization and application in the pretreatment of biomass. *Green Chem.* **2012**, *14*(2), 304–307.
- [28] Hou, X.D.; Smith, T.J.; Li, N.; Zong, M.H. Novel Renewable Ionic Liquids as Highly Effective Solvents for Pretreatment of Rice Straw Biomass by Selective Removal of Lignin. *Biotechnol Bioeng.* **2012**, *109*(10), 2484–2493.
- [29] Zhang, W.H.; Chen, M.; Hao, Y.; Jiang, X.; Zhou, X.; Zhan-Hui Zhang, Z. Choline chloride and lactic acid: A natural deep eutectic solvent for onepot rapid construction of spiro[indoline-3,4'-pyrazolo[3,4-b]pyridines]. *J Mol Liq.* **2019**, *278*, 124–129.
- [30] Boethling, R. S.; Sommer, E.; DiFiore, D. Designing Small Molecules for Biodegradability. *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 2207-2227.
- [31] Zuluaga, R.; Putaux, J.L.; Cruz, J.; Vélez, J.; Mondragon, I.; Gañán, P. Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological feature. *Carbohydr Polym.* **2009**, *76*, 51–59.

- [32] Montgomery D.C. Design and analysis of experiments; Iberoamericana, Eds.; Mexico, 1991, 303–313.
- [33] Dang, V. Q.; Nguyen, K. L. A universal kinetic model for characterisation of the effect of chip thickness on kraft pulping. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*(5), 1486–90.
- [34] Oliveira, L.; Cordeiro, N.; Evtuguin, D. V.; Torres, I. C.; Silvestre, A. J. D. Chemical composition of different morphological parts from “Dwarf Cavendish” banana plant and their potential as a non-wood renewable source of natural products. *Ind Crops Prod.* **2007**, *26*(2), 163–172.
- [35] Chenampulli, S.; Unnikrishnan, G.; Sujith, A.; Thomas, S.; Francis, T. Cellulose nano-particles from Pandanus: viscometric and crystallographic studies. *Cellulose* **2013**, *20*(1) 429–438.
- [36] Kasyapi, N.; Chaudhary, V.; Bhowmick, A. K. Bionanowhiskers from jute: Preparation and characterization. *Carbohydr Polym.* **2013**, *92*(2), 1116–1123.
- [37] Poletto, M.; Zattera, A. J.; Forte, M. M. C.; Santana, R. M. C. Thermal decomposition of wood: influence of wood components and cellulose crystallite size. *Bioresour. Technol.* **2012**, *109*, 148–53.
- [38] 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*(2), 433–442.
- [39] Abraham, E.; Deepa, B.; Pothan, L. A.; Jacob, M.; Thomas, S.; Cvelbar, U.; Anandjiwala, R. Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibres: A novel approach. *Carbohydr Polym.* **2011**, *86*(4), 1468–1475.
- [40] Gaviria Alvarez, A. M. (2003). *Caracterización de fibras del pseudotallo de banana extraídas mecánicamente*. Universidad Pontificia Bolivariana.
- [41] Cao, Y. and Mu, T. Comprehensive Investigation on the Thermal Stability of 66 Ionic Liquids by Thermogravimetric Analysis. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, *53*(20), 8651-8664.

- [42] Jianji Wang, Yong Zheng and Suojiang Zhang (2010). The Application of Ionic Liquids in Dissolution and Separation of Lignocellulose, Clean Energy Systems and Experiences, Kei Eguchi (Ed.), ISBN: 978-953-307-147-3, InTech.
- [43] Sashina, E. S.; Kashirskii, D. A.; Busygin, K. N. Dissolution of cellulose with pyridinium-based ionic liquids: effect of chemical structure and interaction mechanism. *Cellulose Chem. Technol.* **2016**, *50* (2), 199-211.
- [44] Zhao, Y.; Liu, X.; Wang, J.; Zhang, S. Effects of Cationic Structure on Cellulose Dissolution in Ionic Liquids: A Molecular Dynamics Study. *Chem. Phys. Chem.* **2012**, *13*(13), 3126-3159.
- [45] Zhang, J.; Xu, L.; Yu, J.; Wu, J.; Zhang, X.; He, J.; Zhang, J. Understanding cellulose dissolution: effect of the cation and anion structure of ionic liquids on the solubility of cellulose. *Sci. China Chem.* **2016**, *59* (11), 1421–1429.
- [46] Zhao, Y.; Liu, X.; Wang, J.; Zhang, S. Effects of anionic structure on the dissolution of cellulose in ionic liquids revealed by molecular simulation. *Carbohydr Polym.* **2013**, *94*, 723– 730.
- [47] Zhu Yinghuai, Karen Tang Yuanting and Narayan S. Chapter 13. Applications of Ionic Liquids in Lignin Chemistry from Ionic Liquids - New Aspects for the Future (2013) from Intech.
- [48] Herrera, M. A.; Mathew, A. P.; Oksman, K. Characterization of cellulose nanowhiskers: A comparison of two industrial bio-residues in “6th EEIGM International Conference on Advanced Materials Research”. European School of Materials Engineering (EEIGM), Nancy, France, **2012**, *31*, 1–8.

3

Funcionalización de nanocristales de celulosa en lactato de colina

“...yo creo que en un futuro no demasiado lejano la mujer ocupará en el mundo científico el puesto que le corresponde de acuerdo con su capacidad y con su trabajo”

Margarita Salas

3.1. Introducción

Considerada uno de los biopolímeros más abundantes en la tierra [1], la celulosa procedente de la biomasa lignocelulósica, es una fuente de materia prima prometedora debido a su disponibilidad y su carácter renovable. Partiendo de celulosa es posible obtener nanocrisales de celulosa (CNC), partículas rígidas en forma de filamento con dimensiones nanoscópicas. Los CNC consisten en segmentos de cadena de celulosa cristalina pura, los cuales se obtienen normalmente mediante un tratamiento ácido de las fibras celulósicas que elimina los dominios amorfos [2]. Estos nanomateriales presentan una gran fuerza específica y modulo, una gran área superficial y tienen baja densidad ($\sim 1.6 \text{ g.cm}^{-3}$). Estas propiedades tan particulares, junto con su carácter atóxico, los convierten en materiales adecuados para un gran rango de aplicaciones, tales como: biosensórica, catálisis verde, síntesis de soportes para fármacos en medicina terapéutica y diagnóstica [3,4], materiales de soporte para catalizadores [5–7], moléculas que responden a estímulos [8–10], fabricación de nanopapel [11] y preparación de nanocomposites poliméricos [12].

En el campo de los nanocomposites poliméricos, los CNC se han utilizado exitosamente como agentes de refuerzo tanto en polímeros sintéticos como naturales [13–16]. Asimismo, el creciente interés en nuevos plásticos medioambientalmente sostenibles ha promovido el desarrollo de materiales totalmente bio-basados. Así, polímeros bio-basados como el poli (ácido láctico) (PLA) se han reforzado con CNC con el fin de mejorar sus propiedades térmicas y mecánicas [17–19].

Algunos de los factores clave para alcanzar un excelente resultado en la mejora de las propiedades del nanocomposite son una dispersión homogénea de los CNC en la matriz polimérica y una buena interacción matriz-refuerzo. Debido al carácter hidrofílico de los CNC, su incorporación en matrices poliméricas solubles en agua es el método más simple para utilizarlos como refuerzo [20]. La gran estabilidad de las dispersiones acuosas de los CNC da lugar a una excelente dispersión de éstos en la

matriz. Sin embargo, cuando se utilizan matrices poliméricas no polares, el carácter altamente hidrofílico de los CNC impide una buena dispersión. En consecuencia, el desarrollo de métodos para la modificación de la superficie de los CNC es de gran interés para mejorar su compatibilidad con una gran variedad de matrices poliméricas [21].

Los CNC presentan una gran relación superficie-volumen con gran cantidad de grupos hidroxilo en la superficie, los cuales pueden ser utilizados para su funcionalización mediante un amplio rango de aproximaciones químicas. Así, la compatibilidad con la matriz puede ser mejorada introduciendo la funcionalidad adecuada. Los tipos de funcionalizaciones más comúnmente usadas en los CNC son: la esterificación, la eterificación, la oxidación, la amidación, la carbamación, la sustitución nucleófila, la silanización y el injerto o *grafting*, entre otras [22].

La hidrofobización de la celulosa es una estrategia interesante para mejorar la compatibilidad con las matrices poliméricas no polares. Recientemente, se ha publicado el uso con éxito de grupos estearil con este propósito [23]. Del mismo modo, la silanización ha demostrado ser un método efectivo para proporcionar hidrofobicidad [24]. Así, los silanos son conocidos como eficientes agentes de acoplamiento para mejorar la adhesión interfacial entre la matriz y el refuerzo, razón por la cual han sido ampliamente utilizados en la preparación de composites [25,26]. Sin embargo, hay numerosos aspectos que necesitan ser abordados. Por un lado, este tipo de reacción se lleva a cabo en disolventes orgánicos polares, lo cual conlleva una serie de inconvenientes relacionados con su potencial toxicidad, las emisiones de volátiles (VOCs) y la generación de gran cantidad de residuos que causan problemas medioambientales. Por otro lado, la reacción de silanización de los CNC se inicia normalmente utilizando catalizadores básicos o ácidos, ya que aceleran la hidrólisis de los grupos alcoxi para dar lugar a grupos silanol capaces de reaccionar con los grupos -OH presentes en la superficie de los CNC. No obstante, esta aproximación promueve al mismo tiempo la reacción de condensación entre moléculas de silano adyacentes que conducen a la formación de sílica en lugar de la funcionalización de la

superficie. Por tanto, a pesar de que la silanización podría ser una ruta adecuada, es necesario mejorarla para llevar a cabo una eficiente silanización de los CNC.

En la última década, los líquidos iónicos (LIs) han surgido como una alternativa medioambientalmente sostenible a los disolventes orgánicos volátiles, debido principalmente a su prácticamente despreciable presión de vapor y a sus propiedades químicas y físicas. Los LIs son sales orgánicas que consisten normalmente en un catión orgánico y un anión heteroatómico que puede ser seleccionado de una gran variedad química. De hecho, los LIs se han utilizado para reemplazar a los disolventes orgánicos volátiles en una amplia variedad de procesos, tales como la separación, la purificación y como medio de reacción en catálisis bioquímica y química [27-29]. Asimismo, los LIs se han utilizado con éxito en el pretratamiento de la biomasa para su posterior hidrólisis en glucosa [30]. Merece la pena mencionar que la celulosa es poco soluble en disolventes convencionales, debido sobre todo a la gran cantidad de enlaces de hidrógeno intermoleculares presentes en su estructura. Curiosamente, los LIs son capaces de alterar dichos enlaces entre diferentes microfibrillas disminuyendo la compactación de la celulosa y haciendo que los carbohidratos sean más susceptibles a la hidrólisis [31-36]. Los LIs se han utilizado también en la preparación de materiales celulósicos [37-39] y como medio de reacción en el procesado de derivados de celulosa [40-42].

El objetivo de este estudio es mejorar la compatibilidad de los CNC en PLA mediante la funcionalización de su superficie. La funcionalidad se ha introducido utilizando un silano como agente de acoplamiento, el 2-(carbometoxi)etiltrimetoxisilano (2CETMS) y el lactato de colina ($[\text{CHO}^+][\text{Lac}^-]$), un líquido iónico derivado de fuentes renovables, como medio de reacción.

Se ha investigado el efecto de este líquido iónico en la funcionalización de los CNC y se han estudiado varias concentraciones de silano. Se ha observado experimentalmente que además de su capacidad para dispersar los CNC sin disolverlos, el lactato de colina no requiere de la adición de ningún catalizador

externo para iniciar la reacción, en contraposición con otros medios de reacción para llevar a cabo la misma reacción de funcionalización [24].

Los CNC funcionalizados (F-CNC) se han utilizado posteriormente como refuerzo en PLA. Se han preparado films basados en nanocomposites de PLA mediante disolución y casting seguida de prensado en caliente. Finalmente, se ha investigado la dispersabilidad de los F-CNC en el PLA y las propiedades mecánicas del nanocomposite resultante.

3.2. Parte experimental

3.2.1. Materiales

El agente de acoplamiento 2-(carbometoxi) etiltrimetoxisilano (2CMETS) fue comprado a Fluorochem (Derbyshire, UK), el PLA en forma de granza (Ingeo™ 3052D, Minnetonka, MN, USA), se compró en Nature Works LLC, y la celulosa microcristalina (MCC) y el tetrahidrofurano (THF) se compraron en Sigma-Aldrich (Madrid, España). El ácido sulfúrico (H₂SO₄, 98%) y el hidróxido sódico (NaOH) se compraron en Scharlau (Barcelona, España).

El cloruro de colina (99% de pureza) se obtuvo de Algry Química (Huelva, España). El ácido láctico (Galacid™, Heat Stable 90, 86%) se obtuvo de Galactic (Scannafles, Bélgica). La resina AMBERLITE® IRA400 Cl, el hidróxido sódico ACS grado reactivo (97%), y el DMSO deuterado (dimethyl sulfoxide-d₆, 99.5 %D) se compraron en Sigma-Aldrich.

Los CNC se extrajeron a partir de celulosa microcristalina (MCC) mediante hidrólisis ácida con ácido sulfúrico de acuerdo con un protocolo publicado anteriormente [43]. El protocolo de extracción se describe en la sección 3.2.3.

3.2.2. Síntesis del lactato de colina

El lactato de colina [CHO⁺][Lac⁻] se sintetizó mediante la técnica de cromatografía de intercambio aniónico. Una disolución de cloruro de colina (1.0 equiv., 100 mmol, 14.38 g) se pasó a través de una columna de resina Amberlite de intercambio

aniónico cargada con anión hidróxido y se recogió sobre la disolución de ácido láctico (1.0 equiv., 100 mmol, 10.41 g). El agua fue evaporada en un evaporador rotatorio y se obtuvo un producto de color amarillo pálido. (Rendimiento = 19.3 g, cuantitativo). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 3.86–3.83 (m, 2H, HOCH₂CH₂N⁺(CH₃)₃), 3.63 (q, 1H, J = 6.7 Hz, HOCHCH₃CO₂⁻), 3.41 (t, 2H, J = 5.0 Hz, HOCH₂CH₂N⁺(CH₃)₃), 3.12 (s, 9H, HOCH₂CH₂N⁺(CH₃)₃), 1.11 (d, 3H, J = 6.7 Hz, HOCHCH₃CO₂⁻).

3.2.3. Obtención de los CNC

La MCC en forma de polvo (20 g) se añadió a una disolución precalentada de 64% en peso de ácido sulfúrico (175 ml) y se dejó reaccionar con agitación vigorosa a 45 °C durante 45 min.

Para parar la reacción, la mezcla se diluyó en 5 L de agua desionizada y se dejó reposar toda la noche. Con el fin de concentrar los CNC y eliminar el exceso de ácido y agua, la suspensión se centrifugó a 3500 rpm durante 30 min. El precipitado se lavó repetidamente con agua desionizada y se centrifugó hasta que el sobrenadante se volvió turbio. Se continuó con la purificación de los CNC mediante diálisis frente a agua desionizada hasta que se alcanzó un pH de 5-6 (membrana Spectra/Por 2, MWCO 12,000–14,000). Finalmente los CNC se liofilizaron hasta su uso.

3.2.4. Funcionalización de CNC

Como paso previo a la silanización, los CNC obtenidos después de la hidrólisis ácida fueron pretratados con el fin de investigar el efecto de dichos pretratamientos en la funcionalización. Así, los CNC se utilizaron en tres formas diferentes: sulfatados y liofilizados, sulfatados y en dispersión acuosa y desulfatados y liofilizados.

3.2.4.1. Funcionalización de CNC sulfatados y liofilizados

Los CNC sulfatados se utilizaron tal y como se obtuvieron tras la hidrólisis ácida. Para llevar a cabo la funcionalización con silano, 300 mg de CNC sulfatados y liofilizados fueron dispersados en 16.4 g de [CHO⁺][Lac⁻] y se agitaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Entonces se añadieron 249 mg del agente de acoplamiento

2CETMS manteniendo la agitación. La reacción se dejó 24 horas a temperatura ambiente. Los CNC funcionalizados fueron lavados con agua desionizada mediante centrifugación a 3500 rpm durante 30 minutos y finalmente liofilizados hasta su uso.

3.2.4.2. Funcionalización de CNC sulfatados y en dispersión acuosa

Los CNC se prepararon siguiendo el protocolo descrito en la sección 3.2.3 hasta la etapa de diálisis incluida. La dispersión acuosa de CNC obtenida se neutralizó con NaOH hasta un pH de aproximadamente 7. Para la funcionalización, los CNC fueron dispersados en 16.4 g de $[\text{CHO}^+][\text{Lac}^-]$ y liofilizados para eliminar el agua. Después, se añadieron 249 mg del agente de acoplamiento 2CETMS y la reacción se mantuvo 24 horas a temperatura ambiente. Finalmente, se siguió en mismo protocolo de lavado y almacenamiento que en la sección anterior.

3.2.4.3. Funcionalización de CNC desulfatados y liofilizados

Los CNC desulfatados se prepararon siguiendo el protocolo publicado por Lokanathan et al. [46]. Brevemente, una disolución acuosa concentrada de NaOH se añadió a una suspensión al 8.9% en peso de CNC hasta que se obtuvo una concentración del 7% peso/volumen de NaOH. Después de 30 minutos de agitación a temperatura ambiente, la mezcla se agitó durante 5 horas a 65 °C. Después de ese tiempo la mezcla de reacción se lavó con agua para eliminar el exceso de NaOH y se dializó (membrana Spectra/Por 2, MWCO 12,000–14,000) frente a agua desionizada. Finalmente los CNC se liofilizaron.

Para la funcionalización se utilizó nuevamente el protocolo descrito en la sección 3.2.4.1 variando la relación CNC: silano, el tiempo de reacción y la incorporación a la mezcla de LI y etanol como medios de reacción (ver Tabla 3.2). La efectividad de la desulfatación se determinó mediante análisis elemental [47].

3.2.5. Preparación de nanocomposites de F-CNC/PLA

Para la preparación de los nanocomposites de F-CNC/PLA, 20 g de PLA fueron disueltos en 300 mL de THF a 60 °C. Entonces, un 1 % en peso de F-CNC, previamente dispersos en THF, se añadieron a la disolución del polímero y se agitaron durante 20 minutos. Las mezclas se dejaron evaporar primero a temperatura ambiente y se secaron después durante 5 h a 60 °C.

Para la formación del film, las mezclas fueron prensadas en caliente en una prensa de platos calientes a 180 °C y 200 bar durante 15 minutos. Con fines comparativos se prepararon en las mismas condiciones films de PLA puro.

3.3. Métodos de caracterización

3.3.1. Caracterización físico-química

Los espectros de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) se obtuvieron a temperatura ambiente en un espectrofotómetro Nicolet Avatar 360. Los espectros se realizaron con una resolución de 4 cm^{-1} en el rango de longitudes de onda de 4000 to 400 cm^{-1} .

El análisis elemental de las muestras se realizó utilizando un analizador Micro Truspec CHNS para determinar el contenido en azufre, carbono, nitrógeno e hidrógeno de manera independiente.

Los espectros de ^1H RMN se recogieron en un espectrómetro Bruker Avance III utilizando DMSO deuterado.

3.3.2. Caracterización morfológica

La morfología superficial de los CNC y las secciones transversales de los nanocomposites se analizaron usando un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FE-SEM) ULTRA plus ZEISS, equipado con un espectrómetro dispersivo de rayos X (EDXS).

3.3.3. Caracterización estructural

Los patrones de difracción de rayos X de los CNC y de la MCC de partida se recogieron en un difractómetro de rayos X (XRD) de Bruker AXS-D8 Advance con radiación Cu Ka. Las medias se llevaron a cabo a valores de 2θ comprendidos entre 5° y 40° .

3.3.4. Propiedades térmicas

La estabilidad térmica de los sistemas basados en PLA se investigó utilizando el análisis termogravimétrico (TGA) y se llevó a cabo en una TGA Q500 (TA Instruments) a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ en atmósfera de nitrógeno, desde temperatura ambiente hasta 600°C .

3.3.5. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de la referencia y de los nanocomposites basados en PLA se evaluaron mediante ensayos de tracción, utilizando una máquina universal de ensayos modelo 3365 (Instron). Se utilizaron para ello probetas rectangulares de $65\text{ mm} \times 12\text{ mm}$. Los ensayos se realizaron a una velocidad de desplazamiento de la cruceta de 5 mm min^{-1} y se utilizó una longitud inicial entre mordazas de 25.4 mm . Los valores promedio de resistencia a la tracción (σ_b), alargamiento a rotura (ε_b) y módulo elástico (E), se calcularon a partir de los resultados de la curva de tensión-deformación. Los ensayos se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Preparación of CNC

Los CNC se obtuvieron mediante hidrólisis ácida de la celulosa microcristalina (MCC) utilizando un procedimiento descrito anteriormente en la bibliografía [43]. Los CNC obtenidos se analizaron utilizando la espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) y la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM). La Figura 3.1 muestra el espectro de FTIR de los CNC iniciales. En ella se observan las

bandas entre 3600 y 3000 cm^{-1} corresponden a la vibración de estiramiento de los -OH . Asimismo, las bandas entre 3000 y 2750 cm^{-1} se asignaron a la vibración de tensión simétrica y asimétrica del C-H (a, b). Los picos observados a $\sim 1430\text{ cm}^{-1}$ se asignaron a la vibración de flexión simétrica del CH_2 (c), y las que aparecen a 1160 cm^{-1} se asignaron al estiramiento del puente C-O-C (d) y se asocian a la parte cristalina de la celulosa.

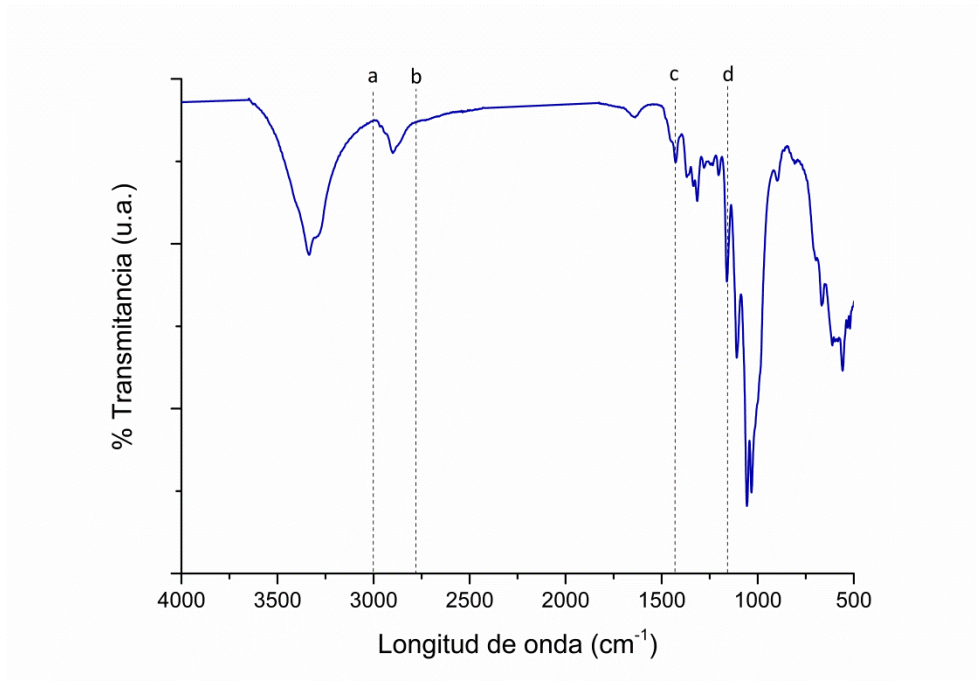


Figura 3.1 Espectro de FTIR de los CNC obtenidos por hidrólisis ácida de MCC.

La Figura 3.2 muestra una micrografía de FE-SEM de CNC aglomerados. La longitud de los CNC estaba en el rango de los 200 a los 250 nm, y se calculó un diámetro promedio de $18 \pm 4\text{ nm}$.

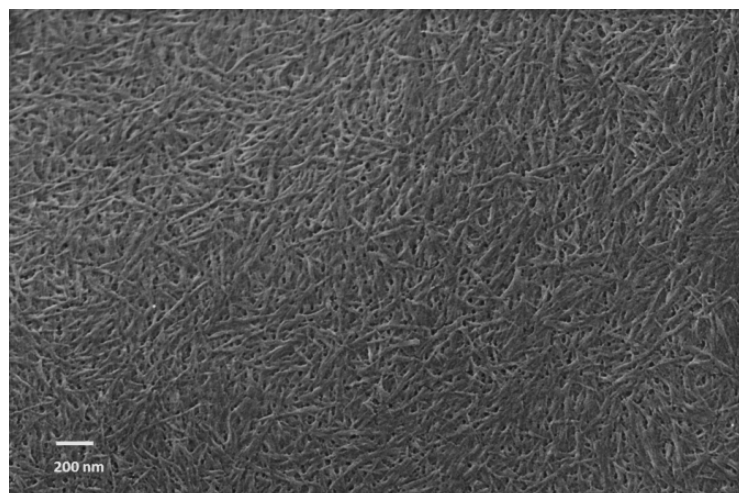


Figura 3.2. Micrografía de FE-SEM de una muestra de CNC liofilizados.

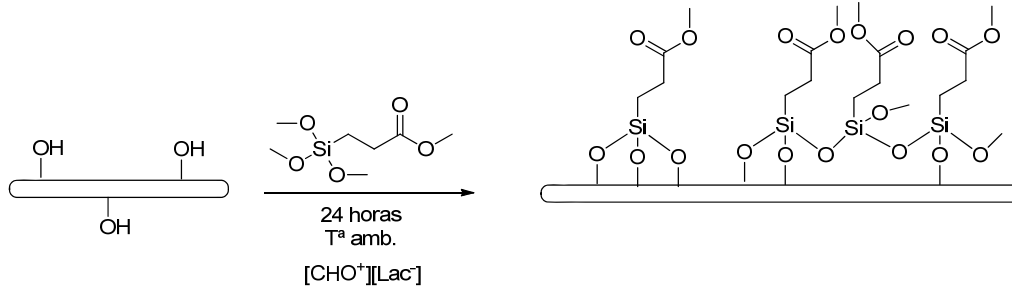
3.4.2. Funcionalización de los CNC

Para llevar a cabo la reacción de funcionalización se utilizaron dos tipos de CNC: sulfatados (liofilizados y en dispersión acuosa) y desulfatados. Los CNC sulfatados se obtuvieron directamente tras la hidrólisis ácida con H_2SO_4 y posterior diálisis, mientras que en el caso de los CNC desulfatados, los grupos sulfato de la superficie se eliminaron hidrolíticamente mediante hidrólisis alcalina con el fin de incrementar el número de grupos $-OH$ superficiales. El éxito de la reacción de desulfatación se confirmó mediante análisis elemental Tabla 3.1. Los CNC sulfatados mostraron un contenido en azufre de 0.53% mientras que en los CNC desulfatados el contenido en azufre se encontraba por debajo del límite de detección del equipo.

Tabla 3.1. % de S en peso (expresado como azufre elemental) correspondiente a los CNC sulfatados y desulfatados.

Muestra	% S
CNC sulfatados	0.53 ± 0.03
CNC desulfatados	0.04 ± 0.0001

Posteriormente, tanto los CNC sulfatados como los desulfatados se funcionalizaron utilizando el líquido iónico lactato de colina como medio de reacción y el CETMS como agente de acoplamiento, tal y como se muestra en el esquema 1.



Esquema 3.1. Esquema de reacción propuesto para la funcionalización de los CNC.

Con el fin de optimizar la cantidad de silano necesaria para llevar a cabo la reacción se varió la relación CNC: silano. Asimismo se estudiaron otras condiciones de reacción tales como el tiempo y la presencia de otros disolventes. Los resultados se resumen en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2. Condiciones de reacción utilizadas en la funcionalización de CNC en presencia del líquido iónico lactato de colina.

F-CNC	Pre-tratamiento de CNC	CNC:Silano Relación molar	IL:CNC relación En peso	Tiempo de reacción (h)	Residuo en TGA (%)
F1	Desulfatación	1:10	55:1	24	45.48
F2	Desulfatación	1:1.25	55:1	24	27.13
F3	Desulfatación	1:0.6	55:1	4.5	Sin funcionalizar
F4	Desulfatación	1:0.6	55:1	24	11.68
F5	Desulfatación	1:0.6	0.81:8.1 Etanol	24	Sin funcionalizar
F6	Sulfatados/liofilizados	1:0.6	55:1	24	20.13
F7	Sulfatados/Dispersión aq.	1:0.6	55:1	24	12.09

Para evaluar la funcionalización de los CNC se utilizaron las técnicas de FTIR y difracción de rayos X (XRD). La Figura 3.3 muestra el espectro de los CNC funcionalizados (F-CNC) utilizando las diferentes condiciones de reacción que aparecen en la Tabla 3.2 (F1 a F7). Con fines comparativos se muestra también el espectro del 2-(carbometoxi)ethyltrimetoxisilano (2CMETS).

En los espectros de los CNC funcionalizados se observa un nuevo pico hacia 1736 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo del 2CMETS. Esta evidencia de funcionalización se encontró para las condiciones F1, F2, F4, F6, y F7, pero no estaba presente ni en las condiciones F3 ni en las F5 indicando que la silanización no había tenido lugar. En el caso de F3, la falta de funcionalización puede atribuirse a que el tiempo de reacción no fue suficiente, mientras que en el caso de F5 se atribuyó a la

adición de etanol al lactato de colina. No obstante sería necesario un estudio más detallado de la estructura con el fin de caracterizar la unión del silano a los CNC, lo cual está más allá del objetivo del presente estudio. Adicionalmente, se utilizó el análisis termogravimétrico con el fin de cuantificar la cantidad de residuo sólido obtenido (principalmente SiO_2) para las diferentes condiciones de reacción. La presencia de este residuo se puede atribuir no solo a la cantidad de silano unido a los CNC sino también a la reacción de condensación entre moléculas de silano adyacente o incluso a parte del reactivo que haya podido quedar adsorbido en la superficie. La mayor cantidad de residuo sólido se obtuvo para las condiciones F1 con un 45%.

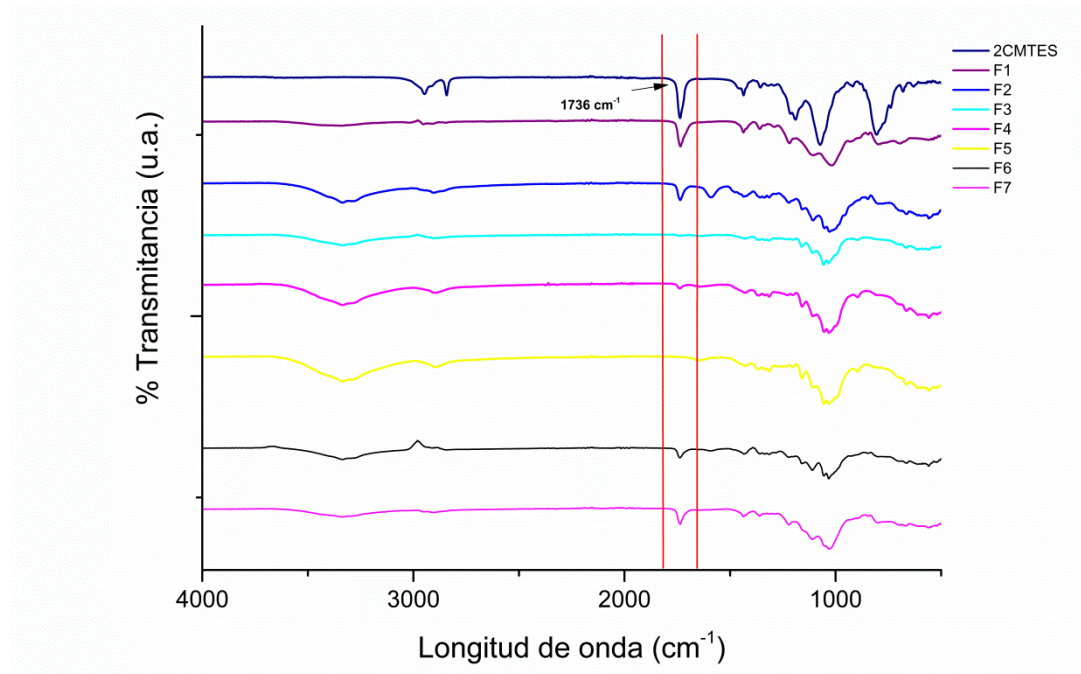


Figura 3.3. Espectros de FTIR del 2-(carbomethoxy)ethyltrimethoxysilane (2CMETS) y de los CNC funcionalizados (F-CNC) siguiendo diferentes condiciones de reacción.

Las estructuras de los diferentes F-CNC obtenidos se caracterizaron por dispersión de rayos X de ángulo ancho (WAXS) con el fin de estudiar el efecto de las condiciones de reacción en la cristalinidad de los CNC. La Figura 3.4 (a) muestra las curvas de WAXS

para los CNC sin tratar y para los CNC funcionalizados en las condiciones F4, F6, y F7. Todos ellos mostraron tres picos principales de reflexión a $2\theta = 15.0^\circ$, 16.3° y 22.5° así como un cuarto, menos definido a 34.4° relativo a la estructura cristalina de la celulosa I. En la Figura 3.4 (b) se comparan los difractogramas para los CNC funcionalizados bajo las condiciones F1, F2 y F3. Estas condiciones corresponden a relaciones altas de silano en el medio de reacción y por tanto dan lugar a mayores cantidades de SiO_2 amorfa como producto secundario de la reacción de condensación. En estas condiciones no se identificaron los picos WAXS de los nanocristales a $2\theta = 15.0^\circ$ and 16.3° . En su lugar, se encontró un pico más ancho alrededor de $2\theta = 16^\circ$ típico de un material predominantemente amorfo.

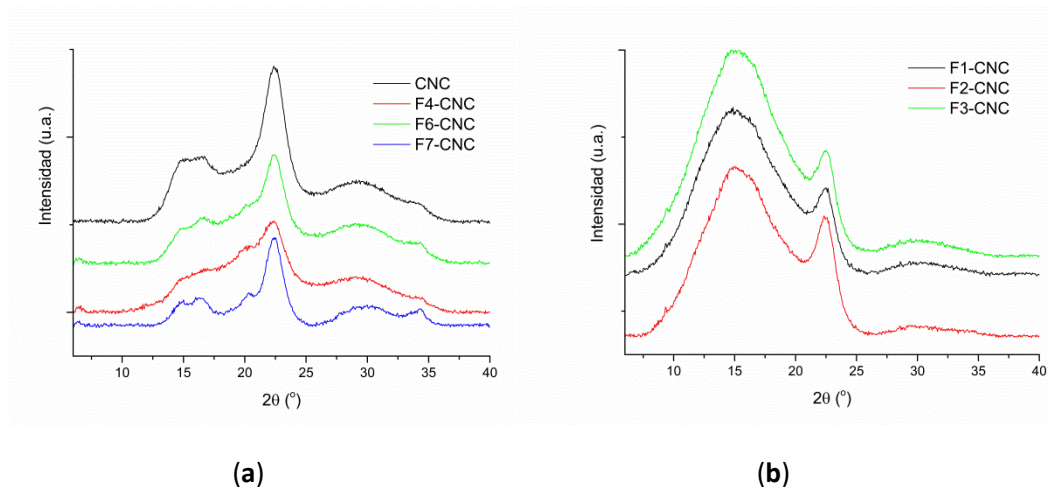


Figura 3.4. Espectros de dispersión de rayos X de ángulo amplio (WAXS) correspondientes a los F-CNC (a) preparados en condiciones optimizadas y (b) en exceso de silano.

Con el fin de comprobar la efectividad de la funcionalización en la dispersión de los CNC en una matriz de PLA, se seleccionaron las condiciones de funcionalización F7. Esta elección se realizó en base a los siguientes criterios: (i) los CNC de partida eran sulfatados (es posible eliminar el paso de desulfatación), (ii) se utilizaron CNC en dispersión acuosa (se obtiene una mejor dispersión que la que resultaría de

redispersar los CNC liofilizados) y (iii) la relación molar CNC:silano era la más baja de las que se había probado que no afectaba a la cristalinidad de acuerdo con los experimentos de WAXS.

3.5. Preparación de nanocomposites de PLA

Con el fin de evaluar si la silanización de los CNC era una estrategia factible para mejorar su compatibilidad en PLA, se prepararon films conteniendo un 1% en peso de F-CNC (obtenidos bajo las condiciones de reacción F7). Para ello, el PLA se disolvió en THF y los F-CNC predispersados en THF se añadieron a la disolución de PLA. La mezcla se colocó en una placa Petri hasta que el disolvente se evaporó. Para la obtención de un film transparente, el nanocomposite de PLA/CNC se prensó en una prensa de platos calientes a 180 °C durante 15 minutos. Con fines comparativos se preparó de la misma manera un film de PLA puro. Tal y como se muestra en la Figura 3.5 la calidad de los films obtenidos fue buena y no se observó a simple vista evidencias de aglomeración de los CNC.



Figura 3.5. Films de PLA preparados por compresión: (a) PLA puro y (b) PLA con 1 % en peso de F-CNC.

3.5.1. Caracterización morfológica

La Figura 3.6 muestra las micrografías de FE-SEM de la superficie de fractura criogénica correspondientes al PLA puro y al nanocomposite de PLA conteniendo un 1% en peso de F-CNC. El PLA puro mostró una superficie típica de un polímero semi-cristalino de acuerdo con lo descrito en la bibliografía [44]. La superficie de fractura correspondiente al PLA con un 1% en peso de F-CNC presentaba menos rugosidad y gran cantidad de líneas de fractura, lo que sugiere un material más frágil que el PLA puro [45]. La falta de evidencia en lo que se refiere a la formación de aglomerados puede ser interpretada como signo de buena dispersión.

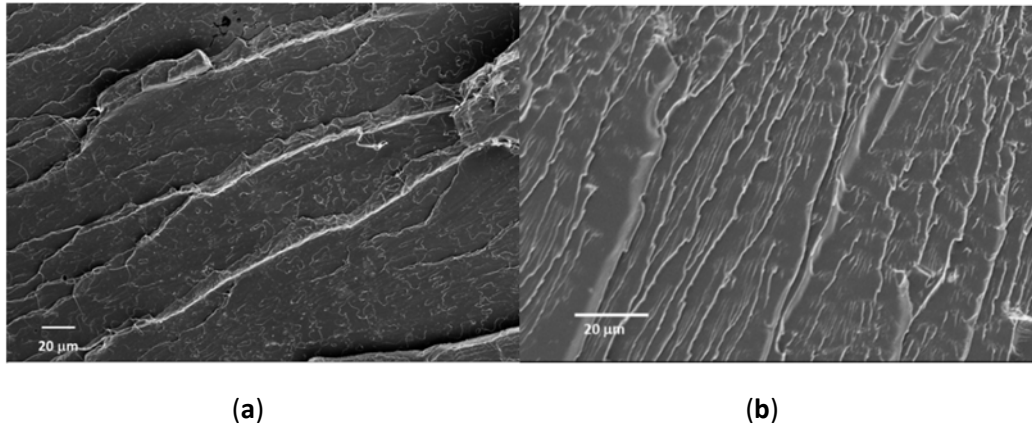


Figura 3.6. Micrografías de FE-SEM de superficies fracturadas criogénicamente de (a) el PLA puro y (b) nanocomposite de PLA con un 1 % en peso de F-CNC.

3.5.2. Caracterización mecánica

La Figura 3.7 muestra las curvas tensión-deformación del PLA puro y el PLA con un 1 % en peso de F-CNC, mientras que los valores más representativos de las propiedades mecánicas se resumen en la Tabla 3.3.

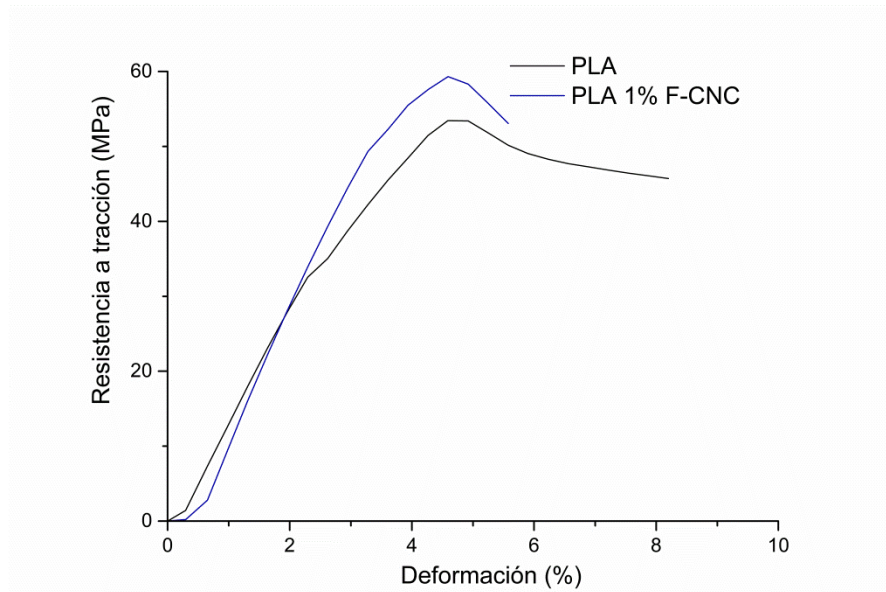


Figura 3.7. Curvas representativas tracción-deformación correspondientes al PLA puro y a un nanocomposite de PLA reforzado con un 1% en peso de F-CNC.

El PLA puro presentaba un comportamiento semi-dúctil con una deformación a rotura del 8.2%. La disminución de la elongación a rotura con la adición de refuerzos es una tendencia comúnmente observada en los composites termoplásticos. Como era de esperar, la adición del 1% en peso de F-CNC aumentó la resistencia a la tracción a expensas de la disminución de la ductilidad.

Tabla 3.3. Comportamiento mecánico de los films basados en PLA.

Material	Módulo de Young (MPa)	σ (MPa)	ϵ a rotura (%)
PLA	1780 \pm 48	52.5 \pm 4.2	7.28 \pm 0.41
PLA/1 % F-CNC	1815 \pm 176	54.7 \pm 5.1	5.30 \pm 0.31

La adición de un 1% en peso de F-CNC mejoró el módulo de Young (E) y la resistencia a la tracción (σ) un 2% y un 4%, respectivamente, indicando que la funcionalización de los CNC mejoraba el grado de dispersión y la adhesión interfacial entre el PLA y los CNC.

3.6. Conclusiones

En el presente trabajo, el carácter hidrofílico de los nanocristales de celulosa fue modificado mediante silanización. Este proceso se llevó a cabo utilizando el lactato de colina [CHO⁺][Lac⁻], un líquido iónico derivado de fuentes renovables, como medio de reacción. La polaridad del LI y el carácter básico moderado del anión lactato puede, presumiblemente, favorecer la solvatación de la superficie de los CNC y la hidrólisis del grupo metoxi-silano. Los resultados de la espectroscopía de FTIR confirmaron que la modificación de los CNC tuvo lugar satisfactoriamente para algunas de las condiciones estudiadas. Además, la cristalinidad de los CNC, determinada por XRD, fue similar tras la modificación química, excepto para las condiciones en las que había un exceso de silano, las cuales conducían a la condensación de SiO₂.

Finalmente, se prepararon y caracterizaron nanocomposites de PLA reforzados con un 1% en peso de F-CNC. La caracterización morfológica mostró la ausencia de aglomerados.

Asimismo, los ensayos de tracción mostraron una mejora en las propiedades mecánicas de los nanocomposites (Módulo de Young y resistencia a la tracción). Estos resultados mostraron que la modificación con un silano puede contribuir a la mejora de la unión interfacial entre el refuerzo y la matriz.

Además, el uso del líquido iónico [CHO⁺][Lac⁻] ha demostrado ser un medio de reacción efectivo para llevar a cabo la silanización de los CNC sin alterar la estructura cristalina de estos últimos.

3.7. Bibliografía

- [1] Tingaut, P.; Zimmermann, T.; Sèbe, G. Cellulose nanocrystals and microfibrillated cellulose as building blocks for the design of hierarchical functional materials. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 20105–20111.
- [2] Habibi, Y.; Lucia, L.A.; Rojas, O.J. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3479–3500.
- [3] Roman, M.; Dong, S.; Hirani, A.; Lee, Y.W. Cellulose nanocrystals for drug delivery. In *Polysaccharide Materials: Performance by Design*; Edgar, K.J., Heinze, T., Buchanan, C.H., Eds.; American Chemical Society: Washington, D.C., USA, 2009; pp. 81–91.
- [4] Lam, E.; Male, K.B.; Chong, J.H.; Leung, A.C.N.; Luong, J.H.T. Applications of functionalized and nanoparticle-modified nanocrystalline cellulose. *Trends Biotechnol.* **2012**, *30*, 283–290.
- [5] Wu, X.; Lu, C.; Zhou, Z.; Yuan, G.; Xiong, R.; Zhang, X. Green synthesis and formation mechanism of cellulose nanocrystal-supported gold nanoparticles with enhanced catalytic performance. *Environ. Sci. Nano.* **2014**, *1*, 71–79.
- [6] Chen, L.; Cao, W.; Quinlan, P.J.; Berry, R.M.; Tam, K.C. Sustainable catalysts from gold-loaded polyamidoamine dendrimer-cellulose nanocrystals. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2015**, *3*, 978–985.
- [7] Liu, J.; Plog, A.; Groszewicz, P.; Zhao, L.; Xu, Y.; Breitzke, H.; Stark, A.; Hoffmann, R.; Gutmann, T.; Zhang, K.; *et al.* Design of a heterogeneous catalyst based on cellulose nanocrystals for cyclopropanation: Synthesis and solid-state NMR characterization. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 12414–12420.
- [8] Tang, J.; Berry, R.M.; Tam, K.C. Stimuli-responsive cellulose nanocrystals for surfactant-free oil harvesting. *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 1748–1756.

- [9] Bawa, P.; Pillay, V.; Choonara, Y.E.; Du Toit, L. Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. *Biomed. Mater.* **2009**, *4*, 22001–22016.
- [10] Zhao, L.; Li, W.; Plog, A.; Xu, Y.; Buntkowsky, G.; Gutmann, T.; Zhang, K. Multi-responsive cellulose nanocrystal–rhodamine conjugates: An advanced structure study by solid state dynamic nuclear polarization (DNP) NMR. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 26322–26329.
- [11] Nogi, M.; Iwamoto, S.; Nakagaito, A.N.; Yano, H. Optically transparent nanofiber paper. *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 1595–1598.
- [12] Moon, R.J.; Martini, A.; Nairn, J.; Simonsen, J.; Youngblood, J. Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 3941–3994.
- [13] George, J.; Sajeevkumar, V.A.; Ramana, K.V.; Sabapathy, S.N.; Siddaramaiah. Augmented properties of PVA hybrid nanocomposites containing cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 22433–22439.
- [14] Mathew, A.P.; Dufresne, A. Morphological investigation of nanocomposites from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 609–617.
- [15] De Mesquita, J.P.; Donnici, C.L.; Pereira, F.V. Biobased nanocomposites from layer-by-Layer assembly of cellulose nanowhiskers with chitosan. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 473–480.
- [16] Bendahou, A.; Habibi, Y.; Kaddami, H.; Dufresne, A. Physico-chemical characterization of palm from *phoenix dactylifera*–L, preparation of cellulose whiskers and natural rubber–based nanocomposites. *J. Biobased Mater. Biol.* **2009**, *3*, 81–90.
- [17] Robles, E.; Urruzola, I.; Labidi, J.; Serrano, L. Surface-modified nano-cellulose as reinforcement in poly(lactic acid) to conform new composites. *Ind. Crop Prod.* **2015**, *71*, 44–53.

- [18] Pei, A.; Zhou, Q.; Berglund, L.A. Functionalized cellulose nanocrystals as biobased nucleation agents in poly(L-lactide) (PLLA)—Crystallization and mechanical property effects. *Compos. Sci. Technol.* **2010**, *70*, 815–821.
- [19] Sullivan, E.M.; Moon, R.J.; Kalaitzidou, K. Processing and characterization of cellulose nanocrystals/polylactic acid nanocomposite films. *Materials* **2015**, *8*, 8106–8116.
- [20] Peng, B.L.; Dhar, N.; Liu, H.L.; Tam, K.C. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: A nanotechnology perspective. *Can. J. Chem. Eng.* **2011**, *89*, 1191–1206.
- [21] Abdul Khalil, H.P.S.; Bhat, A.H.; Ireana Yusra, A.F. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87*, 963–979.
- [22] Eyley, S.; Thielemans, W. Surface modification of cellulose nanocrystals. *Nanoscale* **2014**, *6*, 7764–7779.
- [23] Wang, Y.G.; Wang, X.; Heim, L.O.; Breitzke, H.; Buntkowsky, G.; Zhang, K. Superhydrophobic surfaces from surface-hydrophobized cellulose fibers with stearyl groups. *Cellulose* **2015**, *22*, 289–299.
- [24] Goussé, C.; Chanzy, H.; Cerrada, M.L.; Fleury, E. Surface silylation of cellulose microfibrils: Preparation and rheological properties. *Polymer* **2004**, *45*, 1569–1575.
- [25] Belgacem, M.N.; Gandini, A. Surface modification of cellulose fibre. In *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, 1st ed.; Belgacem, M.N., Gandini, A., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2008; pp. 385–400.
- [26] Xie, Y.; Hill, C.A.S.; Xiao, Z.; Militz, H.; Mai, C. Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review. *Compos. Part A* **2010**, *41*, 806–819.

- [27] Hallett, J.P.; Welton, T. Room-temperature ionic liquids: Solvents for synthesis and catalysis. 2. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3508–3576.
- [28] de los Ríos, A.P.; Irabien, A.; Hollmann, F.; Hernández Fernández, F.J. Ionic liquids: Green solvents for chemical processing. *J. Chem.* **2013**, *13*, 1–2.
- [29] Tang, Z.; Huang, J.; Wu, X.; Guo, B.; Zhang, L.; Liu, F. Interface engineering toward promoting silanization by ionic liquid for high-performance rubber/silica composites. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2015**, *54*, 10747–10756.
- [30] Tadesse, H.; Luque, R. Advances on biomass pretreatment using ionic liquids: An overview. *Energy Environ. Sci.* **2011**, *4*, 3913–3929.
- [31] Swatloski, R.P.; Spear, S.K.; Holbrey, J.D.; Rogers, R.D. Dissolution of cellulose with ionic liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4974–4975.
- [32] Kamiya, N.; Matsushita, Y.; Hanaki, M.; Nakashima, K.; Narita, M.; Goto, M.; Takahashi, H. Enzymatic *in situ* saccharification of cellulose in aqueous-ionic liquid media. *Biotechnol. Lett.* **2008**, *30*, 1037–1040.
- [33] Paulechka, Y.U.; Kabo, G.J.; Blokhin, A.V.; Shaplov, A.S.; Lozinskaya, E.I.; Vygodskii, Y.S. Thermodynamic properties of 1-alkyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquids. *J. Chem. Thermodyn.* **2007**, *39*, 158–166.
- [34] Pereiro, A.B.; Legido, J.L.; Rodríguez, A. Physical properties of ionic liquids based on 1-alkyl-3-methylimidazolium cation and hexafluorophosphate as anion and temperature dependence. *J. Chem. Thermodyn.* **2007**, *39*, 1168–1175.
- [35] Bose, S.; Armstrong, D.W.; Petrich, J.W. Enzyme-catalyzed hydrolysis of cellulose in ionic liquids: A green approach toward the production of biofuels. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 8221–8227.
- [36] Chaumont, A.; Wipff, G. Solvation of “big” spherical solutes in room temperature ionic liquids and at their aqueous interface: A molecular dynamics simulation study. *J. Mol. Liq.* **2007**, *131–132*, 36–47.

- [37] Isik, M.; Sardon, H.; Mecerreyes, D. Ionic liquids and cellulose: Dissolution, chemical modification and preparation of new cellulosic materials. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15*, 11922–11940.
- [38] Tan, X.Y.; Abd Hamid, S.B.; Lai, C.W. Preparation of high crystallinity cellulose nanocrystals (CNC) by ionic liquid solvolysis. *Biomass Bioenergy* **2015**, *81*, 584–591.
- [39] Isik, M.; Gracia, R.; Kollnus, L.C.; Tomé, L.C.; Marrucho, I.M.; Mecerreyes, D. Cholinium lactate methacrylate: Ionic liquid monomer for cellulose composites and biocompatible ion gels. *Macromol. Symp.* **2014**, *342*, 21–24.
- [40] Liebert, T.; Heinze, T. Interaction of ionic liquids with polysaccharides. Solvents and reaction media for the modification of cellulose. *Bioresources* **2008**, *3*, 576–601.
- [41] Heinze, T.; Schwikal, K.; Barthel, S. Ionic liquids as reaction medium in cellulose functionalization. *Macromol. Biosci.* **2005**, *5*, 520–525.
- [42] Guillory, X.; Chopin, N.; Weiss, P.; Collic-Jouault, S.; Le Bideau, J. Development of an injectable extracellular matrix for regenerative medicine by silanization of a cellulose derivative in an ionic liquid medium. In Proceedings of the 24th Interdisciplinary Research Conference on Injectable Osteoarticular Biomaterials and Bone Augmentation Procedures, Nantes, France, 5–7 May 2014.
- [43] Montes, S.; Carrasco, P.; Ruiz, V.; Cabañero, G.; Grande, H.J.; Labidi, J.; Odriozola, I. Synergistic reinforcement of poly(vinyl alcohol) nanocomposites with cellulose nanocrystal-stabilized graphene. *Compos. Sci. Technol.* **2015**, *117*, 26–31.
- [44] Yang, W.; Dominici, F.; Fortunati, E.; Kenny, J.M.; Puglia, D. Melt free radical grafting of glycidyl methacrylate (GMA) onto fully biodegradable poly(lactic) acid films: Effect of cellulose nanocrystals and a masterbatch process. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 32350–32357.

- [45] John, M.J.; Anandjiwala, R.; Oksman, K.; Mathew, A.P. Melt-spun polylactic acid fibers: Effect of cellulose nanowhiskers on processing and properties. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *127*, 274–281.
- [46] Lokanathan, A.R.; Ahsan Uddin, K.M.; Rojas, O.J.; Laine, J. Cellulose nanocrystal-mediated synthesis of silver nanoparticles: Role of sulfate groups in nucleation phenomena. *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 373–379.
- [47] Abitbol, T.; Kloser, E.; Gray, D.G. Estimation of the surface sulfur content of cellulose nanocrystals prepared by sulfuric acid hydrolysis. *Cellulose* **2013**, *20*, 785–794.

4

Refuerzo sinérgico del grafeno estabilizado con nanocristales de celulosa en nanocomposites de poli(vinil alcohol)

“Para mí la ciencia da una explicación parcial de la vida. Tal como es se basa en los hechos, la experiencia y los experimentos...”

Rosalind Franklin

4.1. Introducción

El uso de polímeros de origen natural ha despertado un creciente interés en los últimos 30 años, debido, entre otras razones, a su disponibilidad, su naturaleza renovable, así como por cuestiones económicas. La celulosa destaca entre otros biopolímeros por ser considerada el polímero renovable más abundante de la Tierra [1]. Puede ser biosintetizada por varios tipos de microorganismos que van desde las plantas superiores e inferiores, algunas amebas, ciertos animales acuáticos, hasta bacterias y hongos [2]. Debido a su estructura jerárquica y a su naturaleza semi-cristalina, es posible extraer de este polímero natural nanoestructuras tales como la celulosa microfibrilada (MFC). La MFC se obtiene normalmente mediante tratamiento mecánico de las fibras de celulosa nativa, las cuales están formadas por dominios alternantes cristalinos y no cristalinos. Los nanocristales de celulosa (CNC) o “*nanowhiskers*” son el resultado de someter las microfibrillas de celulosa a un tratamiento de hidrólisis con un ácido fuerte, permitiendo así la disolución de los dominios amorfos [3].

Se ha investigado ampliamente la utilización de los CNC para la obtención de nanocomposites poliméricos [4, 5]. Las propiedades de estos nanomateriales, tales como: su capacidad de refuerzo, su abundancia, su ligereza unidas a su biodegradabilidad, hacen de los CNC los candidatos ideales para obtener nanocomposites poliméricos, especialmente aquellos basados en polímeros biodegradables [6].

Además de como nanomateriales de refuerzo, los CNC se han utilizado recientemente como estabilizante de dispersiones acuosas de grafeno (GR) preparadas mediante la exfoliación en fase líquida del grafito [7]. La exfoliación en fase líquida de grafito estabilizada por los CNC ha resultado ser un método sencillo, económico y no tóxico para preparar dispersiones acuosas de grafeno muy estables. El material híbrido resultante de la exfoliación consiste en láminas de grafeno rodeado por CNC en mayor o menor medida (Figura 4.1), dependiendo de la relación

CNC:GR. El grafeno, una monocapa de átomos de carbono ordenada en una estructura hexagonal, ha sido ampliamente utilizado en la preparación de nanocomposites poliméricos conductores [8-10]. La preparación de nanocomposites de grafeno con matrices poliméricas hidrofílicas requiere el uso de métodos químicos o físicos para conseguir una buena dispersión del grafeno en la matriz [11, 12]. En este sentido, la utilización de una dispersión acuosa de grafeno estabilizado con CNC (GR-CNC), es una estrategia directa y sencilla para preparar nanocomposites poliméricos de GR basados en polímeros hidrofílicos como el polivinil alcohol (PVA).

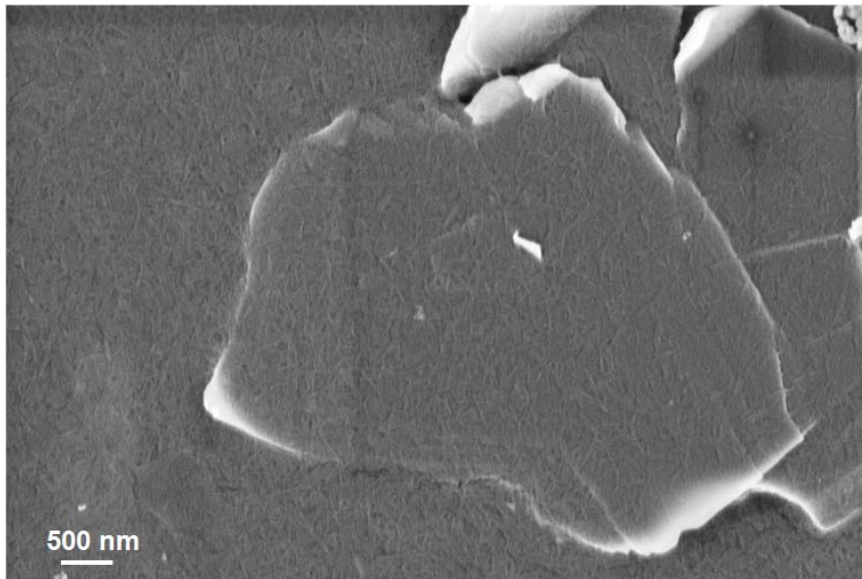


Figura 4.1. Imágenes representativas de FE-SEM correspondientes al nanomaterial híbrido GR-CNC en el cual la relación GR:CNC es de 74:26.

En la búsqueda de materiales poliméricos desechables que sean biodegradables y que sean capaces de eliminar, o al menos reducir, las cuestiones relacionadas con la gestión de su tratamiento post-consumo, el PVA ha sido considerado un material muy atractivo para la producción de envases plásticos sostenibles [13, 14]. Se trata de un polímero muy polar, soluble en agua y miscible con otros polímeros naturales.

Además de ser compatible con muchos otros biopolímeros, tales como la celulosa o el quitosano [15-17], es también biodegradable [18].

Se han utilizado y descrito en la bibliografía varias estrategias para la preparación de nanocomposites de grafeno con PVA con propiedades mecánicas, térmicas o eléctricas mejoradas [19-22]. La estrategia más extendida consiste en la incorporación de óxido de grafeno y la subsiguiente reducción para obtener el óxido de grafeno reducido, el cual presenta una conductividad eléctrica significativamente menor que la del grafeno [23-25]. Una estrategia alternativa consiste en estabilizar las dispersiones de grafeno con un surfactante orgánico, pero la presencia del surfactante altera las propiedades finales del nanocomposite [23, 26].

En el presente trabajo se presenta un método simple y medioambientalmente sostenible para preparar nanocomposites de PVA con grafeno estabilizado por CNC (GR-CNC/PVA). El método consiste en la incorporación directa del refuerzo híbrido GR-CNC, producido mediante exfoliación líquida del grafito en fase acuosa, en una matriz de PVA. Asimismo, se han investigado las propiedades mecánicas, térmicas y ópticas de los nanocomposites obtenidos. La combinación de grafeno y nanocristales de celulosa ha dado lugar a un pronunciado efecto sinérgico en las propiedades del nanocomposite.

4.2. Parte experimental

4.2.1. Materiales

El surfactante Triton X-100, ampliamente utilizado en la exfoliación líquida de grafito, fue comprado a Panreac. El grafito de alta pureza en polvo (SP-1) fue obtenido de Bay Carbon Inc. La celulosa microcristalina (MCC) y el PVA Mowiol 4-88 ($M_w \sim 31,000$, 86.7-88.7 mol% hydrolysis) fueron adquiridos en Sigma-Aldrich.

El ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 98%) y el hidróxido sódico (NaOH) se compraron a Scharlau.

4.2.2. Preparación de nanocristales de celulosa (CNC)

El procedimiento utilizado para la obtención de los nanocristales de celulosa es el descrito en el capítulo 3, en la sección 3.2.3. Brevemente, 20 g de MCC se añadieron a una disolución previamente calentada de ácido sulfúrico al 64% en peso (175 mL) y se dejaron reaccionar con agitación vigorosa a 45 °C durante 45 minutos. La reacción se paró mediante la adición de 5L de agua desionizada y se dejó reposar toda la noche. Trascurrido ese tiempo, la suspensión se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos. El precipitado se aclaró repetidamente y se centrifugó con agua desionizada hasta que el sobrenadante se volvió turbio. La purificación adicional de los CNC se realizó mediante diálisis con agua desionizada hasta que el pH alcanzó un valor de 5-6 (membrana Spectra/Por 2, MWCO 12,000–14,000) [27]. La anchura y la longitud de los nanocristales así obtenidos se determinaron mediante AFM, estimándose que tenían una longitud de 187 ± 30 y una anchura de 17 ± 4 nm.

4.2.3. Preparación de GR-CNC

Para la preparación del GR-CNC se procedió en primer lugar a la extracción de los CNC de la celulosa microcristalina (MCC) mediante hidrólisis ácida, tal y como se ha descrito en el apartado anterior.

Los nano-refuerzos de **GR-CNC** se obtuvieron mediante exfoliación del grafito en fase líquida asistida por CNC, siguiendo un protocolo ya reportado [7]. Brevemente, el grafito (4 mg mL^{-1}) y los CNC (16 mg mL^{-1}) se co-dispersaron en agua Millipore y fueron sometidos a ultrasonidos (Tip sonicator, Hielscher UP400S, pulso de 0.5 s, 70% de amplitud) durante 4 horas en un baño de hielo para evitar sobre-calentamientos. El grafito no exfoliado se eliminó por centrifugación a 4500 rpm durante 1,5 horas. Las dispersiones negras resultantes eran muy estables con niveles de sedimentación despreciables incluso después de varios meses. Con fines comparativos, se prepararon también CNC predispersados en agua y sometidos a ultrasonidos durante 4 horas, así como grafeno producido por exfoliación en fase líquida de grafito

estabilizado con el surfactante Triton x-100 (**GR-T**), utilizando condiciones idénticas de ultrasonidos y centrifugación que en el caso del GR-CNC.

4.2.4. Preparación de los nanocomposites de GR-CNC/PVA

Para la fabricación de los nanocomposites GR-CNC/PVA, se disolvieron 5 g de PVA en 150 mL de agua destilada a 100 °C y la disolución fue seguidamente enfriada a temperatura ambiente. Entonces se añadió un 1% en peso de GR-CNC a la disolución del polímero, la cual se mantuvo agitando durante 2 minutos. Para la formación del film, la mezcla se vertió en una placa Petri y se dejó secar a temperatura ambiente hasta peso constante.

4.2.5. Preparación de los nanocomposites de PVA de referencia

Asimismo, con fines comparativos, se prepararon otros nanocomposites de PVA conteniendo un 1% en peso de dos nano-refuerzos diferentes, CNC y GR-T (grafeno estabilizado con Triton X-100), que se denominaron **CNC/PVA** y **GR-T/PVA** respectivamente. Como muestras de referencia se prepararon también films de PVA y PVA con un 1% en peso de Triton X-100 (**T/PVA**), siguiendo el mismo procedimiento.

4.3. Métodos de caracterización

4.3.1. Caracterización morfológica

La morfología superficial de los CNC y las secciones transversales de los nanocomposites se analizaron usando un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FE-SEM) ULTRA plus ZEISS.

4.3.2. Propiedades ópticas

La caracterización por UV/Visible/IR cercano se llevó a cabo en el rango de 200-800 nm en un espectrofotómetro UV/VIS/NIR V-570 JASCO.

4.3.3. Caracterización estructural

Los patrones de difracción de rayos X de los CNC y de la MCC de partida se recogieron en un difractómetro de rayos X (XRD) de Bruker AXS-D8 Advance con radiación Cu Ka. Las medidas se llevaron a cabo a valores de 2θ comprendidos entre 5° y 40° .

4.3.4. Propiedades térmicas

Las medidas de calorimetría diferencial de barrido (DSC, Pyris Diamond DSC Perkin Elmer) se llevaron a cabo en un intervalo de temperatura de 25°C a 220°C , utilizando 5.00 ± 0.50 mg de muestra en atmósfera de nitrógeno con una velocidad de barrido de $10^\circ\text{C min}^{-1}$. Los valores de temperatura de fusión (T_m) se determinaron como la temperatura máxima del pico de fusión obtenido en el segundo calentamiento. La cristalinidad relativa del PVA en las mezclas se calculó siguiendo la ecuación (1):

$$\chi (\%) = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_0} \times \frac{100}{\omega} \quad (1)$$

Donde, ΔH_m es la entalpía de fusión, ΔH_0 es la entalpía de fusión de un PVA 100% cristalino, tomada como 138.6 J g^{-1} y ω es la fracción en peso del PVA en la mezcla.

El análisis termogravimétrico se llevó a cabo en una termobalanza TGA Q500 (TA Instruments) a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ en atmósfera de nitrógeno hasta 600°C y posteriormente en aire hasta 800°C .

4.3.5. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de la referencia y de los nanocomposites de PVA se evaluaron mediante ensayos de tracción, utilizando una máquina universal de ensayos modelo 3365 (Instron). Se utilizaron para ello probetas ASTM D-638 Tipo V, con un espesor entre 250 y 350 micras. Los ensayos se realizaron a una velocidad de desplazamiento de la cruceta de 50 mm min^{-1} y se utilizó una longitud inicial entre

mordazas de 50 mm. Los valores promedio de resistencia a la tracción (σ_b), alargamiento a rotura (ε_b) y módulo elástico (E), se calcularon a partir de los resultados de la curva de tensión-deformación. Los ensayos se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Caracterización de los nano-refuerzos basados en grafeno

El **GR-CNC** se preparó mediante exfoliación directa de grafito en una dispersión acuosa de **CNC**. Dependiendo de la relación inicial CNC:grafito, el contenido relativo de CNC en los copos de **GR-CNC** fue también variable. La relación **GR:CNC** resultante se estimó a partir de la pérdida de masa en el rango de temperatura de 130–575 °C determinada mediante TGA, la cual para el caso del **GR-CNC** utilizado como nanocarga fue de 5:95 (**GR:CNC**). Esta relación **GR:CNC** fue seleccionada con el fin de asegurar la transparencia óptima del film resultante. Asimismo, se utilizó la misma relación estabilizante:grafeno para la obtención de grafeno estabilizado por Triton (**T-GR**). Es decir, el contenido relativo de grafeno en los nano-refuerzos híbridos es de tan solo el 5%. La Figura 4.2 muestra una imagen de FE-SEM representativa de una muestra de GR-CNC con una relación 5:95, en la cual se puede apreciar un copo de grafeno individual totalmente rodeado de CNC.

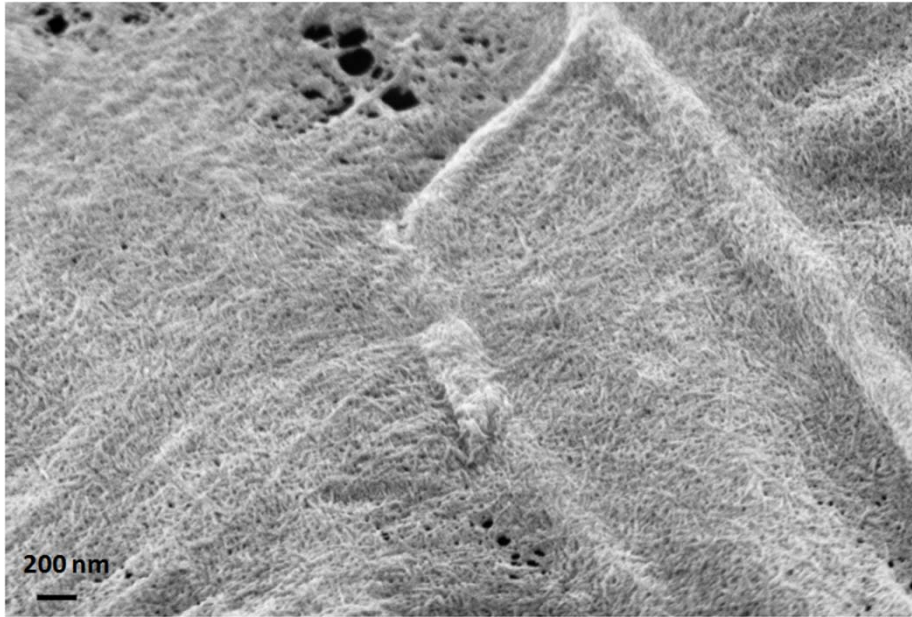


Figura 4.2. Imagen de FE-SEM del **GR-CNC** con una relación 5:95 (GR:CNC).

4.4.2. Preparación y caracterización de films de PVA

Los nano-refuerzos anteriormente mencionados se utilizaron para la preparación de una serie de films basados en nanocomposites de PVA. Para cada nanocomposite, un 1% en peso de nano-refuerzo previamente disperso en agua fue añadido a una disolución acuosa de PVA. La disolución con la mezcla se secó a temperatura ambiente hasta la obtención de un film. Con fines comparativos, se prepararon igualmente films de PVA puro y un film de PVA conteniendo un 1% en peso del surfactante orgánico Triton X-100.

Todos los films obtenidos fueron de excelente calidad, transparentes (a pesar de que aquellos que contenían grafeno eran ligeramente grisáceos) y aparentemente uniformes a simple vista, tal y como se aprecia en las fotografías del inserto de la Figura 4.3. Con el fin de verificar la dispersión del nano-refuerzo GR-CNC en la matriz de PVA, se hicieron varios intentos de obtención de micrografías de SEM y TEM. Sin

embargo, a pesar de utilizar varios agentes de contraste, no fue posible obtener tales imágenes con el contraste y la resolución requeridas debido a la naturaleza orgánica de los nano-refuerzos.

4.4.3. Propiedades ópticas de los films de PVA

La Figura 4.3 muestra los espectros de absorción UV-Vis de los films de PVA. La adición de un 1% en peso de CNC dio lugar a una ligera pérdida de transparencia comparada con el PVA puro, mientras que la adición de grafeno, tanto con el surfactante orgánico como con los nanocrisales de celulosa (1% en peso de carga) causó una mayor pérdida de transparencia incluso cuando el contenido de grafeno en el nanocomposite era solo del 0.05% en peso.

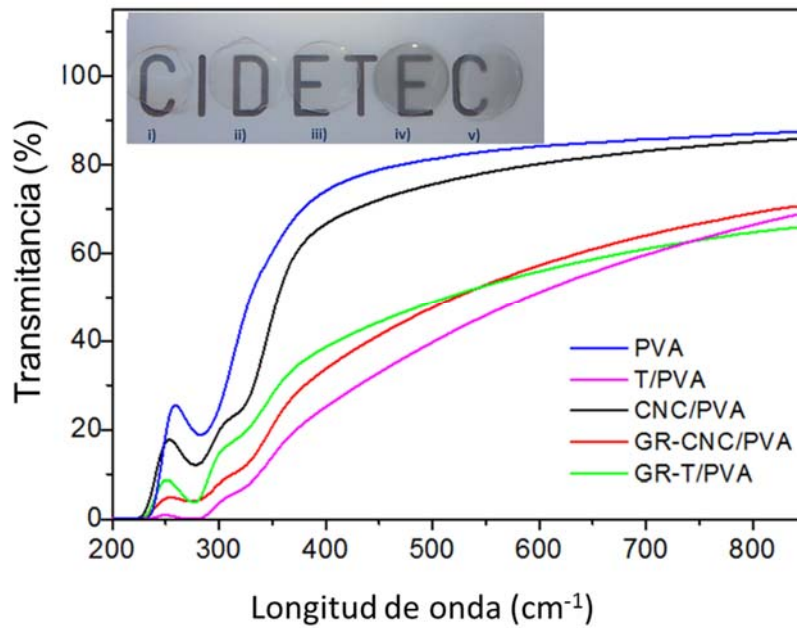


Figura 4.3. Espectros de absorción UV-Vis de los films de PVA. Inserción: fotografías de los films de PVA: i) PVA puro, ii) **T/PVA**, iii) **CNC/PVA**, iv) **GR-CNC/PVA** y v) **GR-T/PVA**.

Las fotografías de los diferentes films de PVA (inserto Figura 4.3) muestran que tras la incorporación de grafeno los films se volvieron ligeramente grisáceos. Se intentó aumentar el contenido en grafeno en el nanocomposite **GR-CNC/PVA** sin modificar el contenido total de carga (1% en peso) lo cual resultó en una visible aglomeración del grafeno en el film, tal y como se muestra en la Figura 4.4 para un film con un 0.11% en peso de grafeno y un 0.89 % en peso de CNC.

La aglomeración se volvió mayor al incrementar el contenido de grafeno hasta el 0.5 % en peso (0.5 % en peso de CNC), lo cual implica que un menor contenido relativo de **CNC** en el nano-refuerzo híbrido no es suficiente para asegurar la adecuada estabilización y dispersión del **CNC-GR**.



Figura 4.4. Fotografías de films de **GR-CNC/PVA** con un mayor contenido en grafeno (1 % en peso de carga total de **GR-CNC**).

4.4.4. Propiedades térmicas de los films de PVA

La estabilidad térmica de los films de PVA se evaluó mediante análisis termogravimétrico (TGA). Los termogramas mostraron varias pérdidas de peso en la degradación del PVA puro y en todos los nanocomposites de PVA. De acuerdo con la literatura científica, tanto el PVA puro como los nanocomposites de PVA se descomponen mediante un proceso en dos pasos y la curva de TGA de los

nanocomposites tiende a desplazarse hacia temperaturas mayores si la comparamos con la del PVA puro [28].

Las curvas de TGA obtenidas (Figura 4.5) mostraron una rápida pérdida de masa entre temperatura ambiente y 100 °C que fue atribuida a la evaporación de la humedad presente en la superficie de los films, seguida de dos etapas principales de degradación: la primera está relacionada con la liberación de los grupos acetilo que se están transformando en moléculas de ácido acético y la segunda corresponde a la rotura de la cadena principal a temperaturas mayores [29-31].

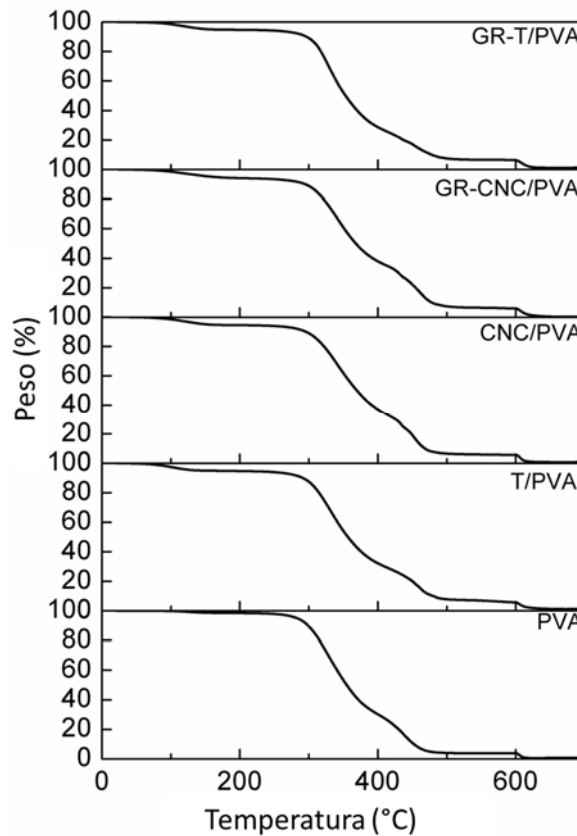


Figura 4.5. Termogramas correspondientes a los diferentes films de PVA.

La Tabla 4.1 resume los principales datos de estabilidad térmica para los films de PVA, de T/PVA y los nanocomposites de PVA. Para el PVA puro la primera y segunda etapa de degradación ocurren ambas a temperaturas inferiores que las de los films obtenidos a partir de nanocomposites, indicando una mayor estabilidad térmica de estos últimos, y en particular, de aquellos que contienen CNC. En el caso del film GR-CNC/PVA, la primera y segunda fase de degradación se desplazan 14 °C y 23 °C respectivamente comparadas con las del PVA puro. Además, la primera pérdida de peso en el caso del **GR-CNC/PVA** fue la menor, indicando nuevamente que la combinación de ambos nano-refuerzos da lugar a una mayor mejora en las propiedades térmicas del film.

Tabla 4.1. Estabilidad térmica de los films de PVA.

Muestra	<i>Td</i> Pico 1 (°C)	Pérdida de peso (%)	<i>Td</i> Pico 2 (°C)	Pérdida de peso (%)
PVA	327.1	68.2	437.1	26.4
T/PVA	331.8	66.1	461.8	21.7
GR-T/PVA	328.3	69.2	453.4	19.1
CNC/PVA	342.6	60.6	454.9	28.4
GR-CNC/PVA	341.6	58.7	460.3	28.9

La Figura 4.6 muestra los termogramas de DSC de los diferentes films de PVA. La temperatura de fusión (T_m) y el grado de cristalinidad de los films preparados se resumen en la Tabla 4.2.

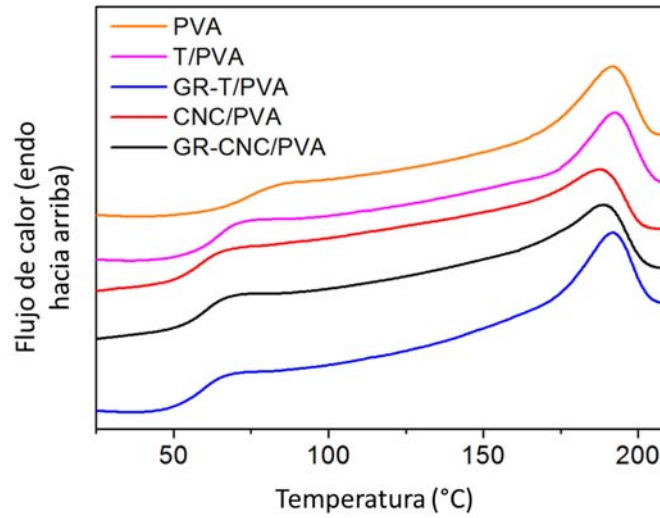


Figura 4.6 Curvas de DSC de los diferentes films de PVA.

Tabla 4.2. Temperaturas de fusión (T_m) y grado de cristalinidad (χ^c)^a de los films de PVA.

Muestra	T_m (°C)	ΔH (J g ⁻¹)	χ^c
PVA	191.6	21.57	0.16
T/PVA	192.3	17.4	0.13
GR-T/PVA	191.6	19.25	0.14
CNC/PVA	188.8	16.3	0.12
GR-CNC/PVA	188.7	18.8	0.14

^a $\chi^c = (\Delta H_m) / (\Delta H_m^0 \times \omega)$, donde ΔH_m^0 es el calor de fusión de un polímero 100% cristalino y ω es la fracción en peso del polímero en el nanocomposite (1 %).

La temperatura de fusión y el grado de cristalinidad del sistema CNC/PVA disminuyó comparada con los correspondientes al **GR-T/PVA**, **GR-CNC/PVA** y PVA puro. En el caso del nanocomposite basado en nanocristales de celulosa (**CNC/PVA**) producido por casting, ya ha sido referido en la bibliografía un mayor desorden y una disminución de la nucleación del PVA en presencia de CNC [32]. Este efecto se adscribe a mayores interacciones entre la superficie celulósica y la matriz polimérica. Estas interacciones restringen probablemente la capacidad de las cadenas poliméricas de formar grandes dominios cristalinos. Es interesante remarcar que la presencia de una pequeña cantidad de grafeno (0.05% en peso), tanto el nanocomposite **GR-CNC/PVA** como en el sistema **GR-T/PVA**, parecen contrarrestar este efecto ya que el grado de cristalinidad aumenta ligeramente con respecto al del **CNC/PVA**.

4.4.5. Propiedades mecánicas de los films de PVA

Las propiedades mecánicas de los diferentes films de PVA se evaluaron mediante ensayos de tracción. Los valores promedio para el módulo de Young, la resistencia a la tracción y el alargamiento a rotura se resumen en la Tabla 4.3 y las curvas tensión-deformación representativas se muestran en la Figura 4.7.

Tabla 4.3. Propiedades mecánicas de los films de PVA conteniendo un 1% en peso de refuerzo.

Muestra	Módulo de Young (MPa)	Resistencia a la tracción (MPa)	Alargamiento a rotura (%)
PVA	947 ± 92	30.2 ± 3.9	136 ± 46
T/PVA	319 ± 14	27.44 ± 0.33	178 ± 2
GR-T/PVA	719 ± 129	27.67 ± 3.62	168 ± 10
CNC/PVA	1135 ± 137	31.47 ± 0.71	101 ± 16
GR-CNC/PVA	1432 ± 174	36.14 ± 1.30	79 ± 12

Como era de esperar, la adición de CNC (1% en peso) mejoró las propiedades mecánicas de los films tal y como se aprecia en el incremento del 4% y del 20% de la resistencia a la tracción y el módulo de Young respectivamente para el nanocomposite **CNC/PVA** comparado con el PVA puro. Cabe mencionar que para el sistema **GR-CNC/PVA**, el mismo contenido en refuerzo (1 % en peso del cual solo un 0.05 % era grafeno) se obtuvo una mejora significativa del módulo de Young (50% de aumento comparado con el PVA puro) y la resistencia a la tracción (incremento del 20%), ilustrando así el efecto de refuerzo sinérgico de ambos nanomateriales. El efecto es particularmente notable ya que el film de PVA conteniendo un 1% en peso de Triton X-100 (del cual solo el 0.05 % en peso es grafeno) mostró una disminución en el módulo de Young y en la resistencia a la tracción mientras que la elongación a rotura aumentó comparado con el polímero puro. En este caso, la naturaleza oligomérica del surfactante podría hacer que éste actuara como plastificante del PVA. Este efecto se ilustra en la formulación **T/PVA** en la cual la disminución del módulo de Young y la resistencia a la tracción y el aumento de la elongación a rotura son incluso mayores.

Se han reportado en la literatura científica incrementos significativos en las propiedades mecánicas de sistemas basados en PVA mediante la adición de nano-

refuerzos con contenidos de carga superiores al 1% [33]. Estudios previos indicaron una mejora de hasta el 73% en el módulo de Young en nanocomposites basados en grafeno-PVA con un 0.6 vol % (~1 % en peso) de grafeno, el cual es 20 veces superior que en el caso de los films **GR-CNC/PVA** del presente trabajo. Como resultado de ello, los nanocomposites grafeno-PVA reportados en la literatura eran mucho menos transparentes que los films **GR-CNC/PVA** (Figura 4.3), lo cual podría impedir su uso en determinadas aplicaciones donde se requiera transparencia.

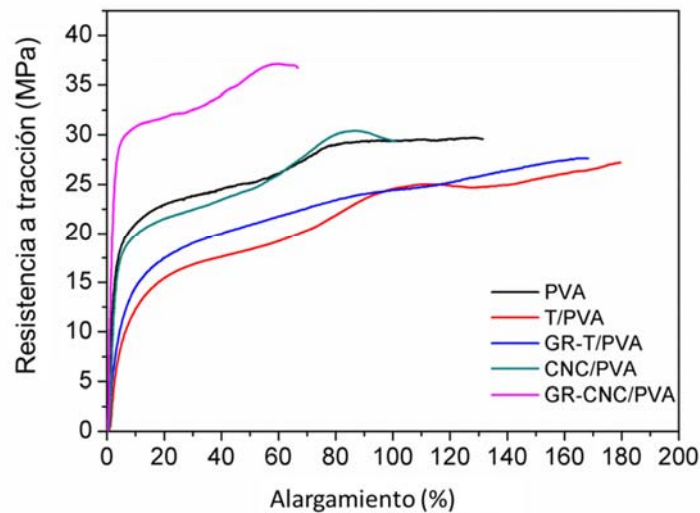
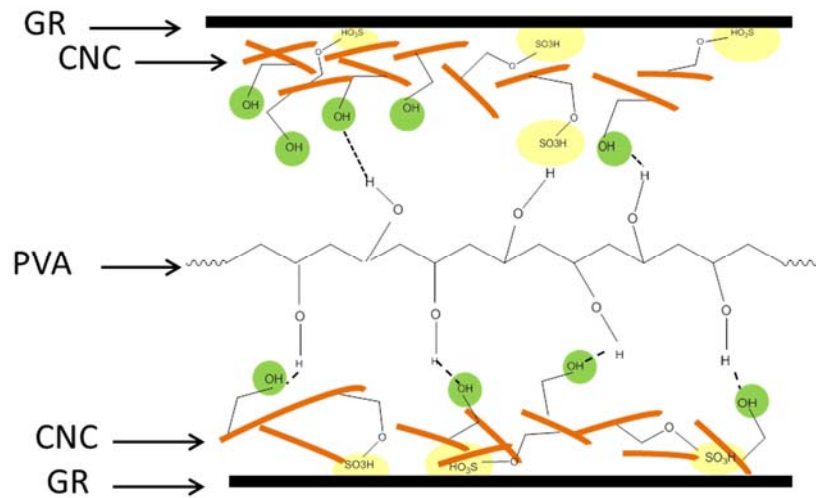


Figura 4.7. Gráficos de tensión-deformación de los films de PVA con un 1% de diferentes nano-refuerzos.

Este efecto sinérgico de refuerzo podría ser explicado por la fuerte interacción interfacial entre los grupos $-OH$ presentes en el PVA y en los CNC mediante enlaces de H y adicionalmente, por la buena dispersión del grafeno en la matriz de PVA proporcionada por los CNC tal y como se ilustra en el esquema 1, resultando en un efecto de refuerzo adicional.



Esquema 4.1. Representación de la posible interacción entre el PVA y el GR estabilizado por CNC.

4.5. Conclusiones

En el presente trabajo la exfoliación del grafito en fase líquida asistida por CNC se ha utilizado para preparar dispersiones acuosas de grafeno altamente estables. Asimismo se han preparado films de PVA mediante mezcla directa de estas dispersiones de grafeno estabilizadas por CNC (GR-CNC) con una disolución acuosa de PVA y la subsiguiente evaporación por casting. Este método ha resultado ser una técnica simple, limpia y medioambientalmente sostenible para preparar films de PVA.

El análisis de las propiedades térmicas de los films reveló una mejora en la estabilidad térmica de los nanocomposites GR-CNC/PVA como consecuencia de la presencia del nano-refuerzo híbrido GR-CNC. El análisis de DSC mostró que los nano-refuerzos GR-CNC daban lugar a una mayor cristalinidad en los nanocomposites de PVA que el uso únicamente de CNC, los cuales evitan la formación de grandes dominios cristalinos debido a las fuertes interacciones entre la superficie celulósica y el PVA. La presencia de grafeno en el nano-refuerzo híbrido parece contrarrestar

parcialmente este efecto favoreciendo la nucleación.

Los films del nanocomposite GR-CNC/PVA conteniendo un 1% en peso de GR-CNC mostraron una mejora en las propiedades mecánicas (50% de mejora en el módulo de Young y 20% en la resistencia a tracción con respecto al PVA puro) mientras que mantenían una alta transparencia, ya que el contenido real de grafeno permanecía notablemente bajo (0.05% en peso). La mejora en las propiedades mecánicas con el nano-refuerzo híbrido fue considerablemente mayor que la obtenida solamente con CNC al mismo nivel de carga o al obtenido con grafeno estabilizado mediante el Triton X-100. Los resultados prueban que los CNC tienen un doble papel, por un lado actúan como estabilizantes del grafeno, favoreciendo su dispersión en la matriz polimérica, y al mismo tiempo como refuerzo de PVA. Así, el nano-refuerzo híbrido GR-CNC presenta un claro efecto sinérgico debido a la combinación de ambos nanomateriales. Estos resultados pueden abrir el camino para el desarrollo de nanocomposites funcionales en los cuales se puedan obtener propiedades adicionales tales como conductividad eléctrica o térmica mediante la variación del nivel de carga del nano-refuerzo. Además, se vislumbra el uso de otros posibles nano-refuerzos híbridos con grafeno basados en polímeros naturales como por ejemplo la quitina. Finalmente, la funcionalización de los nanocristales de celulosa con grupos diferentes a los –OH podría permitir la preparación de un amplio rango de nuevos nanocomposites.

4.6. Bibliografía

- [1] Dufresne A. Polymer nanocomposites from biological sources. Encyclopedia of nanosciences and nanotechnology. Third ed., Valencia, C.A.: CRC Press; 2014.
- [2] Heux, L.; Dinand, E.; Vignon, M.R. Structural aspects in ultrathin cellulose microfibrils followed by ¹³C CP-MAS NMR. *Carbohydr Polym.* **1999**, *40*, 115–124.
- [3] Siqueira, G.; Bras, J.; Dufresne A. Cellulosic Bionanocomposites: A Review of Preparation, Properties and Applications. *Polymers.* **2010**, *2*, 728–765.

- [4] Kalia, S.; Dufresne, A.; Cherian, M.; Kaith, B.S.; Avérous, L.; Njugun, a J.; Nassiopoulos, E. Cellulose based bio and nanocomposites: A review. *Int J Polym Sci.* **2011**, 2011, 837875–837910.
- [5] Koon-Yang, L.; Aitomäki, Y.; Berglund, L.A.; Oksman, K.; Bismarc A. On the use of nanocellulose as reinforcement in polymer matrix composites. *Compos Sci Technol.* **2014**, 105, 15–27.
- [6] Uddin, A.J.; Araki, J.; Gotoh Y. Toward strong green nanocomposite: polyvinyl alcohol reinforced with extremely oriented cellulose whiskers. *Biomacromolecules.* **2011**, 12, 617–624.
- [7] Carrasco, P.M., Montes, S.; García, I.; Borghei, M.; Jiang, H.; Odriozola, I.; Cabañero, G.; Ruiz, V. High-concentration aqueous dispersions of graphene produced by exfoliation of graphite using cellulose nanocrystals. *Carbon.* **2014**, 70, 157–163.
- [8] May, P.; Khan, U.; O’Neill, A.; Coleman J. Approaching the theoretical limit for reinforcing polymers with graphene. *J Mater Chem.* **2012**, 22, 1278–1282.
- [9] Pinto, A.M; Cabral, J.; Mendes, A.; Magalhaes F. Effect of incorporation of graphene oxide and graphene nanoplatelets on mechanical and gas permeability properties of poly (lactic acid) films. *Polym Int.* **2013**, 62, 33–40.
- [10] Tapas, K.; Sambhu, B.; Dahu, Y.; Nam, H.K.; Saswata, B.; Joong, H.L. Recent advances in graphene based polymer composites. *Prog Polym Sci.* **2010**, 3, 1350–1375.
- [11] Tantis, I.; Psarras, G.C.; Tasis, D. Functionalized graphene – poly(vinyl alcohol) nanocomposites: Physical and dielectric properties. *EXPRESS Polym Lett.* **2012**, 6, 283–292.
- [12] Tian, M.; Wei, Z.; Zan, X.; Zhang, L.; Zhang, J.; Ma, Q.; Ning, N.; Nishi, T. Thermally expanded graphene nanoplates/polydimethylsiloxane composites

- with high dielectric constant, low dielectric loss and improved actuated strain. *Compos Sci Technol.* **2014**, *99*, 37–44.
- [13] Fahmida, P.; Rhaman, A.; Islam, J.M.M.; Khan, M.A.; Saadat, A.H.M. Preparation and Characterization of Starch/PVA Blend for Biodegradable Packaging Material. *Adv Mater Res.* **2010**, *123-125*, 351–354.
- [14] Jelinska, N.; Tupureina, V.; Dzene, A.; Laka M. Blends of pva with natural fillers. Material science and applied chemistry. *Materials Science and Applied Chemistry.* **2008**, *16*, 27–33.
- [15] Attia, G.; Abd El-Kader MFH. Structural, Optical and thermal characterization of PVA/2HEC polyblends films. *Int J Electrochem Sci.* 2013;*8*:5672–5687.
- [16] Chiellini, E.; Cinelli ,P.; Ilieva, V.; Martera, M. Biodegradable Thermoplastic Composites Based on Polyvinyl Alcohol and Algae. *Biomacromolecules.* **2008**, *9*, 1007–1013.
- [17] Qiu, K.; Netravali, A.N. Fabrication and characterization of biodegradable composites based on microfibrillated cellulose and polyvinyl alcohol. *Compos Sci Technol.***2012**, *72*, 1588–1594.
- [18] Kubo, S.; Kadla, J.F. The Formation of Strong Intermolecular Interactions in Immiscible Blends of Poly(vinyl alcohol) (PVA) and Lignin. *Biomacromolecules.* **2003**, *4*, 561–567.
- [19] Kumar Das, T.; Prusti, S. Graphene-based pollymer composites and their applications. *Polym Plast Technol Eng.* **2013**, *52*, 311–319.
- [20] Liang, J.; Huang, Y.; Zhang, L.; Wang, Y.; Ma, Y.; Guo, T.; Chen, Y. Molecular-Level Dispersion of Graphene into Poly(vinyl alcohol) and Effective Reinforcement of their Nanocomposites. . *Adv Funct Mater.* 2009, *19*, 1–6.

- [21] Nigrawal, A.; Chand, N. Preparation, dielectric and a.c. conductivity studies on chemically treated sisal powder filled polyvinyl alcohol biocomposites. *IJEST*. **2012**, *4*, 191–209.
- [22] Zhou, T.; Chen, F.; Tang, C.; Bai, H.; Zhang, Q.; Deng, H.; Fu, Q. The preparation of high performance and conductive poly (vinyl alcohol)/graphene nanocomposite via reducing graphite oxide with sodium hydrosulfite. *Compos Sci Technol*. **2011**, *71*, 1266–1270.
- [23] Kim, H.; Abdala, A.; Macosko, C. Graphene polymer nanocomposites. *Macromolecules*. **2010**, *43*, 6515–6530.
- [24] Liu, L.; Gao, Y.; Liu, Q.; Kuang, J.; Zhou, D.; Ju, S.; Han, B.; Zhang, Z. High Mechanical Performance of Layered Graphene Oxide/Poly(vinyl alcohol) Nanocomposite Films. *Small*. **2013**, *9*, 2466–2472.
- [25] Morimune, S.; Nishino, T.; Goto, T. Poly (vinyl alcohol)/graphene oxide nanocomposites prepared by a simple eco-process. *Polym J*. **2012**, *44*, 1056–1063.
- [26] Chieng, B.W.; Ibrahim, N.A.; Yunus, W.M.Z.W.; Hussein, M.Z.; Silverajah, V.S.G. Graphene Nanoplatelets as Novel Reinforcement Filler in Poly(lactic acid)/Epoxidized Palm Oil Green Nanocomposites: Mechanical Properties. *Int J Mol Sci*. **2012**, *13*, 10920–10934.
- [27] Cranston, E.D.; Gray, D.G. Morphological and optical characterization of polyelectrolyte multilayers incorporating nanocrystalline cellulose. *Biomacromolecules*. **2006**, *7*, 2522–2530.
- [28] Holland, B.J.; Hay, J.N. The thermal degradation of poly(vinyl alcohol). *Polymer*. **2001**, *42*, 6775–6783.
- [29] Mudigoudra, B.S.; Masti, S.P.; Chougale, R.B. Thermal Behaviour of Poly (vinyl alcohol)/ Poly (vinyl Pyrrolidone)/Chitosan ternary polymer blend films. *Res J Recent Sci*. **2012**, *1*, 83–86.

- [30] Peresin, M.; Habibi, .Y; Zoppe, J.O.; Pawlak J.J.; Rojas, O.J. Nanofiber composites of Polyvinyl alcohol and cellulose nanocrystals: Manufacture and Characterization. *Biomacromolecules*. **2010**, *11*, 674–681.
- [31] Perfetti, G.; Alphazan, T.; Wildeboer, W.J.; Meesters, G.J. Thermo-physical characterization of Pharmacoat®603, Pharmacoat®615 and Mowiol®. *Therm Anal Calorim*. **2012**, *109*, 203–215.
- [32] Xin, Z.; Qinghua, Z.; Dajun, C. Enhanced Mechanical Properties of Graphene-Based Poly(vinyl alcohol) Composites. *Macromolecules*. **2010**, *43*, 2357–2363.
- [33] Qiu, K.; Netravali, A.N. Hallosyte nanotube reinforced biodegradable nanocomposites using noncrosslinked and malonic acid crosslinked polyvinyl alcohol. *Polym Compos*. **2013**, *34*, 799–809.

5

Efecto de la combinación de nanocristales de celulosa y nanoláminas de grafeno en las propiedades de films de poli (ácido láctico)

“El mundo no puede permitir la pérdida de los talentos de la mitad de las personas, si estamos aquí para resolver la multitud de problemas que nos preocupa”

Rosalyin Yalow

5.1. Introducción

En las últimas décadas, de acuerdo con los datos de la “European Bioplastic Association” (www.european-bioplastics.org), el mercado de los bioplásticos, incluyendo los plásticos bio-basados y los biodegradables [1, 2], se ha incrementado considerablemente, con una tasa de crecimiento anual de entre el 20 y el 100 por cien.

El interés por los materiales plásticos respetuosos con el medio ambiente ha aumentado, entre otros factores, por el potencial agotamiento de las fuentes conocidas de petróleo, los problemas asociados a la eliminación de los plásticos en vertederos, las emisiones derivadas de su incineración, junto con unas normativas medioambientales cada vez más restrictivas. Los esfuerzos en investigación han tendido hacia el desarrollo de plásticos derivados de la biomasa, es decir, cuyas fuentes de materia prima sean independientes de los combustibles fósiles [3].

El ácido poliláctico (PLA), un poliéster alifático biodegradable, puede ser obtenido de fuentes renovables [4]. El PLA es una alternativa real a los polímeros derivados del petróleo en muchas aplicaciones ya que está disponible a escala industrial y presenta un buen comportamiento en términos de propiedades mecánicas (alta resistencia a tracción y alto módulo), biocompatibilidad y biodegradabilidad [5]. Estas propiedades hacen que sea un material adecuado para su utilización en andamios tisulares o soportes artificiales biocompatibles y biodegradables, así como para su empleo en *carriers* para liberación de fármacos [6–8]. Sin embargo, su fragilidad, su baja velocidad de cristalización y baja resistencia del fundido son algunas de las limitaciones de este material para ser usado, por ejemplo, en aplicaciones agrícolas como sustituto de materiales convencionales tales como el polietileno [9]. Asimismo, otras propiedades como las propiedades barrera, restringen el acceso completo de este biopolímero a sectores industriales de gran volumen como el packaging [10].

Entre las estrategias más comunes para intentar superar los inconvenientes intrínsecos del PLA se incluyen la incorporación de plastificantes, la copolimerización, el mezclado con polímeros tenaces y la preparación de bio y nanocomposites [11–13].

Con el propósito de crear materiales íntegramente bio-basados, en la última década la investigación se ha centrado en el uso de refuerzos celulósicos [14, 15]. En este sentido, los nanocristales de celulosa (CNC) –nanomateriales resultantes de someter las microfibras de celulosa a un tratamiento de hidrólisis con un ácido fuerte– han sido ampliamente investigados en la preparación de biocomposites poliméricos debido a su capacidad de refuerzo, su abundancia, ligereza y biodegradabilidad [16].

Por otro lado, el grafeno (GR), la estructura elemental del grafito, posee excelentes propiedades térmicas, mecánicas y eléctricas, así como una gran área superficial. Este atractivo nanomaterial se ha utilizado con éxito en la preparación de nanocomposites de PLA con el fin de mejorar las propiedades mecánicas, térmicas y las propiedades barrera, con contenidos relativamente bajos del nano-refuerzo (por debajo del 1% en peso) [17–20].

La combinación de diferentes nanomateriales es un área que también ha sido investigada con el fin de obtener materiales plásticos multifuncionales. Así, se han combinado CNC y nanopartículas de plata para mejorar las propiedades barrera a los gases y la actividad anti-microbiana en bionanocomposites de PLA con excelentes resultados [21–23]; mientras que la combinación de grafito expandido/nanoarcillas laminadas ha dado lugar a la mejora de las propiedades térmicas y la retardancia a la llama del PLA [24].

En el capítulo anterior, se ha estudiado el efecto de incorporar grafeno estabilizado con nanocristales de celulosa (GR-CNC) producido mediante exfoliación en fase líquida en poli (vinil alcohol) [25]. En ese caso, el film resultante mostró unas propiedades mecánicas y térmicas superiores a las de los films reforzados solo con CNC o solo con GR, lo que sugiere un efecto de refuerzo sinérgico debido a la

combinación de CNC y GR. Este efecto de refuerzo tan significativo se ha atribuido a la fuerte interacción entre la matriz y ambos nanomateriales.

En el presente estudio, se han preparado nanocomposites de PLA reforzados con CNC y GR simultáneamente mediante mezclado en fundido, seguido de un prensado en caliente para la obtención de films. Se ha investigado el efecto de combinar ambos nanomateriales en un bajo contenido total de nano-refuerzos (1% en peso) en las propiedades mecánicas, térmicas, barrera a gases y propiedades anti-fúngicas de los films. Los films resultantes mostraron una mejora en las propiedades en comparación con el PLA de referencia.

5.2. Parte experimental

5.2.1. Materiales

El surfactante Triton X-100 fue comprado a Panreac, mientras que el políácido láctico (Futero L-PLA, peso molecular de $180.000 \text{ g mol}^{-1}$) se obtuvo de Futero. Las nanoláminas de de grafeno (Graphene nanoplatelets, GNP, grade 3 industrial grade), se compraron a Cheap Tubes Inc. con las siguientes características: pureza del 97%, espesor promedio de 8 nm, longitud máxima $2 \mu\text{m}$ y área superficial entre 600 y $700 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. La celulosa microcristalina (MCC) fue adquirida en Sigma-Aldrich. Finalmente, el ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 98%) y el hidróxido sódico (NaOH) se compraron a Scharlau. Los nanocristales de celulosa (CNC) se extrajeron a partir celulosa microcristalina (MCC) mediante hidrólisis ácida con ácido sulfúrico.

5.2.2. Preparación de nanocristales de celulosa (CNC)

El procedimiento utilizado para la obtención de los nanocristales de celulosa es el mismo que el descrito en los capítulos 3 y 4. 20 g de MCC se añadieron a una disolución previamente calentada de ácido sulfúrico al 64% en peso (175 mL) y se dejaron reaccionar con agitación vigorosa a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 45 minutos. La reacción se paró mediante la adición de 5L de agua desionizada y se dejó reposar toda la noche. Transcurrido ese tiempo, la suspensión se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos.

El precipitado se aclaró repetidamente y se centrifugó con agua desionizada hasta que el sobrenadante se volvió turbio. La purificación adicional de los CNC se realizó mediante diálisis con agua desionizada hasta que el pH alcanzó un valor de 5-6 (membrana Spectra/Por 2, MWCO 12,000–14,000).

Con el fin de facilitar la dispersión de los CNC en la matriz de PLA, la superficie de los nanocristales se modificó mediante la adición de Triton X-100 (etoxilato de octilfenol), un surfactante no iónico, en una proporción de 1:4 en peso, siguiendo un protocolo similar al reportado por Fortunati *et al.* [23]. Para mejorar la estabilidad térmica de los CNC durante la etapa de procesado, el pH de las suspensión de CNC se incrementó hasta un valor de aproximadamente 9 mediante la adición de un 1% en peso de NaOH 0,25 mol/L [22]. Finalmente los nanocristales se liofilizaron y almacenaron hasta su uso.

5.2.3. Preparación de films basados en PLA

Se prepararon nanocomposites mediante el mezclado en fundido de un 1% en peso de nano-refuerzos con PLA, utilizando para ello un mezclador interno (Haake PolyLab QC) a una temperatura de mezclado de 185°C. Esta temperatura fue elegida en base al análisis de la fusión cristalina realizada por calorimetría diferencial de barrido (DSC). El mezclado se llevó a cabo durante 10 minutos a 70 rpm y lotes de 50 g por mezclado, para asegurar que las diferentes mezclas tuvieran una cizalla y una historia térmica similar.

Los nano-refuerzos GR y CNC se emplearon en la preparación de una serie de nanocomposites de PLA, tal y como se muestra en la Tabla 5.1. **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** Los nanocomposites **PLA-CNC/GR** se prepararon usando dos ratios diferentes de CNC/GR, 50/50 y 95/5, manteniendo el nivel total de carga del 1% en peso. Previo a su incorporación en la mezcla, el GR se predispersó en el surfactante Triton X-100 con el fin de mejorar su dispersabilidad en la matriz de PLA. Igualmente, y con fines comparativos, se prepararon dos composiciones adicionales, una conteniendo un 1% en peso de CNC y otra con un 1%

en peso de GR. Asimismo, siguiendo el mismo procedimiento, se preparó una muestra de referencia denominada **PLA-T** que contenía un 4% en peso de Triton X-100, es decir, el contenido total de surfactante presente en todas las mezclas. Estas formulaciones se utilizaron posteriormente para la fabricación de films por prensado en caliente. Para ello, 20 g de cada formulación se colocaron en un molde cuadrado de 90x90 mm y un espesor de 0.3 mm, y se prensaron utilizando una prensa de platos calientes de Vogt (LABO PRESS 200T) a una temperatura de 185 °C. Las muestras se prensaron en tres etapas de 5 minutos cada una a 100, 200 y 300 bars de presión para asegurar la eliminación de burbujas.

Tabla 5.1. Composición de las formulaciones basadas en PLA.

Muestra	PLA	CNC	GR	Triton X-100
	[% en peso]	[% en peso]	[% en peso]	[% en peso]
PLA-T	96	-	-	4
PLA-CNC	95	1	-	4
PLA-CNC95/GR5	95	0.95	0.05	4
PLA-CNC50/GR50	95	0.5	0.5	4
PLA-GR	95	-	1	4

5.3. Métodos de caracterización

5.3.1. Caracterización morfológica

La morfología superficial de los CNC y las secciones transversales de los nanocomposites se analizaron usando un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FE-SEM) ULTRA plus ZEISS.

5.3.2. Caracterización estructural

Los patrones de difracción de rayos X de los CNC y de la MCC de partida se recogieron en un difractómetro de rayos X (XRD) de Bruker AXS-D8 Advance con radiación Cu Ka. Las medidas se llevaron a cabo a valores de 2θ comprendidos entre 5° y 40° .

5.3.3. Propiedades térmicas

Las medidas de calorimetría diferencial de barrido (DSC, Pyris Diamond DSC Perkin Elmer) se llevaron a cabo en un intervalo de temperatura de 25°C a 210°C , con una velocidad de barrido de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, realizando dos barridos de calentamiento y uno de enfriamiento. Los valores de temperatura de fusión (T_m), la temperatura de cristalización en frío (T_{CC}), la entalpía de fusión (ΔH_m) y la entalpía de cristalización en frío (ΔH_{CC}), así como la temperatura de transición vítrea (T_g), se determinaron a partir de los datos del primer barrido de calentamiento. El grado de cristalinidad se calculó siguiendo la ecuación (1):

$$\chi (\%) = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_0} \times \frac{100}{\omega} \quad (1)$$

Donde, ΔH_m es la entalpía de fusión, ΔH_0 es la entalpía de fusión de un PLA 100% cristalino, tomada como 93 J/g [26] y ω es la fracción en peso del PLA en la mezcla. La entalpía de fusión incluye las entalpías de cristalización en frío y de pre-fundido que ya han sido restadas [15].

La estabilidad térmica de los sistemas basados en PLA se investigó utilizando el análisis termogravimétrico (TGA) y se llevó a cabo en una TGA Q500 (TA Instruments) a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ en atmósfera de nitrógeno, desde temperatura ambiente hasta 600°C .

5.3.4. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de la muestra de referencia y de los nanocomposites basados en PLA se evaluaron mediante ensayos de tracción, utilizando una máquina universal de ensayos modelo 3365 (Instron). Se utilizaron para ello probetas rectangulares de 65 mm x 12 mm. Los ensayos se realizaron a una velocidad de desplazamiento de la cruceta de 5 mm min⁻¹ y se utilizó una longitud inicial entre mordazas de 25.4 mm. Los valores promedio de resistencia a la tracción (σ_b), alargamiento a rotura (ε_b) y módulo elástico (E), se calcularon a partir de los resultados de la curva de tensión-deformación. Los ensayos se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

5.3.5. Propiedades barrera a los gases

5.3.5.1. Permeabilidad al oxígeno

La velocidad de transmisión de oxígeno (OTR) se midió en un analizador de permeación de oxígeno OXTRAN 2/21 MOCON, de acuerdo con la norma ASTM F1927-14. Se utilizaron los films de cada formulación con la forma específica requerida por el permeador. El espesor del film se midió con un micrómetro digital MAHR con una precisión de ± 0.001 mm. Las muestras se fijaron en la cámara de difusión a una temperatura de 23 ± 2 °C, 1 atm de presión y una humedad relativa (HR) del 50%.

En primer lugar se humidificó oxígeno puro (99.9%) a la HR deseada y se introdujo después en la mitad interior de la cámara de la muestra mientras se inyectaba nitrógeno en la mitad exterior donde está situado el sensor de oxígeno. De cada formulación se testaron al menos dos muestras. El equipo proporciona directamente el valor de OTR, el cual, multiplicado por el valor del espesor del film (l), se transforma en una unidad más habitual de medida del coeficiente de permeabilidad el Barrer, de acuerdo con la ecuación (2):

$$OTR \left(\frac{\text{cm}^3}{\text{m}^2 \text{s}} \right) \times l \text{ (mil)} = \frac{0.038617}{p \text{ (cmHg)}} = P \text{ (Barrer)} \quad (2)$$

5.3.5.2. Permeabilidad al vapor de agua

La velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) se determinó a 25 °C de acuerdo a la norma ASTM E96-95. Para ello se empleó una celda de permeación gravimétrica de politetrafluoretileno. La celda es un pequeño contenedor que se rellena parcialmente con agua y sellado por el film. Los experimentos se llevaron a cabo en una balanza Sartorius BP 210 D con una resolución de 10^{-5} g y la pérdida de peso fue recogida en un ordenador para el tratamiento de datos. Los valores de WVTR fueron calculados a partir de la ecuación (3):

$$WVTR \left(\frac{\text{g mm}}{\text{m}^2 \text{ day}} \right) = 8.64 \times 10^{-5} \frac{s \times l}{A(a_{\text{int}} - a_{\text{out}})} \quad (3)$$

Donde s es la pendiente de la gráfica de la masa permeada frente al tiempo, l es el espesor del film (μm), A es el área del film (2.54 cm^2) y a_{int} y a_{out} son los valores de actividad del vapor de agua dentro y fuera de la celda de permeación. Los datos de permeabilidad mostrados son la media de al menos 3 medidas.

5.3.6. Actividad antifúngica de los films

La actividad antifúngica de los films se evaluó con el hongo *Aspergillus Niger* Tiegh (MB284309) (CBS-KNAW) con el fin de determinar la influencia de los CNC y GR en el PLA. El *A. Niger* fue previamente cultivado en un sustrato sólido de extracto de agar de malta (MEA, Sharlau) e incubado en placas Petri selladas durante 72 h a 25 ± 1.5 °C en una cámara climática Selecta Medilow. Después de crecer, una alícuota de esporas se diluyó en una disolución Ringer y se inocularon asépticamente en la superficies de los films utilizando un espray ($40 \mu\text{L}$ de disolución al 1.05×10^6 esporas mL^{-1}). Después de 7 días de incubación a 25 ± 1.5 °C los films fueron extraídos suavemente del agar y limpiados con disolución de Ringer. La disolución de esporas obtenida fue agitada y teñida con LPCB para contar la concentración de espora usando una disolución azul tripán para la viabilidad del análisis. La concentración de células se determinó con el contador de células automático Cellometer® Mini (Nexcelom Bioscience LLC). Para ello, $20 \mu\text{L}$ de cada disolución de esporas se colocaron dentro de la cámara del Cellometer® y utilizando el software del equipo (Cellometer® Mini software) para el análisis. Los valores obtenidos para la concentración de cada muestra corresponden al promedio de tres experimentos independientes. La inhibición del crecimiento fúngico (*FGI*) se calculó como la concentración de esporas por mililitro, de acuerdo a la ecuación (4):

$$FGI (\%) = \frac{C_g - F_g}{C_g} \times 100 \quad (4)$$

En la cual, C_g es la concentración promedio del control (solo *A. Niger*) y F_g es la concentración promedio en los diferentes films.

5.4. Resultados y discusión

5.4.1. Caracterización de los nanocristales de celulosa

Los CNC producidos mediante hidrólisis ácida se caracterizaron morfológicamente por FE-SEM. La Figura 5.1 muestra una micrografía de FE-SEM de CNC aglomerados con su característica forma de varilla o barra. La longitud de los CNC se encontraba en el rango entre los 250 y los 270 nm y el diámetro promedio se calculó que era entre 15-20 nm.

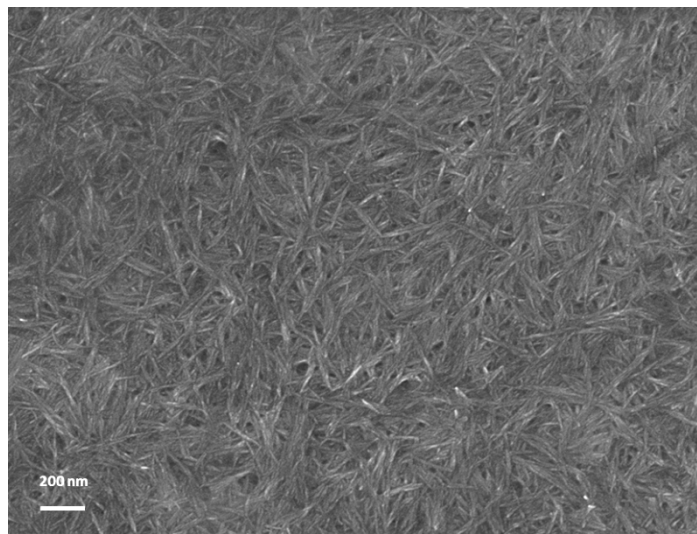


Figura 5.1. Micrografía de FE-SEM de nanocristales de celulosa liofilizados.

La difracción de rayos X se utilizó para caracterizar la estructura y el polimorfismo de los CNC. Cuando la estructura de celulosa I está presente se pueden encontrar tres picos en los difractogramas; dos picos en forma de hombro alrededor de 14° y 16° y un pico más estrecho e intenso alrededor de 22° [27]. La Figura 5.2 muestra los patrones de difracción de rayos X tanto de la celulosa de partida (MCC) como de los CNC derivados. El patrón de difracción de MCC muestra sus características reflexiones a $12-18^\circ$, 22.7° y 34.8° [14, 28, 29]. En el difractograma de los CNC las

muestras exhibían un pico a $2\theta = 16.5^\circ$ y 22.5° y 34.6° , lo cual es representativo de la típica estructura de la celulosa tipo I.

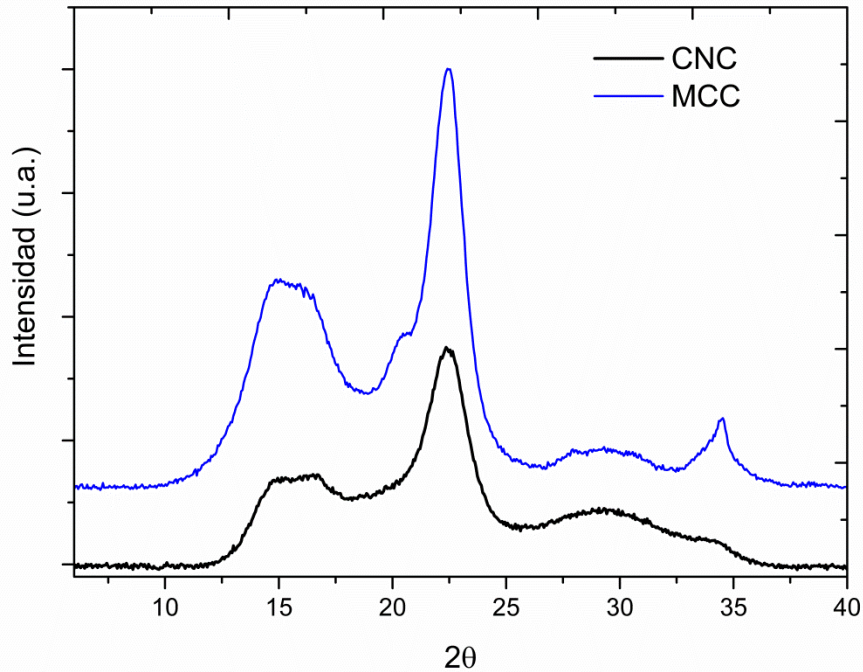


Figura 5.2. Patrones de difracción de rayos X de MCC y CNC obtenidos por hidrólisis ácida de MCC.

5.4.2. Caracterización morfológica de los nanocomposites de PLA

Tal y como se ha mostrado en la Tabla 5.1, el GR y los CNC se utilizaron en la preparación de una serie de films de PLA. En cada caso, un 1% en peso del nano-refuerzo fue añadido al PLA mediante mezclado en fundido. Los nanocomposites obtenidos se utilizaron en la preparación de films por prensado en caliente. Asimismo, y con fines comparativos, se preparó un film de PLA conteniendo un 4% de

Triton X-100, es decir, con el mismo contenido de surfactante que el resto de formulaciones.

Los films obtenidos eran homogéneos a la vista. No obstante, las muestras que contenían GR mostraron una pérdida de transparencia, mayor cuanto mayor era el contenido de GR Figura 5.3.

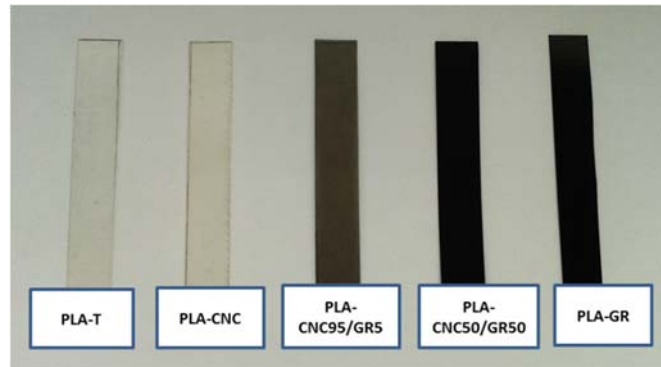


Figura 5.3. Imágenes ópticas de los films de PLA.

La Figura 5.4 muestra las micrografías de FE-SEM correspondientes a la fractura criogénica de las superficies, tanto de la referencia **PLA-T** como de los diferentes nanocomposites de PLA preparados. El **PLA-T** mostró una superficie uniforme, mientras que para el resto de nanocomposites se encontró una superficie más irregular. Las superficies correspondientes a las formulaciones que contenían GR, es decir, **PLA-CNC95/GR5**, **PLA-CNC50/GR50** y **PLA-GR**, presentaban una mayor rugosidad y no se encontraron evidencias de formación de aglomerados, lo cual sugiere una buena dispersión de los nano-refuerzos en la matriz polimérica. De acuerdo con la literatura, a bajos contenidos de refuerzo (por debajo del 1% en peso), el plastificante es capaz de cubrirlo bien, lo cual resulta en una buena distribución en la matriz de PLA [30]. La falta de aglomerados, junto con la alta rugosidad de las superficies puede ser interpretada como una evidencia de la fuerte interacción entre la matriz y el nano-refuerzo [31].

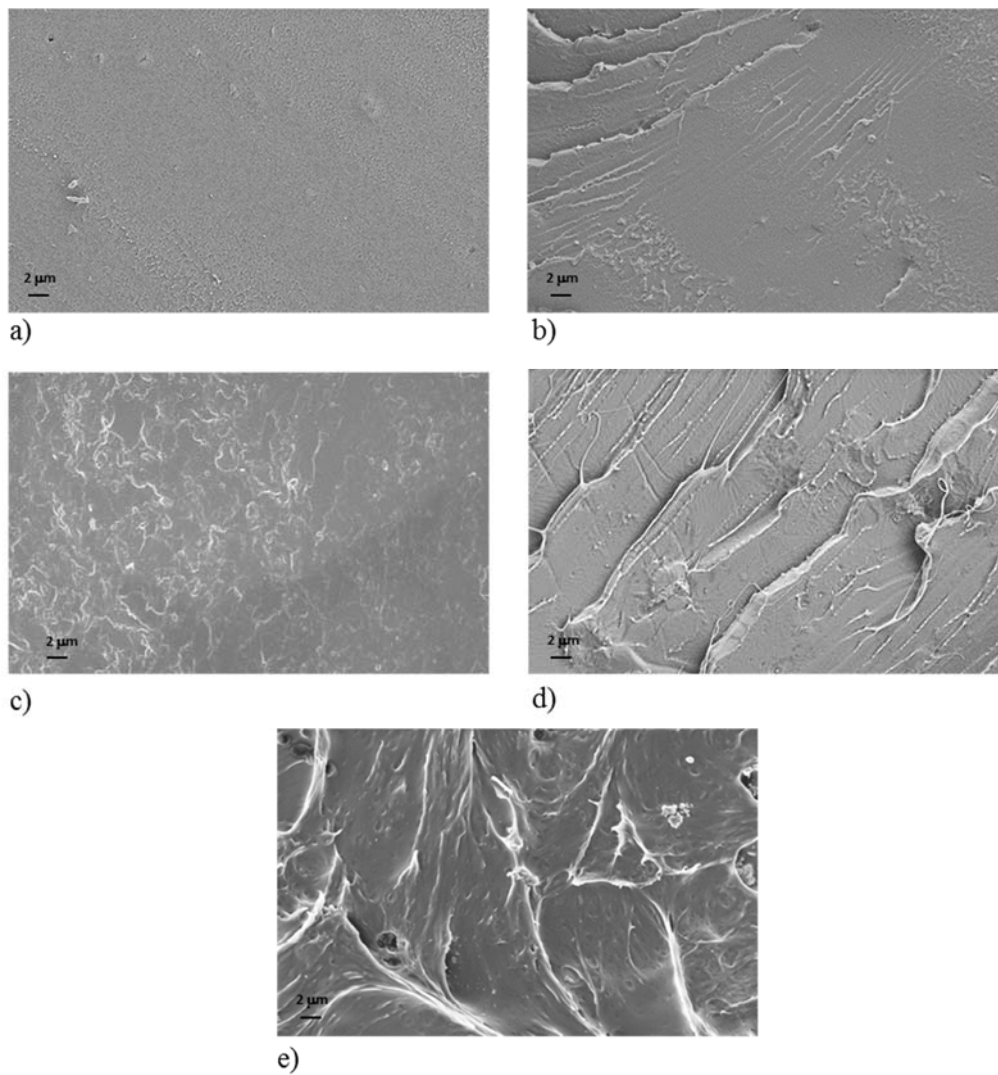


Figura 5.4. Micro-estructura de las superficies de fractura de (a) PLA-T, (b) PLA-CNC, (c) PLA-CNC95/GR5 (d), PLA-CNC50/GR50 y (e) PLA-GR

5.4.3. Propiedades mecánicas de los films de PLA

Las propiedades mecánicas de los diferentes films de PLA se evaluaron mediante ensayos de tracción. En la Tabla 5.2 se resumen los resultados promedio para el 138

módulo de Young, la resistencia a la tracción y el alargamiento a rotura, mientras que la Figura 5.5 muestra curvas representativas de tensión-deformación de los films ensayados.

Tabla 5.2. Comportamiento mecánico de los films basados en PLA.

Muestra	E [MPa]	σ_b [MPa]	ϵ_b [%]
PLA-T	2065 ± 217	46.8 ± 3.1	3.03 ± 0.39
PLA-CNC	1983 ± 110	48.1 ± 3.9	3.20 ± 0.23
PLA-CNC95/GR5	2144 ± 113	49.0 ± 2.3	3.01 ± 0.11
PLA-CNC50/GR50	2230 ± 125	52.0 ± 2.3	3.31 ± 0.24
PLA-GR	1950 ± 98	49.1 ± 0.7	3.79 ± 0.18

Todos los films de PLA mostraron el comportamiento frágil típico, con un módulo de Young similar en todos ellos, ligeramente superior en las formulaciones que contenían la combinación CNC/GR, y en particular en la relación 50/50, en la cual el módulo de Young fue un 8% mayor que la formulación de referencia **PLA-T**. Igualmente, la formulación **PLA-CNC50/GR50** mostró la mayor Resistencia a tracción, y además 11% mayor que la referencia, sin que hubiera una variación significativa del alargamiento a rotura.

De acuerdo con la literatura científica, la incorporación de un plastificante en combinación con un agente nucleante afecta de manera diferente a las propiedades mecánicas dependiendo de su concentración en el PLA. Por un lado, esta combinación aumenta la cristalinidad del PLA como consecuencia de dos efectos: la mejora de la movilidad de las cadenas poliméricas que permite el plastificante, y el efecto nucleante que favorece la velocidad de cristalización. Ambos efectos llevan a una mejora de la cristalinidad, lo cual está íntimamente relacionada con las propiedades mecánicas del polímero [32].

Capítulo 5: Efecto de la combinación de nanocrisales de celulosa y nanoláminas de grafeno en las propiedades de films de poli (ácido láctico)

Por otro lado, se ha descrito también que en PLA reforzado con CNC y plastificado con entre el 10 y el 20% en peso de polietilen glicol (PEG), las propiedades mecánicas se vieron afectadas tanto por el efecto de refuerzo de los CNC como del efecto plastificante del PEG [30]. Por debajo del 6% en peso de CNC la resistencia a la tracción disminuía a medida que aumentaba el contenido en plastificante. Sin embargo, por encima del 6% en peso de CNC, el efecto de refuerzo prevalecía sobre el efecto plastificante.

Asimismo, en nanocomposites de PLA reforzado con GR y con un contenido en plastificante del 10% la mejora de las propiedades mecánicas fue atribuida a la dispersión homogénea y a la orientación de las nanoláminas de GR en la matriz polimérica y a la fuerte interacción interfacial entre los dos componentes [33].

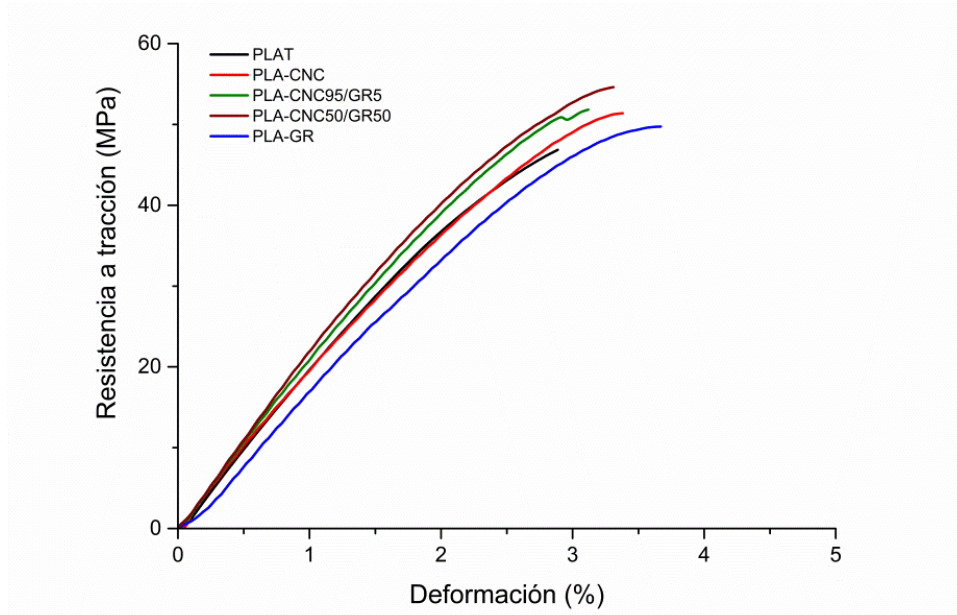


Figura 5.5. Curvas representativas tensión-deformación de los films basados en PLA.

En el presente trabajo, el comportamiento del sistema ternario PLA/CNC/GR se ha visto influenciado por los fenómenos mencionados anteriormente: el efecto de la

cristalización y el efecto del refuerzo. Por un lado, la cristalización fue favorecida por la presencia del surfactante que pudo actuar a modo de plastificante permitiendo una cierta movilidad de las cadenas poliméricas. Sin embargo, el bajo contenido de surfactante en este caso (4% en peso) dio como resultado un moderado alargamiento a rotura si se compara con otros sistemas reportados en la literatura que contienen mayores cantidades de plastificante (10-20% en peso).

Por otro lado, tanto los CNC como el GR pueden tener un efecto reforzante y nucleante que dé lugar a una mejora sinérgica de las propiedades mecánicas. Los mejores resultados encontrados para la composición **PLA-CNC50/GR50** pueden ser atribuidos a la buena dispersión de ambos nano-refuerzos en la matriz debida a la presencia del surfactante. Posiblemente podrían mejorarse las propiedades mecánicas en mayor extensión aumentando el contenido total de nano-refuerzos.

5.4.4. Caracterización térmica

La estabilidad térmica de los films de PLA se evaluó mediante análisis termogravimétrico (TGA). De acuerdo con la literatura, la matriz de PLA puro da lugar, bajo atmósfera inerte, a una única pérdida de peso, con un máximo de velocidad de descomposición alrededor de 360 °C. La incorporación de nano-refuerzos inorgánicos, tales como nanoarcillas, grafeno u óxido de grafeno, tiende a desplazar las curvas de TGA hacia temperaturas mayores cuando se compara con el PLA puro [34]. En lo que se refiere a los CNC, su influencia en la degradación térmica de los nanocomposites de PLA es más difícil de establecer porque depende en gran medida de las propiedades del refuerzo, el cual está influenciado por la fuente de extracción y las condiciones de hidrólisis [22, 30].

Las curvas de TGA obtenidas (Figura 5.6) mostraron una pérdida significativa de masa (> 94% wt) entre 280 °C y 380 °C que corresponden a la descomposición de la estructura principal del polímero.

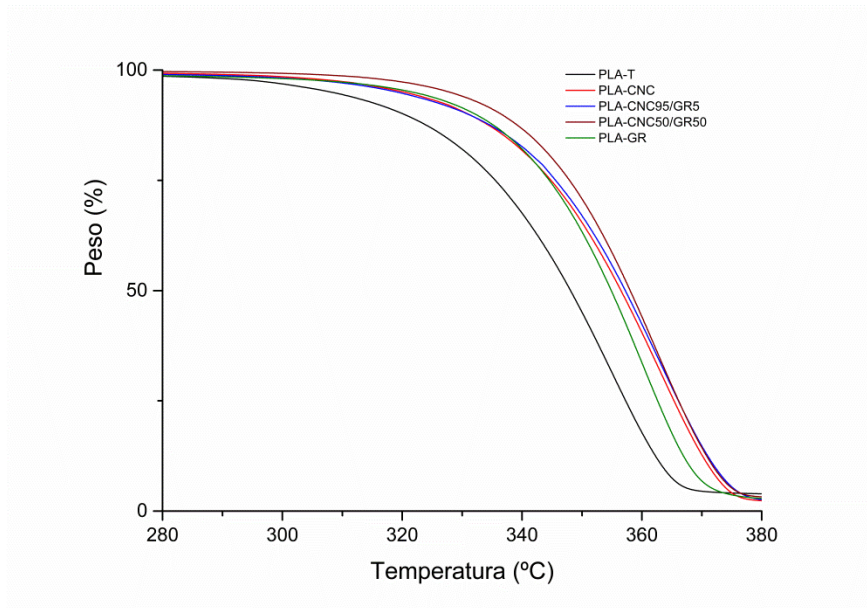


Figura 5.6. Curvas de TGA de la referencia **PLA-T** y de los nanocomposites de PLA con un 1% en peso de carga.

La Tabla 5.3 resume los datos de estabilidad térmica de los films de PLA. La degradación de la muestra **PLA-T** empezó antes que la de los films de nanocomposites. En concreto, en aquellos films que contenían CNC, el 1% de pérdida de peso tuvo lugar entre 23 °C y 52 °C por encima de la temperatura de degradación ($T_{d1\%}$) del **PLA-T**. Estas diferencias se hicieron menores a medida que la temperatura aumentó; así al 5% de pérdida de peso las temperaturas de degradación ($T_{d5\%}$) de los nanocomposites se desplazaron de 10 °C a 20 °C comparadas con el **PLA-T** y de 9 °C a 16 °C al 10% de pérdida de peso. Merece la pena destacar, que la formulación **PLA-CNC50/GR50**, la cual contenía una mezcla 50/50 de CNC y GR, presentaba la mayor estabilidad térmica, mostrando que la combinación de ambos nano-refuerzos dio lugar a la mayor estabilidad térmica de los films estudiados.

Tabla 5.3. Estabilidad térmica de los films basados en PLA.

Muestra	T_d 1% peso [°C]	T_d 5% peso [°C]	T_d 10% peso [°C]	T_d máx. [°C]
PLA-T	257	308	321	355
PLA-CNC	290	320	330	363
PLA-CNC95/GR5	280	318	331	363
PLA-CNC50/GR50	305	328	336	362
PLA-GR	262	321	332	360

La Tabla 5.4 resume las propiedades térmicas del **PLA-T** y de los nanocomposites de PLA: la temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de cristalización en frío (T_{CC}), la temperatura de fusión (T_m), la entalpía de fusión (ΔH_m) y el grado de cristalinidad (χ).

Tabla 5.4. Caracterización térmica de los films de PLA.

Muestra	T_g [°C]	T_{CC} [°C]	T_m [°C]	ΔH_m [J.g ⁻¹]	χ [%]
PLA-T	51.8	94.4	175.7	21.80	24.4
PLA-CNC	58.2	91.3	176.4	24.63	27.9
PLA-CNC95/GR5	56.3	90.3	177.1	23.74	31.1
PLA-CNC50/GR50	53.5	96.7	178.2	20.09	28.0
PLA-GR	55.6	87.6	177.2	37.54	34.6

Tal y como se observa en la Tabla 5.4 los valores de T_g de los nanocomposites de PLA se incrementaron ligeramente comparados con el de la referencia **PLA-T**. Este hecho

puede ser atribuido a la restricción de la movilidad de la cadena polimérica producida por la adición de nano-refuerzos.

La cristalización, tal y como se esperaba, se vio influenciada también por la incorporación de los nano-refuerzos. La T_{CC} de la referencia **PLA-T** se desplazó entre 3 y 7 °C hacia temperaturas menores por la incorporación de CNC, GR o la combinación de CNC con GR, indicando una cristalización más rápida. En el caso de **PLA-CNC50/GR50**, la T_{CC} se desplazó hacia una temperatura mayor. En este caso, la presencia de ambos nano-refuerzos en la misma proporción resultó en una cristalización más lenta, lo cual puede ser atribuido a un proceso de cristalización más heterogéneo.

El **PLA-T** mostró un grado de cristalinidad del 24.4%, el cual aumentó en todos los nanocomposites de PLA. Cabe destacar el aumento de la cristalinidad del 31.1% en el caso del **PLA-CNC95/5GR** y del 34.6% en el del **PLA-GR**. El efecto de los plastificantes y de los agentes nucleantes ya ha sido descrito en la bibliografía y de la combinación de ambos se espera un ensanchamiento de la ventana de temperaturas de cristalización y de la velocidad de cristalización [35]. Los agentes nucleantes proporcionan una nucleación heterogénea a temperaturas elevadas donde la fuerza impulsora de la nucleación homogénea es débil, mientras que el plastificante mejora la cristalización a temperaturas menores permitiendo la movilidad de las cadenas.

5.4.5. Propiedades barrera a los gases

La inherente permeabilidad de los polímeros a gases y vapores (incluyendo el agua, el oxígeno, el dióxido de carbono y los vapores orgánicos) es una propiedad limitante para algunas aplicaciones. En lo que se refiere al PLA, este polímero muestra unas propiedades barrera a los gases medias y una pobre barrera al agua [36].

En este estudio se han investigado tanto la permeabilidad al agua como al oxígeno de los nanocomposites basados en PLA objeto de esta tesis. Es bien sabido que el

oxígeno promueve reacciones de oxidación y el crecimiento de microorganismos en los materiales poliméricos.

Además, el agua absorbida puede modificar (aumentando o disminuyendo) las propiedades barrera al oxígeno de algunos polímeros [37, 38].

Los valores de velocidad de transmisión de vapor de agua y de oxígeno, medidos 25 °C, a se recogen en la Tabla 5.5.

Tabla 5.5. Velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) y coeficiente de permeabilidad de oxígeno (P) del **PLA-T** y los nanocomposites de PLA.

Muestra	WVTR (g mm/m ² día)	P (Barrer)
PLA-T	6.93 ± 1.12	0.277 ± 0.045
PLA-CNC	7.40 ± 0.53	0.236 ± 0.019
PLA-CNC95/GR5	8.07 ± 0.29	0.213 ± 0.010
PLA-CNC50/GR50	6.67 ± 1.25	0.213 ± 0.009
PLA-GR	5.63 ± 0.66	0.178 ± 0.012

El valor de WVTR obtenido para la muestra **PLA-T** fue de 6.93 g mm/(m²día), un valor relativamente alto comparado con los referidos en la bibliografía para el PLA puro [39, 40], si bien se pueden encontrar valores superiores para el PLA amorfo [41]. El carácter plastificante del surfactante soluble en agua Triton X-100 podría explicar los valores relativamente altos encontrados en el film de **PLA-T**.

Por su parte el GR y los CNC mostraron efectos contrapuestos en la WVTR de los films de PLA. La adición de CNC en proporciones mayores con respecto al GR incrementó la WVTR entre el 7% y el 16% para el **PLA-CNC** y **PLA-CNC95/GR5** respectivamente, comparada con la muestra **PLA-T**. Por el contrario la incorporación de mayores proporciones de GR disminuyó la WVTR. Así, el valor de WVTR se redujo en un 4% en

el caso de la muestra **PLA-CNC50/GR50** y en un 19% en la muestra **PLA-GR** comparada con el **PLA-T**.

La variación en la WVTR con la incorporación de los CNC y del GR se podría explicar en base a la diferente capacidad de cada nanomaterial de interaccionar con el agua. En este sentido, los grupos polares presentes en la superficie de los CNC mejorarían tanto la solubilidad del agua como el proceso de difusión si lo comparamos con la muestra de **PLA-T**. En polímeros que contienen refuerzos hidrofílicos como los silicatos, se ha observado que las nanoarcillas pueden reducir la tendencia del agua a formar clusters, así como el hecho de que el agua podría ser absorbida en zonas específicas, y los saltos sucesivos entre estas zonas podrían generar un camino más rápido para la difusión del agua a través del film [41, 42]. En relación con el GR, debido a su naturaleza hidrofóbica el comportamiento esperado es una baja interacción con el agua. Una tendencia similar en la WVTR se observó en los nanocomposites de policarbonato con grafeno [43].

En cuanto a la permeabilidad al oxígeno, de los resultados de la Tabla 5.5, se desprende que el coeficiente de permeabilidad P de la muestra **PLA-T** fue de 0.276 Barrer. Este valor está en el rango de los valores descritos en la literatura, que oscilan entre los 0.14-0.39 Barrer [41, 44–46]. Por lo tanto, en el caso del oxígeno, el efecto de plastificación del surfactante Triton X-100 aparentemente no afecta de manera apreciable al coeficiente de permeabilidad, tal y como ocurría en el caso del WVTR.

En relación con los films estudiados, se observó una mejora en el carácter barrera al oxígeno del PLA en todos los casos siendo, en general, mayor al aumentar el contenido en GR. Así, se observaron reducciones de P del 15% para la muestra **PLA-CNC**, del 23% para la muestra **PLA-CNC95/GR5** y del 36% para la muestra **PLA-GR**. Las mejoras observadas podrían atribuirse a la tortuosidad inducida por la adición de los nanomateriales [17, 47].

Además, la presencia de agua en el proceso de permeación del oxígeno podría ser la razón de una menor reducción en el coeficiente P de las formulaciones más ricas en

CNC. Este efecto fue observado en PLA reforzado con nanopartículas metálicas, en el cual los resultados de OTR fueron diferentes según el ensayo se realizara en condiciones secas o condiciones húmedas [41]. En el presente trabajo los valores mayores en WVTR tanto para la formulación **PLA-CNC** como para la **PLA-CNC95/GR5** podrían explicar una mejora mucho menor en el carácter barrera al oxígeno en condiciones húmedas de las formulaciones que contienen CNC.

En definitiva, si bien existen muchos factores que podrían afectar a la permeación, los resultados obtenidos sugieren que las interacciones del agua con la superficie de ambos nanomateriales juega un papel importante tanto en la permeación del agua como del oxígeno en condiciones húmedas.

5.4.6. Propiedades antifúngicas

A pesar de no ser considerado la mayor causa de enfermedades en las plantas, las especies de hongos pertenecientes al género *Aspergillus* son responsables de varios desórdenes en muchos tipos de plantas y productos procedentes de éstas [48]. Teniendo en cuenta que el *Aspergillus Niger* es bien conocido por ser contaminante de frutas, vegetales y otros alimentos [49], la actividad antifúngica de los films basados en PLA se testaron frente al *Aspergillus sp.*, con el fin de evaluar el uso potencial de los nano-refuerzos CNC/GR como inhibidores de hongos en films para aplicaciones agrícolas.

La Tabla 5.6 presenta la concentración, la inhibición fúngica, la viabilidad y el diámetro medio de las colonias tras 7 días de incubación obtenidas del Cellometer® Mini software y la Figura 5.7 muestra las imágenes digitales después del test.

Tabla 5.6. Resultados de la inhibición fúngica de los films de PLA.

Muestra	Concentración [Esporas·mL ⁻¹]	Esporas vivas [Esporas·mL ⁻¹]	Diámetro [μm]	FGI ^a [%]	FGI ^b [%]	Viabilidad ^c [%]
Control	1.24·10 ⁷ (0.61)	1.16·10 ⁷ (0.35)	4.50 (3.95)	-	-	93.55
PLA-T	5.28·10 ⁵ (0.83)	4.26·10 ⁵ (0.47)	3.20 (0.01)	-	-	80.76
PLA-CNC	15.9·10 ⁵ (0.56)	9.80·10 ⁵ (0.12)	3.17 (0.46)	NFI*	NFI*	61.38
PLA-CNC95/GR5	8.46·10 ⁵ (0.04)	5.20·10 ⁵ (0.06)	4.05 (0.78)	NFI*	NFI*	61.47
PLA-CNC50/GR50	8.44·10 ⁵ (0.05)	4.04·10 ⁵ (0.03)	3.85 (0.49)	NFI*	5.16	47.86
PLA-GR	9.83·10 ⁵ (0.12)	4.01·10 ⁵ (0.09)	3.30 (0.28)	NFI*	5.87	40.79

^a Inhibición del crecimiento fúngico (FGI) respecto al control con PLA-T.

^b Inhibición del crecimiento fúngico (FGI) respecto a las esporas vivas en el control con PLA-T.

^c Esporas vivas/esporas totales.

* NFI: No fungal inhibition.

Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar relativa.



Figura 5.7. Imágenes de la muestra control y de los films de PLA tras la incubación del *Aspergillus* sp.

El primer valor inhibitorio (FGI^a) representa la comparación con el **PLA-T** de referencia (sin nano-refuerzos). Todas las muestras presentaron un valor similar de FGI al de la muestra **PLA-T** y su capacidad de inhibición no cambió significativamente con la adición de los diferentes nano-refuerzos. Se evaluó también la inhibición del crecimiento fúngico relativo a las esporas vivas en la muestra **PLA-T** (FGI^b) mostrando que los films **PLA-CNC50/GR50** y **PLA-GR** presentaban un efecto antifúngico de aproximadamente el 5%.

Los resultados de viabilidad mostraron que, en todos los casos, la viabilidad de las esporas fúngicas disminuía en relación con la referencia **PLA-T** (Figura 5.8). Resulta interesante que en las formulaciones **PLA-CNC50/GR50** y **PLA-GR** la viabilidad de las esporas fúngicas disminuyó en más de un 50%; es decir, aunque los microorganismos fueron inicialmente capaces de crecer sobre los films, menos del 50% de las esporas

sobrevivieron. Este fenómeno podría ser atribuido al efecto antifúngico del grafeno [50]. Se observó que para las formulaciones **PLA-CNC50/GR50** y **PLA-GR** la actividad antifúngica se incrementó al aumentar el contenido en grafeno, siendo mayor para la formulación **PLA-GR**.

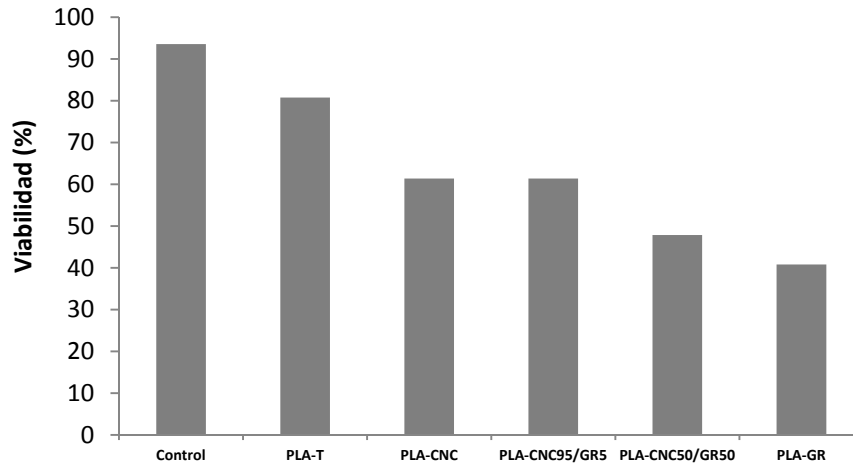


Figura 5.8. Viabilidad de las esporas fúngicas de los films de PLA.

5.5. Conclusiones

Se prepararon nanocomposites de PLA utilizando nanocristales de celulosa, sintetizados mediante hidrólisis ácida, en combinación con nanoláminas de grafeno. Ambos nanomateriales se incorporaron en la matriz de PLA en dos proporciones diferentes utilizando la técnica de mezclado en fundido, un método convencional para preparar *compounds* termoplásticos tanto a nivel de laboratorio como industrial. Los nanocomposites obtenidos se procesaron nuevamente para preparar films mediante prensado en caliente. La caracterización morfológica por FE-SEM mostró una aparente buena dispersión de los nano-refuerzos en la matriz de PLA.

El análisis de las propiedades mecánicas de los films reveló una mejora en la resistencia a la tracción y el módulo de Young de las formulaciones **PLA-CNC95/GR5** y

PLA-CNC50/GR50. Igualmente, el film **PLA-CNC50/GR50** mostró la mayor estabilidad térmica.

El análisis por DSC mostró un ligero incremento en los valores de T_g de todos los nanocomposites de PLA comparado con la referencia PLA-T, lo cual podría ser atribuido a la restricción en la movilidad de la cadena polimérica producida por la adición de nano-refuerzos. La T_{CC} se desplazó hacia temperaturas menores como consecuencia de la incorporación de los nano-refuerzos, indicando un proceso de cristalización más rápido, con la excepción de la formulación **PLA-CNC50/GR50**. En este caso la cristalización más lenta podría ser atribuida a un proceso de cristalización más heterogéneo.

En relación con las propiedades barrera, si bien la variación de las medidas de WVTR y OTR en condiciones húmedas fueron leves en los films estudiados, se observó una mejora en OTR para los films **PLA-CNC95/GR5**, **PLA-CNC50/GR50** y **PLA-GR**, es decir, los films que contienen GR, lo cual sugiere que las interacciones del agua con ambos nanomateriales juega un papel importante en las propiedades barrera estudiadas.

Finalmente, el análisis de las propiedades antifúngicas reveló una mejora significativa en la actividad antifúngica de las formulaciones **PLA-CNC50/GR50** y **PLA-GR**, atribuida al efecto antifúngico del GR.

Así, la incorporación de CNC y GR en PLA mostró un impacto favorable en el conjunto de propiedades de los films obtenidos por combinación de ambos nanomateriales con tan solo un 1% en peso de contenido total de refuerzo. Probablemente se podrían obtener una mejora de propiedades mayor incrementando el contenido de CNC-GR en el nanocomposite, a expensas de una gran pérdida de transparencia de los materiales resultantes.

5.6. Bibliografía

- [1] Reddy, M.M.; Vivekanandhan, S.; Misra, M.; Bhatia, S. K.; Mohanty, A. K. Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities. *Prog Polym Sci.* **2013**, *38*, 1653–1689.
- [2] Razza, F.; Degli Innocenti, F. Bioplastics from renewable resources: the benefits of biodegradability. *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* **2012**, *7*, 301–309.
- [3] Mitra, B.C. Environment Friendly Composite Materials: Biocomposites and Green Composites. *Def Sci J.* **2014**, *64*, 244–261.
- [4] Garlotta, D. A Literature Review of Poly (Lactic Acid). *J Polym Environ.* **2001**, *9*, 63–84.
- [5] Shen, L.; Worrell, E.; Patel, M. Present and future development in plastics from biomass. *Biofuels, Bioprod. Biorefin.* **2010**, *4*, 25–40.
- [6] Alsaheb, R. A. A.; Aladdin, A.; Othman, N.Z.; Malek, R. A.; Leng, O. M.; Aziz R.; El Enshasy, H. A. Recent applications of polylactic acid in pharmaceutical and medical industries. *J Chem Pharm Res.* **2015**, *7*, 51–63.
- [7] Smith, A.; Hunneyball, I. M. Evaluation of poly(lactic acid) as a biodegradable drug delivery system for parenteral administration. *Int. J. Pharm.* **1986**, *30*, 215–220.
- [8] Lasprilla, A.J.; Martinez, G.A.; Lunelli, B.H.; Jardini, A.L.; Filho, R.M. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review. *Biotechnol Adv.* **2012**, *30*, 321–328.
- [9] Li, J.; Xiao, P.; Li, H.; Zhang, Y.; Xue, F.; Luo, B.; Huang, S.; Shang, Y.; Wen, H.; Christiansen, J. de C.; Yu, D.; Jian, S. Crystalline structures and crystallization behaviors of poly(L-lactide) in poly(L-lactide)/graphene nanosheet composites. *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 3988–4002.

- [10] Armentano, I.; Bitinis, N.; Fortunati, E.; Mattioli, S.; Rescignano, N.; Verdejo, R.; Lopez-Manchado, M. A.; Kenny, J. M. Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. *Prog Polym Sci.* **2013**, *38*, 1720–1747.
- [11] Anderson, K. S.; Schreck, K. M.; Hillmyer, M. A. Toughening polylactide. *Polym Rev.* **2008**, *48*, 85–108.
- [12] Darder, M.; Aranda, P.; Ruiz-Hitzky, E. Bionanocomposites: a new concept of ecological, bioinspired, and functional hybrid materials. *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 1309–1319.
- [13] Peponi, L.; Puglia, D.; Torre, L.; Valentini, L.; Kenny, J. M. Processing of nanostructured polymers and advanced polymeric based Nanocomposites. *Mater Sci Eng R.* **2014**, *85*, 1–46.
- [14] Johara, N.; Ahmada, I.; Dufresne, A.: Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Ind Crop Prod.* **2012**, *37*, 93–99.
- [15] Mathew A. P.; Oksman K.; Sain M. The Effect of Morphology and Chemical Characteristics of Cellulose Reinforcements on the crystallinity of Poly(lactic Acid). *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *101*, 300–310.
- [16] Uddin, A.J.; Araki, J.; Gotoh, Y. Toward “Strong” Green Nanocomposites: Poly(vinyl Alcohol Reinforced with Extremely Oriented Cellulose Whiskers. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 617–624.
- [17] Pinto, A. M.; Cabral, J.; Pacheco, D. A.; Mendes, A. M.; Magalhães, F. D. Effect of incorporation of graphene oxide and graphene nanoplatelets on mechanical and gas permeability properties of poly(lactic acid) films. *Polym Int.* **2013**, *62*, 33–40.
- [18] Pinto, A. M.; Moreira, S.; Gonçalves, I.; Gama, F. cM.; Mendes, A. M.; Magalhães F.D. Biocompatibility of poly(lactic acid) with incorporated graphene-based materials. *Colloids Surf B Biointerfaces* **2013**, *104*, 229–238.

- [19] Tong, X. Z.; Song, F.; Li, M. Q.; Wang, X. L.; Chin, I. J.; Wang, Y.Z. Fabrication of graphene/polylactide nanocomposites with improved Properties. *Compos Sci Technol.* **2013**, *88*, 33–38.
- [20] Mittal, V.; Chaudhry, A.; Luckachan, G. E. Biopolymer -Thermally reduced graphene nanocomposites: Structural characterization and properties. *Mater. Chem. Phys.* **2014**, *147*, 319–332.
- [21] Fortunati, E.; Armentano, I.; Zhou, Q.; Puglia, D.; Terenzi, A.; Berglund, L.A.; Kenny, J.M. Microstructure and nonisothermal cold crystallization of PLA composites based on silver nanoparticles and nanocrystalline cellulose. *Polym Degrad Stab.* **2012**, *97*, 2027–2036.
- [22] Fortunati, E.; Armentano, I.; Zhou, Q.; Iannoni, A.; Saino, E.; Visai, L.; Berglund, L.A., Kenny, J.M. Multifunctional bionanocomposite films of poly(lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydr Polym.* **2012**, *87*, 1596–1605.
- [23] Fortunati, E.; Peltzer, M.; Armentano, I.; Jiménez, A.; Kenny, J.M. Combined effects of cellulose nanocrystals and silver nanoparticles on the barrier and migration properties of PLA nano-biocomposites. *J. Food Eng.* **2013**, *118*, 117–124.
- [24] Fukushima, K.; Murariu, M.; Camino, G.; Dubois, P. Effect of expanded graphite/layered-silicate clay on thermal, mechanical and fire retardant properties of poly(lactic acid). *Polym Degrad Stab.* **2010**, *95*, 1063–1076.
- [25] Montes, S.; Carrasco, P.M.; Ruiz, V.; Cabañero, G.; Grande, H. J.; Labidi, J.; Odriozola, I. Synergistic reinforcement of poly(vinyl alcohol) nanocomposites with cellulose nanocrystal-stabilized graphene. *Compos Sci Technol.* **2015**, *117*, 26–31.

- [26] Riga, A.; Zhang, J.; Collis, J. Characterization of drawn and undrawn poly-L-lactide films by differential scanning calorimetry. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2004**, *75*, 257–268.
- [27] Herrera, M. A.; Mathew, A. P.; Oksman, K. Characterization of cellulose nanowhiskers: A comparison of two industrial bio-residues in “6th EEIGM International Conference on Advanced Materials Research”. European School of Materials Engineering (EEIGM), Nancy, France, **2012**, *31*, 1–8.
- [28] De S. Costa, L. A.; Fonsêca, A. F.; Pereira, F. V.; Druzian, J. I. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from corn stover. *Cell Chem Technol.* **2015**, *49*, 127–133.
- [29] Möller, M.; Harnisch, F.; Schröder, U. Hydrothermal liquefaction of cellulose in subcritical water—the role of crystallinity on the cellulose reactivity. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 11035–11044.
- [30] Zhang, P.; Gao, D.; Zou, P.; Wang, J. B. Preparation and thermomechanical properties of nanocrystalline cellulose reinforced poly(lactic acid) nanocomposites. *J. Appl. Polym. Sci.* **2017**, *134*, 44683–44692.
- [31] Keramati, M.; Ghasemi, I.; Karrabi, M.; Azizi, H.; Sabzi, M. Dispersion of Graphene Nanoplatelets in Polylactic Acid with the Aid of a Zwitterionic Surfactant: Evaluation of the Shape Memory Behavior. *Polym Plast Technol Eng.* **2016**, *55*, 1039–1047.
- [32] Fehri, S.; Cinelli, P.; Coltelli, M. B.; Anguillesi, I.; Lazzeri, A. Thermal Properties of Plasticized Poly (Lactic Acid) (PLA) Containing Nucleating Agent. *Int J Chem Eng Appl.* **2016**, *7*, 85–88.
- [33] Chieng, B. W.; Ibrahim, N. A.; Yunus, W. M. Z.; Hussein, M. Z. Poly(lactic acid)/Poly(ethylene glycol) Polymer Nanocomposites: Effects of Graphene Nanoplatelets. *Polymers* **2014**, *6*, 93–104.

- [34] Raquez, J. M.; Habibi, Y.; Murariu, M.; Dubois, P. Polylactide (PLA)-based nanocomposites. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 1504–1542.
- [35] Saeidlou, S.; Huneault, M. A.; Li, H.; Park, C. B. Poly (lactic acid) crystallization. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*, 1657–1677.
- [36] Delpouve, N.; Stoclet, G.; Saiter, A.; Dargent, E.; Marai, S. Water Barrier Properties in Biaxially Drawn Poly(lactic acid) Films. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 4615–4625.
- [37] Krizan, D.; Coburn, J. C.; Blatz, P. S. Structure of amorphous polyamides. Effect on oxygen permeation properties, in Barrier Polymers and Structures (Ed.: W.J. Koros), 423 ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, **1990**, Chapter 5, 111–125.
- [38] Chern, R. T.; Koro, W. J.; Sanders, E. S; Yui, R. J. “Second component” effects in sorption and permeation of gases in glassy polymers. *J Membrane Sci.* **1983**, *15*, 157-169.
- [39] Courgneau, C.; Domenek, S.; Guinault, A.; Avérous, L.; Ducruet, V. Analysis of the structure-properties relationships of different multiphase systems based on plasticized poly(lactic acid). *J Polym Environ.* **2011**, *19*, 362–371.
- [40] Duan, Z.; Thomas, N. L.; Huang, W. Water vapour permeability of poly(lactic acid) nanocomposites. *J Membrane Sci.* **2013**, *445*, 112–118.
- [41] Lizundia, E.; Vila, J. L.; Sangroniz, A.; Etxeberria, A. Light and gas barrier properties of PLLA/metallic nanoparticles composite films. *Eur. Polym. J.* **2017**, *91*, 10–20.
- [42] Garcia, A.; Eceolaza, S.; Iriarte, M.; Uriarte, C.; Etxeberria, A. Barrier character improvement of an amorphous polyamide (Trogamid) by the addition of a nanoclay. *J Membrane Sci.* **2007**, *301*, 190–199.

- [43] Oyarzabal, A.; Cristiano-Tassi, A.; Laredo, E.; Newman, D.; Bello, A.; Etxeberria, A.; Eguiazabal, J. I.; Zubitur, M.; Mugica, A.; Müller, A. J. Dielectric, mechanical and transport properties of Bisphenol A Polycarbonate/Graphene nanocomposites prepared by melt blending. *J. Appl. Polym. Sci.* **2017**, *134*, 44654–44667.
- [44] Bao, L.; Dorgan, J. R.; Knauss, D.; Hait, S.; Oliveira, N. S.; Maruccho, I. M. Gas permeation properties of poly(lactic acid) revisited. *J Membrane Sci.* **2006**, *285*, 166–172.
- [45] Gonçalves, C. M. B.; Tomé, L. C.; García, H.; Brandao, L.; Mendes, A. M.; Marrucho, I. M. Effect of natural and synthetic antioxidants incorporation on the gas permeation properties of poly(lactic acid) films. *J. Food Eng.* **2013**, *116*, 562–571.
- [46] Sangroniz, A.; Chaos, A.; Garcia, Y. M.; Fernández, J.; Iriarte, M.; Etxeberria, A. Improving the barrier character of poly(lactide)/phenoxy immiscible blend using poly(lactide-co- ϵ -caprolactone) block copolymer as a compatibilizer. *J. Appl. Polym. Sci.* **2017**, *134*, 45396–45406.
- [47] Choudalakis, G.; Gotsis, A. D. Permeability of polymer/clay nanocomposites: A review. *Eur. Polym. J.* **2009**, *45*, 967–984.
- [48] Perrone, G.; Susca, A.; Cozzi, G.; Ehrlich, K.; Varga, J.; Frisvad, J.C.; Meijer, M.; Noonim, P.; Mahakarnchanakul, W.; Samson, R.A. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Stud. Mycol.* **2007**, *59*, 53–66.
- [49] Yahyaoui, M.; Gordobil, O.; Herrera, R.; Abderrabba, M.; Labidi, J. Development of novel antimicrobial films based on poly(lactic acid) and essential oils. *React. Funct. Polym.* **2016**, *109*, 1–8.
- [50] Sawangphruk, M.; Srimuk, P.; Chiochan, P.; Sangsri, T.; Siwayaprahm, P. Synthesis and antifungal activity of reduced graphene oxide nanosheets. *Carbon*, **2012**, *50*, 5156–5161.

6

Conclusiones y líneas futuras

“Solo puedes analizar los datos que tienes. Sé estratégico sobre qué reunir y cómo almacenarlo.”

Marie Curie

6.1. Conclusiones

El presente trabajo de tesis doctoral ha permitido estudiar la obtención de celulosa mediante líquidos iónicos y evaluar su aplicación en el campo de los materiales termoplásticos compuestos. Se ha dividido la tesis en dos bloques. Por un lado, un estudio experimental de la utilización de líquidos iónicos en el fraccionamiento de la biomasa lignocelulósica, y más concretamente, de los raquis de banana, un residuo del cultivo del banano rico en celulosa. En dicho estudio se ha investigado la capacidad de deslignificación de diferentes líquidos iónicos, en particular del lactato de colina, de un líquido iónico biodegradable que puede obtenerse a partir de fuentes renovables. La extracción selectiva de la lignina permite obtener un residuo rico en celulosa.

Por otro lado, el segundo bloque se ha enfocado a una de las aplicaciones más prometedoras de la celulosa, como es el desarrollo de biocomposites en los cuales tanto el refuerzo como la matriz sean biodegradables. El desarrollo de biocomposites biodegradables abre la posibilidad de aunar la revalorización de un residuo, como es el caso de la celulosa procedente de residuos agrícolas, con el uso de polímeros biodegradables en aplicaciones como el packaging, aplicaciones agrícolas, etc., en las cuales se puedan modular las propiedades del material mediante la incorporación de determinadas cargas o refuerzos.

Las principales conclusiones obtenidas en cada uno de los capítulos se describen a continuación:

- En el capítulo 2, enfocado a la obtención de celulosa mediante el fraccionamiento de los raquis de banana, se ha comparado la capacidad de diferentes líquidos iónicos para extraer de manera selectiva la lignina presente en los raquis de banana con el fin de obtener un residuo rico en celulosa. Se ha comprobado que algunos de los líquidos iónicos utilizados disuelven totalmente los raquis mientras que otros extraen de manera selectiva la lignina. En el primer caso, la recuperación de la celulosa se debe llevar a cabo mediante su

regeneración con un precipitante, por lo que se pierde su estructura cristalina. En el segundo caso, la estructura cristalina permanece prácticamente inalterada, por lo que la celulosa obtenida podría ser utilizada para la posterior extracción de nanocristales de celulosa.

En cuanto a la naturaleza de los diferentes líquidos iónicos, cabe destacar que el lactato de colina, reportado como biodegradable y que se puede obtener de fuentes renovables, ha resultado ser un líquido iónico muy efectivo en la deslignificación de los raquis. A partir de los datos del diseño experimental llevado a cabo con este líquido iónico se ha visto que el incremento de la temperatura de extracción mejoraba el rendimiento, posiblemente debido a la menor viscosidad del líquido iónico y por tanto a una mejor penetración de este en las fibras, siendo éste el factor más significativo de los estudiados.

- En el capítulo 3 se ha abordado la modificación superficial de nanocristales de celulosa con el fin de mejorar la compatibilidad de los mismos con PLA. Asimismo, se ha investigado en la utilización de lactato de colina como medio de reacción. El carácter hidrófilo de los nanocristales de celulosa se ha modificado mediante silanización, utilizando el lactato de colina como medio de reacción. La polaridad del LI y el carácter básico moderado del anión lactato, pueden presumiblemente favorecer la solvatación de la superficie de los nanocristales y la hidrólisis del grupo metoxi-silano. La preparación de nanocomposites de PLA reforzados con los nanocristales modificados y su caracterización no mostraron la presencia de aglomerados. La mejora de sus propiedades mecánicas se atribuyó a una buena compatibilidad (mejora de la unión interfacial) de los nanocristales con la matriz.
- En el capítulo 4, se ha investigado el efecto sinérgico del grafeno estabilizado por nanocristales de celulosa en la preparación de biocomposites de poli (vinil alcohol). Los nanocristales de celulosa han resultado ser buenos estabilizantes de las dispersiones acuosas de grafeno obtenido a partir de la exfoliación de grafito por ultrasonidos. Las dispersiones acuosas de grafeno/nanocristales de

celulosa se utilizaron para preparar, de una manera sencilla, biocomposites de PVA mediante incorporación directa del refuerzo híbrido en una disolución acuosa del polímero. El biocomposite resultante presentaba mejores propiedades térmicas, pero sobre todo, mejores propiedades mecánicas que aquellos preparados con el mismo contenido de grafeno o solo reforzado con celulosa, mostrando así que la combinación de grafeno/nanocristales de celulosa como refuerzo híbrido daba lugar a un claro efecto sinérgico.

- Finalmente, en el capítulo 5, se ha estudiado el efecto de combinar nanoláminas de grafeno con nanocristales de celulosa en la obtención de films de poli (ácido láctico) utilizando para ello el mezclado en fundido, un método convencional de procesado de polímeros. Los films obtenidos presentaban una mejora del conjunto de las propiedades estudiadas. En el caso de las propiedades barrera al agua y las propiedades antifúngicas, estas mejoraron para todos los films que contenían grafeno. Sin embargo, las propiedades mecánicas fueron superiores en aquellos films que contenían nanocristales de celulosa en mayor proporción. Por tanto, si bien no se puede hablar de un efecto sinérgico, la combinación de ambos nano-refuerzos puede dar lugar a la preparación de biocomposites con propiedades moduladas en función de la proporción relativa de ambos.

6.2. Líneas futuras

La investigación llevada a cabo en la presente tesis doctoral abre el camino a nuevas líneas de investigación. Por un lado, en lo que se refiere a la revalorización de residuos procedentes de la biomasa, la utilización de líquidos iónicos selectivos es una vía muy prometedora para poder fraccionar la biomasa lignocelulósica con el fin de maximizar su potencial como fuente de materias primas. En este sentido, debería profundizarse más tanto en la selectividad del líquido iónico como en su reciclabilidad. La selectividad permitiría tratar con mayor eficiencia multitud de fuentes de biomasa,

mientras que la reciclabilidad supondría una mayor sostenibilidad desde el punto de vista medioambiental y al mismo tiempo una reducción de costes.

En lo referente al desarrollo de biocomposites utilizando nano-refuerzos híbridos, son varias las posibilidades planteadas, tales como: la incorporación de un contenido de refuerzo muy superior al estudiado en este trabajo, la ampliación del rango de matrices biodegradables o bien la investigación en el efecto de los refuerzos híbridos en la biodegradación de los biocomposites en diferentes ambientes.

La presente tesis doctoral ha dado lugar a las siguientes publicaciones:

- Effect of combining cellulose nanocrystals and graphene nanoplatelets on the properties of poly(lactic acid) based films. S. Montes^{1*}, A. Etxeberria, V. Mocholi, A. Rekondo, H. Grande, J. Labidi. *eXPRESS Polymer Letters*, **2018**, 12 (6), 543–555.
- Functionalization of cellulose nanocrystals in choline lactate ionic liquid. Sarah Montes,^{*}Itxaso Azcune, Germán Cabañero, Hans-Jürgen Grande, Ibon Odriozola and Jalel Labidi. *Materials* **2016**, 9(7), 499.
- Synergistic reinforcement of poly(vinyl alcohol) nanocomposites with cellulose nanocrystal-stabilized graphene. Sarah Montes^{*}, Pedro M. Carrasco, Virginia Ruiz, Germán Cabañero, Hans J. Grande, Jalel Labidi, Ibon Odriozola. *Composites Science and Technology*. **2015**, 117, 26–31.

Asistencia a congresos:

- 5th International Conference on Sustainable bioplastics. 10-11 noviembre 2016. Alicante. España. Presentación oral: "Biocomposites Reinforced with Nanocellulose/Graphene Hybrid Nanofillers". Sarah Montes^{*}; Germán Cabañero; Hans Grande; Jalel Labidi; Ibon Odriozola. Póster: Keratin-Based Biomaterials. Sarah Montes^{*}; Itxaso Azcune; Germán Cabañero; Hans Grande; Ibon Odriozola.
- 5th International conference in Biobased and Biodegradable polymers. 6-9/10/2015. San Sebastian. España. Presentación oral: "Use of nanocellulose in the obtaining of graphene aqueous dispersions and its application in polymeric nanocomposites". Sarah Montes^{*}; Pedro Carrasco; Virginia Ruiz; Germán Cabañero; Hans Grande; Jalel Labidi; Ibon Odriozola.
- 13th European Workshop on lignocellulosics and pulp.24-27/06/2014. Sevilla, España. Póster: "Synergistic Effect of cellulose nanocrystals and graphene on the properties of polymeric biocomposites". Sarah Montes^{*}; Pedro Carrasco; Ibon Odriozola; Germán Cabañero; Jalel Labidi; Virginia Ruiz.

Apéndice I:

Técnicas experimentales

1. Resonancia magnética nuclear

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica empleada principalmente en la elucidación de estructuras moleculares. Esta técnica, que permite determinar la estructura química de compuestos orgánicos, se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias, por un núcleo magnéticamente activo. Este núcleo está orientado en el seno de un campo magnético y por efecto de esa energía cambia su orientación.

Para que se pueda emplear la técnica los núcleos deben tener un momento magnético distinto de cero. Esta condición no la cumplen los núcleos con número másico y número atómico par (como el ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S). Los núcleos magnéticamente activos más frecuentes en los compuestos orgánicos son el protón (^1H), el carbono (^{13}C), el nitrógeno (^{15}N), el fósforo (^{31}P) y el flúor (^{19}F).

Uno de los núcleos más útiles en la elucidación de estructuras es el ^1H , dando lugar a la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón. Dado que la intensidad de la señal depende de la concentración de núcleos activos, la resonancia de protón es una de las más utilizadas ya que se trata de un isótopo muy abundante en la naturaleza. En química orgánica también se utiliza el ^{13}C , aunque se trata de un núcleo menos abundante y sensible.

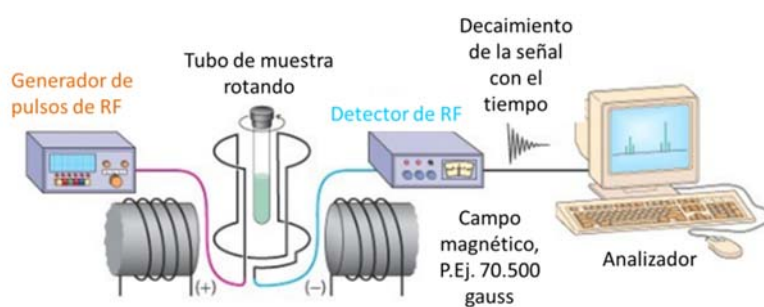


Figura 1. Principio de funcionamiento de un equipo de RMN.

Los espectros de RMN se adquirieron utilizando un equipo Bruker Avance III NMR spectrometer (500 MHz). Las muestras se prepararon en tubos de 5 mm disolviendo 45 mg de muestra a temperatura ambiente en el correspondiente disolvente deuterado en cada caso. Esta técnica se utilizó para la caracterización de los diferentes líquidos iónicos sintetizados.

2. Espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopía infrarroja es una técnica que permite estudiar la estructura de los compuestos químicos. La técnica se basa en los cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energía vibracionales a otros. En un ensayo de espectroscopía infrarroja se registra la absorbancia de la muestra en función del número de onda o de la frecuencia, las cuales son proporcionales [1]. La capacidad de absorción de cada enlace no es función solamente del enlace en cuestión, sino que depende también del resto de enlaces presentes en la molécula [2].

El dato espectral más accesible mediante esta técnica es la frecuencia de los máximos de absorción. Estas frecuencias, medidas en infinidad de compuestos, permitieron a los espectroscopistas derivar correlaciones útiles para el diagnóstico de la estructura química e identificación de compuestos químicos desconocidos. Asimismo, el empleo de la transformada de Fourier ha permitido incrementar la relación señal/ruido, así como los límites de detección, produciéndose un aumento de un orden de magnitud e incluso más que en el caso de los equipos dispersivos.

En el mundo de los polímeros, el desarrollo de la espectroscopía infrarroja, limitado inicialmente al análisis cualitativo, ha permitido estudiar nuevos aspectos de gran interés. De las nuevas aplicaciones se pueden destacar la determinación de pesos moleculares, el análisis de la composición de copolímeros, medidas de estéreo irregularidad, medidas de conformación, seguimiento del proceso de curado, etc.

Ha habido progresos notables de la técnica de IR gracias al desarrollo de la espectroscopía FT-IR de reflectancia total atenuada (ATR, Attenuated Total Reflectance). La espectroscopía ATR-FTIR es simple, directa, flexible y especialmente adecuada para el estudio de la celulosa y sus derivados, pues permite el estudio de superficies in situ [3]. La técnica consiste en el paso de un haz de radiación infrarroja (IR) a través de un cristal transparente al IR y de alto índice de refracción, sobre el que se coloca la muestra. En su paso a través del cristal, el haz IR incidente se refleja varias veces y la superficie de la muestra absorbe parte de la radiación a frecuencias características; por lo tanto, un requerimiento de vital importancia es que haya el contacto adecuado entre el cristal y la muestra [4].



Figura 2. Espectrómetro Nicolet AVATAR 360.

Concretamente, en este trabajo los espectros de infrarrojo se registraron en un espectrómetro FTIR-ATR (NICOLET AVATAR 360 en modo de transmitancia. Todos los espectros realizados se adquirieron en el intervalo $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ realizando 32 barridos con una resolución espectral de 2 cm^{-1} .

3. Análisis termogravimétrico (TGA)

La termogravimetría es una técnica utilizada en el estudio de reacciones de descomposición y de oxidación u otros procesos donde se dé pérdida de masa como en la vaporización, sublimación o desorción. En estos ensayos se registra de una forma continua la pérdida de masa de la muestra, que se ha colocado en una atmósfera controlada, generalmente, en una atmósfera de nitrógeno, en función de

la temperatura (cuando se realiza un barrido dinámico) o el tiempo (cuando se realizan ensayos isotermos) [5].

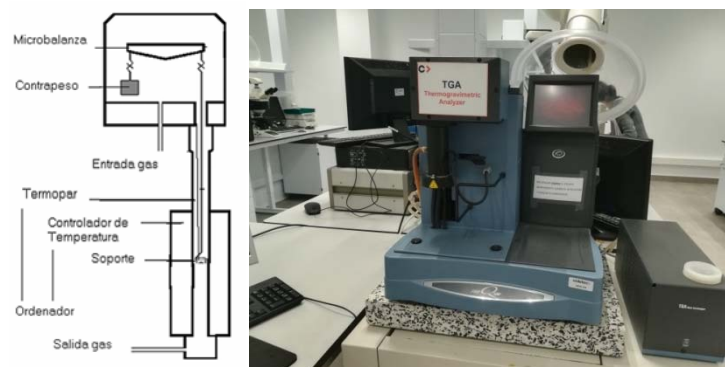


Figura 3. Esquema de funcionamiento de una termobalanza.

El análisis termogravimétrico se ha empleado para caracterizar la estabilidad térmica de los diferentes materiales preparados, líquidos iónicos y biocomposites, así como para la caracterización inicial de los raquis de banana. Para ello se ha utilizado una termobalanza TGA Q500 de TA Instruments. En los correspondientes capítulos se han descrito las condiciones específicas de ensayo utilizadas en cada caso.

4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC, Differential Scanning Calorimetry) es una técnica de análisis térmico que permite el estudio de aquellos procesos en los que se produce una variación entálpica, debido a cambios en las propiedades físicas y químicas de la muestra, en función del tiempo o la temperatura.

Así por ejemplo el DSC permite la determinación de calores específicos, puntos de ebullición y fusión, pureza de compuestos cristalinos, entalpías de reacción y determinación de otras transiciones de primer y segundo orden.

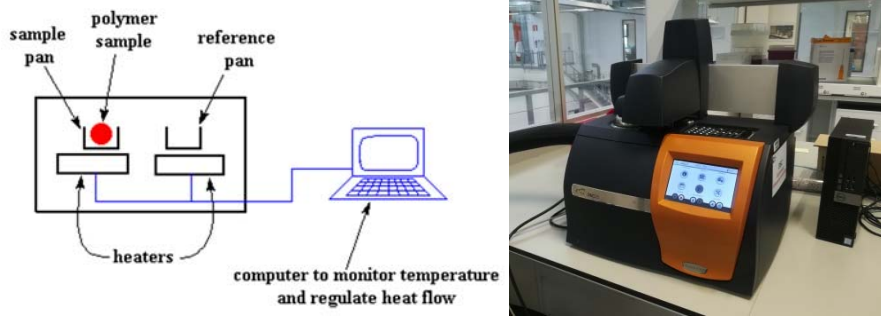


Figura 4. Funcionamiento de un DSC (izda.) y equipo de DSC Discovery 25 (dcha.).

En el campo de polímeros pueden determinarse transiciones térmicas como la temperatura de transición vítrea T_g y la temperatura de fusión T_m ; se puede determinar el grado de cristalinidad de un polímero semi-cristalino y se pueden hacer estudios de compatibilidad de polímeros, reacciones de polimerización y procesos de curado.

5. Microscopía de fuerza atómica (AFM)

La microscopía de fuerza atómica, AFM, es una técnica que, mediante la medida de las fuerzas atractivas o repulsivas existentes entre una punta de silicio de forma piramidal, que va acoplada a un listón microscópico llamado cantiléver y la muestra, puede proporcionar imágenes de resolución nanométrica de la superficie de la muestra [6]. Gracias a esta técnica se pueden reconocer estructuras cuyo intervalo de tamaño va desde unos pocos nanómetros hasta varias micras.

El microscopio de fuerza atómica permite realizar medidas de diferentes modos, en donde destacan el modo de contacto y el modo tapping. En esta tesis, las imágenes fueron obtenidas en modo tapping mediante un microscopio de fuerza atómica modelo Molecular Imaging "PicoPlus". El modo de trabajo tapping permite obtener imágenes topográficas de alta resolución de muestras relativamente blandas [7], como son los polímeros, sin producir daños sobre la superficie de la muestra.

En el modo tapping [8] una fuerza externa provoca que el cantilever oscile perpendicularmente a la superficie de la muestra con una amplitud que suele variar

entre los 20 y 100 nm, Figura 5. Cuando el cantiliver, que está oscilando, se acerca a la superficie de la muestra y la punta empieza a interactuar con ella, la amplitud de la oscilación se reduce. Esta reducción en la amplitud de la oscilación es empleada para identificar la superficie.

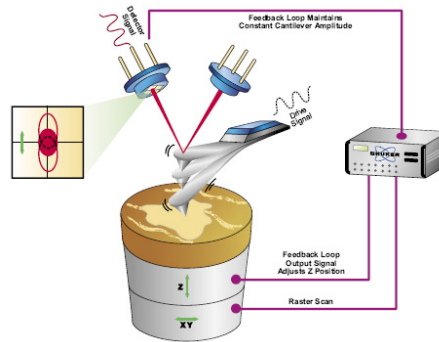


Figura 5. Representación del funcionamiento en modo tapping.

Un factor a tener en cuenta en la calidad de las imágenes, es la rugosidad de la superficie de la muestra, obteniéndose imágenes con mayor calidad con superficies lisas. En esta Tesis se han empleado mica como soporte.

6. Reómetro de torque

El reómetro de torque es básicamente un mezclador que proporciona datos con respecto a la capacidad de procesamiento de los polímeros micro y nanoaditivados. Por mezclado se entiende aquella operación destinada a reducir la heterogeneidad de un sistema, cambiando la distribución de dos o más componentes que inicialmente se encuentran segregados, hasta conseguir una adecuada distribución de ambos. Esencialmente este tipo de equipos consisten en cámaras cilíndricas en las que el material es deformado mediante el giro de unos rotores que describen recorridos concéntricos con la carcasa. El equipo se calienta a la temperatura de fusión del polímero y todos los componentes de la mezcla se añaden a través de una tolva. Una vez que se han añadido, se baja el pistón y la mezcla se mantiene un

tiempo determinado dentro del mezclador a una velocidad de giro de los rotores previamente establecida en base al tipo de aditivos a mezclar.



Figura 6. Reómetro de torque PolyLab QC y rotores.

Para la preparación de los biocomposites mediante mezclado en fundido se utilizó un reómetro de torque HAAKE PolyLab QC de Thermofisher. Las condiciones específicas de mezclado se indican en el capítulo correspondiente.

7. Caracterización de las propiedades mecánicas.

Las propiedades mecánicas de un material describen el modo en que este responde a la aplicación de una fuerza o carga. Se pueden ejercer tres tipos de fuerzas mecánicas que afecten a los materiales: compresión, tensión y cizalla.

El ensayo de tracción (tensión) de un material consiste en someter a una probeta normalizada a un esfuerzo axial de tracción creciente hasta que se produce la rotura de la probeta. Cuando se hace un ensayo de tracción-deformación, las propiedades mecánicas a determinar normalmente son la resistencia a la tracción, la deformación y el módulo elástico.

La resistencia a la tracción es el esfuerzo máximo que un material puede resistir antes de su rotura por estiramiento desde ambos extremos con temperatura, humedad y velocidad especificadas. La deformación o extensión a rotura indica cuánto se puede estirar el material hasta su rotura.

El módulo de elasticidad (o módulo de Young) es la relación de esfuerzo a deformación o esfuerzo por unidad de deformación medido dentro de los límites de la deformación reversible. Las propiedades a tracción de los diferentes biocomposites preparados se han llevado a cabo en una Máquina Universal de Ensayos modelo 3365 de Instron. Las condiciones específicas de ensayo se describen en el capítulo correspondiente.

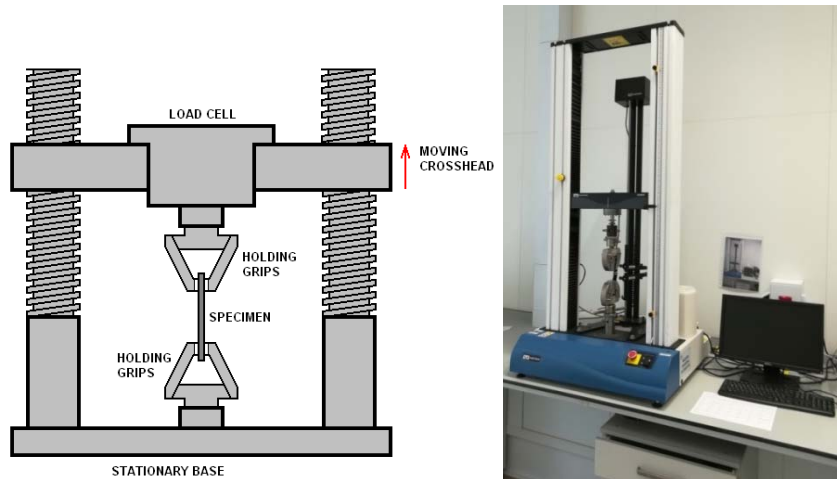


Figura 7. Representación de un ensayo de tracción (izda.) y máquina de ensayos universal Instron 3365 (dcha.).

8. Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM)

La microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (Field emission scanning electron microscopy, FE-SEM) proporciona información topográfica y de la composición elemental a magnificaciones de entre 10x y 300.000x. Comparada con la microscopía electrónica de barrido (SEM) convencional, la microscopía electrónica de emisión de campo produce imágenes más claras, menos distorsionadas electrónicamente y con una resolución espacial por debajo de 1-2 nm.

El funcionamiento consiste en realizar un barrido con un haz de electrones sobre

la superficie de la muestra mientras que en un monitor se visualiza la información que nos interesa en función de los detectores disponibles.

El FE-SEM utiliza como fuente de electrones un cañón de emisión de campo que proporciona haces de electrones de alta y baja energía muy focalizados, lo que mejora notablemente la resolución espacial y permite trabajar a muy bajos potenciales, (0.02 - 5 kV); esto ayuda a minimizar el efecto de carga en especímenes no conductores y a evitar daños en muestras sensibles al haz electrónico.

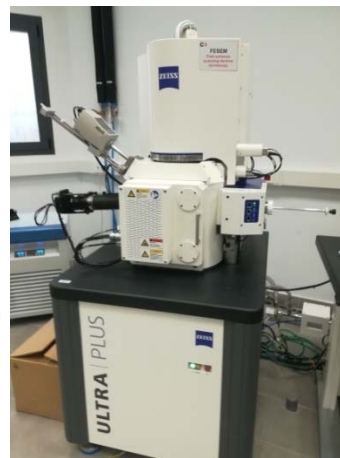
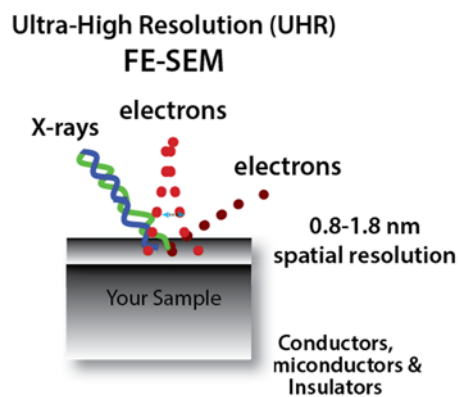


Figura 8. Principio de funcionamiento del FE-SEM (izda.) y equipo de FE-SEM Carl Zeiss Ultra Plus (dcha.).

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido se obtuvieron en un FE-SEM Carl Zeiss Ultra Plus equipado con espectrómetro de energía dispersiva de rayos X (EDXS). Para ello, las muestras (no conductoras) se recubrieron con oro a vacío (10^{-1} mBar) en atmósfera de argón utilizando el equipo BAL-TEC SCD 005 (*sputter coater*) a 65 mA durante 10 segundos.

9. Bibliografía

[1] D. A. Skoog, F. J. Holler and T. A. Nieman, *Principios de análisis instrumental*, McGraw-Hill, Madrid, **1971**.

[2] R. T. Conley, *Espectroscopía infrarroja*, Alhambra, Madrid, **1979**.

- [3] Stenius P., Vuorinen T. Direct Characterization of Chemical Properties of Fibers. *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping and Papermaking*. Sjöström E., Alén R. (Eds.), 149-231. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, **1999**.
- [4] Pemble M.E., Gardner P. Vibrational Spectroscopy from Surfaces. *Surface Analysis – The Principal Techniques*. Vickerman J.C., Gilmore I.S. (Eds.), 2nd Edition, 333-390. John Wiley & Sons Ltd., U.K., **2009**.
- [5] W. W. Wendlant, *Thermal Analysis*, Wiley, New York, **1986**.
- [6] www.veeco.com
- [7] Zhao, B. Synthesis of binary mixed homopolymer brushes by combining atom transfer radical polymerization and nitroxide-mediated radical polymerization. *Polymer*, **2003**, *44*, 4079.
- [8] I. García Alonso in *Nanostructured composites using polymer brushes-modified magnetic nanoparticles and self-assembled block copolymers*, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea, San Sebastián, **2007**.