

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



Tesis presentada para obtener el Grado Académico de  
**DOCTOR EN QUIMICA**

**PRETRATAMIENTO BIOTECNOLOGICO DE  
MATERIAS PRIMAS ALTERNATIVAS  
PARA LA OBTENCION DE CELULOSA  
ESFERICA**

Instituto de Tecnología Celulósica  
(ITC – FIQ – UNL)

**Autora: Lic. Ivana Cecilia Alberini**

*Directora de Tesis: Dra. Mirtha G. Maximino*

*Co-Director de Tesis: Dr. Ignacio Rintoul*

*Miembros del Jurado de Tesis:*

**Dr. Marcelo Villar**

**Dra. Ma. Cristina Area**

**Dr. Luis Gugliotta**

**Santa Fe**

**2012**

---

## INDICE GENERAL

### CAPITULO 1 - INTRODUCCION

1.1. Materias primas fibrosas.	2
1.2. Celulosa.	6
1.3. Pulpas para disolver.	16
1.3.1. Generalidades.	16
1.3.2. Características químicas.	20
1.3.3. Usos.	22
1.4. Método de disolución de celulosa.	23
1.5. Solución de viscosa.	27
1.5.1. Generalidades.	27
1.5.2. Química del proceso de viscosa.	29
1.6. Influencia del tratamiento enzimático sobre la accesibilidad/reactividad de las pulpas.	38
1.7. Celulosa esférica. Obtención por transición sol-gel térmica (TSGT).	40
1.8. Objetivos.	45

### CAPITULO 2 - METODOLOGIA

2.1. Pulpas de trabajo.	47
2.1.1. Pulpas iniciales de trabajo y preparación para su utilización.	47
2.1.2. Caracterización de las pulpas de trabajo.	47
2.2. Purificación alcalina en frío.	57
2.3. Tratamiento enzimático.	58
2.3.1. Descripción de la enzima utilizada.	58
2.3.2. Determinación de la actividad enzimática.	59
2.3.3. Hidrólisis enzimática de las pulpas.	65
2.4. Viscosa: preparación y caracterización.	71
2.4.1. Preparación de la solución de viscosa.	71
2.4.2. Caracterización de viscosa.	75
2.5. Obtención de celulosa esférica por el método de TSGT.	84
2.5.1. Metodología empleada.	84

---

2.5.2. Puesta a punto de la metodología. Selección de condiciones.	85
2.5.3. Caracterización de las esferas de celulosa.	86
<b>CAPITULO 3 - RESULTADOS Y DISCUSION</b>	
3.1. Purificación alcalina de las pulpas para papel.	91
3.2. Tratamientos enzimáticos.	98
3.2.1. Determinación de la actividad enzimática.	98
3.2.2. Hidrólisis enzimática de las pulpas.	101
3.3. Cambios en la accesibilidad/reactividad de las pulpas con los diferentes tratamientos.	107
3.4. Preparación y caracterización de viscosa.	109
3.4.1. Viscosas a partir de las diferentes pulpas de trabajo.	109
3.4.2. Análisis de la distribución del sulfuro de carbono en las viscosas.	112
3.4.3. Análisis de la calidad de las viscosas.	116
3.5. Obtención de celulosa esférica por TSGT.	118
3.5.1. Puesta a punto de la metodología. Selección de condiciones.	118
3.5.2. Aplicación de la metodología. Resultados y caracterización de las esferas obtenidas.	122
<b>CAPITULO 4 - CONCLUSIONES</b>	151
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	155

---

## ABREVIATURAS

<b>[E]</b>	Concentración de enzima.
<b>[glu]</b>	Concentración de glucosa.
<b>[S]</b>	Concentración de surfactante.
<b>[<math>\eta</math>]</b>	Viscosidad intrínseca.
<b>A</b>	Etapa blanqueo con ácido.
<b>A<sub>540</sub></b>	Absorbancia a 540 nm.
<b>AC</b>	Álcali Celulosa.
<b>BET</b>	Método Brunauer, Emmett y Teller.
<b>CMC</b>	Carboximetilcelulosa.
<b>CMCasa</b>	Actividad enzimática frente a CMC.
<b>CrI</b>	Índice de cristalinidad.
<b>CUEN</b>	Cuprietilendiamina.
<b>D</b>	Etapa de blanqueo con dióxido de cloro.
<b>DMAc</b>	Dimetilacetamida.
<b>DMM</b>	Distribución de Masa Molar.
<b>DNS</b>	Reactivo Dinitrosalicílico.
<b>DP</b>	Grado de polimerización.
<b>DP<sub>v</sub></b>	Grado de polimerización promedio viscosimétrico.
<b>DRX</b>	Difracción de Rayos X.
<b>DSC</b>	Calorimetría diferencial de barrido.
<b>E.AEx5</b>	Pulpa para papel de eucalipto purificada con NaOH 5%.
<b>E.AEx10</b>	Pulpa para papel de eucalipto purificada con NaOH 10%.
<b>E.AEx10.Enz</b>	Pulpa para papel de eucalipto purificada con NaOH 10% y tratada con enzimas.
<b>ECF</b>	Libre de cloro elemental.
<b>E<sub>OP</sub></b>	Etapa de blanqueo consistente en extracción alcalina reforzada con oxígeno y peróxido de hidrógeno.
<b>E<sub>P</sub></b>	Etapa de blanqueo consistente en extracción alcalina reforzada con peróxido de hidrógeno.
<b>FTIR</b>	Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier.

<b>MALLS</b>	Detector de dispersión de luz multiangular.
<b>Mn</b>	Masa molar promedio en número.
<b>Mw</b>	Masa molar promedio en peso.
<b>P</b>	Etapa de blanqueo con peróxido de hidrógeno.
<b>P.AEx5</b>	Pulpa para papel de eucalipto purificada con NaOH 5%.
<b>P.AEx10</b>	Pulpa para papel de eucalipto purificada con NaOH 10%.
<b>PDI</b>	Índice de polidispersidad.
<b>R10</b>	Fracción de celulosa resistente a NaOH 10% P/P, resultante de 100 - S10.
<b>RP</b>	Relación de prensado.
<b>S10</b>	Fracción de celulosa soluble en NaOH 10% P/P.
<b>S18</b>	Fracción de celulosa soluble en NaOH 18% P/P.
<b>SEC</b>	Cromatografía de exclusión de tamaño.
<b>SEM</b>	Microscopía electrónica de barrido.
<b>TSGT</b>	Transición sol-gel térmica.
<b>UAG</b>	Unidad de anhidroglucosa.
<b>UI</b>	Unidad Internacional.
<b>WRV</b>	Valor de retención de agua.

## LISTA DE TABLAS

## CAPITULO 1

<b>1.1</b>	Composición química de fibras naturales.	5
<b>1.2</b>	Pulpas para disolver de eucaliptus - BACELL.	22

## CAPITULO 3

<b>3.1</b>	Condiciones de extracción alcalina aplicadas a las pulpas comerciales.	91
<b>3.2</b>	Características de las pulpas iniciales de trabajo.	92
<b>3.3</b>	Propiedades de la distribución de masa molar de las pulpas.	96
<b>3.4</b>	Ubicación del pico cristalino y de la zona desordenada e índice de cristalinidad de las pulpas de trabajo.	98
<b>3.5</b>	Curva de calibrado Glucosa/buffer pH 6/CMC.	99
<b>3.6</b>	Glucosa producida a concentraciones de enzima conocida frente a CMC.	100
<b>3.7</b>	Curva Glucosa/buffer pH 6.	102
<b>3.8</b>	Variación de la viscosidad intrínseca con el proceso de tratamiento.	103
<b>3.9</b>	Viscosidad intrínseca y reactividad de Fock de las pulpas de linters de algodón , E.AEx10 y P.AEx10, con y sin tratamiento enzimático.	104
<b>3.10</b>	Condiciones de extracción alcalina y tratamiento enzimático a la pulpa de eucalipto y pino originales.	105
<b>3.11</b>	Características químicas y físicas de la pulpa E.AEx10.Enz.	105
<b>3.12</b>	Ubicación de los picos cristalino y de la zona amorfa e índice de cristalinidad de las pulpas de la Tabla 3.10.	106
<b>3.13</b>	WRV y solubilidad en NaOH 9% de las pulpas de trabajo.	107
<b>3.14</b>	Características de las viscosas obtenidas con las pulpas de Eucalipto Original, E.AEx5, E.AEx10, Pino Orig., P.AEx5 y P.AEx10, con 29% de CS <sub>2</sub> .	111
<b>3.15</b>	Características de las viscosas obtenidas con las pulpas de Linters de E.AEx10.Enz con diferentes dosajes de CS <sub>2</sub> .	111
<b>3.16</b>	Viscosidad aparente (Brookfield) y Kw de las diferentes viscosas.	117
<b>3.17</b>	Clasificación de las viscosas según su Kw.	118
<b>3.18</b>	Micrografías demostrativas de los ensayos realizados a diferentes tiempos de reacción, a velocidad de agitación y concentración de surfactante constantes.	119

---

<b>3.19</b>	Micrografías demostrativas de los ensayos realizados a diferentes velocidades de agitación y concentración de surfactante, a tiempo de reacción constante.	120
<b>3.20</b>	Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas preparadas con pulpa de linters de algodón.	123
<b>3.21</b>	Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas preparadas con pulpa de E.AEx5.	127
<b>3.22</b>	Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas preparadas con pulpa de E.AEx10.	131
<b>3.23</b>	Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas preparadas con pulpa de P.AEx5.	135
<b>3.24</b>	Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas preparadas con pulpa de P.AEx10.	138
<b>3.25</b>	Micrografías SEM de esferas de celulosa obtenidas con viscosas preparadas a partir de linters de algodón.	143
<b>3.26</b>	Micrografías SEM de esferas de celulosa obtenidas con viscosas preparadas a partir de E.AEx10.	144
<b>3.27</b>	Micrografías SEM de esferas de celulosa obtenidas con viscosas preparadas a partir de P.AEx10.	145
<b>3.28</b>	Ubicación del pico cristalino y de la zona amorfa e índice de cristalinidad de las esferas de celulosa obtenidas con viscosas preparadas a partir de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10.	147

## LISTA DE FIGURAS

## CAPITULO 1

1.1	Estructura de la cadena de celulosa.	2
1.2	Hemicelulosas: pentosas y hexosas constituyentes de las hemicelulosas	3
1.3	Esquema de la estructura de una lignina de conífera.	4
1.4	Uniones puentes hidrógeno 2,6-intramoleculares y 3,6 intermoleculares de la celulosa.	6
1.5	Esquema de la organización física de la celulosa en la fibra.	8
1.6	Representación de las regiones cristalinas y amorfas de la celulosa.	9
1.7	Celda cristalina de Celulosa I y Celulosa II.	11
1.8	Reacción de <i>Keeling</i> alcalino.	14
1.9	Reacción de <i>stopping</i> .	14
1.10	Reacción de hidrólisis alcalina.	15
1.11	Reacción de oxidación en medio alcalino.	16
1.12	Purificación alcalina de una pulpa al sulfito con 10% P/V de NaOH variando la temperatura.	19
1.13	Relación entre el contenido de $\alpha$ -celulosa con la concentración en g/l de NaOH y la temperatura de extracción, de una pulpa al sulfito purificada previamente con NaOH en caliente.	20
1.14	Distribución del DP de una pulpa al sulfito para papel.	21
1.15	Distribución del DP de una pulpa para disolver.	21
1.16	Esquema del proceso de viscosa.	28
1.17	Transiciones de álcali celulosa.	30
1.18	Envejecimiento alcalino bajo atmósfera de oxígeno y nitrógeno.	33
1.19	Cambio relativo en la concentración de reactivos y productos durante la sulfidación.	35

## CAPITULO 2

2.1	Baño termostático transparente y viscosímetro capilar.	51
2.2	Equipo de Difracción de Rayos X utilizado.	53
2.3	Centrífuga utilizada en las determinaciones de WRV, solubilidad en NaOH 9% (-5°C) y Reactividad de Fock.	57
2.4	Criotermostato utilizado para la purificación alcalina en frío y para los tratamientos enzimáticos.	58
2.5	Espectrofotómetro UV/Vis utilizado.	60

<b>2.6</b>	Preparación de tubos para la determinación de la curva de calibrado Glucosa/buffer pH 6/CMC.	61
<b>2.7</b>	Preparación de tubos para la determinación de la actividad enzimática.	63
<b>2.8</b>	Vista general del reactor batch de acero inoxidable.	66
<b>2.9</b>	Preparación de los tubos para la determinación de la curva de calibrado Glucosa/buffer pH 6.	68
<b>2.10</b>	Preparación de los tubos para la determinación de azúcares reductores.	70
<b>2.11</b>	Vaso para prensado y prensa hidráulica utilizados.	72
<b>2.12</b>	Agitador vibratorio utilizado para la sulfidación.	73
<b>2.13</b>	Solución de viscosa obtenida.	76
<b>2.14</b>	Diagrama de un equipo para medición de viscosidad aparente.	81
<b>2.15</b>	Viscosímetro, marca Brookfield, utilizado.	82
<b>2.16</b>	Diagrama para el cálculo del valor de taponamiento de filtro a partir de la Ley de filtración de Hermans-Brede.	83
<b>2.17</b>	Equipo utilizado para la determinación de Kw.	84
<b>2.18</b>	Baño de aceite de silicona con controlador de temperatura para TSGT y material utilizado.	85
<b>2.19</b>	Ultrasonido, marca JP-Selecta, modelo Ultrasons-H.	87
<b>2.20</b>	Microscopio óptico OLYMPUS para observación con luz incidente y transmitida, con cámara marca digital incorporada.	87
<b>2.21</b>	Microscopio Electrónico de Barrido (SEM).	89
 <b>CAPITULO 3</b>		
<b>3.1</b>	$\alpha$ -celulosa (%) vs. [NaOH] (% P/V).	93
<b>3.2</b>	S <sub>18</sub> (%) vs. [NaOH] (% P/V).	93
<b>3.3</b>	Rendimiento de purificación vs. contenido de $\alpha$ -celulosa.	94
<b>3.4</b>	Distribución de Masa Molar (DMM) de las pulpas de linters de algodón, eucalipto y pino originales, E.AEx10 y P.AEx10.	95
<b>3.5</b>	Difractogramas correspondientes a linters de algodón, eucalipto original, E.AEx5 y E.AEx10.	97
<b>3.6</b>	Difractogramas correspondientes a linters de algodón, pino original, P.AEx5 y P.AEx10.	97
<b>3.7</b>	Curva de calibrado Glucosa/buffer pH 6/CMC.	99
<b>3.8</b>	Curva Glucosa vs. log [E].	100
<b>3.9</b>	Curva de calibrado Glucosa/buffer pH 6.	102

---

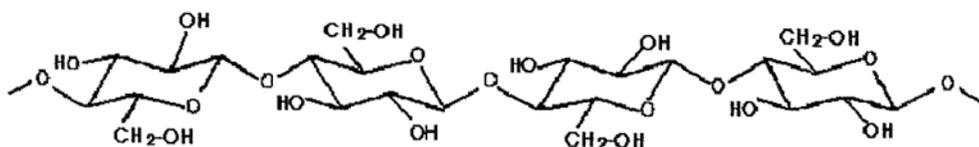
<b>3.10</b>	Variación de la viscosidad intrínseca (ml/g) en función del dosaje de enzima aplicado (UI/g), durante 180 minutos de tratamiento.	103
<b>3.11</b>	Variación de la viscosidad intrínseca (ml/g) en función del tiempo de tratamiento (min), para un dosaje de 18 UI/g.	103
<b>3.12</b>	Difractogramas correspondientes a linters de algodón, pino original, E.AEx10 y E.AEx10.Enz.	106
<b>3.13</b>	Reactividad de Fock de todas las pulpas de trabajo.	108
<b>3.14</b>	Variación del contenido de CS <sub>2</sub> total, CS <sub>2</sub> en subproductos y CS <sub>2</sub> como xantato, de viscosas obtenidas con las pulpas de eucalipto, en función del tipo de pulpa.	113
<b>3.15</b>	Variación del contenido de CS <sub>2</sub> total, CS <sub>2</sub> en subproductos y CS <sub>2</sub> como xantato, de viscosas obtenidas con las pulpas de pino, en función del tipo de pulpa.	114
<b>3.16</b>	Variación del contenido de CS <sub>2</sub> total, CS <sub>2</sub> en subproductos y CS <sub>2</sub> como xantato, de viscosas obtenidas con pulpa de linters de algodón, en función de los diferentes dosajes de CS <sub>2</sub> .	115
<b>3.17</b>	Variación del contenido de CS <sub>2</sub> total, CS <sub>2</sub> en subproductos y CS <sub>2</sub> como xantato, de viscosas obtenidas con pulpa de E.AEx10.Enz, en función de los diferentes dosajes de CS <sub>2</sub> .	116
<b>3.18</b>	Difractogramas de RX de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10.	146
<b>3.19</b>	Espectros de FTIR de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa de pulpa de linters de algodón, E.AEx5 y E.AEx10.	147
<b>3.20</b>	Espectro de FTIR de Celulosa II obtenido de bibliografía de una pulpa de linters de algodón mercerizada.	148

### **1.1. Materias primas fibrosas**

Los materiales lignocelulósicos están constituidos por celulosa, lignina y hemicelulosas en una relación aproximada de 4:3:3, variando sensiblemente según las diferentes especies [1, 2]. Gracias a su origen renovable, a la biodegradabilidad de sus derivados y sus posibilidades de reciclaje, son una fuente idónea de materiales poliméricos de interés industrial [3]. La composición química de las materias primas fibrosas es compleja, varía entre las especies, dentro de la misma especie e incluso en la misma pared celular de las fibras.

Los constituyentes mayoritarios son:

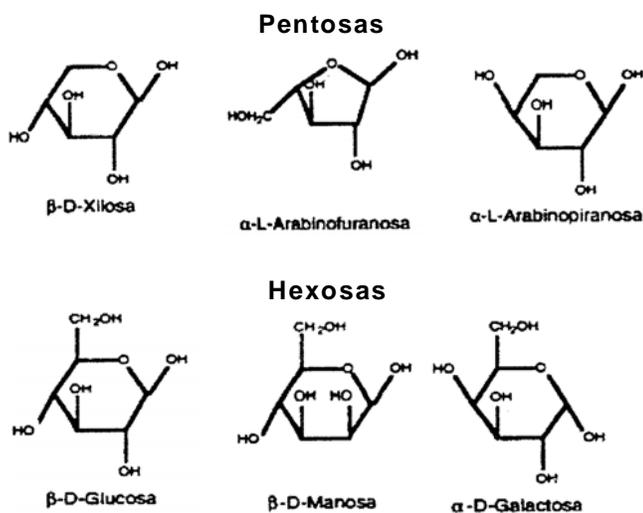
*Celulosa:* es un homopolímero lineal sindiotáctico constituido por unidades de D-glucosa unidas por enlaces  $\beta$ -1,4 glicosídicos (Figura 1.1) [4].



**Figura 1.1.** Estructura de la cadena de celulosa [3]

*Hemicelulosas:* Polímeros de bajo peso molecular formados por dos grupos de azúcares: pentosas -xilosa y arabinosa- y hexosas -glucosa, manosa y galactosa- (Figura 1.2).

Estos sacáridos pueden formar homopolímeros, como los xilanos, cuando están constituidos por un solo tipo de azúcares, o heteropolímeros como los glucomananos que están formados por la unión de dos o más tipos de azúcares [3].

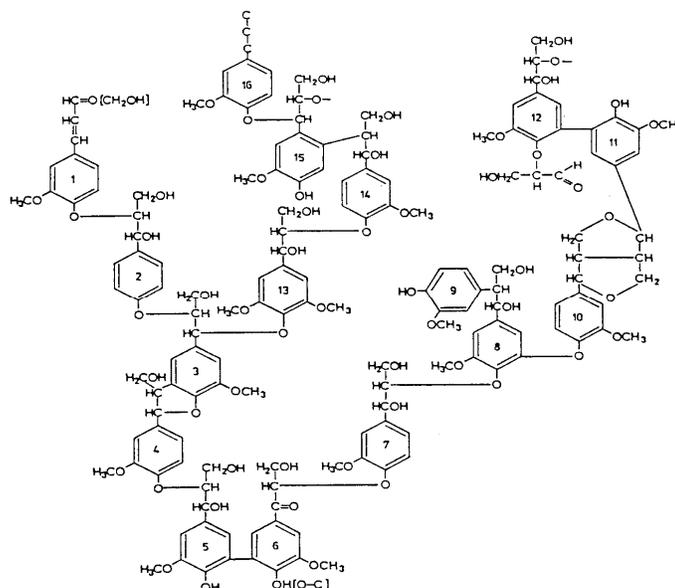


**Figura 1.2:** Hemicelulosas: pentosas y hexosas constituyentes de las hemicelulosas

Las hemicelulosas no poseen una estructura ordenada debido a la presencia de grupos laterales (ácidos urónicos, acetilos) y/o ramificaciones, que a su vez le confieren mayor accesibilidad a los reactivos. Se degradan y disuelven más fácilmente que la celulosa durante los procesos de pulpado [5].

Desde el punto de vista analítico, la separación cuantitativa entre celulosa y hemicelulosas es muy difícil, debido a que las hemicelulosas más resistentes permanecen en el residuo sólido. Incluso cuando se trabaja en condiciones severas de aislamiento se generan productos de degradación de celulosa dentro de la fracción líquida que contiene a las hemicelulosas.

*Lignina:* es un polímero aromático compuesto de unidades fenilpropano. La lignina de las distintas materias primas fibrosas varía tanto en cantidad como en características estructurales. En la Figura 1.3 se muestra el esquema de una lignina de conífera [5].



**Figura 1.3.** Esquema de la estructura de una lignina de conífera (según Adler, 1977) [1].

La estructura de la lignina es completamente irregular, formando una gran molécula tridimensional. No puede ser hidrolizada a unidades monoméricas, pero aún así es muy susceptible a reacciones de oxidación y condensación [5].

Posee una doble función dentro de la pared celular de las fibras: cementa y mantiene juntas a las fibras dentro de la estructura del material y al mismo tiempo, les da rigidez y las protege del ataque químico y físico.

Las materias primas fibrosas poseen además un 10% o menos de componentes minoritarios de naturaleza química muy diferente que protegen a la madera de los insectos, inhiben el blanqueo de las pulpas de celulosa y son responsables de dar el color, olor y gusto a la madera [3]. Se puede realizar una clasificación de estos componentes según:

*Extractivos:* material extraíble con solventes orgánicos y/o soluble en agua. Desde el punto de vista químico, son carbohidratos de bajo peso molecular y se pueden dividir en tres grupos: 1) derivados del isopreno: terpenos; 2) componentes alifáticos: grasas y ceras, y 3) constituyentes fenólicos [6].

**Cenizas:** material inorgánico, en general no extraíble y que se obtiene como cenizas por incineración entre 575 y 850°C. Los componentes principales de las cenizas son: calcio, potasio, magnesio y sílice, que forman carbonatos, fosfatos, oxalatos y silicatos [1].

La composición de las fibras químicas depende de la fuente de la cual procedan, pero de manera general se puede decir que existe una parte mayoritaria que corresponde a celulosa, entre 40 y 50%, (aunque algunas veces es superior como en el caso del linters de algodón), entre 20 y 30% de hemicelulosas y 10 a 30% de lignina [3]. El contenido de material inorgánico (cenizas) varía de manera sustancial: en el caso de la madera – las de zonas templadas contienen 0,1-1% de cenizas, de zonas tropicales y subtropicales hasta un 5% - y en el caso de fibras anuales el contenido es normalmente superior.

En forma general, la composición química de distintos materiales fibrosos de los cuales se obtienen pulpas de diferentes calidades se muestran en la tabla 1.1:

**Tabla 1.1.** Composición química de fibras naturales [3].

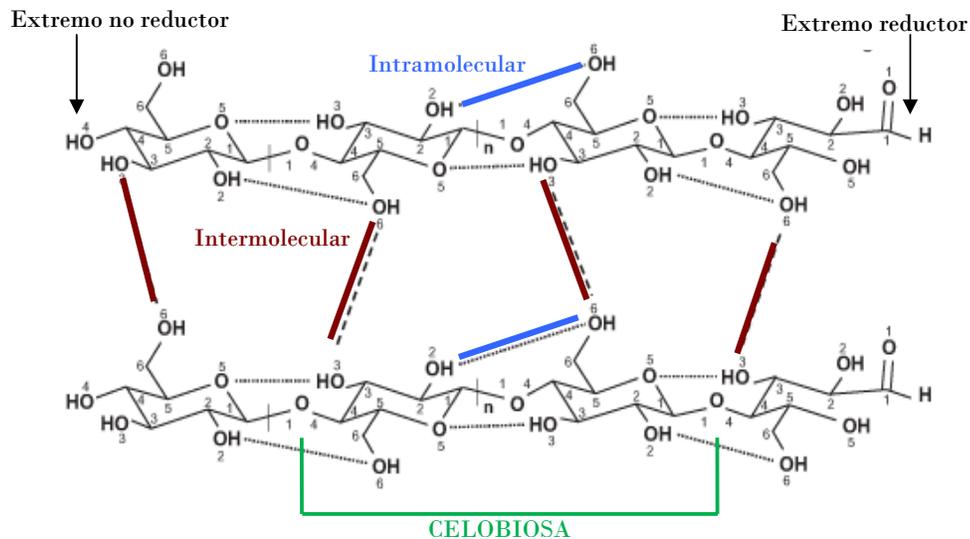
COMPONENTES					
Tipo de fibra	Celulosa (%)	Lignina (%)	Hemicelulosas (Pentosanos) (%)	Cenizas (%)	Sílice (%)
<b><u>Pajas</u></b>					
Arroz	28-36	12-16	(23-28)	15-20	9-14
Trigo	29-35	16-21	27 (26-32)	4,5-9	3-7
Avena	31-37	16-19	(27-38)	6-8	4-6,5
Centeno	33-35	16-19	(27-30)	2-5	0,5-4
<b><u>Cañas</u></b>					
Azúcar	32-44	19-24	22 (27-32)	1,5-5	0,7-3,5
Bambú	26-43	21-31	15 (15-26)	1,7-5	0,7
<b><u>Hierbas</u></b>					
Esparto	33-38	17-19	(27-32)	6-8	-
Hierba elefante	22	23,9	(24)	6	-
<b><u>Tallos</u></b>	44,7	22,8	20 (20)	3	2
<b><u>Peroliberianas</u></b>					
Lino	43-47	21-23	16 (24-26)	5	-
Kenaf	31-39	15-19	19 (22-23)	2-5	-
Yute	45-53	21-26	15 (18-21)	0,5-2	-
<b><u>Hojas</u></b>					
Abacá	60,8	8,8	20 (15-17)	1,1	-
Sisal	43-56	7-9	12 (21-24)	0,6-1	-
Henequén	77,6	13,1	4-8	-	-
<b><u>Semillas</u></b>					
Linters de algodón	80-85	-	(1-3)	0,8-2	-
<b><u>Maderas</u></b>					
Coníferas	40-45	26-34	(7-14)	< 1	-
Latifoliadas	38-49	23-30	(19-26)	< 1	-

## 1.2. Celulosa

La celulosa es el polímero biodegradable, renovable y natural más abundante en la tierra y se ha estimado que globalmente se producen entre  $10^{10}$  a  $10^{11}$  toneladas por año [7] y actualmente es la base de muchos productos de interés industrial, tanto por su abundancia como por su aprovechamiento tecnológico [3].

Es el componente principal en todas las células vegetales (fibrosas o no fibrosas) formando la estructura básica o “esqueleto” de la pared celular, junto con los demás polisacáridos y la lignina [3].

Las cadenas de celulosa son lineales y alargadas. Las unidades de glucosa se encuentran ubicadas en un plano debido a las uniones  $\beta$ -1,4 glicosídicas, a la conformación más estable de silla piranósica y a que los oxhidrilos sustituyentes están orientados ecuatorialmente [3]. Estas características dan como resultado una cadena molecular balanceada esencialmente lineal, cuya menor estructura representativa es el disacárido *celobiosa* [5].



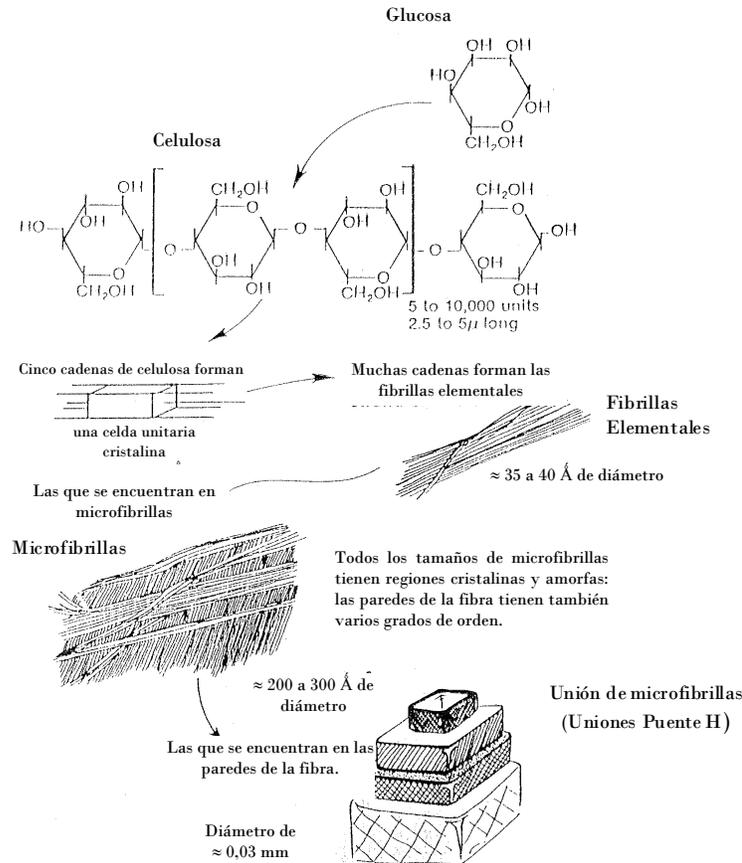
**Figura 1.4.** Uniones puente hidrógeno 2,6 intramoleculares y 3,6 intermoleculares.

La distancia entre las cadenas es menor a  $3\text{\AA}$ . Esto permite la formación de enlaces secundarios de gran energía del tipo puente hidrógeno, inter e intra moleculares entre los grupos oxhidrilos (OH) de cadenas adyacentes y dentro de la misma cadena, resultando un conjunto densamente empacado de tipo cristalino (Figura 1.4). Estas estructuras tienen por definición características fibrilar [5].

Como consecuencia de su estructura fibrosa y las fuertes uniones hidrógeno la celulosa presenta alta resistencia a la tracción y es insoluble en la mayoría de los solventes [5].

Cada cadena molecular de celulosa posee dos grupos finales distintos. En un extremo, el grupo OH del  $C_1$  es un grupo aldehído potencial y por tanto con propiedades reductoras; mientras que en el otro extremo, el grupo OH del  $C_4$  es un grupo hidroxil alcohol y en consecuencia no reductor [3].

En la Figura 1.5 se muestra la organización física de la celulosa dentro de la pared celular de una fibra.

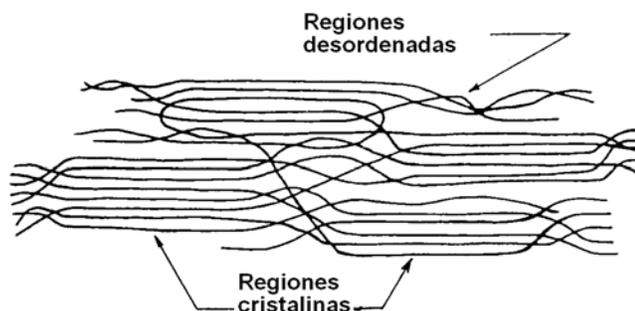


**Figura 1.5.** Esquema de organización física de celulosa en la fibra [8].

La celulosa dentro de la pared celular se organiza en fibrillas elementales de aproximadamente 35-40 Å de diámetro, constituidas por alrededor de 40 moléculas apareadas lateralmente. Estas se unen para formar entidades mayores llamadas microfibrillas de 200-300 Å, que se organizan dentro de la pared celular de las fibras con diferentes orientaciones en las distintas capas [5].

Sin embargo, la organización de las microfibrillas no es la de un cristal puro con un ordenamiento perfecto. Las moléculas de celulosa forman regiones completamente ordenadas o cristalinas y sin ningún límite distintivo se transforman en zonas desordenadas o menos cristalinas (Figura 1.6) variando la proporción según su origen. El grado de cristalinidad o índice de orden que representa la porción cristalina de una

muestra de celulosa puede determinarse por difracción de rayos X, espectrometría IR, entre otras [5].



**Figura 1.6.** Representación de las regiones cristalinas y amorfas de la celulosa [9].

El grado de cristalinidad varía desde 80% a 70% para algodón, de 70% a 60% para pulpas de madera y alrededor de 45% para celulosa regenerada (rayón) [1].

La unidad de anhidroglucosa (UAG), el monómero que representa la columna vertebral del polímero de celulosa, posee tres grupos oxhidrilos diferentes. Los dos grupos OH secundarios en C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> son más reactivos que el OH primario del C<sub>6</sub>. En las reacciones de derivatización, es importante considerar que los OH secundarios están cinéticamente favorecidos, mientras que la sustitución en C<sub>6</sub> es termodinámicamente más estable [10].

La molécula de celulosa puede sufrir reacciones en sus grupos oxhidrilos, en las uniones glicosídicas y en el grupo final aldehídico reductor, pero las posibilidades de reacción están determinadas por la constitución química molecular y la organización física, siendo esta última más importante.

Todo el comportamiento físico, mecánico y químico de la celulosa – incluyendo su insolubilidad – es responsabilidad de los numerosos enlaces puente de hidrógeno inter e intramoleculares. La resistencia de la celulosa a muchos reactivos químicos permite su aislación y purificación a partir de madera, la fuente más común de obtención.

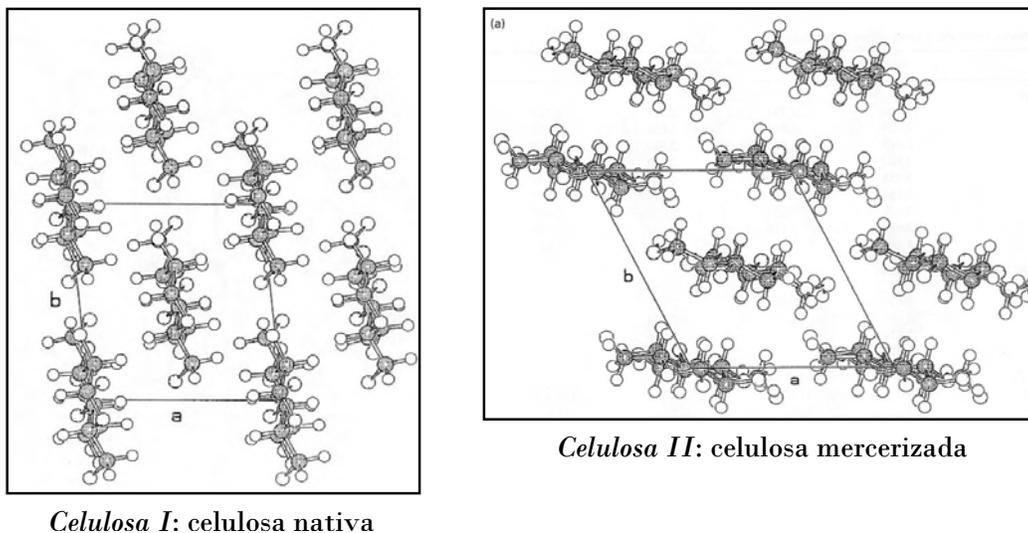
El concepto de reactividad conjugado con la impenetrabilidad de la estructura celulósica, da origen a un nuevo concepto común en la terminología celulósica: *Reactividad global* o *Accesibilidad* [5].

La accesibilidad de los grupos oxhidrilos puede ser determinada por varios métodos, entre ellos por medición de la cantidad de agua restringida en la pulpa por calorimetría diferencial de barrido (DSC), por métodos de absorción de agua y por difracción de rayos X (DRX). En este último caso, Ioelovich [11] encontró una total accesibilidad de agua y accesibilidad restringida a moléculas orgánicas en los dominios no cristalinos [12].

Las formas cristalinas más importantes de la celulosa son *Celulosa I* y *Celulosa II*. La *Celulosa I*, que posee un arreglo paralelo formando una estructura cristalina monoclinica, existe principalmente en la naturaleza y se divide en dos subgrupos:  $I\alpha$  y  $I\beta$ , siendo esta última termodinámicamente más estable [13]. La *Celulosa I $\alpha$*  es la forma dominante presente en la celulosa de bacterias y algas. *Celulosa I $\beta$*  es producida principalmente por las plantas superiores, como las gramíneas (algodón) y las leñosas (árboles) [4].

Cuando las fibras de *Celulosa I* se hinchan con ácidos o bases fuertes, o agentes quelantes, se rompen las fuertes uniones hidrógeno intra e intermoleculares y la celulosa forma nuevas estructuras cuando se extrae el agente de hinchamiento. La *Celulosa II* se forma cuando la pulpa es mercerizada (por tratamiento con NaOH 14-20%) y también cuando la celulosa es regenerada en un baño ácido. Tiene estructura cristalina monoclinica pero en un arreglo antiparalelo [4].

La Figura 1.7 muestra los distintos tipos de celda cristalina para la celulosa nativa (*Celulosa I*) y mercerizada (*Celulosa II*).



**Figura 1.7.** Celda cristalina de *Celulosa I* y *Celulosa II* [4].

Desafortunadamente, la *Celulosa II* es menos accesible que la *Celulosa I*: en *Celulosa II* las capas de celulosa se mantienen unidas principalmente por uniones hidrógeno, mientras que las capas de *Celulosa I* interactúan con enlaces Van der Waals mucho más débiles. La longitud de enlace promedio es de 2,72 Å en *Celulosa II* y 2,80 Å en la *I*. El empaquetado de la cadena es más fuerte en *Celulosa II* que en *Celulosa I*, lo que contribuye aún más a la baja accesibilidad de la primera [13].

Las distintas interacciones físicas y químicas de la celulosa pueden conducir a: hinchamiento (*swelling*) y disolución de celulosa, reacciones de adición y sustitución y reacciones de degradación.

### ***Hinchamiento (swelling) y disolución de celulosa***

Los grupos funcionales mayoritarios de la molécula de celulosa son oxhidrilos que tienen una fuerte afinidad por los solventes y soluciones polares. Aquellos localizados en las regiones desordenadas, son altamente accesibles y reaccionan fácilmente, mientras que los que se encuentran en las regiones de cerrado empaque cristalino y fuertes uniones intercadenas, pueden ser completamente inaccesibles.

La interacción de celulosa con compuestos polares puede conducir a hinchamiento (*swelling*), solubilización o formación de un derivado de celulosa, dependiendo de la estructura y reactividad del compuesto polar y de su penetración o no a las regiones cristalinas [5].

La celulosa se hincha en diferentes solventes y su extensión depende del solvente y de la naturaleza de la muestra de celulosa. Dependiendo del tipo de *swelling* se producirán diferentes cambios morfológicos en la estructura de la celulosa. Durante el hinchamiento *intercristalino*, por ejemplo con agua, el reactivo ingresa solamente a las regiones desordenadas (amorfás) de las microfibrillas de celulosa y entre ellas. El *swelling intracristalino* implica la penetración e hinchamiento de las regiones accesibles y de las cristalinas de las microfibrillas, lo que se produce con soluciones concentradas de bases y ácidos fuertes y con algunas sales. El *swelling intracristalino* puede ser *limitado* o *ilimitado*. En el primer caso, el agente de *swelling* se combina con la celulosa en proporción estequiométrica pero no destruye completamente el enlace interfibrilar. Durante el *swelling intracristalino ilimitado* el agente de hinchamiento se encuentra en exceso, formando complejos con la celulosa, dando como resultado la ruptura de enlaces adyacentes y la separación de las cadenas, lo que produce la disolución gradual de la celulosa [2].

Los solventes más importantes de celulosa son compuestos complejos metálicos de bases orgánicas como la cuprietilendiamina (CUEN) y la etilendiamina de cadmio (Cadoxen) [2]. Estos solventes se utilizan para los estudios de las propiedades poliméricas de la celulosa, como es el grado de polimerización por viscosimetría capilar.

### ***Reacciones de adición y sustitución***

Las reacciones de adición y sustitución son de gran importancia para la preparación de derivados de celulosa.

Varias modificaciones y derivados de celulosa se producen en grandes cantidades y se usan para la producción industrial de fibras textiles, films, plásticos, adhesivos, lacas, explosivos, agentes dispersantes, etc [5].

Dentro de los compuestos de adición el más importante es el álcali celulosa (AC). Se utiliza principalmente en dos formas: a) para mejorar las características de fibras e hilos de algodón por el proceso de mercerización y b) como etapa intermedia en la formación de xantato de celulosa, a partir del cual se producen celofán y rayón.

Las reacciones de sustitución comprenden principalmente: esterificaciones y eterificaciones. Los éteres de celulosa más importantes son: metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa e hidroxietilcelulosa, mientras que los ésteres son: nitrato, acetato y xantato de celulosa, siendo este último un intermediario en la preparación de la solución de viscosa [5].

### ***Reacciones de degradación***

En algunos casos la degradación de la celulosa es útil y deseable. Mediante exposición del álcali celulosa a la acción del oxígeno, se consigue la degradación de la celulosa por envejecimiento. En este caso, la disminución en el grado de polimerización, proporciona un medio importante para controlar las propiedades del producto final Sin embargo en el campo de la pulpa para papel, debe mantenerse al mínimo la degradación, para obtener mayores rendimientos y retener al máximo las propiedades mecánicas y físicas de las fibras.

Las reacciones más importantes responsables de la pérdida de carbohidratos y reducción de la longitud de cadena de celulosa en medio alcalino son el *peeling*, la hidrólisis, y en menor medida, la oxidación [5].

El *peeling* se inicia en el grupo final reductor (aldehído) del C<sub>1</sub> del monómero terminal, y como muestra la Figura 1.8 continúa a través de una serie de pasos hasta desplazar el H del C<sub>3</sub> y desprender el monómero final.

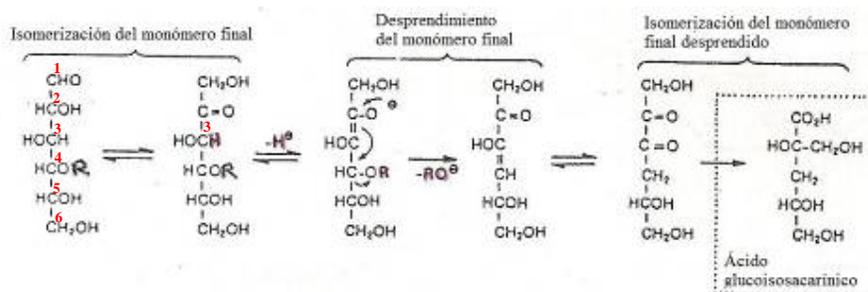


Figura 1.8: Reacción de *peeling* alcalino [5].

Como resultado de estas reacciones queda la cadena de celulosa con un monómero menos y con un nuevo grupo terminal reductor. A partir del mismo, la reacción puede reanudarse y continuar indefinidamente hasta que se produzca una reacción espontánea de frenado (*stopping*). Esta reacción suele iniciarse por el mismo mecanismo de *peeling* pero continúa con el desplazamiento del OH del C<sub>3</sub> como se muestra en la Figura 1.9.

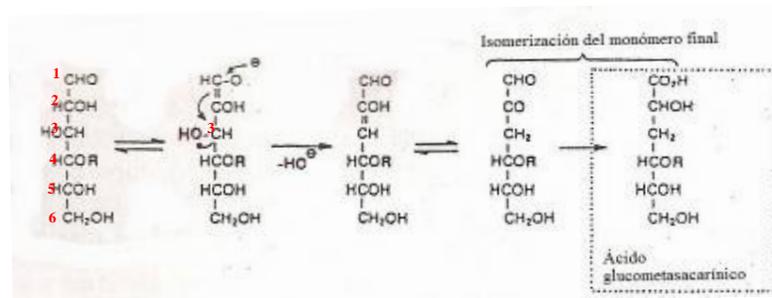
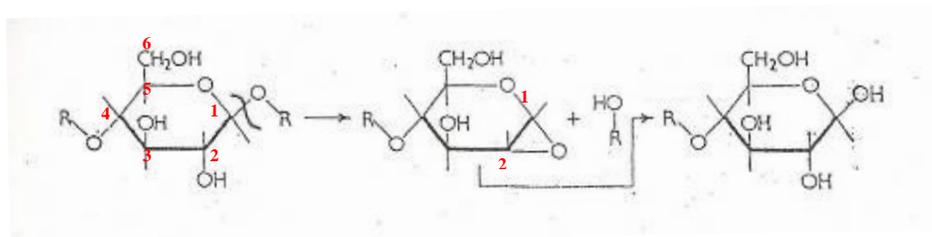


Figura 1.9: Reacción de *stopping* [5].

El mecanismo de *stopping* no se produce fácilmente ya que implica el pasaje de un ion a una solución del mismo tipo, pero sin embargo ocurre en alguna medida y es el responsable de la estabilización de la cadena, frenando la reacción de *peeling*. Al no existir un grupo final aldehído, la reacción de *peeling* no puede reiniciarse [5].

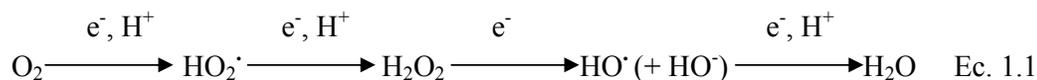
La hidrólisis de los enlaces  $\beta$ -glucosídicos en medio alcalino se muestra en la Figura 1.10.



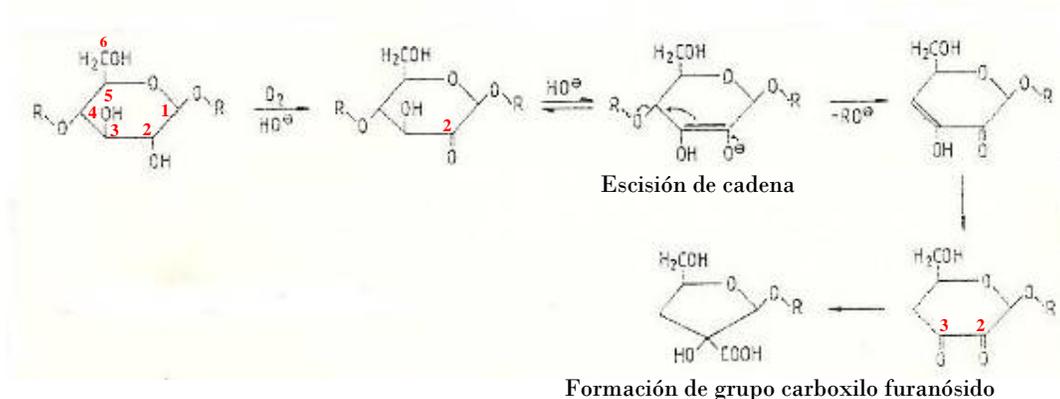
**Figura 1.10:** Reacción de hidrólisis alcalina [5].

La unión glicosídica se rompe por eliminación de un grupo  $\beta$ -alcoxi después de la ionización del OH del C<sub>2</sub> y formación de un 1,2 epóxido (oxirano). La apertura del epóxido conduce a la formación de un nuevo grupo final reductor, desde el cual puede iniciarse la reacción de *peeling* (*peeling* secundario). Si se tiene en cuenta que la hidrólisis puede atacar simultáneamente cualquiera de los enlaces  $\beta$ -1,4 se entiende la elevada pérdida de rendimiento en carbohidratos durante el tratamiento de la celulosa en medios alcalinos fuertes [5].

La oxidación de los polisacáridos es una reacción muy común en los tratamientos alcalinos. En principio, el oxígeno ambiental puede ser reducido a agua por medio de un mecanismo de transferencia electrónica de cuatro etapas, en la cual se forman radicales libres como intermediarios de reacción (Ec. 1.1) [1].



La reacción más importante inducida por estos radicales de oxígeno es la formación de un grupo carbonilo en el C<sub>2</sub> de la unidad monomérica de celulosa, que conduce a la ruptura de la unión glicosídica por eliminación  $\beta$ -alcoxi como se muestra en la Figura 1.11 [1]:



**Figura 1.11:** Reacción de oxidación en medio alcalino [1].

Además puede ocurrir la oxidación (mediante una reacción similar) en los C<sub>3</sub> y C<sub>6</sub> que puede conducir también a la escisión de la cadena de celulosa. Si el C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> son oxidados simultáneamente, se forma una estructura 2,3-diceto, que puede convertirse en un grupo carboxilo furanósido fácilmente degradable en medio alcalino [1].

Las propiedades de la celulosa y su importancia en la industria del papel sólo pueden comprenderse si se considera no sólo la estructura química de sus moléculas individuales, sino fundamentalmente su organización física. La resistencia física de las fibras, y en consecuencia la del papel, depende directamente de la integridad de las microfibrillas y de las fuerzas de unión entre ellas [5].

### **1.3. Pulpas para disolver**

#### **1.3.1. Generalidades**

El linters de algodón como materia prima fibrosa posee un bajo contenido de hemicelulosas y muy poca lignina residual, mientras que en las maderas estos compuestos están presentes y deben ser removidos cuando el uso final requiere de pulpas de alta pureza conocidas como *pulpas para disolver* (también llamadas *celulosas químicas* o *grados especiales de alto alfa*) [9].

La mayor parte de las pulpas celulósicas producidas a nivel mundial se utiliza para la producción de papel y cartón. El 2,8% de esa producción corresponde a pulpas para disolver de las cuales el 82-88% se produce a partir de maderas y el resto, a partir de linters de algodón [14].

Con la finalización de la primera guerra mundial, los productores giraron su atención al proceso de producción de viscosa y luego al de acetato y éteres de celulosa. Los problemas de variabilidad de los precios del linters de algodón año tras año, condujeron a la utilización de pulpas de madera, que presenta las ventajas de su menor costo, calidad uniforme y precio más estable. La introducción de estas pulpas fue uno de los factores más significativos en la reducción de costos de la manufactura del rayón de viscosa [15]. Las pulpas para disolver de latifoliadas y coníferas se preparan usualmente mediante el proceso de pulpado kraft con prehidrólisis o el sulfito ácido multietapas, y mediante el pulpado a la soda cuando se trata de linters de algodón [16].

El proceso al sulfito ácido produce pulpas con un contenido de celulosa de hasta 92%; pudiendo usarse amonio, calcio, magnesio o sodio como base. El proceso kraft con prehidrólisis produce una pulpa con un contenido de celulosa de hasta 96%. Los tratamientos especiales de purificación alcalina pueden aumentar el contenido de celulosa a un nivel del 96% para el proceso al sulfito y del 98% para el proceso kraft.

No todos los derivados de celulosa requieren de pulpas de madera de la más alta calidad, pero las mejoras alcanzadas en la pureza de las mismas han llevado al desplazamiento del linters limitando su uso para los derivados más demandantes (tripas de embutidos, plásticos de acetato y éteres de celulosa de alta viscosidad) y en aquellas áreas geográficas donde la producción de linters es el subproducto de una gran base agrícola (China, Brasil, India y Argentina). Teniendo en cuenta que los costos de estas pulpas especiales son mayores que las de grado papel, la posibilidad de modificar estas

últimas para obtener pulpas de alta pureza constituye un tema de gran interés económico [15].

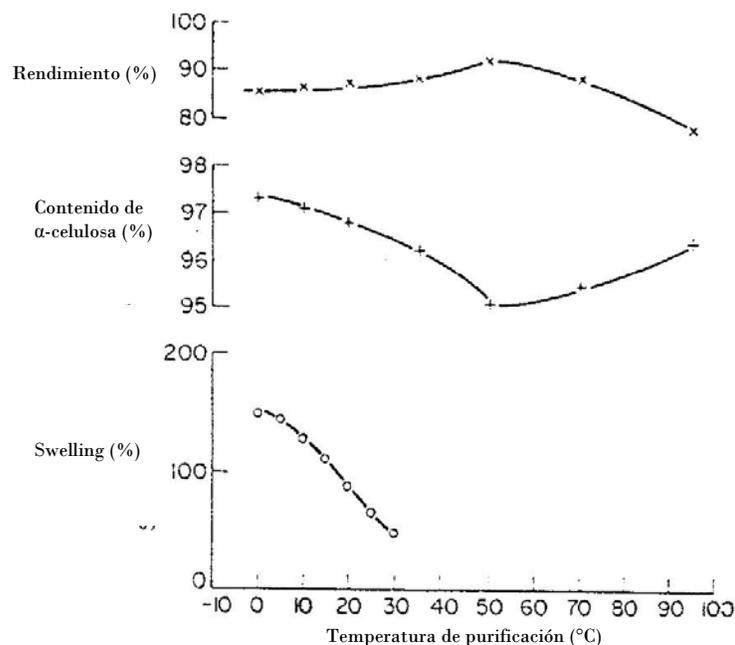
La extracción alcalina se considera un método de purificación tradicional que se utiliza para la remoción de carbohidratos de una pulpa de madera destinada a la obtención de pulpa de alta pureza. Esta técnica es la base de la mayoría de los procedimientos analíticos para el aislamiento y caracterización de hemicelulosas [13]. Los carbohidratos removidos por purificación alcalina son principalmente hemicelulosas, aunque la pérdida y/o degradación simultánea de celulosa es inevitable debido a su similitud en estructura y reactividad. Hasta cierto punto, esta pérdida de celulosa fácilmente accesible es deseable para obtener una distribución de longitud de cadena más uniforme en la pulpa remanente [6].

La purificación alcalina debe ajustarse a las necesidades del proceso de disolución y al grado de pureza requerido para la pulpa y puede realizarse en frío o en caliente.

La purificación en frío consiste en el tratamiento de la pulpa con álcali concentrado a temperatura ambiente, para producir el hinchamiento (*swelling*) inter e intracristalino de la fracción celulósica, permitiendo que se disuelvan fragmentos microfibrilares y material de cadena corta. Este proceso involucra principalmente cambios físicos y poco consumo de álcali en las reacciones [6].

Por otro lado, la purificación con álcali diluido en caliente involucra reacciones químicas y también cambios físicos importantes. En contraste con la purificación en frío, no queda álcali remanente que pueda causar problemas, dado que las reacciones que se producen son casi completas. Las partes más accesibles de las fibras reaccionan con el álcali diluido a elevada temperatura [6].

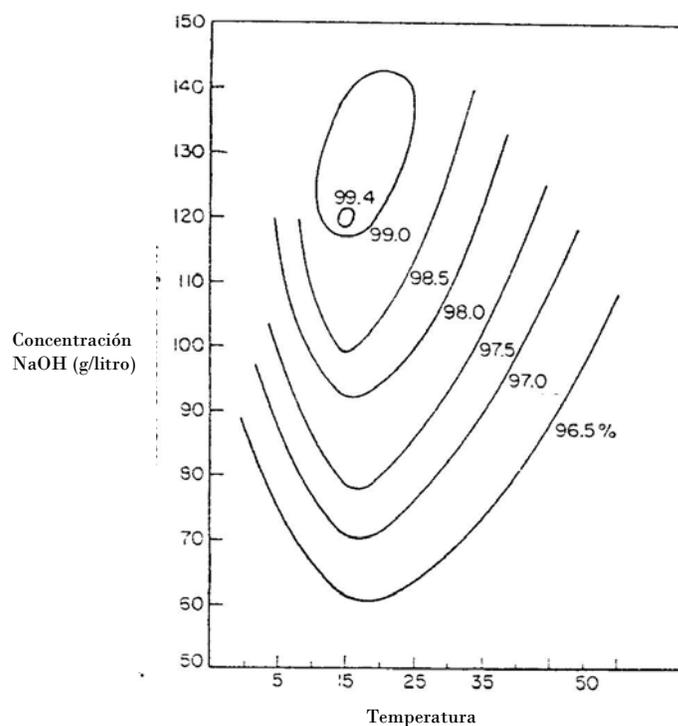
La purificación con álcali en frío se realiza a temperaturas por debajo de los 40°C y a concentraciones menores de NaOH 18%. Los efectos de la temperatura de purificación sobre el rendimiento, contenido de  $\alpha$ -celulosa y *swelling* se muestran en la Figura 1.12.



**Figura 1.12.** Purificación alcalina de una pulpa al sulfito con 10% P/V de NaOH variando la temperatura [6].

El aumento de la temperatura provoca una disminución en el contenido de  $\alpha$ -celulosa, con un mínimo porcentaje a 50°C. A temperaturas más altas, las reacciones químicas de la purificación con álcali en caliente causan un aumento en el contenido de  $\alpha$ -celulosa. La concentración de álcali a aplicar depende del efecto deseado, el tipo de pulpa, la temperatura, el sistema de recuperación, el costo del álcali, el equipamiento, etc. En el caso de pulpas kraft con prehidrólisis, que ya tienen un alto porcentaje de  $\alpha$ -celulosa, puede ser necesario un *swelling* mínimo para aumentar la reactividad de las fibras, utilizándose en este caso una concentración de NaOH al 7% P/V. Si lo que se busca es una pureza mayor, debe utilizarse una concentración de NaOH al 9-10% P/V, y así se llegan a obtener pulpas con un contenido de  $\alpha$ -celulosa de alrededor de 98-99%.

Para obtener pulpas con un muy alto contenido de  $\alpha$ -celulosa se ha comprobado que se debe realizar una primera purificación con álcali en caliente seguida de una purificación con álcali en frío (Figura 1.13). En la figura se observa que para alcanzar óptimos resultados se utilizan concentraciones de 120-140 g/l NaOH y temperaturas de 10-15°C. A 18°C y una concentración de 130 g/l se puede obtener una pulpa con un contenido de  $\alpha$ -celulosa del 99,5%. La consistencia de trabajo varía de 5 a 15%; a bajas consistencias se facilita la uniformidad del tratamiento y el efecto de purificación, pero aumenta el problema de la eliminación del licor residual [6].



**Figura 1.13.** Relación entre el contenido de  $\alpha$ -celulosa con la concentración en g/l de NaOH y la temperatura de extracción, de una pulpa al sulfito purificada previamente con álcali en caliente [6].

### 1.3.2. Características químicas

Las pulpas para disolver tienen como característica principal un alto contenido de celulosa (90-98%), bajo contenido de hemicelulosas, muy poca lignina residual y bajo contenido de extractivos y minerales. También se caracterizan por tener alta blancura

(*brightness*) y una distribución muy uniforme de peso molecular. Estos requerimientos difieren de los de una pulpa de grado papel. Como se observa en las Figuras 1.14 y 1.15 los valores de las solubilidades en álcali al 10 y 18% P/P (fracciones de S<sub>10</sub> y S<sub>18</sub> respectivamente) luego de la etapa de blanqueo, son mucho menores para una pulpa para disolver que los correspondientes a una pulpa al sulfito para papel. La disminución en los valores de S<sub>10</sub> y S<sub>18</sub> es significativa [15].

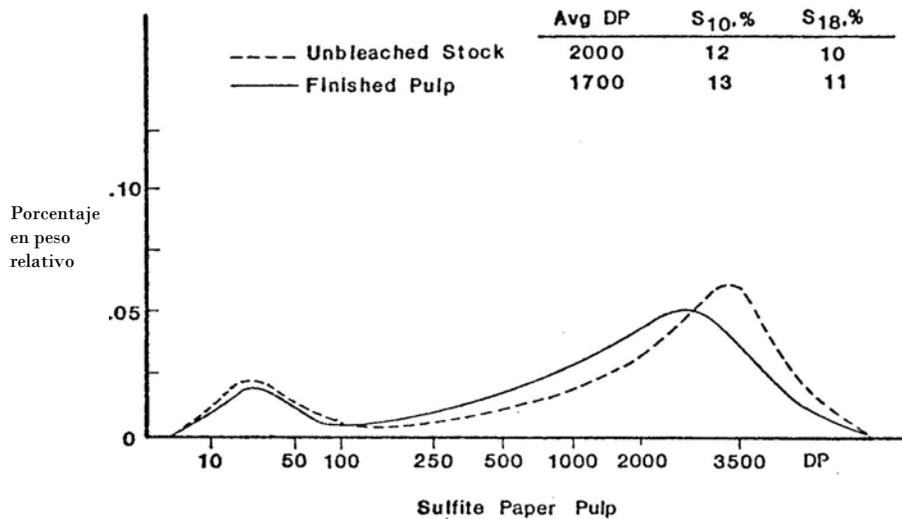


Figura 1.14. Distribución del DP de una pulpa al sulfito para papel [15].

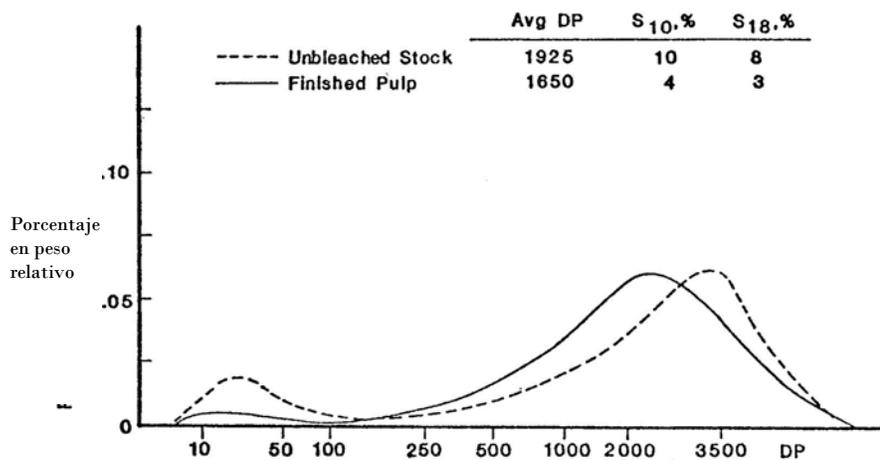


Figura 1.15. Distribución del DP de una pulpa para disolver [15].

Además, dentro de las pulpas para disolver existen diferentes grados de acuerdo a su contenido de celulosa, cenizas, extractivos, grado de polimerización y blancura, los cuales determinan el uso final de una pulpa.

La Tabla 1.2 muestra un ejemplo de las propiedades de pulpas para disolver de diferentes grados, producidas por la fábrica BACELL (Brasil) a partir de diferentes especies de eucaliptus (principalmente *E. grandis*, *E. urophylla* y el híbrido *urograndis*) de acuerdo al uso final de las mismas.

**Tabla 1.2.** Pulpas para disolver de eucaliptus – BACELL.

Propiedad	Grado Estándar	Grado Especial	Alto Grado
Viscosidad Intrínseca (ml/g)	350 - 599	250 - 599	500 - 599
S <sub>18</sub> (%)	3,0 - 4,0	2,3 - 3,0	< 2,3
S <sub>10</sub> (%)	~ 7	4,0 - 7,0	4,5 - 5,5
Celulosa (%)	94,5 - 96	95,0 - 96,0	95,5 - 96,5
R <sub>10</sub> <sup>*</sup> (%)	~ 93	93 - 95	~ 95
Cenizas (%)	0,03 - 0,12	0,03 - 0,10	0,03 - 0,08

$$R_{10}^* (\%) = 100 - S_{10}$$

Se observa en la tabla que a medida que aumenta el contenido de celulosa de las pulpas, y por lo tanto la calidad de las mismas, se requieren cada vez menores valores de S<sub>10</sub> y S<sub>18</sub> indicativos de impurezas no celulósicas.

### 1.3.3. Usos

Las pulpas para disolver presentan un uso más complejo que las de grado papel. La producción de filamentos, films, recubrimientos y otros productos de alto valor agregado requieren la disolución de la celulosa, que es la parte más complicada de los procesos actuales. La dificultad para la disolución de la celulosa está asociada a su organización física, que no permite el uso de solventes comunes y económicos que produzcan cambios químicos. Por lo tanto, la mayor parte de los derivados celulósicos regenerados se producen a partir de soluciones de viscosa. Para pulpas de grado viscosa

es indeseable la presencia de constituyentes tales como pentosanos, cenizas o celulosa de bajo DP. Las hemicelulosas residuales en estas pulpas tienen un bajo DP y quedan físicamente atrapadas en la pared de la fibra. Se piensa que estas hemicelulosas residuales u otras impurezas causan problemas en la etapa final de la alcalinización y podrían bloquear, por ejemplo, los orificios de las boquillas de producción de filamentos de rayón o aparecerían como defectos en los productos moldeados.

Los derivados celulósicos de las pulpas para disolver constituyen uno de los grupos poliméricos más utilizados en las industrias de cosmética, alimentación, farmacéutica y textil, así como en las industrias de fabricación de acetatos, pinturas, embalajes o ceras. Se pueden encontrar disponibles en el mercado dentro de una gran variedad de productos con un amplio margen de propiedades fisicoquímicas. Se destacan entre otras, la utilización de celulosa como: i) componentes de pastillas (aglomerantes, material de relleno, etc.); ii) reguladores de viscosidad en preparados semisólidos y en fórmulas de suspensión (cremas, geles, lociones, suspensiones, champús, acondicionadores de cabello, productos alimenticios, pinturas, tintas, ceras y barros especiales, etc.); iii) agentes enmascarantes de sabores y olores; iv) materiales de recubrimiento de pastillas y otras formas de dosificación; v) portadores para cosméticos y formulaciones tópicas; vi) materia prima para la fabricación de plásticos, hilos o ropa. Estos productos de origen celulósico se pueden agrupar según el tipo de tratamiento y reacción química utilizados en su formulación.

#### ***1.4. Métodos de disolución de celulosa***

A pesar de sus numerosos grupos oxhidrilos y uniones puente hidrógeno, la celulosa es difícil de procesar debido a su estructura supramolecular que la hace insoluble en la

mayoría de los solventes comunes. Industrialmente los métodos de disolución utilizados son el proceso de viscosa y el de N-óxido de N-metilmorfolina (NMMO). Con una producción anual mundial de alrededor de 2,4 millones de toneladas (2009) el proceso de viscosa aún es el método industrial dominante de disolución de celulosa. Para la preparación de viscosa se utilizan pulpas para disolver de diferentes grados, siendo factores muy importantes la calidad de la pulpa y su reactividad [17]. Este proceso es costoso y origina problemas ambientales causados por el reactivo de esterificación utilizado, el disulfuro de carbono. Por ello en la actualidad se están estudiando nuevos procesos que sean más económicos, seguros y ambientalmente aceptables.

*Puls et al.* evaluaron los procesos organosolv tales como Acetosolv, Formacell y Milox para producir pulpas de alta pureza, concluyendo que los mismos representan un buen potencial respecto a la selectividad de purificación (relación viscosidad/pentosanos) y costos de inversión específicos [16].

*Sixta* [16] analizó las propiedades de tres pulpas organosolv de eucalipto tomando como referencia una pulpa para disolver al sulfito. Concluyó que las pulpas Milox y Acetosolv obtenidas no pueden aceptarse como materia prima para la producción de viscosa. Aún en la pulpa Formacel la reactividad mostró una alta dependencia de la materia prima.

*Fisher et al.* [18] propusieron reducir la cantidad de hidróxido de sodio utilizado en la mercerización irradiando la pulpa con un haz de alta energía, previamente al tratamiento con álcali, para preparar viscosa destinada a la producción de films y fibras.

Un método de derivatización alternativo que no utiliza compuestos con azufre, pero que aplica la tecnología de viscosa, es el proceso CarbaCell. Éste utiliza urea para formar carbamato de celulosa, que luego se procesa en forma similar a la viscosa [9].

La disolución directa y moldeo de celulosa sin derivatización es posible con tecnología de cupramonio, el cual es raramente usado ya que posee serios riesgos ambientales [17].

Por otra parte el tratamiento enzimático ofrece la posibilidad de incrementar la reactividad de la pulpa celulósica y de simplificar en parte la preparación de viscosa [19]. Con un pretratamiento enzimático de las pulpas para disolver o para papel, con una mezcla de celulasas y hemicelulasas, se podría aumentar la reactividad y/o incrementar la pureza de la pulpa, facilitando las etapas posteriores de preparación de viscosa.

*Vehviläinen et al.* modificaron una pulpa para disolver con una mezcla de celulasas incrementando su solubilidad de 37 a 67%, al trabajar con NaOH al 9% y a  $-5^{\circ}\text{C}$  de temperatura. Sobre esta base desarrollaron un proceso más amigable con el medioambiente de biotransformación de celulosa y disolución de la misma en soluciones de NaOH/agua, posteriormente estudiado en el proceso Biocelsol [17]. En este último, la pulpa química se trata previamente con celulasas, se disuelve en álcali y, por regeneración en un baño ácido, se pueden obtener los productos deseados [20].

*Paice y Jurasek* [21] investigaron la remoción de xilanos de distintas pulpas por tratamiento con xilanasas. El contenido de hemicelulosas (indicado como  $S_{18}$ ) de una pulpa mecánica de álamo disminuyó de 23,4 a 18,2 % por hidrólisis durante 1 hora, obteniendo como productos predominantes xilosa y xilobiosa, confirmando la especificidad del tratamiento.

*Rahkamo et al.* [22] aplicaron celulasas individuales purificadas de *Trichoderma reesei* (endoglucanasas I y II y celobiohidrolasas I y II), a una pulpa para disolver de latifoliadas pretratada mecánicamente. Se encontró más efectiva la endoglucanasa II para reducir la viscosidad y mejorar la solubilidad de la pulpa en álcali. Detectaron una clara correlación entre viscosidad y solubilidad alcalina. En un trabajo posterior, obtuvieron una disolución del 32% del peso seco de la misma pulpa para disolver, luego de un doble tratamiento con NaOH al 9% y a -5°C. El residuo insoluble obtenido después del primer tratamiento, fue tratado enzimáticamente con celulasas de distintos tipos y sometido nuevamente al álcali en las mismas condiciones. Observaron un cambio en la estructura cristalina, de celulosa I a celulosa II, siendo aparentemente esta última más accesible al tratamiento con celulasas comparado con la celulosa inicial [23].

Los mismos autores, continuando su trabajo con dichas enzimas y tratando pulpas de coníferas, no observaron ninguna acción sinérgica entre la acción de las celulasas y hemicelulasas, ni entre las diferentes endoglucanasas en tratamientos combinados. Como habían previsto, obtuvieron un sinergismo con el tratamiento combinado con endoglucanasas y celobiohidrolasas que no se reflejó en la viscosidad ni en la solubilidad [24].

*Jackson et al.* [25] en su trabajo con xilanasas concluyeron que se puede producir una pulpa con propiedades similares a una celulosa química a partir de papeles reciclados de alta calidad, con la secuencia: extracción alcalina inicial en frío, un tratamiento con xilanasas y una extracción alcalina final en frío, considerando que es necesaria la etapa alcalina inicial antes del tratamiento enzimático para mejorar la remoción de xilanos.

*Kvarnlöf et al.* [19] estudiaron la aplicación de distintas preparaciones de celulasas comerciales para la activación de la celulosa previo al proceso de viscosa. Con dos preparaciones de endoglucanasas puras obtuvieron una considerable mayor reactividad

comparada con la pulpa de referencia, con mínima pérdida de rendimiento después del tratamiento enzimático.

*Engström et al.* [26] estudiaron pretratamientos químicos (hidrólisis ácida) y enzimáticos (con endoglucanasa monocomponente Novozyme 476) para incrementar la accesibilidad de materiales celulósicos para el proceso de viscosa. Con menos de 20 minutos de incubación y moderada carga de la enzima se incrementó la reactividad de la pulpa para disolver, determinada por el método de Fock (que permite cuantificar la cantidad de celulosa que no se disuelve en NaOH cuando se prepara la solución de viscosa). Concluyeron, a partir de la comparación con los resultados del tratamiento hidrolítico ácido, que el efecto de activación no parece estar correlacionado solamente con la disminución de viscosidad.

## **1.5. Solución de viscosa**

### ***1.5.1. Generalidades***

Las características de una solución de viscosa dependen de cinco factores: materia prima celulósica, etapa de mercerización o hinchamiento, pre-envejecimiento, preparación del xantato de celulosa y disolución del mismo. Estas etapas son dependientes tanto de la reactividad de la pulpa de partida, como del grado de polimerización de la fracción celulósica.

El proceso de viscosa posee varias etapas que deben ser cuidadosamente controladas para lograr el producto final deseado. La versatilidad de la viscosa permite que cambios en los parámetros de operación de una o varias etapas resulten en una gran variedad de productos finales. En la Figura 1.16 se muestra un esquema del proceso de viscosa. Durante este proceso, que incluye una serie de pasos controlados y coordinados, la

celulosa se convierte en una solución apta para ser usada posteriormente en la obtención de productos de celulosa regenerada [27].

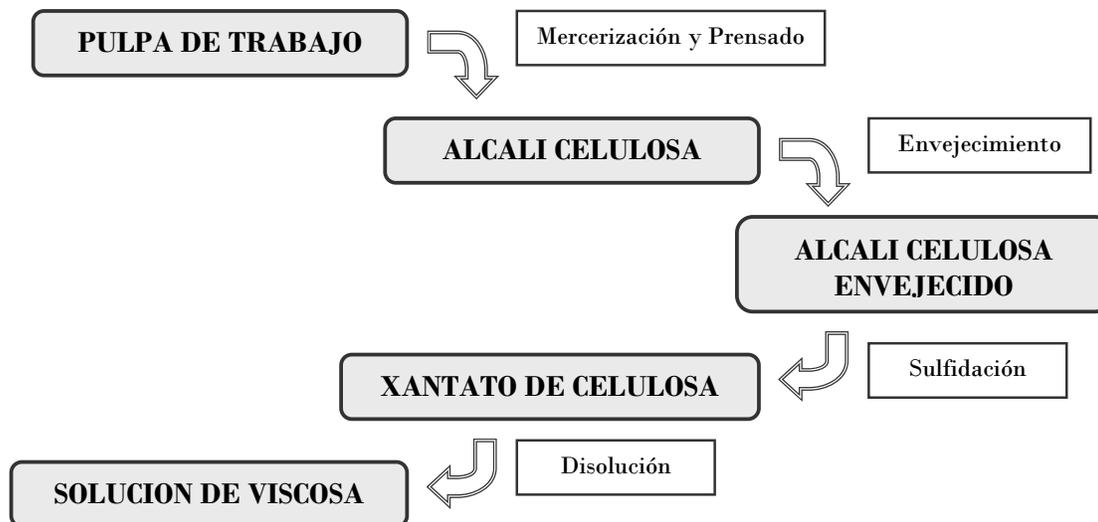


Figura 1.16. Etapas del proceso de viscosa.

La producción de una solución de viscosa comienza con la conversión de celulosa a álcali celulosa (AC). La materia prima se trata con una solución acuosa de hidróxido de sodio al 18% que causa el hinchamiento de las fibras [27]. Este tratamiento se conoce como mercerización, en el cual las fibras celulósicas, al ser sometidas simultáneamente a tensión mecánica y tratamiento con soda cáustica, adquieren un cambio de configuración que resulta en una superficie más lisa y uniforme. En el complejo, el AC existe en equilibrio con el NaOH y la formación de este compuesto de adición está acompañada por hinchamiento y no por disolución de las fibras.

A continuación, la masa hinchada se prensa hasta obtener una relación precisa entre el álcali y la celulosa, y luego se desmenuza para proveer un área superficial adecuada para una reacción uniforme en las próximas etapas del proceso. En la etapa de envejecimiento, bajo condiciones controladas de tiempo y temperatura, se despolimeriza la celulosa (mediante reacciones de degradación) hasta el grado deseado

antes de reaccionar con el disulfuro de carbono en la siguiente etapa de sulfidación. A continuación el xantato de celulosa formado, sólido y de color naranja, se disuelve en una solución diluida de hidróxido de sodio y se agita hasta obtener finalmente una solución llamada “viscosa”. En un proceso de maduración, la viscosa se deja en reposo y a baja temperatura hasta el punto de coagulación (Índice de sal) apropiado para su uso posterior [27].

### ***1.5.2. Química del proceso de viscosa***

#### ***a) Mercerización y prensado***

En la práctica comercial, la pulpa se hincha en una solución acuosa de hidróxido de sodio con una concentración aproximada de 18% a temperatura ambiente o a una ligeramente superior. Debido a que el hinchamiento de celulosa es dependiente de la temperatura, se usa menos soda cáustica para bajas temperatura y mayor cantidad para altas temperaturas [27].

El objetivo principal de este tratamiento con álcali concentrado es modificar la estructura interfibrilar mediante la separación de fibras, de modo de aumentar la accesibilidad de la pulpa celulósica. Durante la mercerización, las hemicelulosas solubles en álcali son removidas en cierta proporción, dependiendo de las condiciones del proceso y del equilibrio de nivel de hemicelulosas establecido en el licor de mercerización. La pulpa se hincha primero absorbiendo el álcali por capilaridad y luego penetra dentro de las fibras. La Ec. 1.2 muestra la reacción básica en la cual la celulosa se convierte en álcali celulosa [27].



Varios investigadores han establecido que pueden ocurrir cambios en la estructura física de la celulosa usando difracción de rayos X y espectroscopía IR. En la Figura 1.17

se pueden observar nueve alótopos de AC relacionados con la alcalinidad y temperatura [27].

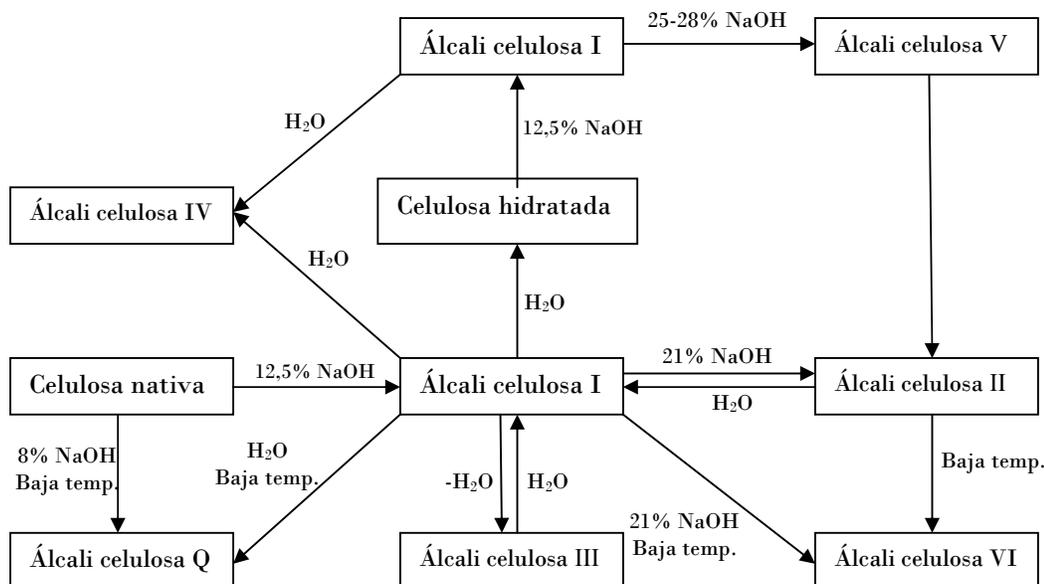


Figura 1.17: Transiciones de álcali celulosa [31].

Cuando la pulpa es mercerizada se observa un descenso inicial en el DP promedio. Esto ha sido atribuido a la degradación oxidativa que involucra el aire absorbido y disuelto y los grupos sensibles al álcali, como los carbonilos de la celulosa. Después de esta pérdida inicial de DP, que consume el oxígeno disponible e implica la escisión al azar de las cadenas de celulosa, la degradación procede más lentamente por hidrólisis alcalina [27].

La composición química del AC es un parámetro importante en esta etapa. La eliminación efectiva de hemicelulosas y de materiales solubles en álcali facilita las reacciones siguientes [27]. Durante la etapa de sulfidación, las hemicelulosas atraen fácilmente el disulfuro de carbono, por lo cual se han realizado numerosos esfuerzos para reducir el contenido de hemicelulosas del álcali celulosa. El contenido de carbonato de sodio generalmente oscila entre un 0,09 y 3%. Concentraciones mayores del mismo

podrían dificultar la filtrabilidad de la solución de viscosa. Por otro lado, la variación en la cantidad de iones metálicos causa diferencias en las posteriores reacciones de despolimerización durante la etapa de envejecimiento.

Debido a que durante la hidrólisis alcalina se produce material de cadena corta, es deseable continuar la mercerización el menor tiempo posible que permita obtener una distribución uniforme de álcali en la pulpa.

La conversión de celulosa a AC no es estequiométrica. Aunque hay tres grupos alcohol en cada UAG, el AC preparado bajo condiciones comerciales tiene solamente alrededor de un grupo alcoholato por cada dos UAG. La distribución del álcali como libre y enlazado es muy importante para las reacciones posteriores. No solo la cantidad de álcali libre influye en la velocidad de despolimerización de la celulosa en la etapa de envejecimiento, sino que también afecta la cantidad de subproductos formados durante la sulfidación [27].

Según lo expuesto, en esta etapa es necesario controlar la temperatura, el tiempo y la composición del álcali celulosa.

Al finalizar la mercerización, el licor es drenado y la masa de celulosa hinchada se prensa hasta un peso de AC aproximadamente 2,5-4,5 veces mayor que el de la pulpa original.

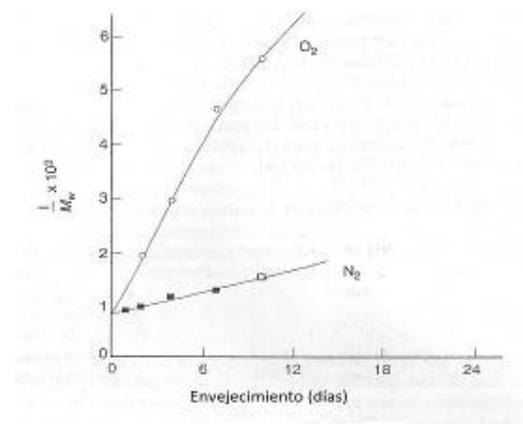
El prensado tiende a comprimir el AC, que luego debe ser desmenuzado para obtener las fibras lo más separadas posibles y ofrecer un acceso uniforme al aire y al CS<sub>2</sub>. El tiempo, la temperatura, la cantidad de álcali residual luego del prensado y el trabajo mecánico realizado durante el desmenuzamiento son variables que deben ser ajustadas y controladas para cada tipo diferente de pulpa procesada. Si la masa de AC está muy húmeda luego del prensado o si se produce condensación en el equipo, se originan zonas húmedas localizadas y el AC no se sustituye correctamente durante la sulfidación. Por

otro lado, también deben evitarse el sobreprensado, la desecación y la formación de carbonatos. La oxidación e hidrólisis alcalina de la celulosa, que comienzan cuando la pulpa es mercerizada, continúan en esta etapa. La temperatura de desmenuzamiento y el trabajo mecánico se utilizan a menudo como auxiliares en el envejecimiento para controlar la extensión de la despolimerización [27].

#### *b) Envejecimiento*

La viscosidad intrínseca, que determina el grado de polimerización de la viscosa, es un parámetro importante de este proceso. Las propiedades finales del producto de celulosa regenerada son dependientes del DP promedio de la celulosa. El control de esta variable se logra por envejecimiento del AC bajo condiciones de tiempo y temperatura que ofrezcan la medida apropiada de depolimerización de acuerdo al producto final deseado. La composición del AC y la naturaleza de la pulpa también influyen en la extensión del envejecimiento [27].

Hay al menos dos reacciones químicas que resultan en la reducción de la longitud de cadena: la hidrólisis y la oxidación. La despolimerización por hidrólisis ocurre mucho más lentamente que por oxidación y conduce a productos de degradación solubles en álcali. En la Figura 1.18 se comparan las curvas de envejecimiento de AC (velocidad de despolimerización vs. días de envejecimiento) bajo atmósferas de oxígeno y nitrógeno [27].



**Figura 1.18.** Envejecimiento alcalino bajo atmósfera de oxígeno y nitrógeno [18]

La despolimerización es un proceso exotérmico y puede ser acelerado a elevada temperatura mediante catalizadores metálicos adecuados, como ser el Fe, Mn y Co y por oxidantes como el persulfato, perclorato y peróxido. De esta forma, el tiempo requerido para el envejecimiento se puede reducir de más de 24 horas a tan solo 1 o 2 horas [27]. Otra forma para lograr una rápida depolimerización es irradiar la celulosa con un haz de electrones acelerados [18, 28]. En este caso, el tiempo requerido para la despolimerización es del orden de segundos. Esta tecnología ha sido investigada como una posibilidad de eliminar la etapa de envejecimiento del AC en el proceso de viscosa, pero si bien se han logrado exitosos productos finales a partir de pulpa irradiada, la industria no ha adoptado esta metodología debido a que plantea requisitos muy especiales [27].

En conclusión, el éxito de esta etapa depende del control de los siguientes factores: tiempo, temperatura, naturaleza de la pulpa y composición del álcali celulosa.

### c) Sulfidación

El derivado soluble, xantato de celulosa, se forma mediante una reacción heterogénea entre el AC sólido y CS<sub>2</sub> líquido. La reacción es rápida y comienza en la superficie del AC procediendo luego lentamente dentro de la estructura celulósica. En

los procesos comerciales, se cree que el CS<sub>2</sub>, que se agrega líquido a la masa, debe disolverse primero en el álcali acuoso adsorbido sobre el AC y así puede ser transferido a los lugares de reacción en la molécula de celulosa. Allí el CS<sub>2</sub> hidratado se une en el ion alcoholato. La reacción básica se resume en las ecuaciones 1.3 y 1.4 [27].



El mecanismo consiste en una sustitución nucleofílica bimolecular. Hay 3n+2 grupos alcohol en cada molécula de celulosa (n=DP) localizados en los carbonos 2, 3 y 6 de cada UAG, y uno en cada uno de los extremos de la cadena. Debido a que n es grande, los grupos terminales pueden ser excluidos y por lo tanto el DS máximo que se puede dar es 3. En celulosa recién sustituida, el DS rara vez supera el 1 y está usualmente alrededor de 0,7, esto quiere decir que hay una sustitución incompleta en los grupos alcohol disponibles. Sin embargo, esto es suficiente para la producción de viscosa, ya que en la misma se pretende generalmente un DS aproximado de 0,5. No obstante, bajo condiciones especiales, es posible lograr un DS igual a 3. Alta alcalinidad y grandes cantidades de CS<sub>2</sub> llevan a productos de alto DS. Sin embargo, las altas concentraciones y la posterior formación de subproductos no es deseable ni económicamente favorable [27].

Usualmente el tiempo y la temperatura de reacción se usan para controlar la extensión de la xantación. La velocidad de sulfidación depende además de la composición del AC, de la cantidad de CS<sub>2</sub> añadido y de la presión de vapor de CS<sub>2</sub> formado durante el proceso.

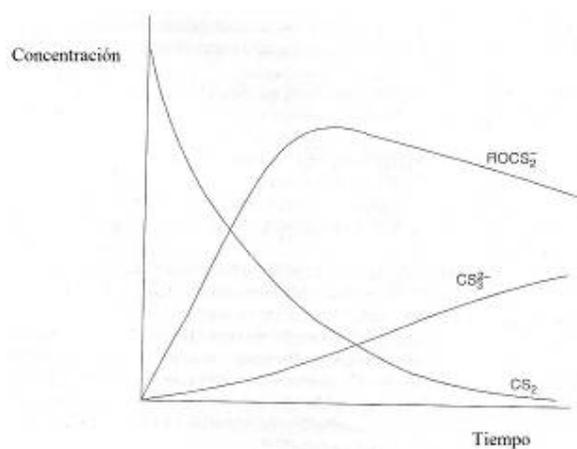
Durante la sulfidación, los grupos xantato formados no se distribuyen uniformemente en la cadena de celulosa, ya que pueden haber UAG con más de un grupo xantato y otras directamente no sustituidas.

El  $CS_2$  también reacciona con el álcali libre formando subproductos de azufre como ser el tritioarbonato de sodio y el sulfuro de sodio (Ec. 1.5), que son responsables del color naranja que adquiere la solución de viscosa.



Las reacciones secundarias resultan, en parte, de la inestabilidad del xantato de celulosa en un ambiente alcalino [27].

La distribución del azufre (originalmente añadido como  $CS_2$ ) puede ser determinada por espectroscopía de absorción UV. En la Figura 1.19 se describe el cambio relativo en la concentración de los reactivos y productos con el tiempo.



**Figura 1.19:** Cambio relativo en la concentración de reactivos y productos durante la sulfidación [31].

La concentración de  $CS_2$  decrece continuamente a medida que la reacción procede, creciendo la concentración de xantato y subproductos. La concentración de xantato pasa por un máximo y luego comienza a decrecer mientras que los subproductos, representados aquí por el tritioarbonato, continúan creciendo después que el  $CS_2$  se ha consumido.

Como se puede ver en la Ec. 1.6, la xantación es una reacción de equilibrio.



La creciente formación de subproductos luego de que el CS<sub>2</sub> agregado se consume, se debe a la descomposición del xantato de celulosa. A elevada temperatura, la xantación se acelera pero la formación de subproductos y la descomposición del xantato son afectadas de la misma manera. La reacción es exotérmica, por lo que la temperatura de xantación se mantiene por debajo de los 40°C y se evitan tiempos excesivos de reacción [27].

Las variables más importantes a controlar en esta etapa son la temperatura, el tiempo, composición del álcali celulosa y la cantidad de CS<sub>2</sub> añadido.

*d) Disolución. Solución de viscosa*

La masa de xantato de celulosa se disuelve en una solución diluida de hidróxido de sodio de concentración entre 2 y 6 % P/V. Durante esta etapa, continúan las reacciones de xantación y formación de subproductos. Es preferible que la etapa de disolución-agitación se realice a baja temperatura, para minimizar la descomposición de xantato y la formación de subproductos. Se obtiene una solución viscosa, de color naranja, cuyo contenido de celulosa y álcali, dependerá del uso final deseado. En esta etapa las variables que se controlan son tiempo, temperatura y cantidad de álcali de disolución, de modo de obtener soluciones de viscosa con un porcentaje determinado de celulosa [27].

*e) Maduración y almacenamiento*

Durante la maduración ocurren cambios físicos y químicos en la viscosa. La sulfidación continúa y la sustitución se vuelve más uniforme a la vez que el grado de sustitución (número gama) disminuye. La solución se oscurece debido al incremento de subproductos que afectan la facilidad con la que la viscosa coagula en el moldeado posterior. La viscosidad también cambia, primero decreciendo, a medida que mejora la uniformidad de la solución, y luego creciendo, lentamente al principio y luego muy

rápidamente, a medida que el xantato de celulosa se descompone y eventualmente forma geles [27].

Las reacciones involucradas en la maduración han sido estudiadas por varios grupos de investigadores. En general, se considera un número de reacciones que resulta de los cambios en la distribución y forma del azufre en la viscosa, ellas son:

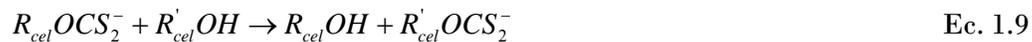
1. *Descomposición del xantato* [27]



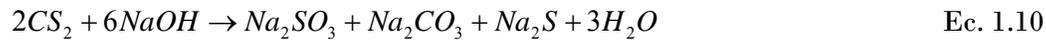
2. *Rexantación*



3. *Transxantación*



4. *Formación de subproductos*



El principal subproducto formado es el tritioarbonato de sodio que es estable solo en soluciones concentradas o en forma sólida [29]. En soluciones diluidas se hidroliza más o menos rápidamente según la ecuación 1.11.



Lo más importante es el número y distribución de los grupos xantato en las cadenas de celulosa. Cuando la celulosa es sustituida, la reacción es heterogénea y los grupos oxhidrilos más accesibles reaccionan primero, dando como resultado una distribución no uniforme. Luego, a medida que el xantato de celulosa se disuelve, las condiciones para las reacciones de maduración se vuelven homogéneas. Bajo condiciones normales de maduración de viscosa, a medida que el  $CS_2$  se libera del xantato de celulosa, éste se consume en reacciones secundarias, formando subproductos y resustituyendo la

celulosa. La extensión de estas reacciones es afectada por la composición de la viscosa y las condiciones de tiempo y temperatura en la maduración. Bajo condiciones homogéneas en solución, la reactividad de los diferentes grupos alcohol de la celulosa, esto es en C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> y C<sub>6</sub>, se convierte en un factor importante que afecta a la redistribución de los grupos xantato. Además de la rexantación, puede ocurrir también una transesterificación de la celulosa en la que los grupos xantato se redistribuyen sin involucrar CS<sub>2</sub> libre. Con la redistribución de los grupos xantato se obtiene una mejor solubilidad [27].

La velocidad de descomposición de la solución de viscosa depende de la temperatura y de las concentraciones de álcali, de celulosa y de CS<sub>2</sub> (composición de la viscosa).

La maduración es usualmente expresada como Índice de sal o número de Hottenroth, que es la cantidad de solución de cloruro de sodio o solución de cloruro de amonio, respectivamente, necesaria para coagular a la viscosa [27].

El grado de maduración depende del tiempo, la temperatura y la composición de la viscosa.

### **1.6. Influencia del tratamiento enzimático sobre la accesibilidad/reactividad de las pulpas**

Una alta accesibilidad es un prerequisite esencial para reacciones de sustitución homogénea de celulosa. En este último tiempo se ha investigado la posibilidad de incrementar la accesibilidad y en consecuencia, la reactividad del material celulósico mediante tratamiento enzimático con endoglucanasas monocomponente comerciales [19, 26, 30]. Estos tratamientos podrían permitir la reducción en el consumo de CS<sub>2</sub> durante el proceso de preparación de viscosa, con la consecuente disminución de las

emisiones de azufre del proceso convencional y en consecuencia, mejorarla situación ambiental de esas plantas industriales.

Tanto las hemicelulasas como las celulasas serían enzimas potenciales para lograr modificaciones de las pulpas químicas blanqueadas. Si se quieren diseñar mezclas óptimas de enzimas, es necesario el conocimiento de los efectos individuales de cada enzima.

Durante los últimos años, algunos estudios se han enfocado en la remoción o modificación con xilanasas de hemicelulosas presentes en las fibras de pulpas químicas blanqueadas. También se ha intentado la producción de pulpas para disolver a partir de papel reciclado, utilizando una combinación de enzimas xilanasas y extracción alcalina para la etapa de purificación [25].

Poco se conoce sobre los efectos que producen las interacciones entre xilanasas y celulasas y el rol de otras enzimas. Es necesario explorar la efectividad de enzimas accesorias, solas o en combinación, cuando se intenta aplicarlas en la producción de pulpas altamente purificadas.

Asimismo se han realizado diferentes trabajos intentando mejorar la extracción selectiva de hemicelulosas para la obtención de estas pulpas para disolver [31, 32].

*Gehmayer y Sixta* [33] propusieron como cambio en la purificación de pulpa, la remoción selectiva de hemicelulosas y el ajuste preciso de la viscosidad de la pulpa manteniendo la reactividad necesaria para su conversión a viscosa. Una pulpa kraft comercial de *Eucaliptus globulus* deslignificada con oxígeno fue tratada con xilanasas como pretratamiento combinado con una extracción alcalina en frío y un pos tratamiento con endoglucanasas después del blanqueo TCF. La pulpa pretratada con xilanasas presentó mayor reactividad hacia la preparación del xantato y alta calidad de viscosa en comparación a la pulpa extraída con álcali a elevada concentración.

*Köpcke et al.* [34] demostraron que la combinación de un tratamiento enzimático con una xilanasa comercial y extracción alcalina resultó en una remoción eficiente de hemicelulosas y que la reactividad puede mejorarse por tratamiento enzimático adicional con una endoglucanasa monocomponente comercial. Obtuvieron un material con características de pulpas para disolver comerciales desde el punto de vista del contenido de hemicelulosas y reactividad de celulosa.

*Strunk et al.* [35] estudiaron la influencia de las propiedades físicas y químicas de diferentes pulpas celulósicas sobre la reactividad de las mismas relacionada con la preparación de viscosa mediante análisis de datos multivariado. Todas las pulpas utilizadas, excepto una, fueron de grado disolución. Describieron la reactividad de celulosa mediante dos métodos: reactividad de Fock y el test de taponamiento de filtro (*clogging value*, parámetro indicador de la calidad de la viscosa e indirectamente, de la pulpa utilizada respecto de su habilidad de formar partículas de gel) de la pulpa de viscosa.

### **1.7. Celulosa esférica. Obtención por transición sol-gel térmica (TSGT)**

Para la producción de derivados de celulosa y celulosa regenerada se utilizan pulpas para disolver o de alta pureza. El mercado mundial de estas pulpas especiales es de alrededor de 5 millones de toneladas, de las cuales aproximadamente el 90% se obtiene a partir de madera y el resto de algodón [15].

La celulosa esférica tiene amplia aplicación en las industrias farmacéutica, petroquímica, etc. y se considera que aún no se ha alcanzado la potencialidad de estos materiales.

Las perlas de celulosa y sus derivados poseen propiedades particulares, como son la disponibilidad y bajo precio, la forma esférica, la alta porosidad, hidrofiliidad y

reactividad química en derivatizaciones [36]. Se puede utilizar en procesos de separación y concentración cromatográficos [37], adsorción/remoción de iones metálicos a partir de soluciones diluidas de minería [38] y como soporte de principios activos en liberación controlada de drogas. Además, debido a su gran cantidad de grupos hidroxilos reactivos [39], poseen propiedades químicas muy versátiles para ser utilizadas como carrier para la inmovilización de enzimas y otros agentes biológicos [40].

Los métodos para la obtención de perlas de celulosa se clasifican en dos grupos [41]:

a) Métodos en los cuales se agita una solución de celulosa en un medio para dispersar pequeñas gotitas de la solución, utilizando separación de fases entre la solución y el medio de dispersión, y coagulando las gotas para formar las perlas de celulosa. El más conocido es la Transición Sol-Gel Térmica.

b) Métodos mecánicos en los cuales la solución de celulosa es pulverizada a alta presión a través de boquillas y las gotitas formadas son coaguladas para obtener las perlas de celulosa.

En el año 1951 *O'Neill et al.* [42] describe la producción de pellets de celulosa regenerada en forma sustancialmente esférica. A partir de una solución de celulosa, las gotas formadas pasan a través de un líquido inerte donde adquieren esfericidad y luego por una interfase líquida dentro de un baño de coagulación inmisible con el líquido inerte. De esta manera, la celulosa se regenera, al menos en la superficie de las esferas, para preservar la forma globular. Este proceso, que se lleva a cabo sólo por gravedad, requiere que la solución de celulosa, el baño inerte y el baño de coagulación tengan las densidades adecuadas.

Dentro de los métodos del grupo a) se encuentran dos patentes japonesas [41]. La *JP 57-45254* describe un método de preparación de perlas de celulosa esférica, que comprende las siguientes etapas: se agita continuamente una solución de viscosa en un solvente inmiscible con el agua de viscosidad de 100 cSt. o menos, tal como el clorobenceno, mientras se calienta de 30 a 100 °C hasta que la suspensión se solidifica en perlas, las que son posteriormente sometidas a hidrólisis ácida para producir las perlas de celulosa regenerada. La *JP 55-39565*, en que una solución de triacetato de celulosa en cloruro de metileno o cloroformo se adiciona gota a gota en un medio acuoso en el cual se ha disuelto gelatina o alcohol polivinílico mientras se agita,; la mezcla se calienta para obtener partículas esféricas de triacetato de celulosa, las cuales son posteriormente saponificadas.

Dentro de los métodos físicos se presentan distintos procedimientos mencionados a continuación [41]. En la patente *JP 56-21761* se propone la extrusión de una solución de viscosa o de celulosa cupramonio a través de una boquilla de descarga y se coagula en un baño común de regeneración. En la *EPA 0850979 A2, Morimoto et al.* proponen un método para preparar perlas de celulosa altamente esféricas y de estrecha distribución de tamaño de las partículas. Producen las perlas suministrando una solución de celulosa en un recipiente que gira a alta velocidad, generándose pequeñas gotas a través de los orificios de salida del recipiente de diámetros de 0,1 a 5 mm, bajo una fuerza centrífuga de 10 a 1000 g y capturando las mismas en un baño de regeneración. En esta patente se presentan ejemplos del proceso descrito para solución de viscosa, solución de celulosa en CILi – N,N dimetilacetamida y solución de viscosa con un almidón soluble, entre otros.

*Peska et al.* [43] presentan un método para preparar partículas de celulosa en forma de perlas calentando una solución alcalina de xantato de celulosa en un líquido

inmiscible en agua, entre 30 y 100 °C, con agitación para formar gotas esféricas para su posterior coagulación. A continuación, las esferas de viscosa se agregan a un medio ácido, soluble en el medio de dispersión, para regenerar la celulosa. La regeneración se puede realizar antes o después del aislamiento, con eventual lavado de las partículas para alcanzar el volumen húmedo requerido. Las diferencias entre los distintos métodos propuestos corresponden, principalmente, al tipo y método de formación de la gota, por goteo o pulverización (*spraying*) de la solución dentro de un baño de regeneración, o por dispersión en un solvente apropiado, y al tipo y al método de coagulación o regeneración de la celulosa [41, 44, 45].

*Stamberg et al.* propusieron un procedimiento simple de obtención de perlas de celulosa [46]. En el mismo, una solución acuosa de viscosa técnica se dispersa en un líquido inmiscible en agua y se produce la transición sol-gel por aumento de la temperatura por encima de 90 °C. Este aumento de temperatura acelera el desprendimiento de los grupos xantato generando un cambio en la solubilidad, correspondiente a la transición de fase que ocurre rápidamente en el volumen total de la partícula bajo condiciones hidrodinámicas estables. La regeneración de celulosa en partículas esféricas solidificadas se completa usando soluciones ácidas o alcalinas. El producto obtenido por la transición sol-gel se denomina “celulosa esférica”.

El procedimiento utilizado en esta tesis, permite la obtención de partículas esféricas de celulosa a partir de un derivado de la misma: el xantato de celulosa disuelto en álcali (viscosa), mediante una técnica de emulsión en fase inversa, también conocida como transición sol-gel térmica (TSGT), que incluye los siguientes pasos [47]:

- i) Preparación de una solución de celulosa o derivado de la misma.
- ii) Transformación de la fase líquida en partículas esféricas: el tamaño puede ser controlado por la velocidad de agitación y la cantidad de surfactante agregado.

- iii) Solidificación de las gotas líquidas: cambio de la celulosa de un líquido a un sólido hinchado, esto debe lograrse evitando la deformación y la aglomeración.
- iv) Regeneración de la celulosa en esferas sólidas: debe realizarse sin dañar la forma esférica y su estructura porosa. La regeneración influye en las propiedades finales.
- v) Tratamientos finales: secado, secado parcial, intercambio de solventes y posterior secado, ajuste de la porosidad, etc.

En base a este esquema se pueden seleccionar diferentes condiciones de reacción.

La obtención de las partículas esféricas mediante esta técnica consiste en la dispersión del xantato de celulosa en un solvente inmiscible en agua, con una cantidad determinada de surfactante. Algunos autores han utilizado el clorobenceno como solvente inmiscible [43, 46, 48]. La mezcla emulsionada se coloca en un reactor de vidrio dentro de un baño termostatzado a 90°C, temperatura a la cual se hidrolizan más fácilmente los grupos xantatos y se produce el cambio de fase.

Las características del producto están determinadas, en particular, por las condiciones del proceso de emulsificación, la composición del medio de dispersión, la intensidad de agitación y la temperatura de la transición sol-gel. La composición y calidad de la viscosa son también de gran importancia [47].

### **1.8 Objetivos de la tesis**

- Obtener pulpas para disolver a partir de pulpas kraft blanqueadas comerciales de eucalipto y pino, mediante extracción alcalina en frío.
- Realizar tratamientos enzimáticos a las pulpas de alta pureza obtenidas previamente. Evaluar los cambios de reactividad de las pulpas tratadas frente a la preparación de viscosa.
- Establecer una técnica de preparación de viscosa (xantato de celulosa disuelto en álcali) a escala laboratorio, a partir de linters de algodón como pulpa de referencia. Analizar el comportamiento de las pulpas originales, las purificadas con álcali y las tratadas enzimáticamente en la preparación de viscosa con la metodología establecida.
- Determinar la influencia de las propiedades de las distintas pulpas utilizadas sobre las características de las viscosas obtenidas a partir de las mismas.
- Estudiar la posibilidad de utilizar menor cantidad de sulfuro de carbono durante la preparación de viscosa, para disminuir el impacto ambiental y sobre la salud que se genera actualmente con esta metodología, sobre la base del posible aumento de reactividad de las pulpas luego del tratamiento con enzimas.
- Analizar los parámetros del proceso transición sol-gel térmica para la obtención de celulosa esférica, que puedan afectar las características del producto final.
- Caracterizar las esferas de celulosa obtenidas en cuanto a su tamaño, distribución de tamaños, área superficial específica y estructura cristalina.

## **2.1. Pulpas de trabajo**

Para la realización del presente trabajo se utilizaron tres pulpas celulósicas blanqueadas, obtenidas a partir de linters de algodón, eucalipto y pino.

### ***2.1.1. Pulpas iniciales de trabajo y preparación para su utilización***

- Linters de algodón: pulpa de grado filtro.
- Eucalipto comercial: pulpa de calidad exportación. Obtenida por proceso kraft con secuencia ECF de blanqueo: A/DE<sub>OP</sub>DP.
- Pino comercial: pulpa de calidad exportación. Obtenida por proceso kraft con secuencia ECF de blanqueo: DE<sub>OP</sub>DE<sub>P</sub>D.

Las planchas secas de las diferentes pulpas se cortaron manualmente y se dejaron humectando en agua filtrada durante 24 horas. La suspensión fibrosa obtenida a la salida del desintegrador estándar British de baja consistencia, se filtró con malla metálica de 200 mesh en el caso de eucalipto y utilizando una malla de 150 mesh en una formadora manual de hojas de ensayos (marca L&W) estandarizada según Norma SCAN, para pino y linters. La pulpa filtrada se colocó en bolsa de tela, se centrifugó y se desmenuzó en un desintegrador mecánico de alta consistencia. Luego se almacenó en doble bolsa plástica y a baja temperatura.

### ***2.1.2. Caracterización de las pulpas de trabajo***

La sequedad de una pulpa permite referir todos los cálculos sobre base seca. El factor de sequedad es la relación entre el peso seco en estufa a 105°C durante 24 horas ( $m_s$ ), hasta pesada constante, y el peso húmedo ( $m_h$ ) de una muestra exactamente pesada de pulpa. Se calcula según:

$$\boxed{Seq. = \frac{m_s}{m_h}}$$

Ec. 2.1

Para analizar las características físicas y químicas de las pulpas de trabajo y los cambios en las mismas con los diferentes tratamientos de modificación, se utilizaron las siguientes técnicas analíticas.

a) *Contenidos de  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  celulosa en pulpa. Norma TAPPI T203-cm99 [49].*

Esta metodología permite determinar el contenido de los distintos tipos de celulosa presentes en la pulpa. Por definición,  $\alpha$ -celulosa es la fracción no degradada de alto peso molecular,  $\beta$ -celulosa es la celulosa degradada y  $\gamma$ -celulosa representa principalmente a las hemicelulosas.

La muestra de pulpa se trató consecutivamente con soluciones de NaOH al 17,5% P/P y 9,45% P/P a 25°C, condiciones en que la  $\alpha$ -celulosa es insoluble. En la fracción soluble, la  $\beta$ -celulosa se reprecipitó por acidificación, quedando la  $\gamma$ -celulosa en la solución remanente. Los contenidos de  $\beta$  y  $\gamma$ -celulosa se determinaron volumétricamente por oxidación con dicromato de potasio y la  $\alpha$ -celulosa, como fracción insoluble, se calcula por diferencia.

b) *Solubilidad en álcali de la pulpa a 25°C. Norma TAPPI T235 cm-00 [50].*

Los carbohidratos de bajo peso molecular (hemicelulosas y celulosa degradada) pueden ser extraídos de la pulpa con soluciones de hidróxido de sodio. La solubilidad de una pulpa el álcali provee información sobre la degradación de la celulosa y sobre la pérdida o retención de las hemicelulosas durante los procesos de pulpado y blanqueo.

En general, la solución de NaOH al 10% posee el máximo poder de disolución, tanto de celulosa degradada como de hemicelulosas.

La pulpa se trató con soluciones de NaOH al 10% P/P (S<sub>10</sub>) y 18% P/P (S<sub>18</sub>) a 25°C durante una hora. Los carbohidratos disueltos se determinaron volumétricamente por oxidación con dicromato de potasio.

c) *Viscosidad intrínseca en CUEN. Grado de polimerización promedio viscosimétrico.*

La determinación de la viscosidad intrínseca,  $[\eta]$ , y el cálculo del grado de polimerización promedio viscosimétrico ( $DP_v$ ) de las pulpas de trabajo se realizó mediante la técnica de la Dra Marx-Figini [51], que tiene como requisitos:

\* Que la concentración de la solución de celulosa en CUEN 0,5M sea diluida para aproximar las densidades del solvente ( $\rho_0$ ) y de la solución ( $\rho$ ) y evitar la influencia del esfuerzo de cizallamiento.

\* Que la temperatura sea constante a 20°C durante las mediciones.

Teniendo en cuenta estos requisitos, y utilizando el mismo viscosímetro capilar para el solvente puro (sp) y la solución diluida de celulosa, la viscosidad específica se determinó según:

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0}$$

Ec. 2.2

La viscosidad intrínseca  $[\eta]$  permite determinar la capacidad de un polímero de incrementar la viscosidad del solvente puro (sp) en ausencia de efectos intermoleculares, tiene unidades inversas a la concentración (ml/g) y está definida como:

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \left( \frac{\eta_{sp}}{C} \right)$$

Ec. 2.3

Para realizar la extrapolación se utilizó la ecuación semiempírica de Schulz-Blaschke, definida como:

$$\boxed{[\eta] = \frac{\eta_{sp}/C}{1 + K_{\eta} * \eta_{sp}}} \quad \text{Ec. 2.4}$$

donde  $K_{\eta} = 0,29$ , constante determinada experimentalmente para poder determinar la viscosidad intrínseca de la celulosa, a partir de una única medición de viscosidad, en un determinado solvente, en este caso CUEN 0,5M [51].

Para obtener el  $DP_v$  se utilizó la relación que obedece a la ecuación general de Staudinger, Mark y Howink:

$$\boxed{[\eta] = K_{DP} * DP^a} \quad \text{Ec. 2.5}$$

donde  $K_{DP}$  y  $a$  son constantes determinadas experimentalmente que dependen de la interacción polímero – solvente. En el caso de la celulosa también dependen del rango de DP estimado para la muestra a analizar, según se muestra en la siguiente tabla:

Dependencia de  $K_{DP}$  y  $a$  del rango de DP [51].

Rango DP	Rango $[\eta]$	$K_{DP}$	$a$
< 950	< 420	0,42	1,00
> 950	> 420	2,29	0,76

Estas constantes pueden ser utilizadas si se cumplen las siguientes condiciones experimentales [51]:

\* Gradiente de velocidad de aprox.  $G = 300 \text{ seg}^{-1}$  para la solución de CUEN 0,5M, para ello se utiliza un viscosímetro estandarizado de diámetro de capilar de 0,35 mm y 20°C.

\* El rango de concentraciones aplicadas debe arrojar valores de viscosidad específica entre 0,3-0,6.

En la Figura 2.1 se muestra el baño termostático transparente, marca SCHOTT, modelo CT52 y un viscosímetro capilar de vidrio tipo Ostwald, marca IVA, de 3 ml de capacidad con capilar de 0,35 mm, utilizados para la determinación de viscosidad.



**Figura 2.1.** Baño termostático transparente y viscosímetro capilar utilizados.

*d) Masa molar y distribución de masa molar.*

La masa molar y distribución de masa molar de las pulpas de trabajo se determinan por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) con detector de luz láser dispersada de múltiple ángulo (MALLS). Las condiciones y equipamiento utilizados se detallan a continuación.

Equipamiento:

Instrumento:	2 bombas HPLC 420 Kontron
	1 muestreador automático HP - Serie 1050
	1 detector de Índice de Refracción ERC – 7511, en el que la celda de referencia es permanentemente purgada.
	1 MALLS Wyatt Dawn DSP, Ar Laser 488 nm, Astra software
	2 humidificadores de pulso Shodex Model DP-1
	1 termostato rotativo Rotatherm Libisch
Columnas:	4 PL-Gel Mixed A (300 x 7.5 mm, 20 $\mu$ m)
Reactivos:	N,N-dimetilacetamida (DMAc) calidad HPLC de Lab-Scan
	Cloruro de Litio anhidro (LiCl) anhydrous p.a. de Fluka 62480
	Acetona

Agua de alta pureza para la preparación de la muestra: Minisart SRP 15, de 0,45  $\mu\text{m}$  de Sartorius. Filtro para preparación del eluente: Anodisc 47, 0,02  $\mu\text{m}$  de Whatman

#### Preparación del eluente

Se disuelven 18,0 g LiCl en 2 litros de DMAc, se calienta hasta aproximadamente 80 °C y se filtra a través de un filtro de PTFE de 0,02  $\mu\text{m}$  (Anodisc 47, Whatman, GB). El eluente puede ser utilizado por 4-6 días sin que haga efecto sobre la separación.

#### Preparación de la muestra. Tratamiento de la pulpa.

Activación: se agregan 200 ml de agua a aproximadamente 2 g de pulpa seca al aire, luego se filtra, se lava 2 veces con acetona y se filtra con vacío. Esta muestra se pesa ( $E_1$ ), se suspende en 100 ml de DMAc (destilado), se deja durante la noche, se filtra y se filtra nuevamente con vacío. La muestra húmeda en DMAc se pesa nuevamente ( $E_2$ ).

Disolución:  $(50 * E_2 / E_1)$  [mg] de la muestra húmeda en DMAc (correspondientes a 50 mg de pulpa seca al aire) se pesan en un tubo de 10 ml con tapa a rosca, se suspenden en 5 ml de solución de DMAc/LiCl (90 g LiCl por litro de DMAc), y se agitan por al menos 8 horas a temperatura ambiente. Esta solución tiene una concentración de 10 mg/ml de celulosa y 90 mg/ml LiCl. Se pipetea 2 ml de esta solución y se agregan a 5 ml DMAc, se agita y luego de 4 horas o más, se filtra (0,45  $\mu\text{m}$ ). Esta solución, que contiene 2,8 mg/ml de celulosa y 25,7 mg/ml de LiCl, es la que se inyecta en el cromatógrafo.

#### SEC-MALLS

Se utilizaron las siguientes condiciones cromatográficas:

Velocidad de flujo: 0,75 ml/min, la celda de referencia es permanentemente purgada a la velocidad de flujo.

Temperatura: ambiente

Presión: Aproximadamente 32 bar

Volumen de inyección: 80  $\mu\text{l}$  (correspondientes a 230  $\mu\text{g}$ )

Tiempo de corrida: 54 minutos

$d\eta/dc$ : 0,136 ml/g

$d\eta/dc$  es el incremento en el índice de refracción específico e indica cuánto varía el índice de refracción de una solución con el incremento de la concentración.

*e) Cristalinidad.*

La cristalinidad se determinó por difracción de Rayos X. Para la obtención de los espectros correspondientes se utilizó un instrumento marca Seifert, modelo JSO Debyeflex 2002, con goniómetro marca Seifert, modelo MZ III (Figura 2.2). Los difractogramas se realizaron usando como fuente un tubo de cobre operado a una tensión de aceleración de 30 kV y una corriente de 30 mA. El barrido se realizó en el rango de 60 a 10 grados ( $2\theta$ ) empleando una velocidad de barrido de 1,2  $2\theta/\text{minuto}$  y una constante de tiempo de rotámetro de 1 segundo con una escala de 200 K cuentas/minuto.



**Figura 2.2.** Equipo de Difracción de Rayos X utilizado.

Para determinar el porcentaje de cristalinidad de la muestra existen diferentes métodos y aproximaciones. En este trabajo se utilizó una aproximación simple que

consiste en tomar del difractograma, la intensidad de un máximo y un mínimo apropiados para calcular el “índice de cristalinidad” (CrI) definido como:

$$CrI = \left( \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \right) * 100 = \left( 1 - \frac{I_{am}}{I_{002}} \right) * 100 \quad \text{Ec. 2.6}$$

donde  $I_{002}$  es la intensidad del pico cristalino correspondiente al plano de reflexión  $hkl=002$ , en el máximo a  $2\theta$ , entre  $22^\circ$  y  $23^\circ$  para celulosa I y entre  $21^\circ$  y  $22^\circ$  para celulosa II;  $I_{am}$  es la altura de la zona desordenada de la celulosa a  $2\theta$  entre  $18^\circ$  y  $19^\circ$  para celulosa I y entre  $15^\circ$  y  $16^\circ$  para celulosa II [52].

f) *Valor de retención de agua (WRV).*

El valor de retención de agua total es una medida empírica de la capacidad de retención de agua de las fibras. El WRV aumenta por la fibrilación interna, se produce una ampliación de los pequeños poros internos y delaminaciones, el que ha sido llamado swelling y ocurre simultáneamente con el desarrollo de las fibrillas externas, las que también ayudan a la retención de agua.

El WRV es la relación del peso de agua retenido en una muestra de pulpa húmeda luego de la centrifugación bajo condiciones específicas, con respecto al peso de la misma muestra seca.

Para la determinación, según la norma SCAN-C 62:00 [53], se utilizó una centrífuga marca LUGUIMAC, modelo LC-25DR (Figura 2.3), con sistema de refrigeración, a 3000 g y  $23^\circ\text{C}$  durante 15 minutos. Los resultados se calcularon según:

$$WRV_{(g_{H_2O} / g_{fibra})} = \frac{m_1}{m_2} - 1 \quad \text{Ec. 2.7}$$

*g) Solubilidad en NaOH 9%*

Esta técnica permite determinar el material soluble de una pulpa en NaOH 9% a -5°C y agitación vigorosa.

Una muestra de pulpa a 3% de consistencia se disolvió bajo agitación vigorosa (750 rpm) en NaOH 9% (P/P) a -5°C durante 10 minutos. La solución se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. La parte disuelta se descartó y la parte no disuelta se lavó con NaOH 9% (P/P) y se centrifugó nuevamente a la misma velocidad durante 5 minutos. El sobrenadante se descartó nuevamente y la parte no disuelta se lavó con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3% (P/P) y luego se lavó con agua destilada hasta neutralidad en un filtro de vidrio poroso previamente tarado. El filtro de vidrio poroso con la muestra se llevaron a estufa a 105°C hasta pesada constante.

La solubilidad se calculó según:

$$S_{(\%) } = \left( \frac{1 - W_U}{W} \right) * 100$$

donde  $W$  es el peso seco de muestra utilizado y  $W_U$  es el peso seco de la celulosa no disuelta [24].

*h) Reactividad.*

La reactividad es el parámetro de calidad más significativo de una pulpa que permite determinar si puede ser utilizada en el proceso de viscosa.

Se utilizó el método de Fock [54] para determinar la reactividad del material. Permite cuantificar la cantidad de celulosa que no se disuelve en NaOH cuando se prepara la solución de viscosa. Es un proceso a microescala que implica el tratamiento de la pulpa con exceso de NaOH 9% P/V y sulfuro de carbono en exceso. Una pequeña

cantidad del xantato de celulosa obtenido es regenerado. Los resultados se expresan como rendimiento de celulosa regenerada pero, de acuerdo a Fock, también pueden ser expresados como celulosa residual.

En un envase plástico de 100 ml con tapa se colocaron 0,5 g de pulpa y se agregaron 50 ml de NaOH 9% P/V y 1 ml de CS<sub>2</sub>. El contenido se agitó durante 3 horas con agitador magnético. La muestra se trasvasó cuantitativamente a un envase plástico con tapa a rosca, apto para centrifugación a alta velocidad, y se le agregó agua destilada hasta llegar a un peso total de 100 g. El envase se agitó vigorosamente y centrifugado 10 minutos a 3000 rpm (Figura 2.3). Se tomaron 10 ml del líquido sobrenadante con bolpipeta en un vaso de precipitado de vidrio de 100 ml, se neutralizaron con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% P/V y se dejaron reaccionar entre 15 y 20 horas, tiempo en el cual se regeneró la celulosa y se eliminó el exceso de CS<sub>2</sub>.

La mezcla se trasvasó cuantitativamente a un balón de 250 ml con boca esmerilada y se agregaron 20 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 68% P/V con bolpipeta. Se agitó durante 1 hora con agitador magnético. Luego se agregaron 10 ml de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 1/6M con bolpipeta y se mantuvo en ebullición durante 1 hora a reflujo, bajo campana, para completar la reacción de oxidación de los azúcares reductores. Finalizada la oxidación, se enfrió a temperatura ambiente y la muestra se trasvasó cuantitativamente a un matraz de 100 ml y llevada a volumen con agua destilada. Se tomó una alícuota de 40 ml en un erlenmeyer de 250 ml, se agregaron 5 ml de KI 10% P/V y el iodo producido se tituló por retorno con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1M, utilizando almidón como indicador hasta color verde/azulado.

El rendimiento en celulosa regenerada se calculó según:

$$R_{(\%)} = \frac{38961}{m_s} * [1,67 \cdot 10^{-3} - (V_{\text{tiosulfato}} * M_{\text{tiosulfato}} * 0,417)] \quad \text{Ec. 2.8}$$

donde:  $m_s$  es el peso de muestra seca en gramos,  $V_{\text{tiosulfato}}$  es el volumen de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1M gastado en la titulación en litros y  $M_{\text{tiosulfato}}$  es la concentración molar exacta del  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .



**Figura 2.3.** Centrífuga utilizada en las determinaciones de WRV, solubilidad en NaOH 9% (-5°C) y Reactividad de Fock.

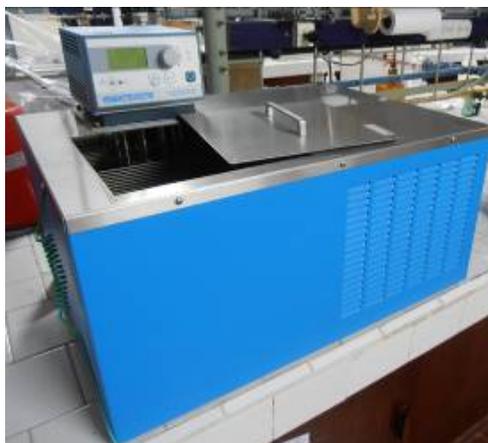
## **2.2. Purificación alcalina en frío**

Los tratamientos de purificación alcalina se realizaron con soluciones de NaOH al 5% y al 10%, durante 1 hora a 20°C, a una consistencia de 5% (g/g), determinándose el rendimiento de purificación.

Se utilizó un criotermostato marca Cole Parker Modelo KH 12111-26 (Figura 2.4), se fijó la temperatura en 20°C, y se agitó la muestra cada 10 minutos aproximadamente.

Una vez cumplido el tiempo de tratamiento, las pulpas se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de álcali hasta neutralidad.

Las pulpas de pino y eucalipto purificadas se almacenaron en doble bolsa plástica y a baja temperatura. Se determinaron las características con las técnicas descritas en el punto 2.1.2, para comprobar los cambios físicos, químicos y estructurales que puedan haber sufrido las pulpas durante los distintos tratamientos de purificación.



**Figura 2.4.** Criotermostato utilizado para la purificación alcalina en frío y para los tratamientos enzimáticos.

## **2.3. Tratamiento enzimático**

### ***2.3.1. Descripción de la enzima utilizada***

Se utilizó la enzima MULTIFECT A40 producida a partir de una cepa seleccionada de *Trichoderma reesei*. Según la hoja técnica de la enzima, esta preparación líquida contiene celulasas y hemicelulasas. La actividad principal de la enzima de trabajo son las celulasas con bajo nivel de actividad de xilanasas y manasas. Estas enzimas actúan principalmente sobre la superficie de la fibra en el rango de pH ácido a neutro (pH 4-7) y a temperaturas entre 40-65°C. La actividad declarada de esta mezcla es mayor o igual a 2200 UI/g, siendo definida una unidad internacional (1 UI) como la cantidad de enzima que libera un  $\mu\text{mol}$  de azúcares reductores por minuto en condiciones óptimas de pH y temperatura de la enzima:

1 UI = 1  $\mu\text{mol}$  de azúcar reductor liberado durante 1 minuto de hidrólisis.

1 UI = 0,18 mg de glucosa por minuto ( $\text{PM}_{\text{glucosa}} = 180 \text{ g/mol}$ )

Debido a que la enzima se utilizó en pulpas con alto contenido de  $\alpha$ -celulosa y bajo contenido de hemicelulosas como son las pulpas para disolver, la caracterización de la

enzima se realizó determinando su actividad frente a carboximetilcelulosa, mediante la estimación de azúcares reductores generados durante la hidrólisis producida por el tratamiento enzimático. Se utilizó el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) establecido por la Comisión de Biotecnología de la IUPAC [55] que consiste en determinar la concentración de enzima requerida para alcanzar una producción de 0,5 mg de glucosa a partir de carboximetilcelulosa durante un cierto tiempo.

### **2.3.2. Determinación de la actividad enzimática**

La determinación de la actividad enzimática implica la determinación de la cantidad de glucosa producida por el sustrato CMC, utilizando concentraciones conocidas de enzima y una curva de calibrado glucosa / buffer fosfato pH 6 / CMC.

La solución buffer fosfato 0,1M pH 6, se preparó utilizando las cantidades necesarias de las sales  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Se utilizó como sustrato una solución de CMC (Anedra) al 2% P/V. Para su preparación, aproximadamente el 70% de la solución buffer fosfato pH 6 necesaria se calentó a 80°C en un pequeño vaso de precipitado, mientras se agregó lentamente 1 g de CMC. Se mantuvo en agitación durante 30 minutos con agitador magnético y calentamiento. Luego se enfrió, trasvasada a un matraz de 50 ml y llevada a volumen con buffer pH 6.

Para la curva de calibrado se utilizaron concentraciones de glucosa (Sigma) entre 0,2 y 1,2 mg/0,5ml, y un blanco.

Se utilizaron las siguientes condiciones:

- Temperatura: 45°C, utilizando el criotermostato de la Figura 2.4.
- Tiempo: 30 minutos

Las mediciones de absorbancia se realizaron a 540 nm en un espectrofotómetro UV/Vis de doble haz, marca SHIMADZU, modelo UV-1601PC (Figura 2.5)



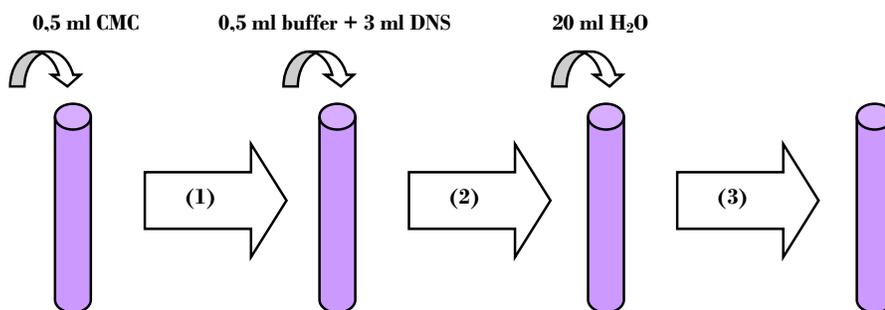
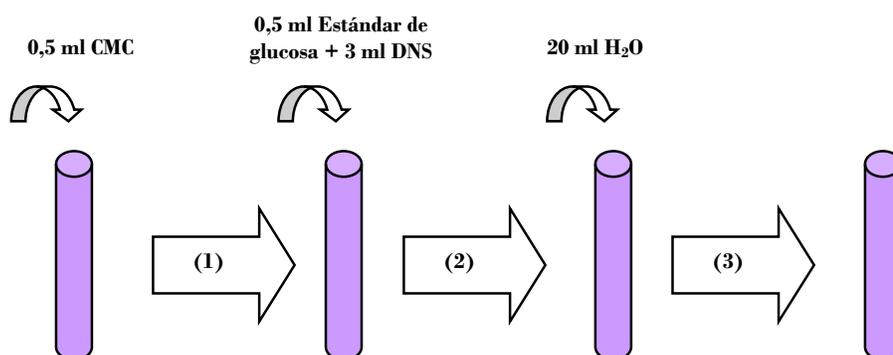
**Figura 2.5.** Espectrofotómetro UV-Vis utilizado.

*a) Curva de calibrado glucosa/buffer/CMC.*

En un tubo de 25 ml se colocaron 0,5 ml de sustrato CMC y se llevaron a 45°C en baño termostatzado (Figura 2.4) durante 30 minutos.

En el tubo correspondiente al “blanco”, se agregaron 0,5 ml de buffer y, en los restantes, 0,5 ml de “estándar de glucosa” de concentración conocida. A todos los tubos se les agregaron 3 ml del reactivo DNS y se llevaron a un baño a ebullición vigorosa durante 5 minutos exactamente. Inmediatamente después los tubos se colocaron en un baño de agua fría, se les agregaron 20 ml de agua destilada y se mezclaron por inversión varias veces. Se acondicionaron a 30°C y se midió la absorbancia a 540 nm.

La Figura 2.6 muestra la preparación de los tubos para la curva de calibrado Glucosa/buffer fosfato pH 6/CMC.

**Blanco****Estándar de glucosa**

**Figura 2.6.** Preparación de tubos para la determinación de la curva de calibrado Glucosa/buffer pH 6/CMC

- donde:
- (1) Inmersión en baño termostatzado a 45°C durante 30 minutos.
  - (2) 5 minutos de ebullición y enfriamiento.
  - (3) Acondicionamiento a 30°C y medición de la absorbancia a 540 nm.

Con los datos de absorbancia obtenidos según la Figura 2.6, se realizó una gráfica de absorbancia  $A_{540}$  vs concentración conocida de estándar de glucosa y se obtuvo una curva de calibrado lineal del tipo:

$$A_{540}(nm) = m * [glu] + b$$

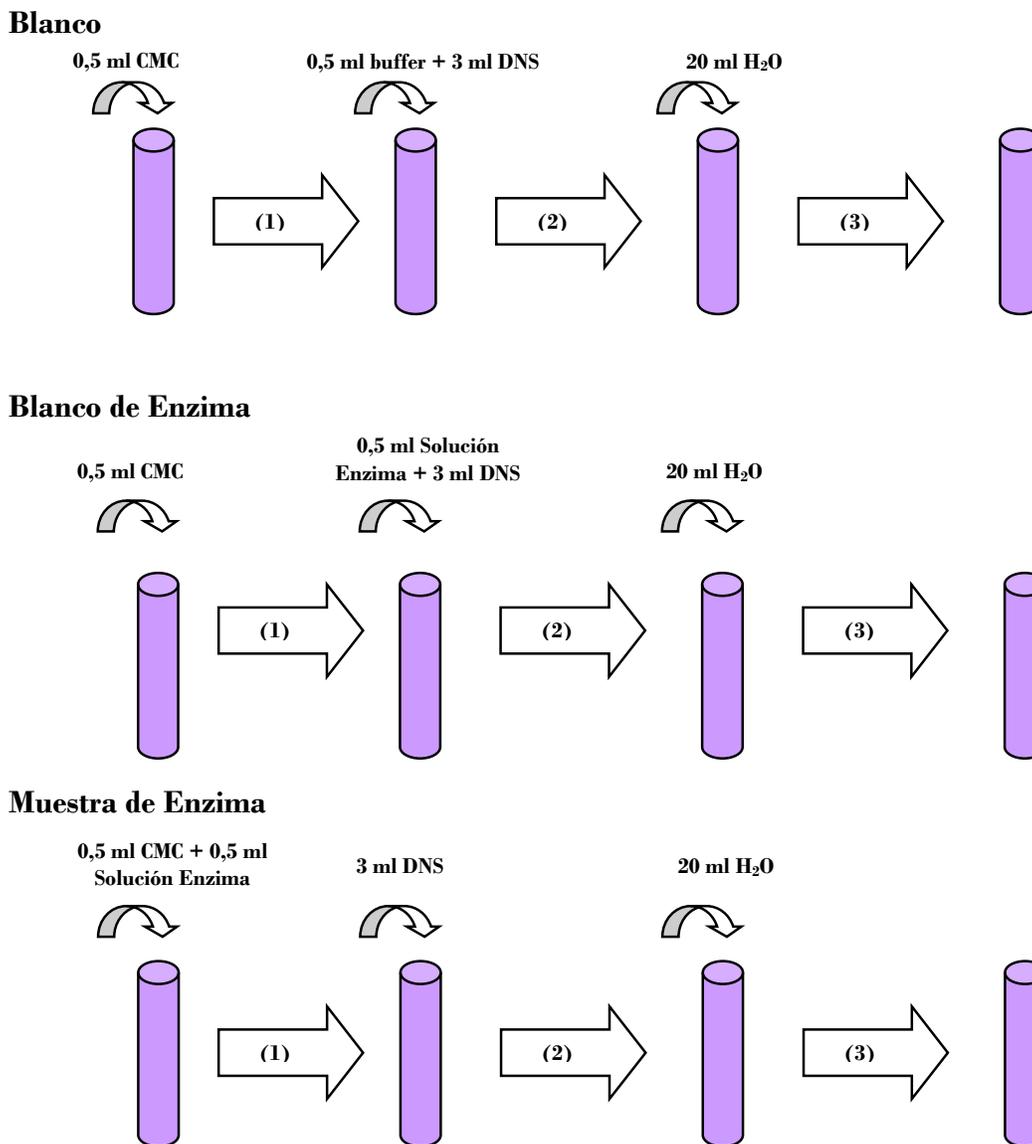
Ec. 2.9

donde  $[glu]$  es la concentración conocida del estándar de glucosa en mg/0,5 ml,  $m$  es la pendiente y  $b$  es la ordenada al origen de la recta.

*b) Determinación de la actividad enzimática frente a CMC.*

En los tubos de 25 ml, correspondientes al “blanco” y a los “blancos de enzima”, se colocaron 0,5 ml de sustrato CMC. En los tubos correspondientes a las “muestras de enzima”, se colocaron 0,5 ml de sustrato y 0,5 ml de cada dilución de enzima. Todos juntos se llevaron a 45°C en baño termostatzado (Figura 2.4) durante 30 minutos. Se utilizaron concentraciones de enzima de 0,005 a 0,200 (mg/0,5ml), de modo tal que presentaran una producción mayor y, al menos una levemente menor que 0,5 mg de azúcares reductores, expresados como glucosa en las condiciones de reacción. Luego se agregaron 0,5 ml de buffer en el “blanco” y 0,5 ml de la solución estándar de enzima de concentración conocida en los “blancos de enzima”. A todos los tubos se agregaron 3 ml del reactivo DNS, se mezclaron y se llevaron a ebullición vigorosa durante 5 minutos exactamente.

Inmediatamente después, se llevaron a un baño de agua fría, se agregaron 20 ml de agua destilada a cada tubo y se mezclaron por inversión varias veces. Se acondicionaron a 30°C y se midió la absorbancia a 540 nm. La absorbancia de los blancos de enzima se descontó de la absorbancia de la muestra, a igual concentración de enzima agregada. La Figura 2.7 muestra la preparación de los tubos para la determinación de la actividad enzimática.



**Figura 2.7.** Preparación de tubos para la determinación de la actividad enzimática.

- donde:
- (1) Inmersión en baño termostatzado a 45°C durante 30 minutos.
  - (2) 5 minutos de ebullición y enfriamiento.
  - (3) Acondicionamiento a 30°C y medición de la absorbancia a 540 nm.

Con los datos de absorbancia obtenidos según la Figura 2.7 y la curva de la Ec. 2.9, se obtuvieron las cantidades de glucosa producida por la enzima frente al sustrato CMC.

Se realizó una nueva gráfica de glucosa producida vs logaritmo de la concentración de enzima y se obtuvo una curva lineal del tipo:

$$\boxed{[glu]_{(mg/0,5ml)} = m' \cdot \log[E] + b'} \quad \text{Ec. 2.10}$$

donde  $[glu]$  es la concentración de glucosa producida en mg/0,5 ml,  $\log[E]$  es el logaritmo de la concentración de enzima,  $m'$  es la pendiente y  $b'$  es la ordenada al origen.

c) *Cálculo de las unidades. Derivación de las unidades de CMC.*

Con la Ec. 2.10 se puede calcular la concentración crítica de enzima que libera exactamente 0,5 mg de glucosa.

La unidad CMC se basa en la Unidad Internacional (UI). La cantidad crítica de glucosa en el ensayo con CMC es 0,5 mg:

$$0,5 \text{ mg glucosa} = 0,5 / 0,18 \text{ } \mu\text{mol}$$

Esta cantidad de glucosa es producida por 0,5 ml en 30 minutos, es decir:

$$0,5 \text{ mg}_{glu} = \frac{0,5}{0,18 * 0,5 * 30} \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$$

$$0,5 \text{ mg}_{glu} = 0,185 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1} \text{ (UI ml}^{-1}\text{)}$$

$$0,5 \text{ mg glucosa} = 0,5 / (0,18 * 0,5 * 30) \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$$

$$\text{CMC convertida} = 0,185 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$$

Así, la cantidad estimada de enzima (concentración crítica de enzima) que libera 0,5 mg de glucosa durante la reacción de CMC contiene 0,185 UI, y:

$$\boxed{\text{CMC} = \left( \frac{0,185 * 100}{\text{conc}_{\text{crítica}}_{\text{enzima}}} \right) \text{(UI / ml)}} \quad \text{Ec. 2.11}$$

### **2.3.3. Hidrólisis enzimática de las pulpas**

Una vez determinada la actividad enzimática de la enzima a utilizar, se realizó la puesta a punto del tratamiento enzimático y las condiciones que permitieran obtener las características deseadas en la pulpa.

#### *a) Condiciones y equipamiento.*

El tratamiento enzimático se realizó en un reactor Batch de Acero Inoxidable de mezcla perfecta de alta consistencia con calefacción indirecta (Figura 2.8), con algunas modificaciones, tales como:

\* La incorporación de una doble camisa de acero inoxidable, a fin de poder recircular el agua de calefacción y trabajar a temperatura controlada.

\* La regulación de temperatura se realizó mediante un cabezal termostático de inmersión, marca Braun, modelo Thermomix 1420 (+/- 0,05 °C), que además de fijar y regular la temperatura, recircula el agua de calefacción.

Se utilizaron las siguientes condiciones para el tratamiento enzimático de la pulpa:

- Temperatura: 45°C (Figura 2.4)
- Buffer fosfato pH 6
- Consistencia: 5% (g/g)



**Figura 2.8.** Vista general del reactor batch de acero inoxidable.

Las mediciones de absorbancia se realizaron a 540 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (Figura 2.5).

Se realizaron pruebas con diferentes dosajes de enzima y tiempo de tratamiento, con el objeto de encontrar la viscosidad y el grado de polimerización recomendado por la bibliografía.

Para resumir los cálculos realizados, se presenta un ejemplo para un dosaje de enzima de 12% (correspondientes a 18 UI/g). Teniendo en cuenta que un dosaje de 12% significan 12 ml de enzima por cada 100 g de pulpa seca, por lo que para 30 g de pulpa seca se necesitaron 3,6 ml de enzima para realizar la hidrólisis requerida. El  $V_{\text{final}}$  para 5% de consistencia y 30 g de pulpa es de 570 ml, referido a 100 ml, se tiene una concentración de enzima de 0,632% en el sistema.

Se preparó una solución madre de enzima al 15% (15 ml de enzima en 100 ml de solución), se tomaron 0,21 ml de dicha solución y se llevaron a 5 ml de volumen final con buffer fosfato pH 6 en matraz aforado para obtener la concentración de 0,632%. Esta solución se denominó “blanco de enzima” y se utilizó posteriormente para la determinación de los azúcares reductores.

Cálculos:

$$ml_{enzima} = 30g * 12ml / 100g = 3,6ml$$

$$[E]_{\%} = 3,6ml_E * 100ml_{sc} / 570ml_{sc} = 0,632\%$$

$$V_{scE} = 5ml_{sc} * 0,632\% / 15\% = 0,21ml_{sc}$$

La pulpa se llevó a la consistencia fijada con agua filtrada, el pH se ajustó con una solución diluida de NaOH o de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La pulpa se colocó en el reactor para alcanzar y mantener la temperatura establecida. Luego, teniendo en cuenta la consistencia y el dosaje seleccionado, se agregó la cantidad de enzima correspondiente y se mantuvo a 45°C durante el tiempo establecido.

Una vez finalizado el tiempo del tratamiento, en un kitasato provisto de un filtro de vidrio poroso se recogió el licor residual para medir el pH y determinar los azúcares reductores. La pulpa se colocó en un balde con agua en ebullición y se mantuvo en esta condición durante 10 minutos con el fin de cortar la reacción de las enzimas. Luego se trasvasó cuantitativamente a una bolsa de tela, se lavó con abundante cantidad de agua filtrada, se centrifugó y se desmenuzó manualmente.

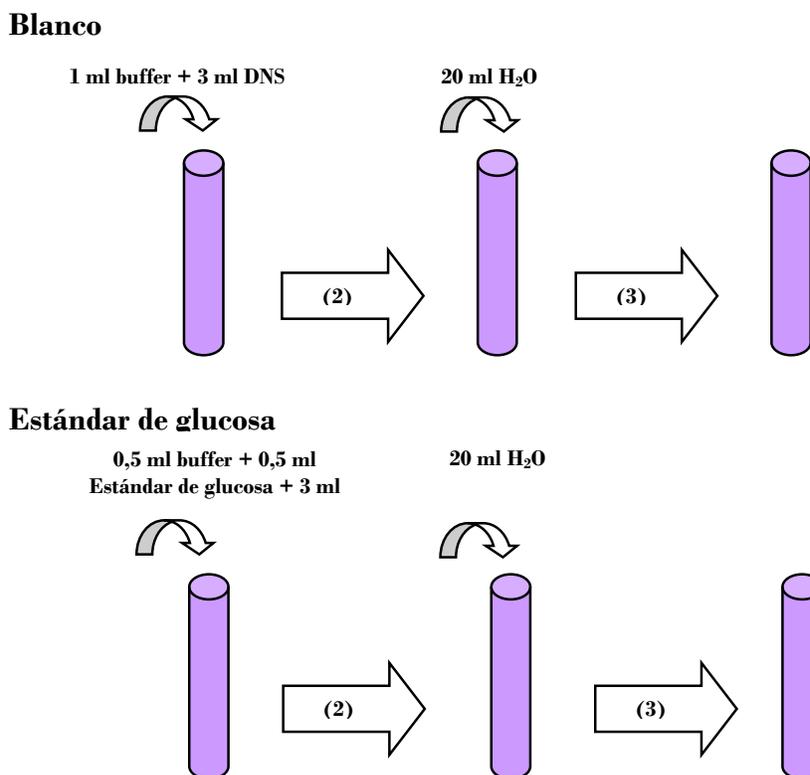
La pulpa tratada enzimáticamente se almacenó en doble bolsa plástica y a baja temperatura. Se determinaron las características de la pulpa con las técnicas descriptas en el punto 2.1.2 para comprobar los cambios físicos, químicos y estructurales que pueda haber sufrido la pulpa durante el tratamiento enzimático.

*b) Curva de calibrado glucosa/buffer pH 6.*

Para cuantificar los azúcares reductores producidos durante la hidrólisis enzimática realizada a la pulpa es necesaria una curva de calibrado a concentraciones conocidas de glucosa.

Se prepararon “estándares de glucosa” de concentraciones conocidas entre 0,2 y 1,2 mg/0,5 ml y un “blanco” en paralelo. En tubos de 25 ml se agregó 1 ml de buffer pH 6 y 3 ml de DNS en el tubo correspondiente al “blanco” y 0,5 ml de buffer, 0,5 ml de solución estándar de concentración conocida de glucosa y 3 ml de DNS en los tubos de los “estándares de glucosa”. Todos los tubos se mezclaron y se llevaron exactamente 5 minutos a ebullición vigorosa. Inmediatamente después, se colocaron en un baño de agua fría, se agregaron 20 ml de agua destilada y se mezclaron por inversión varias veces. Se acondicionaron a 30°C y se midió la absorbancia a 540 nm.

En la Figura 2.9 muestra la preparación de los tubos para la realización de la curva de calibrado glucosa/buffer pH 6.



**Figura 2.9.** Preparación de los tubos para la determinación de la curva de calibrado Glucosa/buffer pH 6.

donde: (2) 5 minutos de ebullición y enfriamiento.

(3) Acondicionamiento a 30°C y medición de la absorbancia a 540 nm.

Con los datos de absorbancia obtenidos según la Figura 2.9, se realizó una gráfica de absorbancia  $A_{540}$  vs concentración conocida de estándar de glucosa y se obtuvo una curva de calibrado lineal del tipo:

$$A_{540} = m''[glu] + b''$$

Ec. 2.12

donde  $[glu]$  es la concentración conocida de glucosa en mg/0,5 ml,  $m''$  es la pendiente y  $b''$  es la ordenada al origen de la recta.

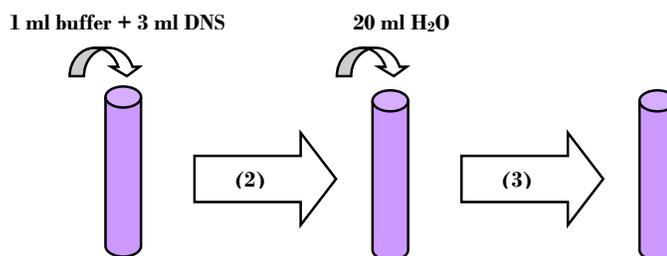
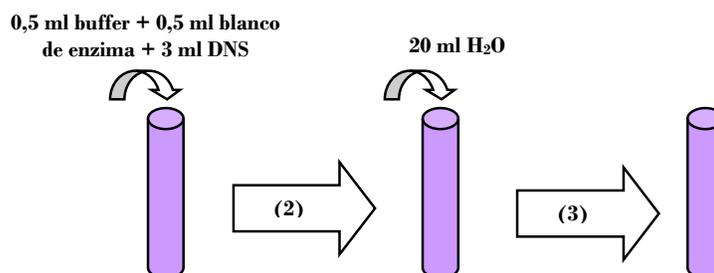
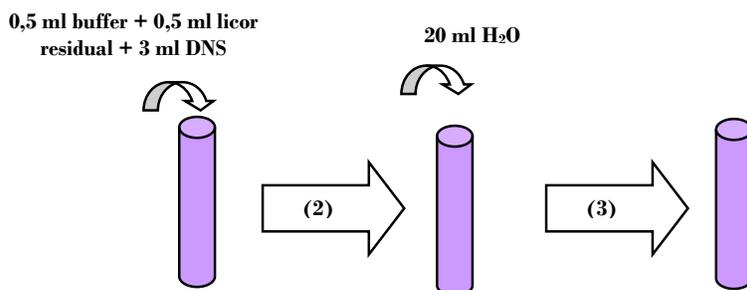
c) *Determinación de los azúcares reductores en el licor residual.*

Luego del tratamiento enzimático, se determinó el contenido de azúcares residuales en el licor residual generado por la hidrólisis de la pulpa.

Para la determinación de los azúcares reductores se prepararon tubos de 25 ml de capacidad: uno para el “blanco”, uno para el “blanco de enzima” y dos para el “licor”.

En el tubo del “blanco” se agregó 1 ml de buffer fosfato pH 6, en el tubo del “blanco de enzima”, 0,5 ml de buffer y 0,5 ml de blanco de enzima y en los tubos de “licor”, 0,5 ml de buffer y 0,5 ml del licor residual.

La Figura 2.10 muestra el procedimiento de preparación de los tubos para la medición de los azúcares reductores producidos durante el tratamiento enzimático.

**Blanco****Blanco de enzima****Licor residual**

**Figura 2.10.** Preparación de los tubos para la determinación de azúcares reductores.

donde: (2) 5 minutos de ebullición y enfriamiento.

(3) Acondicionamiento a 30°C y medición de la absorbancia a 540 nm.

Con los datos de absorbancia obtenidos según la Figura 2.10 y utilizando la Ec. 2.12 se determinó la cantidad de glucosa producida durante la hidrólisis.

Los azúcares reductores se determinan según la siguiente ecuación:

$$Azúcares_{(kg/t)} = Glu_{prod} \frac{mg}{0,5ml} * V_{final}(ml) * \frac{1kg}{1000g} * \frac{1g}{1000mg} * \frac{10^{-6}t}{g_{pasta}} \quad Ec. 2.13$$

Cuando la cantidad de azúcares reductores producidos es comparable entre los tratamientos, bajo las mismas condiciones, se puede realizar el seguimiento de los mismos y del comportamiento de la enzima en cuanto a su actividad. Es decir, si en las mismas condiciones de tratamiento se produce menor cantidad de azúcares reductores, se podría analizar a priori la posibilidad de una disminución en la actividad de la enzima y se debería determinar nuevamente su actividad.

## **2.4. Viscosa: preparación y caracterización**

### ***2.4.1. Preparación de la solución de viscosa***

El proceso de viscosa es el más utilizado industrialmente para la disolución de celulosa y la obtención de productos regenerados de celulosa.

Se utilizó una metodología de trabajo basada en la descrita por Ray Whistler [56]. La puesta a punto se realizó con viscosas preparadas a partir de pulpa de linters de algodón. Fue necesario adaptar y/o adquirir equipamiento para las diferentes etapas, con el fin de optimizar el procedimiento de obtención de viscosa de grado técnico, para su posterior utilización en la obtención de celulosa esférica.

#### ***a) Mercerización y prensado.***

Durante la etapa de mercerización, 16 g de pulpa seca se trataron con 400 ml de NaOH 18% P/V y se agitaron mecánicamente con agitador de teflón durante 2 horas a temperatura ambiente y bajo campana, por los vapores generados por el NaOH concentrado. Durante este proceso, se obtiene álcali celulosa (AC) y se produce la remoción de hemicelulosas y otras impurezas.

La pulpa hinchada se filtró en embudo büchner utilizando una malla metálica de 150 mesh. Luego la masa de AC se envolvió en una tela para evitar posibles pérdidas de material y se prensó con una prensa marca Perkin Elmer Carver Laboratory Press, modelo C, utilizando un vaso adaptado con malla metálica de 100 mesh (Figura 2.11). Esta etapa de prensado permitió eliminar el exceso de álcali, hasta una relación entre la masa de álcali celulosa y la masa original de pulpa seca de aproximadamente 4,25. La variación en la relación de prensado influye en el posterior desmenuzado del álcali celulosa, el grado de sustitución del xantato y la velocidad de maduración de la viscosa.

La masa de AC a la que se debe llegar para una relación de prensado (RP) de 4,25 se calcula según:

$$m_{AC} = 4,25 * m_s$$

Ec. 2.14

Donde  $m_{AC}$  es la masa de AC que hay que obtener y  $m_s$  es la masa de pulpa seca original.



**Figura 2.11.** Vaso para prensado y prensa hidráulica utilizados.

*b) Envejecimiento.*

El álcali celulosa prensado se dejó durante 48 horas, en un recipiente cerrado. Este proceso se llama envejecimiento y permite controlar y disminuir el grado de polimerización.

*c) Sulfidación.*

Esta es la etapa más importante en la preparación de viscosa ya que implica la conversión de la celulosa en un derivado soluble, el xantato de celulosa. El reactivo de esterificación, sulfuro de carbono ( $CS_2$ ), se agregó al AC envejecido en diferentes concentraciones con respecto a la cantidad de celulosa presente en el álcali celulosa [18] y se dejó reaccionar en un recipiente cerrado durante 3 hs en agitador vibratorio (Figura 2.12).



**Figura 2.12.** Agitador vibratorio utilizado para la sulfidación.

Para la determinación de celulosa en AC se pesaron aproximadamente 2,5 g de AC prensado, se agregaron 100 ml de agua destilada y se llevaron a pH 7 con ácido acético 10%. La masa de AC neutralizada se filtró cuantitativamente utilizando embudo Büchner y papel de filtro de sequedad conocida, previamente tarado. Se llevó a estufa a

105°C hasta pesada constante. Paralelamente, se realizó una determinación del factor de sequedad del AC, según la Ec. 2.1.

Finalmente, el contenido de celulosa en AC se calculó según:

$$\boxed{cel_{AC}(\%) = \frac{ms_N * 100}{mh_{SN} * seq_{AC}}} \quad \text{Ec. 2.15}$$

Donde:  $ms_N$  es el peso seco de álcali celulosa neutralizado,  $mh_{SN}$  es el peso húmedo de álcali celulosa sin neutralizar y  $seq_{AC}$  es la sequedad del álcali celulosa.

Con esta información, la cantidad de  $CS_2$  a agregar se determina según:

$$\boxed{CS_2 \text{ a } _{agregar}_{(ml)} = \frac{[CS_2]_{(\%)} * m_{AC} * [cel_{AC}]_{(\%)}}{12660}} \quad \text{Ec. 2.16}$$

donde  $CS_2 \text{ a } _{agregar}_{(ml)}$  son los ml de  $CS_2$  a agregar para la reacción de xantación,  $[CS_2]_{(\%)}$  es la concentración de  $CS_2$  que se desea agregar en g  $CS_2$ /100 g de viscosa,  $m_{AC}$  es la masa de AC a reaccionar en gramos,  $[cel_{AC}]_{(\%)}$  es el contenido de celulosa en AC en g celulosa/100 g de AC.

#### d) *Disolución. Solución de viscosa.*

Para la disolución del xantato de celulosa se utilizó NaOH al 6% P/V, formandose la solución final de viscosa de color naranja. El color se debe a los subproductos formados junto con la celulosa esterificada.

La cantidad de NaOH 6% a agregar se calculó de manera de obtener una viscosa con un contenido aproximado de 6% de celulosa. Se consideró que el peso de pulpa seca original utilizado en la preparación de viscosa corresponde a 100% celulosa.

$$\boxed{NaOH \text{ a } _{agregar}_{(ml)} = \frac{\left(\frac{m_{AC}}{RP}\right) - [m_{AC} + (ml_{CS_2} * 1,266)]}{1,0648}} \quad \text{Ec. 2.17}$$

donde  $NaOH_{a\_agregar(ml)}$  son los ml de NaOH 6% a agregar para la disolución,  $m_{AC}$  es la masa de AC a reaccionar en gramos,  $RP$  es la relación de prensado a la que se ha llegado,  $ml_{CS_2}$  son los ml de  $CS_2$  agregados, 1,266 es la densidad del  $CS_2$  en g/ml y 1,0648 es la densidad del NaOH 6% en g/ml.

e) *Maduración y almacenamiento.*

La maduración es un proceso por el cual el contenido de xantato de celulosa se reduce y la cantidad de subproductos aumenta con el tiempo desde la obtención de la solución, de modo que se facilita la habilidad de coagulación de la viscosa.

El cambio químico más importante de este derivado de celulosa es la autodescomposición por pérdida de subproductos del azufre, produciéndose de esta manera la regeneración espontánea de celulosa (proporcional al aumento de temperatura), en un proceso llamado “maduración”. Para retardar este proceso, las soluciones de viscosa se conservaron a bajas temperaturas con el objeto de disminuir la velocidad de degradación de la solución, que podría impedir su utilización para la obtención de productos regenerados.

#### **2.4.2. Caracterización de viscosa**

La calidad de las viscosas técnicas preparadas puede ser evaluada a partir de diferentes parámetros, generalmente relacionados al uso final de las mismas. Algunos de estos parámetros implican controles de rutina –contenido de celulosa, álcali total, índice de sal– y otros son necesarios para evaluar su calidad.

Las técnicas de caracterización se realizaron 4 días después de finalizada la preparación de las viscosas, para asegurar la homogeneidad de la solución y mantener

constantes las condiciones a fin de evitar diferencias en las determinaciones relacionadas con la maduración de las soluciones de viscosa. En la Figura 2.13 se muestra un ejemplo de una solución de viscosa técnica obtenida.



**Figura 2.13.** Solución de viscosa obtenida.

*a) Contenido de celulosa*

El contenido de celulosa se determinó por regeneración de un film a partir de aproximadamente 1,5 gramos de viscosa en una caja de Petri [56]. Para la regeneración se utilizó una solución de  $H_2SO_4$  al 10% P/V conteniendo 2% de  $MgSO_4$ . El film regenerado se lavó varias veces con agua destilada y secado en estufa a  $105^\circ C$ .

El contenido de celulosa en viscosa se calculó según la siguiente ecuación:

$$\boxed{cel_{(\%)}} = \frac{ms * 100}{m_V} \quad \text{Ec. 2.18}$$

donde:  $ms$  es el peso seco del film de celulosa regenerado y  $m_V$  es la masa de viscosa utilizada.

*b) Alcali total*

Para determinar el álcali total [56] se disolvieron 2 gramos aproximadamente de viscosa en 50 ml de agua destilada, la mezcla se acidificó con 20 ml de  $H_2SO_4$  0,5N y se

llevó a ebullición durante 2 minutos para eliminar el sulfuro de hidrógeno. Se realizó la titulación del ácido remanente en el licor con NaOH 0,5N, utilizando fenolftaleína como indicador. El álcali total se determinó por diferencia según:

$$\boxed{\text{álcali}_{(\%)}} = \frac{2 * f_{H_2SO_4} * V_{cons}}{m_V} \quad \text{Ec. 2.19}$$

donde  $f_{H_2SO_4}$  es el factor de corrección del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5N,  $V_{cons}$  es el volumen consumido de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5N resultante de la diferencia entre el volumen agregado y el volumen gastado en la titulación,  $m_V$  es la masa de viscosa utilizada y 2 es una constante resultante de:

$$\boxed{2 = 0,5 \frac{eq}{l} * \frac{1l}{1000ml} * \frac{40g_{NaOH}}{eq_{NaOH}} * 100}$$

c) *Sulfuro total, sulfuro en subproductos y número gamma.*

El sulfuro de carbono en la viscosa está presente en tres combinaciones químicas: xantato de celulosa complejo, y dos compuestos secundarios principales resultantes de su maduración: sulfuro de sodio (Na<sub>2</sub>S) y tiocarbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CS<sub>3</sub>). El método utilizado implica la conversión del sulfuro total presente en la viscosa en sulfuro de zinc, para su subsecuente titulación iodométrica [57].

Determinación de CS<sub>2</sub> total [57]: Se preparó una dilución de 25 g de viscosa en un matraz de 250 ml con agua destilada fría. Se colocaron 100 ml de agua destilada, 10 ml de zincato de sodio y una alícuota de 10 ml de la dilución de viscosa en un erlenmeyer de 500 ml y se llevaron a ebullición durante 30 minutos, por duplicado. Paralelamente, se preparó una solución con 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M y 25 ml de I<sub>2</sub> 0,1N, que se agregaron en frío a los distintos erlenmeyers y se dejaron reaccionar durante 30 minutos para descomponer totalmente el sulfuro de zinc.

Finalmente, el exceso de yodo se tituló con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1N utilizando almidón como indicador. El contenido de  $\text{CS}_2$  total se calculó según:

$$CS_2 \text{ total}_{(\%)} = \frac{4,75 * f_{\text{iosulfato}} * V_{\text{cons}}}{m_v} \quad \text{Ec. 2.20}$$

donde:  $f_{\text{iosulfato}}$  es el factor de corrección del  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1N,  $V_{\text{cons}}$  es el volumen de  $\text{I}_2$  0,1N consumido resultante de la diferencia entre el volumen de  $\text{I}_2$  0,1 N agregado y el volumen de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1N gastado en la titulación,  $m_v$  es la masa de viscosa utilizada para la dilución y 4,75 es una constante resultante de:

$$4,75 = \frac{N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} * 1l * P_{\text{eq}_{\text{S}^{2-}}} * 250ml * PM_{\text{CS}_2} * 100}{1000ml * 10ml * 2 * PM_S}$$

Determinación de  $\text{CS}_2$  subproductos [57]: En un matraz de 500 ml, se tomaron 100 ml con bolpipeta de la dilución de viscosa preparada para la determinación de  $\text{CS}_2$  total, y se llevó a volumen con solución de NaCl saturada fría. Se mezcló por inversión y se dejó 15 minutos para coagular el xantato de celulosa. Una alícuota suficiente como para obtener 100 ml de sobrenadante se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm. Se determinó el contenido de sulfuro de carbono en subproductos ( $\text{CS}_2\text{sub}\%$ ) utilizando la misma metodología que la utilizada para sulfuro de carbono total, utilizando 50 ml de sobrenadante.

Determinación del número gamma [57]: Este parámetro se define como el número de grupos xantato por cada 100 unidades de anhidro glucosa de la celulosa y se determinó según:

$$N^\circ \gamma = \frac{213 * (CS_2\text{total}_{(\%)} - CS_2\text{subp}_{(\%)})}{cel_{(\%)}} \quad \text{Ec. 2.21}$$

donde:  $cel(\%)$  es el contenido de celulosa en viscosa calculado según Ec. 2.19, ( $CS_2 total-CS_2 subp$ ) es el contenido de  $CS_2$  como xantato de celulosa y 213 es una constante resultante de:

$$213 = \frac{162(g_{cel} / UAG)}{76(g_{CS_2} / UAG)}$$

d) *Índice de sal*

Una determinación cualitativa que indica la maduración de la viscosa, es el índice de sal [56]. Para la determinación se agregaron volúmenes de 40 ml de solución acuosa de NaCl, en concentraciones decrecientes cada 0,5% partiendo de una concentración de 10% P/V, en una serie de vasos de precipitado de 100 ml de 4 cm de diámetro, conteniendo aproximadamente 1,5 gramos de viscosa. El contenido de los vasos se agitó vigorosamente con una varilla de vidrio. Si la concentración de la sal es insuficiente, la viscosa se disuelve. Si es muy alta, se forman flóculos pesados. En la región del “índice de sal” la agitación produce turbidez (pequeñas “comas”) y ocurre la sedimentación. Cuando este precipitado ocupa alrededor de 3 a 5 mm del fondo del vaso, la concentración de sal utilizada en este punto, se considera el “índice de sal”. El resultado es independiente de la cantidad de viscosa agregada, al menos entre 0,5 y 2 gramos. Es un procedimiento reproducible y no está muy afectado por la concentración de álcali de la viscosa. Cuando el índice de sal decrece de 8-10% a 2-4%, la viscosa se considera madura para la regeneración en la forma convencional de rayón.

e) *Viscosidad intrínseca y grado de polimerización promedio viscosimétrico de un film de viscosa regenerado.*

Se determinó utilizando la metodología descrita en 2.1.2.c) para las pulpas, pero en este caso partiendo del film de celulosa regenerado a partir de viscosa, obtenido al realizar la técnica de contenido de celulosa [51].

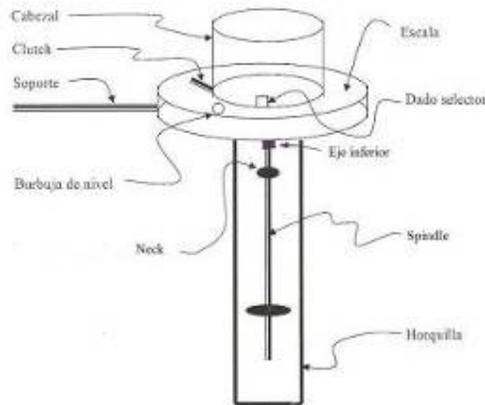
f) *Viscosidad aparente de viscosa.*

La determinación de la viscosidad aparente es un ensayo típico en el análisis de soluciones poliméricas. La viscosidad de la viscosa depende de un número de factores provenientes de las propiedades fisicoquímicas del polímero, en este caso, éster de celulosa.

En la Figura 2.14 se muestra un diagrama de un equipo de medición de viscosidad aparente, que consta de un cilindro o un disco que gira, por medio del cual se mide el esfuerzo de rotación para vencer la resistencia de la viscosa producida por el movimiento.

Esto se logra por medio del manejo del elemento de inmersión llamado “uso” (en inglés *spindle*), a través de un resorte de berilio-cobre, que es presionado a cierto grado, indicado por la posición de una aguja roja en la pantalla del viscosímetro. La marca es proporcional a la viscosidad del fluido para cualquier velocidad y *spindle*.

El viscosímetro es capaz de medir en varios rangos para dar la resistencia de avance o la deflexión del resorte (torcimiento). La viscosidad es proporcional a la velocidad del *spindle* y ésta se relaciona con el tamaño y la forma del mismo.



**Figura 2.14.** Diagrama de un equipo para medición de viscosidad aparente.

Aproximadamente 250 ml de viscosa a una temperatura de  $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , se colocaron en un vaso de precipitado de 300 ml. El *spindle* se sumergió en la viscosa hasta cubrir aproximadamente  $\frac{3}{4}$  partes del mismo. Se seleccionó la velocidad angular y se encendió el equipo, verificando previamente, mediante la burbuja de nivel, que el viscosímetro estuviera nivelado.

Antes de tomar la medición, se dejó funcionando el equipo unos 20 a 30 segundos para que el sistema alcance el régimen estacionario.

Se tomó la lectura en la escala y se determinó la viscosidad aparente en un viscosímetro marca Brookfield, modelo LVT, teniendo en cuenta el factor correspondiente a la velocidad y el número de *spindle* utilizado.

$$\eta_{\text{Brookfield}} (cP) = \text{lectura} * \text{factor}$$

Ec. 2.22



**Figura 2.15.** Viscosímetro, marca Brookfield, utilizado.

*g) Determinación del valor de taponamiento de filtro.*

El valor de taponamiento de filtro ( $K_w$ ) [58] es un parámetro indicador de la calidad de la viscosa e indirectamente, de la pulpa utilizada respecto de su habilidad de formar partículas de gel.

Determinada la viscosidad aparente Brookfield a 25°C, la viscosa se transvasó al vaso de acero inoxidable de filtración termostatzado a 25°C. El filtro del equipo se armó con un filtro *Microclar* de 4-7 micrones de tamaño de poro, entre dos piezas de tela *Batista*. El aparato se cerró en la parte superior y se aplicó una presión de  $N_2$  de 2 kg/cm<sup>2</sup>. Se puso en funcionamiento el cronómetro cuando comenzó a salir viscosa por la parte inferior y a través del filtro. Se recogió la viscosa filtrada en vasos numerados previamente tarados y se registró el tiempo y la masa, en intervalos de tiempo que permitieran obtener un mínimo de cinco mediciones.

Hermans y Bredee en 1935 [59] determinaron la Ley de filtración:

$$\frac{k_w}{2} * t = \frac{t}{M} - \frac{1}{S_0}$$

Ec. 2.23

donde  $k_w$  es la constante de taponamiento,  $t$  es el tiempo,  $M$  es la masa de filtrado y  $S_0$  es una constante, según el material del filtro y la viscosidad de la viscosa.

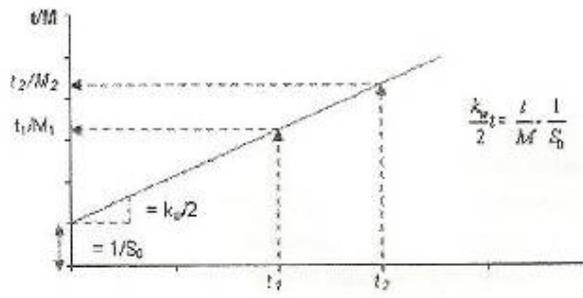
Como  $k_w$  es un valor muy pequeño, es común usar la expresión:

$$K_w = k_w * 10000 \quad \text{Ec. 2.24}$$

El valor de taponamiento de filtro,  $K_w$ , se calcula a partir de la expresión:

$$\frac{t}{M} = \frac{1}{S_0} + \frac{k_w}{2} * t \quad \text{Ec. 2.25}$$

Con los resultados obtenidos, se realizó una gráfica como la de la Figura 2.16.



**Figura 2.16.** Diagrama para el cálculo del valor de taponamiento de filtro a partir de la Ley de filtración de Hermans-Bredée [59].

A partir del valor de la pendiente de la línea recta se obtiene el  $K_w$  según:

$$K_w = \frac{k_w}{2 * 20000} \quad \text{Ec. 2.26}$$

En la Figura 2.17 se muestra el equipo utilizado para la determinación del  $K_w$ .



**Figura 2.17.** Equipo utilizado para la determinación de Kw.

## **2.5. Obtención de celulosa esférica**

### ***2.5.1. Metodología empleada***

La metodología que se utilizó para la obtención de las esferas de celulosa es la Transición Sol-Gel Térmica (TSGT) que consiste básicamente en la dispersión con agitación mecánica de una solución de celulosa o un derivado de la misma, en un solvente inmisible en agua, con una cantidad determinada de surfactante.

En un reactor de vidrio, especialmente diseñado, se colocaron 25,0 ml de viscosa con 62,5 ml de kerosene y la cantidad de surfactante necesaria. La mezcla emulsionada, con agitación continua y constante, se colocó en un baño de aceite de silicona, equipado con un controlador de temperatura marca Autonics TZN4S (Figura 2.18). La TSGT se realizó a 90°C, temperatura a la cual se hidrolizan más fácilmente los grupos xantatos y se produce el cambio de fase, durante 40 minutos. Se realizaron experiencias a diferentes velocidades y cantidad de surfactante.

En la etapa de filtración se hicieron varios lavados con etanol de uso medicinal para arrastrar el kerosene. Se regeneró la celulosa, que si bien se produce espontánea y simultáneamente con la coagulación de viscosa, se completa con el agua caliente.



**Figura 2.18.** Baño de aceite de silicona con controlador de temperatura para TSGT y material utilizado.

### ***2.5.2. Puesta a punto de la metodología. Selección de condiciones***

La puesta a punto de las condiciones del sistema para la TSGT para la obtención de celulosa esférica se realizó con viscosas preparadas a partir de la pulpa de linters de algodón.

Se analizaron los siguientes parámetros:

- a) Surfactante: se utilizó ácido oleico y se agregó en dos concentraciones: 1,0% y 1,6%. Estos son ml de ácido oleico por cada 100 gramos de solución, considerando volúmenes aditivos de viscosa y kerosene. Por lo tanto, para los 87,5 ml de solución utilizados en las diferentes corridas de TSGT, las cantidades correspondientes de surfactante son:

1,0% → 0,87 ml de surfactante agregado.

1,6% → 1,40 ml de surfactante agregado.

2,3% → 2,01 ml de surfactante agregado.

- b) Medio inmiscible: se eligió kerosene frente a clorobenceno [43, 46, 48], que son los propuestos en la bibliografía, por disponibilidad, costo y facilidad en el manejo.
- c) Tiempo de reacción: para la determinación de este parámetro se tomaron muestras del sistema emulsionado cada 10 minutos, se tomaron micrografías y se analizó la formación de esferas de viscosa y la estabilidad de las mismas con el tiempo, teniendo en cuenta la formación de agregados, deformación y/o colapso de las esferas de viscosa.
- d) Velocidad de agitación y cantidad de surfactante: se utilizaron velocidades de agitación entre 400 y 1200 rpm y cantidades de ácido oleico entre 1,0 y 2,3%.
- e) Regeneración: Se probaron dos medios de regeneración diferentes, agua caliente y una solución ácido acético y etanol.

Luego de la puesta a punto, se trabajó con las viscosas provenientes de las diferentes pulpas de trabajo.

### ***2.5.3. Caracterización de las esferas de celulosa***

- a) Medición del tamaño: Se realizó un preparado de las esferas suspendidas en agua, se sonicaron durante 1 minuto en ultrasonido, marca JP-Selecta, modelo Ultrasons-H (Figura 2.19) y se tomaron pequeñas muestras en portaobjetos. Se seleccionaron diferentes campos en el microscopio óptico, marca OLYMPUS, modelo BX51, para observación con luz incidente y transmitida, con cámara marca Olympus, modelo E-330, incorporada (Figura 2.20), y se tomaron micrografías, de manera de obtener una serie de imágenes representativas del preparado y de la corrida de celulosa esférica seleccionada. Utilizando el software Image Tool 3.00 se realizaron las mediciones de diámetro de las esferas a partir de las imágenes obtenidas, utilizando una platina de calibración. Se midieron

alrededor de 500 esferas por cada corrida de celulosa esférica, de acuerdo a la pulpa utilizada para la preparación de viscosa, a la fecha de la preparación y a la condición de TSGT, en cuanto a velocidad de agitación y concentración de surfactante empleados para la obtención de las esferas.



**Figura 2.19.** Ultrasonido, marca JP-Selecta, modelo Ultrasons-H.



**Figura 2.20.** Microscopio óptico para observación con luz incidente y transmitida, con cámara digital incorporada.

- b) Distribución de tamaños: utilizando todos los valores de diámetros de las esferas, se realizó la gráfica de porcentaje acumulado en función del tamaño y se realizaron los cálculos de valor promedio y desviación estándar. Se realizaron entre 250 y 1000 mediciones de esferas en cada condición, debido a que en algunas condiciones, la pérdida de material y/o las aglomeraciones no permitieron que las partículas se separen lo suficiente y puedan ser medidas a partir de las micrografías tomadas. Para este número de mediciones el valor del dato estadístico según distribución  $t$  y para la distribución normal  $Z$  es el mismo. Los resultados se expresaron utilizando el estadístico  $Z$  al 95% de confianza, cuyo valor es 1,96 cuando  $n$  es mayor a 30.

$$\mu = \bar{X} \pm Z_{(95\%)} * \frac{S}{\sqrt{n}}$$

- c) Observación por SEM y obtención de micrografías: Con el objeto de analizar la forma y superficie de las esferas, según la pulpa utilizada para la obtención de viscosa y la condición de TSGT, porciones de muestra se adhirieron con cinta doble faz de grafito a portamuestras metálicos. Los preparados se recubrieron con oro empleando un Sistema de Deposición Combinado metal/carbono, SPI SUPPLIES, 12157-AX, operado en atmósfera de Argón a 18 mA y durante 80 segundos. Los especímenes se examinaron con un Microscopio Electrónico de Barrido, JEOL, JSM-35C (Figura 2.21). La adquisición de las imágenes se realizó en forma digital empleando el sistema SemAfore. La observación se realizó bajo el modo de imágenes de electrones secundarios utilizando una tensión de aceleración de 20 kV.



**Figura 2.21.** Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)

- d) Determinación del área superficial: Se realizó por el método BET mediante la técnica de adsorción de  $N_2$  a  $77^\circ K$ . Se utilizó un analizador de área superficial y tamaño de poros Quantachrome Nova 1200e. Las muestras se desgasificaron previamente al vacío durante 24 hs a temperatura ambiente.
- e) Determinación de la estructura cristalina e índice de cristalinidad: Se determinó con la misma metodología y equipamiento que el utilizado para las pulpas, según 2.1.2.e).

### **3.1. Purificación alcalina de las pulpas para papel**

Los cambios más significativos que sufre la fracción celulósica ocurren durante el pulpado de la madera y durante la mercerización de la pulpa en la obtención de celulosa alcalina. Por ello es necesario conocer las características de las pulpas a utilizar en la preparación de viscosa, teniendo en cuenta los requerimientos más importantes de una pulpa para disolver: alta pureza, alta reactividad, pulpa de menor precio posible y un alto rendimiento en viscosa.

La Tabla 3.1 muestra las condiciones de los tratamientos de purificación realizados a las pulpas comerciales de pino y eucalipto.

**Tabla 3.1.** Condiciones de extracción alcalina aplicadas a las pulpas comerciales.

TRATAMIENTO	Extracción alcalina	
Concentración NaOH (% P/V)	5	10
Consistencia (%)	5	
Temperatura (°C)	20	
Tiempo (min)	60	

Las características de las pulpas tienen gran influencia en la preparación y características de las viscosas y en el comportamiento de las mismas en la obtención de productos regenerados. Por ello, se evaluaron las propiedades físicas y químicas de las pulpas originales (comerciales) y las purificadas, y los resultados obtenidos se detallan en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2.** Características de las pulpas iniciales de trabajo.

Ensayo	Linters	Euc. Orig.	E.AEx5	E.AEx10	Pino Orig.	P.AEx5	P.AEx10
$\alpha$ -cel (%)	97,0	88,9	95,8	98,7	85,9	91,8	96,1
$\beta$ -cel (%)	2,3	10,6	2,4	1,0	8,3	4,0	1,3
$\gamma$ -cel (%)	0,6	0,5	1,8	0,4	5,8	4,2	2,6
S <sub>10</sub> (%)	4,9	14,2	5,8	1,7	14,0	7,2	2,9
S <sub>18</sub> (%)	1,8	10,0	3,5	1,0	12,2	6,1	3,5
R <sub>10</sub> (%)	95,1	85,9	94,2	98,3	86,0	92,8	97,1
$[\eta]$ (ml/g)	548	790	884	799	613	731	700
DP <sub>v</sub>	1349	2186	2532	2215	1554	1970	1862
Rendimiento (%)			87,0	84,0		92,0	87,0

En base a los resultados obtenidos se pudo confirmar que la pulpa de linters utilizada cumple con las especificaciones de uso final grado filtro: posee un DP dentro de lo especificado (entre 1100 y 1600), un alto porcentaje de  $\alpha$ -celulosa (97%) y bajo contenido de hemicelulosas ( $\gamma$ -celulosa de 0,6%) [60].

Las pulpas para papel de pino y eucalipto blanqueadas comerciales, presentaron un alto contenido inicial de  $\alpha$ -celulosa y niveles de S<sub>10</sub> y S<sub>18</sub> correspondientes a una pulpa destinada a este uso. Los altos valores de viscosidad y grado de polimerización (DP) obtenidos, así como el aumento en su valor absoluto con los tratamientos alcalinos, estarían relacionados al proceso de blanqueo ECF.

Existen dos formas de expresar el grado de purificación de una pulpa celulósica: mediante su solubilidad en NaOH a distintas concentraciones y según su contenido de  $\alpha$ -celulosa. En el primer caso, se utilizaba la fracción resistente a la extracción con NaOH al 10% P/P,  $R_{10} = 100 - S_{10}$ , que correspondería a la cantidad de celulosa de alto grado de polimerización ( $\alpha$ -celulosa). Sin embargo, en los últimos años el principal concepto utilizado, que además permite evaluar la calidad de una pulpa para disolver, es el contenido de  $\alpha$ -celulosa, y las variaciones del mismo con los tratamientos de purificación resultan de gran interés técnico y económico.

Las tres pulpas iniciales analizadas presentaron valores prácticamente coincidentes de  $\alpha$ -celulosa y  $R_{10}$ . Para el caso del linters de algodón la diferencia es de solo 2% entre ambos valores, debido a que la fracción resistente está constituida prácticamente por celulosa. Para el caso de las pulpas derivadas de madera, ricas en hemicelulosas, principalmente la de eucalipto, se podría estar cuantificando como celulosa de cadena larga algunas hemicelulosas resistentes a la extracción con álcali, como son los xilanos post digestión y/o blanqueo.

En las Figuras 3.1 y 3.2 se puede observar el incremento en los niveles de  $\alpha$ -celulosa y la disminución de  $S_{18}$ , que se obtuvieron mediante los distintos tratamientos de purificación con NaOH de las pulpas para papel de eucalipto y pino.

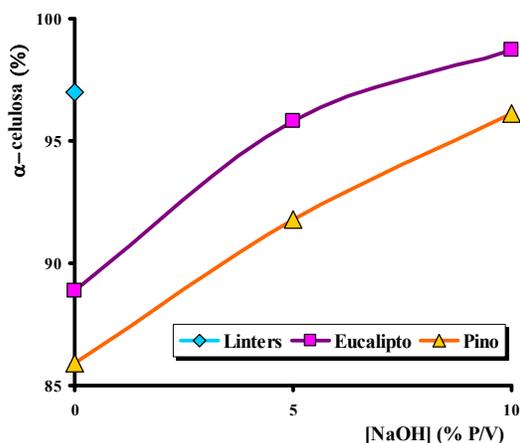


Figura 3.1.  $\alpha$ -celulosa (%) vs. [NaOH] (% P/V)

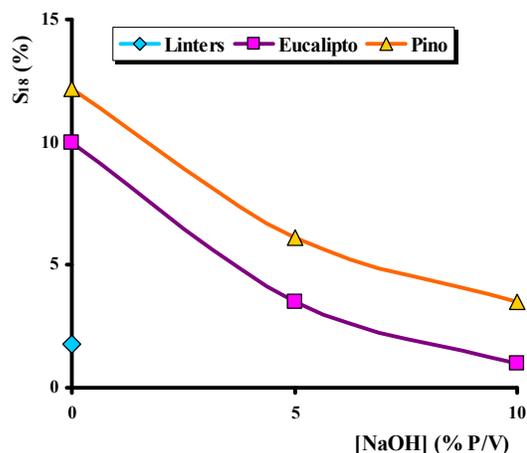


Figura 3.2.  $S_{18}$  (%) vs. [NaOH] (% P/V)

Con la purificación alcalina al 5% de la pulpa de eucalipto se logró un incremento importante en el contenido de  $\alpha$ -celulosa, cercano al de linters de algodón, pero con un valor de  $S_{18}$  aún elevado (3,5%). Con la mayor concentración de álcali (10%) se alcanzó para las pulpas de pino y eucalipto, el nivel de  $\alpha$ -celulosa requerido para una pulpa de alta pureza, aunque el valor de  $S_{18}$  permanece alto para la pulpa de pino (3,5%).

Al realizar tratamientos alcalinos es importante considerar la pérdida de material relacionada a la remoción de hemicelulosas y celulosa degradada. La Figura 3.3 muestra la pérdida de rendimiento de las pulpas purificadas en función del contenido de  $\alpha$ -celulosa.

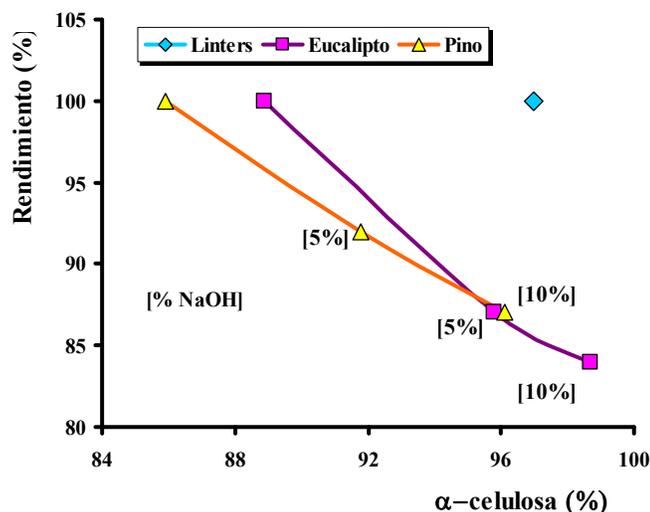


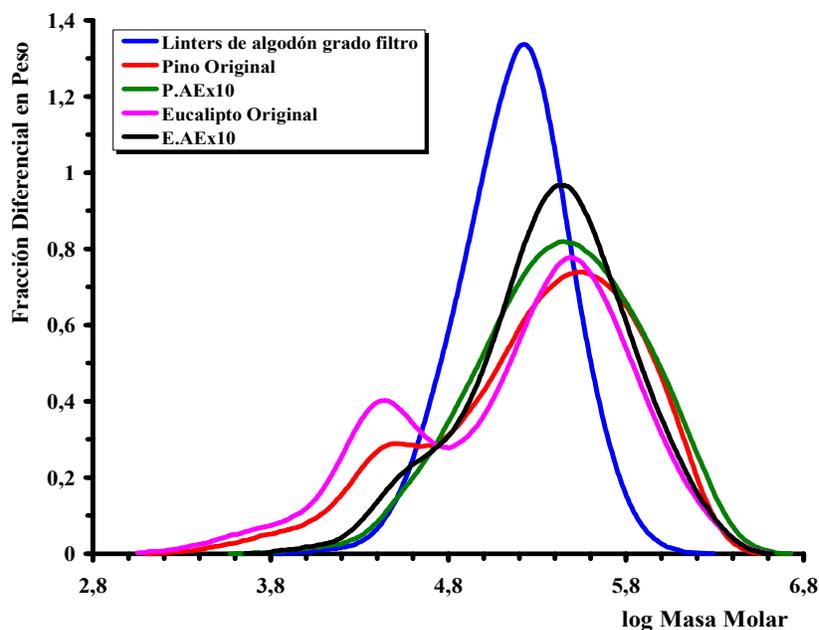
Figura 3.3. Rendimiento de purificación (%) vs. contenido de  $\alpha$ -celulosa

Considerando como eficiencia de purificación la relación entre el aumento de  $\alpha$ -celulosa y la pérdida de material, para el caso de la pulpa de eucalipto se observó, con ambas concentraciones de NaOH, baja eficiencia de purificación (promedio 0,57) con una importante pérdida de material. Para la pulpa de pino, la pérdida de material fue menor, con una mejor eficiencia de purificación para ambas concentraciones de NaOH, con un promedio de 0,76.

El efecto del tratamiento de purificación con NaOH al 10% fue también analizado mediante la distribución de masa molar (DMM) realizada por cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) con detección de dispersión multiangular (MALLS) usando solución de LiCl/DMAc como eluente.

Para la producción de derivados de celulosa y celulosa regenerada es deseable una distribución homogénea del grado de polimerización. Las distribuciones de masa molar

para las pulpas iniciales y las pulpas de eucalipto y pino purificadas con NaOH 10% se muestran en la Figura 3.4.



**Figura 3.4.** Distribución de Masa Molar (DMM) de las pulpas de linters de algodón, eucalipto y pino originales, E.AEx10 y P.AEx10.

El efecto de la remoción de hemicelulosas y/o celulosa de bajo grado de polimerización se puede observar claramente comparando las curvas de elución de las pulpas para papel iniciales con las purificadas. Las DMM de las pulpas para papel fueron relativamente anchas, presentando dos picos que representan la celulosa (fracción de alto peso molecular) y las hemicelulosas (fracción de bajo peso molecular), estas últimas prácticamente desaparecieron con el tratamiento alcalino, presentando las pulpas tratadas una distribución más angosta.

En la Tabla 3.3 se presentan los valores numéricos porcentuales de la evaluación de las pulpas a partir de los análisis de SEC.

**Tabla 3.3.** Propiedades de la distribución de masa molar de las pulpas.

PULPA	Mw (kg/mol)	DPv	PDI	DP < 50 (%)	DP < 100 (%)	DP > 2000 (%)
Linters de algodón -grado filtro-	190,2	1349	1,68	-	0,3	12,9
Eucalipto Original	327,5	2186	7,26	3,4	8,2	34,6
Pino Original	381,4	1554	5,85	2,0	5,1	40,7
E.AEx10	377,3	2215	2,91	0,1	0,8	39,7
P.AEx10	446,4	1862	3,10	0,1	0,7	44,5

M<sub>w</sub>: Masa Molar promedio en peso.

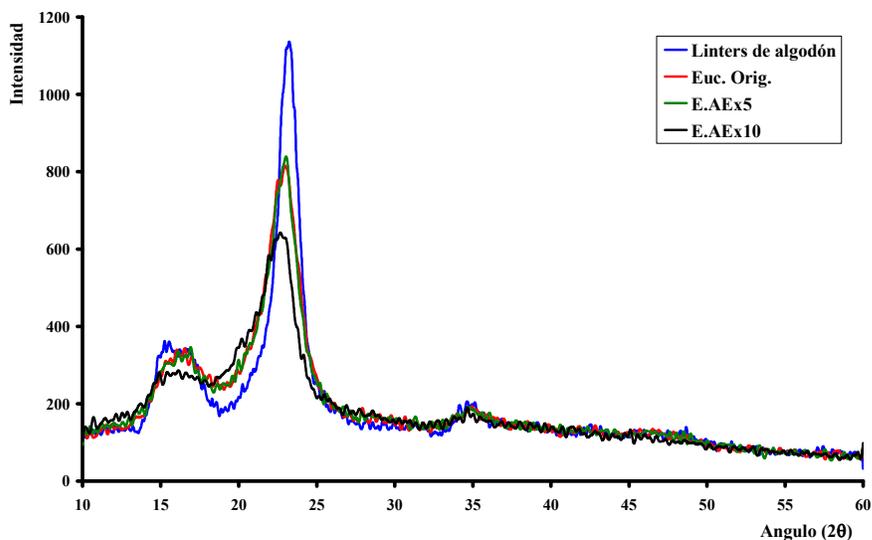
PDI: Índice de Polidispersidad (M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub>).

DP<sub>v</sub>: Grado de Polimerización promedio viscosimétrico [51].

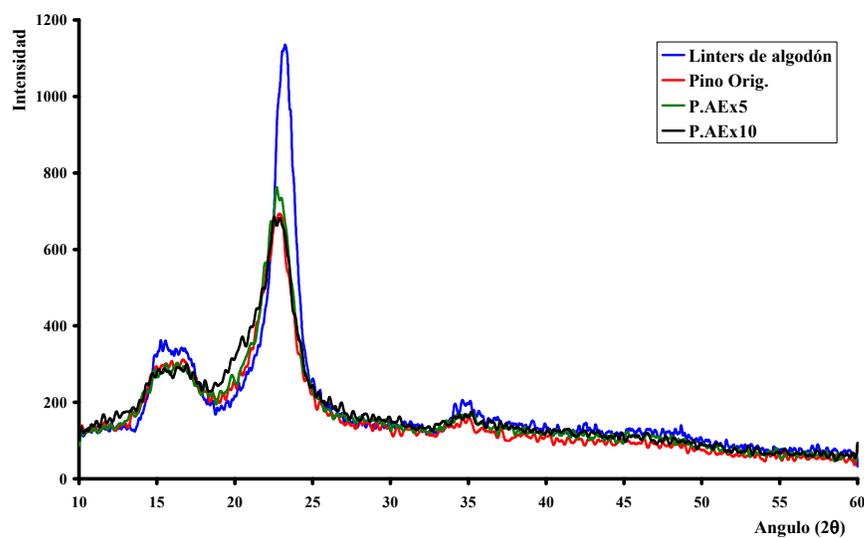
Como se esperaba, la pulpa de linters de algodón grado filtro presentó la distribución más angosta con el PDI más bajo del grupo (1,68). Para el caso de las pulpas, tanto de eucalipto como de pino, con el tratamiento alcalino se logró disminuir considerablemente las elevadas polidispersidades de las pulpas iniciales, alcanzando aproximadamente un PDI de 3, siendo igualmente el doble de la pulpa de linters.

Ambas pulpas purificadas mostraron una proporción muy baja de material de bajo peso molecular (DP<100) pero la fracción de DP>2000 es muy elevada con respecto a la de linters.

Para analizar posibles cambios en la celda cristalina de la celulosa en las pulpas con los tratamientos alcalinos, se realizaron los difractogramas de Rayos X de las pulpas iniciales y de las purificadas con álcali en ambas concentraciones. Los difractogramas obtenidos para estas pulpas se muestran en las Figuras 3.5 y 3.6.



**Figura 3.5.** Difractogramas correspondientes a linters de algodón, eucalipto original, E.AEx5 y E.AEx10.



**Figura 3.6.** Difractogramas correspondientes a linters de algodón, pino original, P.AEx5 y P.AEx10.

La celda cristalina predominante en la celulosa de madera y pulpa celulósica es Celulosa I. Los máximos observados son producidos por reflexiones específicas de las regiones cristalinas. Para Celulosa I el pico cristalino correspondiente al plano de reflexión hkl 002 se encuentra entre 22° y 23°, y la zona desordenada entre 18° y 19° [52]. En la Tabla 3.4 se resume la ubicación del pico cristalino y de la zona desordenada,

y el índice de cristalinidad (CrI) calculado según lo descripto en el capítulo 2.1.2e), para las pulpas de trabajo.

**Tabla 3.4.** Ubicación del pico cristalino y zona desordenada e índice de cristalinidad de las pulpas de trabajo.

PULPA	Linters	Euc. Orig.	E.AEx5	E.AEx10	Pino Orig.	P.AEx5	P.AEx10
$2\theta_{002}$	23,2	22,9	23,0	22,7	22,9	22,8	22,8
$2\theta_{am}$	18,8	19,1	18,5	18,2	19,0	18,7	18,4
CrI (%)	85,2	71,5	73,0	64,8	70,6	73,4	65,5

Los tratamientos alcalinos pueden generar cambios en la celda cristalina mediante el proceso de mercerización, que puede realizarse en diferentes condiciones de concentración de álcali y temperatura [4, 13, 56, 63]. A partir de los resultados obtenidos se pudo observar que el pico cristalino y la zona desordenada se encontraron en el rango correspondiente a Celulosa I, en todas las pulpas, por lo que las condiciones utilizadas para la purificación alcalina no fueron suficientes para generar cambios en la celda cristalina de la celulosa de las pulpas.

### **3.2. Tratamientos enzimáticos**

Una alta accesibilidad de la pulpa de trabajo es un prerequisite esencial para reacciones de sustitución homogénea de celulosa. Se analizó la posibilidad de incrementar la accesibilidad y, en consecuencia, la reactividad del material celulósico mediante tratamiento con la enzima MULTIFECT A40 [19, 26, 30, 61].

#### ***3.2.1. Determinación de la actividad enzimática***

Para el uso adecuado de una enzima es necesario determinar su actividad enzimática. Para ello se realiza una curva a diferentes concentraciones conocidas de enzima y se determina la cantidad de glucosa producida por la enzima frente a la CMC,

utilizando una curva de calibrado a concentraciones conocidas de glucosa. Se realizan los cálculos de la actividad de la enzima frente a la CMC a partir de la concentración crítica de enzima que produce 0,5 mg de glucosa, en un tiempo determinado, a pH y temperatura óptimos de la enzima.

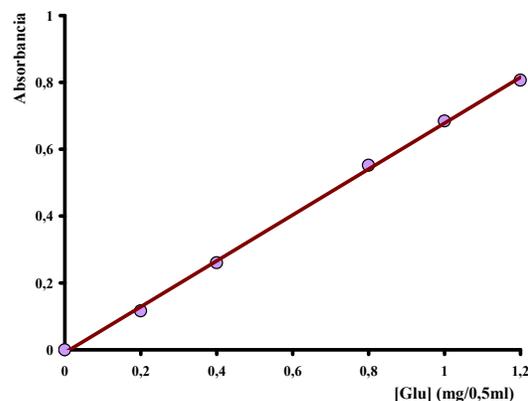
a) *Curva de calibrado glucosa/buffer fosfato pH 6/CMC.*

Para la determinación de la actividad enzimática se utilizó como sustrato una solución de carboximetilcelulosa (CMC) al 2% P/V, solución buffer fosfato pH 6, a 45°C, durante 30 minutos, condiciones determinadas según las especificaciones técnicas de la enzima.

La preparación de los estándares de glucosa se realizó a partir de una “solución madre”, que se preparó considerándose la pureza y la sequedad de la glucosa. A partir de la solución madre de 10mg/ml, se obtuvo por dilución una “solución hija” de 4mg/ml (2mg/0,5 ml). De esta “solución hija” se tomaron los volúmenes exactos necesarios para obtener las concentraciones de glucosa utilizadas. Los resultados obtenidos para la curva de calibrado glucosa/buffer fosfato pH 6/CMC, se presentan en la Tabla 3.5 y la curva obtenida en la Figura 3.7.

**Tabla 3.5.** Curva de calibrado glucosa/buffer pH 6/CMC.

[Glucosa] (mg/0,5mL)	Absorb. <sub>540 nm.</sub>
0,0	0,0000
0,2	0,1161
0,4	0,2605
0,8	0,5521
1,0	0,6842
1,2	0,8066



**Figura 3.7.** Curva de calibrado glucosa/buffer pH 6/CMC.

La ecuación de la recta obtenida del análisis de regresión lineal con un coeficiente  $R^2$  de 0,999 fue:

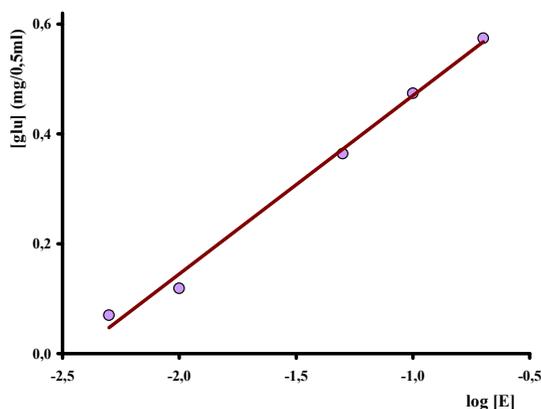
$$Abs_{540nm} = 0,6871 * [glu]_{(mg/0,5ml)} - 0,009 \quad \text{Ec. 3.1}$$

b) *Actividad de la enzima MULTIFECT A40 frente a CMC.*

Los resultados de glucosa producida (obtenidos a través de la Ec. 3.1) utilizando diferentes concentraciones de enzima frente a CMC y en las mismas condiciones que para la curva de calibrado, se muestran en la Tabla 3.6 y la curva para el cálculo de la concentración crítica de enzima, en la Figura 3.8.

**Tabla 3.6.** Glucosa producida a concentraciones de enzima conocida frente a CMC.

[E] (mg/0,5ml)	log [E]	Abs <sub>E</sub>	Abs <sub>BE</sub>	Abs <sub>E</sub> - Abs <sub>BE</sub>	[Glu] <sub>Ec. 3.1</sub>
0,0050	-2,3010	0,0405	0,0016	0,0389	0,0700
0,0100	-2,0000	0,0751	0,0024	0,0727	0,1190
0,0500	-1,3010	0,2460	0,0048	0,2412	0,3640
0,1000	-1,0000	0,3203	0,0035	0,3168	0,4740
0,2000	-0,6990	0,3900	0,0045	0,3855	0,5740



**Figura 3.8.** Curva Glucosa vs log [E]

La ecuación de la recta obtenida del análisis de regresión lineal con un coeficiente  $R^2$  de 0,9932 fue:

$$\boxed{[glu]_{(mg/0,5ml)} = 0,3253 * \log[E] + 0,7952} \quad \text{Ec. 3.2}$$

Para una producción exacta de 0,5 mg de glucosa, la concentración crítica de enzima fue:

$$\boxed{\log[E] = \frac{(0,5 - 0,7952)}{0,3253} = -0,9075 \Rightarrow [E] = 0,124\%}$$

La actividad de la enzima que produjo 0,5 mg de glucosa, durante 30 minutos, en una reacción conteniendo 0,185 UI fue:

$$\boxed{CMC_{asa} = 150(UI/ml)} \quad \text{Ec. 3.3}$$

### **3.2.2. Hidrólisis enzimática de las pulpas**

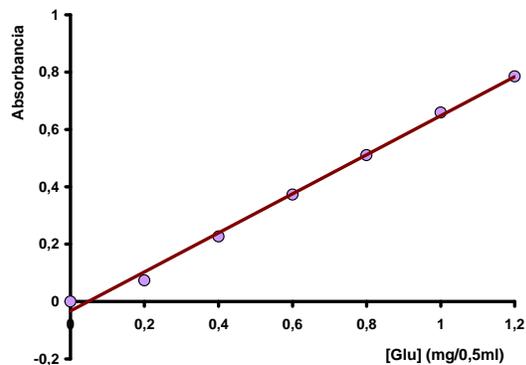
#### **a) Curva de calibrado glucosa/buffer fosfato pH 6.**

Durante la hidrólisis enzimática de una pulpa se producen azúcares reductores, cuya medición se realiza en el licor residual, utilizando una curva de calibrado glucosa/buffer fosfato pH 6.

Los estándares de glucosa se prepararon de la misma manera que en el punto 3.2.1.a). Los valores de absorbancia obtenidos se muestran en la Tabla 3.7 y la curva correspondiente, en la Figura 3.9.

**Tabla 3.7.** Curva glucosa/buffer pH 6.

[Glucosa] (mg/0,5mL)	Absorb. <sub>540 nm.</sub>
0,0	0,0000
0,2	0,0736
0,4	0,2272
0,6	0,3732
0,8	0,5109
1,0	0,6594
1,2	0,7853

**Figura 3.9.** Curva calibrado Glucosa/buffer pH 6

La ecuación de la recta obtenida del análisis de regresión lineal con un coeficiente  $R^2$  de 0,9957 fue:

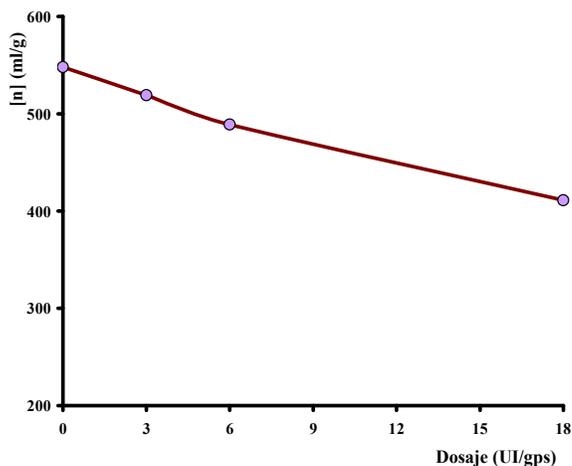
$$Abs_{540nm} = 0,6806 * [glu]_{(mg / 0,5ml)} - 0,0327 \quad \text{Ec. 3.4}$$

Con los datos de absorbancia del licor residual, la Ec. 3.4 y la Ec. 2.13, se calcularon los azúcares reductores producidos durante los diferentes tratamientos enzimáticos. Debido a la baja capacidad del equipamiento utilizado, se realizaron varios tratamientos enzimáticos en las mismas condiciones para obtener la cantidad de pulpa tratada necesaria para continuar con las etapas del trabajo. Entre las distintas corridas, no se consideraron importantes las diferencias encontradas en la producción de azúcares reductores.

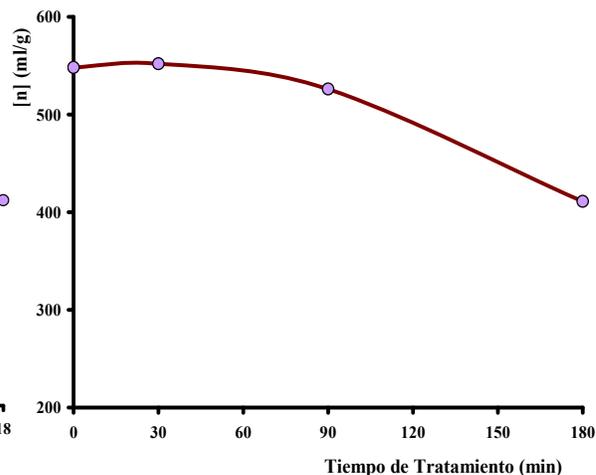
*b) Puesta a punto de la metodología. Selección de condiciones.*

Para definir las condiciones de tratamiento enzimático se analizó la evolución de la viscosidad intrínseca con el dosaje de enzima aplicado, según lo revisado en la bibliografía [23]. Para ello se realizaron tratamientos de hidrólisis enzimática a 10 g de pulpa seca de linters de algodón en pequeñas bolsas plásticas, utilizando diferentes condiciones en cuanto a dosajes de enzima y tiempos de reacción.

En las Figuras 3.10 y 3.11 se observa la variación de la viscosidad intrínseca de la pulpa con el aumento del dosaje de enzima en UI por gramo de pulpa seca (UI/g) y con el tiempo de reacción (min), respectivamente.



**Figura 3.10.** Variación de la viscosidad intrínseca (ml/g) en función del dosaje de enzima aplicado (UI/g), durante 180 minutos de tratamiento.



**Figura 3.11.** Variación de la viscosidad intrínseca (ml/g) en función del tiempo de tratamiento (min), para un dosaje de 18 UI/g.

Para analizar el efecto de mezclado, se realizó una prueba en paralelo sobre 30 g de pulpa seca en el reactor batch de acero inoxidable, con 30 UI/g de enzima y durante 180 minutos. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.8.

**Tabla 3.8.** Variación de la viscosidad intrínseca con el proceso de tratamiento.

Linters de algodón	Bolsa plástica	Reactor
[η] (ml/g)	479	422

Se observaron variaciones en la viscosidad intrínseca atribuidas al efecto más homogéneo de mezclado del reactor batch con mayor cantidad de muestra que en las bolsas. Debido a que el objetivo era alcanzar un rango determinado de viscosidad y no un valor específico, no se consideró importante la diferencia de viscosidad intrínseca obtenida con ambas metodologías.

A partir de 30 g secos de pulpa, en el reactor batch de acero inoxidable, utilizando 18 UI/g de enzima durante 180 minutos, se analizó la disminución de la viscosidad intrínseca y la reactividad de Fock post-tratamiento. La Tabla 3.9 muestra los resultados obtenidos de ambos parámetros, antes y después del tratamiento enzimático, para las tres pulpas utilizadas: linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10.

**Tabla 3.9.** Viscosidad intrínseca y reactividad de Fock de las pulpas de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10, con y sin tratamiento enzimático.

	Linters	Linters.Enz	E.AEx10	E.AEx10.Enz	P.AEx10	P.AEx10.Enz
$[\eta]$ (g/ml)	548	411	799	240	700	289
Reactividad de Fock (%)	68.5	68.4	67.3	82.1	69.8	82.9

La reactividad de la pulpa de linters de algodón no presentó cambios debido al tratamiento enzimático, por lo que se utilizó como pulpa de referencia sin dicho tratamiento. Sin embargo, en las pulpas de E.AEx10 y P.AEx10 se pudo observar una disminución muy marcada de la viscosidad intrínseca y un aumento importante de la reactividad luego del tratamiento enzimático, según lo predicho por la bibliografía.

La manipulación de la pulpa de P.AEx10 tratada con enzimas generó varios inconvenientes en la preparación de viscosa, principalmente en la etapa de prensado. Por ello se continuó con los tratamientos enzimáticos solamente sobre la pulpa E.AEx10.

*c) Aplicación de la metodología.*

En la Tabla 3.10 se resume la secuencia de tratamientos aplicados a la pulpa de eucalipto original.

**Tabla 3.10.** Condiciones de extracción alcalina y tratamiento enzimático a la pulpas de eucalipto y pino originales.

TRATAMIENTO	Extracción alcalina	Enzimático
Concentración NaOH (% P/V)	10	
Dosaje de Enzima (UI/g)		18
Consistencia (%)	5	5
Temperatura (°C)	20	45
Tiempo (min)	60	180

En la Tabla 3.11 se muestran los resultados obtenidos correspondientes a la caracterización física y química de la pulpa E.AEx10 con y sin tratamiento enzimático, comparada con la pulpa de referencia, linters de algodón, teniendo como objetivo analizar el efecto del tratamiento enzimático sobre las propiedades.

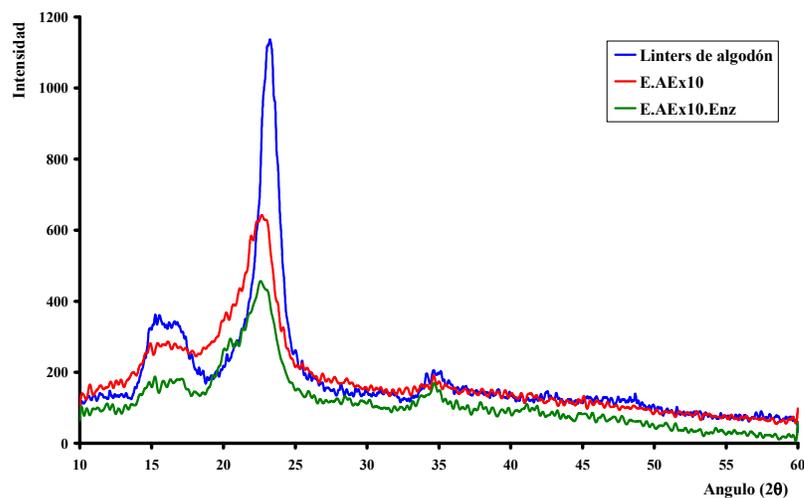
**Tabla 3.11.** Características químicas y físicas de la pulpa E.AEx10.Enz.

Ensayo	Linters	E.AEx10	E.AEx10.Enz
$\alpha$ -cel (%)	97	98,7	85,5
$\beta$ -cel (%)	2,3	0,95	13
$\gamma$ -cel (%)	0,6	0,35	1,5
S <sub>10</sub> (%)	4,9	1,7	20,9
S <sub>18</sub> (%)	1,8	1	13,8
R <sub>10</sub> (%)	95,1	98,3	79,1
[ $\eta$ ] (ml/g)	548	799	240
DP <sub>v</sub>	1349	2215	570
Rendimiento (%)		84	71 <sup>(*)</sup>

(\*) Rendimiento expresado sobre la pulpa de eucalipto original.

Debido a la intensidad del tratamiento enzimático se obtuvo una disminución muy marcada en el valor de  $\alpha$ -celulosa y un notable aumento del contenido de celulosa degradada ( $\beta$ -celulosa y S<sub>10</sub>). Dichas condiciones tuvieron gran influencia sobre la viscosidad intrínseca y el DP<sub>v</sub>, obteniéndose los valores recomendados por la bibliografía [23].

De la misma manera que con las pulpas purificadas con álcali, se analizó la existencia o no de cambios en la estructura cristalina por efecto del tratamiento enzimático, mediante difracción de RX. En la Figura 3.12 se muestran los difractogramas obtenidos para las pulpas de la Tabla 3.11.



**Figura 3.12.** Difractogramas correspondientes a linters de algodón, E.AEx10 y E.AEx10.Enz.

En la Tabla 3.12 se resume la ubicación del pico cristalino, de la zona desordenada y el índice de cristalinidad (CrI) calculados según lo descrito en el capítulo 2.1.2e), para cada una de las pulpas comparadas en esta etapa.

**Tabla 3.12.** Ubicación de los picos cristalino y amorfo e índice de cristalinidad de las pulpas de la Tabla 3.10.

PULPA	Linters	E.AEx10	E.AEx10.Enz
$2\theta_{002}$	23,2	22,7	22,6
$2\theta_{am}$	18,8	18,2	17,7
CrI (%)	85,2	64,8	72,7

El pico cristalino y la zona de celulosa desordenada en la pulpa E.AEx10.Enz, se ubicaron dentro del rango correspondiente a Celulosa I, presentando un leve corrimiento la zona desordenada. Por lo que el tratamiento enzimático no generó cambios importantes en la celda cristalina de la celulosa.

### **3.3. Cambios en la accesibilidad/reactividad de las pulpas con los diferentes tratamientos**

Las reacciones químicas que puede sufrir una pulpa en condiciones heterogéneas, son dependientes de la reactividad y la accesibilidad del material [12]. Debido a que la interacción entre las moléculas en las regiones no cristalinas está relacionada a la accesibilidad del material [12], se determinaron los valores de retención de agua (WRV) para analizar la accesibilidad de las pulpas de trabajo y su solubilidad en NaOH al 9% P/P a -5°C para estudiar la cantidad de material soluble de las mismas.

En la Tabla 3.13 se muestran los resultados de WRV y solubilidad en NaOH al 9% para las pulpas de trabajo.

**Tabla 3.13.** WRV y solubilidad en NaOH 9% de las pulpas de trabajo.

	WRV (g/g)	Solubilidad NaOH 9%
Linters	0,62	3,91
Euc. Orig.	1,13	11,59
E.AEx5	1,29	No determinado
E.AEx10	1,28	3,23
E.AEx10.Enz12	1,46	No detectado
Pino Orig.	0,97	11,52
P.AEx5	1,08	No determinado
P.AEx10	1,20	5,59

Se observa una marcada disminución en la solubilidad en NaOH 9% entre las pulpas iniciales y las purificadas con NaOH al 10%, llegando a los valores de la pulpa de referencia, linters de algodón. No se pudo realizar este análisis a la pulpa tratada con enzimas, debido a que las severas condiciones del tratamiento enzimático produjeron mucha celulosa degradada, formándose una fase intermedia de gel durante la centrifugación, que no permitió continuar con las etapas de la metodología.

En términos de WRV, las pulpas purificadas con NaOH al 10% muestran una mayor accesibilidad al agua con respecto a la pulpa de linters de algodón, debido a que

esta última es menos accesible por el alto grado de cristalinidad que posee. Más importante aún es el aumento de accesibilidad para la pulpa tratada con enzimas, lo que también podría estar relacionado a la disminución en el grado de polimerización por efecto del tratamiento.

Otro parámetro importante relacionado a la accesibilidad de los reactivos a la celulosa y que es dependiente de la estructura y morfología de las fibras, es la reactividad de la pulpa [12]. La reactividad es determinada por las condiciones de reacción en los procesos de conversión [12], por lo que en este trabajo se determinó por el método de Fock según la metodología descrita en el capítulo 2.1.2.g), que permite evaluar la calidad de una pulpa destinada a la producción de viscosa para la obtención de productos regenerados.

La Figura 3.13 muestra los valores de reactividad, expresados como rendimiento de celulosa regenerada, para las pulpas de trabajo.

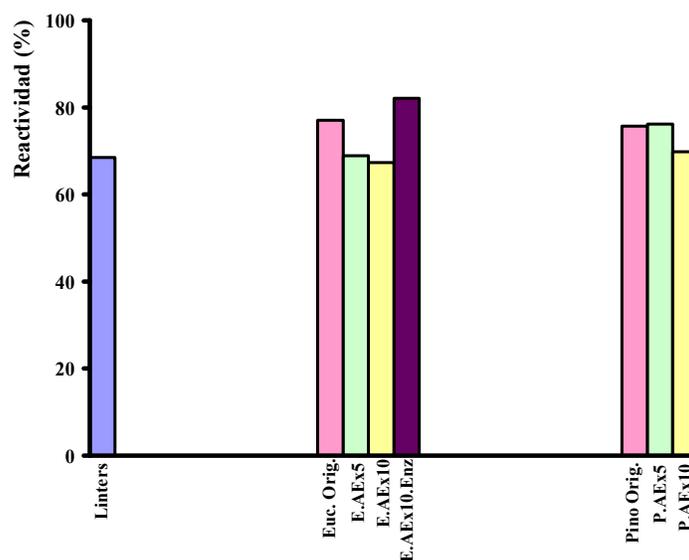


Figura 3.13. Reactividad de Fock de todas las pulpas de trabajo.

La reactividad de acuerdo a Fock expresada en porcentaje en peso describe la cantidad de pulpa que se disuelve durante la preparación de la solución de viscosa. Consecuentemente, altos valores obtenidos a partir del test de Fock indican alta reactividad de la pulpa pero pueden ser erróneos porque los resultados también pueden incluir hemicelulosas solubles en álcali, naturalmente más reactivas. Esto podría explicar los altos valores de reactividad obtenidos para las pulpas iniciales de eucalipto y pino frente a las purificadas con NaOH.

El importante aumento de reactividad observado en la pulpa tratada con enzimas es el comportamiento esperado. Según *Engström et al.* el efecto de activación no estaría solamente relacionado a la disminución de la viscosidad intrínseca [26]. En su trabajo realizó la comparación de una pulpa tratada con enzimas con la misma pulpa sujeta a hidrólisis ácida, encontrando que para una misma viscosidad, la pulpa tratada con enzimas presenta mayor reactividad. Este comportamiento tampoco pudo demostrarlo aun a partir de las distribuciones de masa molar de las pulpas, por lo que habría otro mecanismo involucrado en la mejora de *swelling* de la estructura de la celulosa durante el tratamiento enzimático.

### **3.4. Preparación y caracterización de viscosa**

La puesta a punto de la metodología de preparación de viscosa, descrita en el capítulo 2.4, se realizó con la pulpa de referencia, linters de algodón grado filtro.

#### ***3.4.1. Viscosas a partir de las diferentes pulpas de trabajo***

Una vez establecidas las condiciones, se prepararon viscosas con las pulpas de eucalipto y pino originales y las purificadas con NaOH, agregando una concentración

de 29% de CS<sub>2</sub> en la etapa de sulfidación. Las características de las viscosas obtenidas se muestran en la Tabla 3.14 y los resultados se expresan como:

$$\boxed{\bar{X} \pm S}$$

donde  $\bar{X}$  es el valor promedio de las mediciones y  $S$  es la desviación estándar de los mismos.

Luego se prepararon viscosas con dosajes de CS<sub>2</sub> entre 17 y 29%, con la pulpa de referencia, linters de algodón, y con la pulpa E.AEx10.Enz, teniendo como objetivo analizar la influencia del aumento de reactividad sobre las características de las viscosas obtenidas y, en consecuencia, la posibilidad de disminuir el consumo del reactivo de esterificación.

Las características de las viscosas obtenidas se muestran en la Tabla 3.15 y los resultados se expresan como:

$$\boxed{\bar{X} \pm S}$$

donde  $\bar{X}$  es el valor promedio de las mediciones y  $S$  es la desviación estándar de los mismos.

**Tabla 3.14.** Características de las viscosas obtenidas con las pulpas de Eucalipto original, E.AEx5, E.AEx10, pino original, P.AEx5 y P.AEx10, con 29% de CS<sub>2</sub>.

VISCOSA	RP	cel AC (%)	cel (%)	alcali (%)	CS <sub>2</sub> total (%)	CS <sub>2</sub> subp (%)	CS <sub>2</sub> xantato (%)	Gamma	[η] <sub>film</sub> (ml/g)	DP <sub>v</sub> <sub>film</sub>
Euc. Orig.	4,27 ± 0,02	58,1 ± 2,1	5,27 ± 0,17	7,62 ± 0,04	2,57 ± 0,29	1,53 ± 0,31	1,04 ± 0,02	42 ± 0,5	321 ± 12,0	763 ± 28
E.AEx5	4,27 ± 0,10	62,0 ± 2,6	5,74 ± 0,14	7,48 ± 0,17	2,94 ± 0,41	1,70 ± 0,14	1,24 ± 0,28	46 ± 10,8	337 ± 15,6	829 ± 36,1
E.AEx10	4,28 ± 0,11	62,7 ± 6,2	6,26 ± 0,83	7,56 ± 0,17	2,92 ± 0,50	1,68 ± 0,48	1,23 ± 0,15	43 ± 9,0	331 ± 24,0	788 ± 59,4
Pino Orig.	4,25 ± 0,01	57,1 ± 3,3	4,69 ± 0,57	7,73 ± 0,24	2,39 ± 0,51	1,34 ± 0,34	1,05 ± 0,85	46 ± 33	314 ± 2	747 ± 5
P.AEx5	4,24 ± 0,07	59,6 ± 3,6	5,51 ± 0,21	7,57 ± 0,18	2,87 ± 0,30	1,69 ± 0,23	1,18 ± 0,25	45 ± 8	330 ± 6	784 ± 6
P.AEx10	4,23 ± 0,04	60,0 ± 4,8	5,90 ± 0,30	7,53 ± 0,15	2,99 ± 0,64	1,81 ± 0,28	1,18 ± 0,47	42 ± 16	337 ± 4	802 ± 10

**Tabla 3.15.** Características de las viscosas obtenidas con las pulpas de linters de algodón y E.AEx10.Enz con diferentes dosajes de CS<sub>2</sub>.

VISCOSA	Dosaje CS <sub>2</sub>	RP	cel AC (%)	cel (%)	alcali (%)	CS <sub>2</sub> total (%)	CS <sub>2</sub> subp (%)	CS <sub>2</sub> xantato (%)	Gamma	[η] <sub>film</sub> (ml/g)	DP <sub>v</sub> <sub>film</sub>
Linters_29	29	4,23 ± 0,03	60,8 ± 6,0	6,01 ± 0,09	7,75 ± 0,41	2,59 ± 0,07	1,42 ± 0,27	1,17 ± 0,34	41 ± 12	250 ± 15	597 ± 35
Linters_25	25	4,26 ± 0,04	58,7 ± 2,3	5,84 ± 0,04	7,42 ± 0,27	2,57 ± 0,03	1,37 ± 0,04	1,21 ± 0,06	44 ± 3	275 ± 11	654 ± 25
Linters_21	21	4,32 ± 0,16	59,1 ± 1,3	5,88 ± 0,06	7,75 ± 0,19	2,18 ± 0,08	0,95 ± 0,21	1,23 ± 0,13	45 ± 4	291 ± 12	692 ± 28
Linters_17	17	4,35 ± 0,17	62,9 ± 2,4	5,87 ± 0,04	7,70 ± 0,46	2,17 ± 0,04	0,96 ± 0,08	1,21 ± 0,04	44 ± 1	284 ± 5	675 ± 11
Euc.AEx10.Enz12_29	29	4,25 ± 0,02	57,3 ± 2,3	5,06 ± 0,18	7,56 ± 0,08	2,81 ± 0,61	1,83 ± 0,46	0,98 ± 0,23	42 ± 11	143	341
Euc.AEx10.Enz12_25	25	4,24 ± 0,01	58,0 ± 0,71	5,02 ± 0,16	7,51 ± 0,27	2,30 ± 0,13	1,38 ± 0,01	0,93 ± 0,13	39 ± 4	137	327
Euc.AEx10.Enz12_21	21	4,24 ± 0	56,2 ± 2,6	4,75 ± 0,23	7,53 ± 0,13	2,16 ± 0,23	1,37 ± 0,30	0,79 ± 0,06	35 ± 1	140	335
Euc.AEx10.Enz12_17	17	4,32 ± 0,07	57,3 ± 2,2	4,59 ± 0,21	7,43 ± 0,27	1,84 ± 0,39	1,21 ± 0,36	0,62 ± 0,15	29 ± 6	142	338

Las viscosas con 29% de sulfuro de carbono (Tabla 3.14), presentaron pequeñas diferencias debido a las diferentes características de las pulpas utilizadas. El contenido de celulosa en AC fue en aumento, en coincidencia con el aumento de  $\alpha$ -celulosa de las pulpas con los tratamientos de purificación alcalina. Si bien se realizaron los cálculos para obtener aproximadamente un 6% de celulosa en viscosa, se obtuvieron valores entre 4,7 y 6,3%, este comportamiento estaría relacionado a la heterogeneidad química de las pulpas utilizadas. Con la pulpa tratada con enzimas a diferentes dosajes de sulfuro de carbono (Tabla 3.15) se obtuvieron viscosas con contenidos de celulosa entre 4,5 y 5,0%. En cuanto a la pulpa de linters de algodón, el contenido de celulosa se mantuvo prácticamente constante en 6,0%, aún con la variación en el dosaje de sulfuro de carbono.

La viscosidad intrínseca y el  $DP_v$  del film de celulosa regenerada a partir de las distintas viscosas reflejaron la eficacia de la etapa de envejecimiento durante la preparación de viscosa.

El contenido de álcali total fue entre 7 y 8% para todas las viscosas obtenidas. Los valores obtenidos en las características de las viscosas estarían dentro de los valores usuales de las viscosas técnicas comerciales [62, 63]

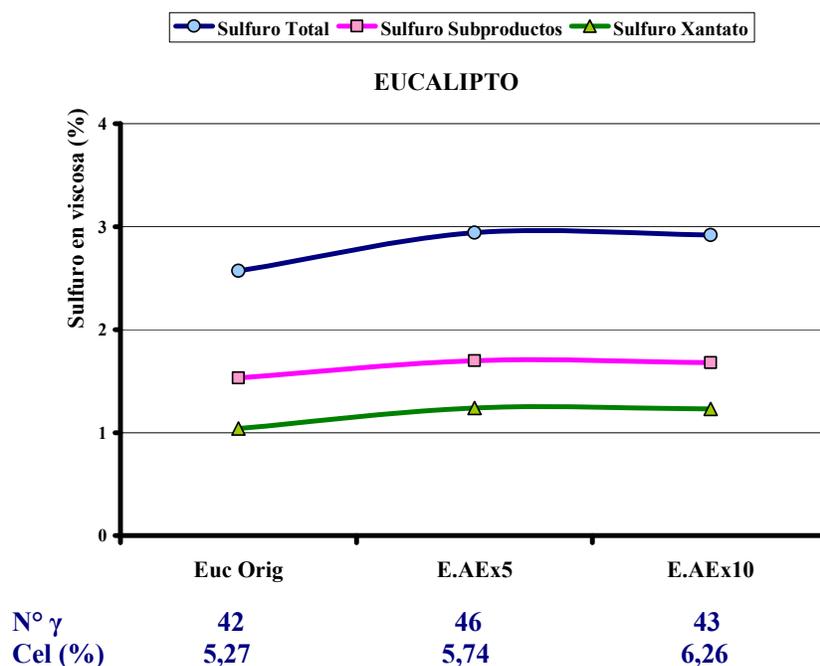
### ***3.4.2. Análisis de la distribución del sulfuro de carbono en las viscosas***

La reacción de xantación procede por dos reacciones independientes: la reacción del sulfuro de carbono con la celulosa y con el exceso de álcali. En el primer caso, la velocidad de xantación pasa a través de un máximo pero el equilibrio es continuamente perturbado por las reacciones secundarias [64].

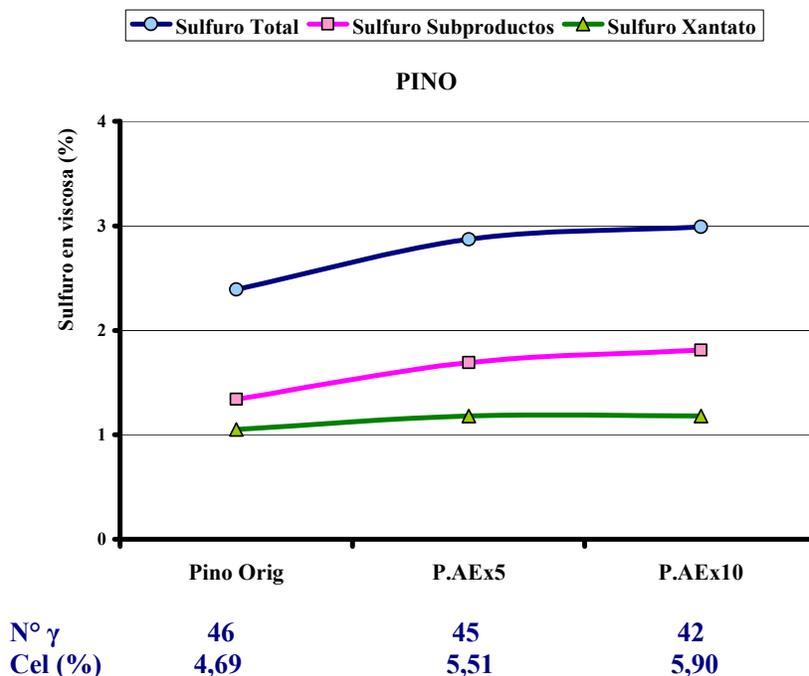
En general, se observa que existe una relación óptima celulosa:CS<sub>2</sub>:NaOH para obtener mejor rendimiento en la producción de xantato de celulosa. Un incremento en

la concentración de álcali libre no es deseable en la reacción de xantación porque resulta en un incremento en la velocidad de formación de subproductos [64].

En las Figuras 3.14 y 3.15 se puede observar la distribución del CS<sub>2</sub> agregado, como CS<sub>2</sub> total, CS<sub>2</sub> en subproductos y CS<sub>2</sub> como xantato de celulosa, de las viscosas preparadas con 29% de CS<sub>2</sub> a partir de las pulpas de eucalipto y pino respectivamente, con y sin tratamiento de purificación alcalina.



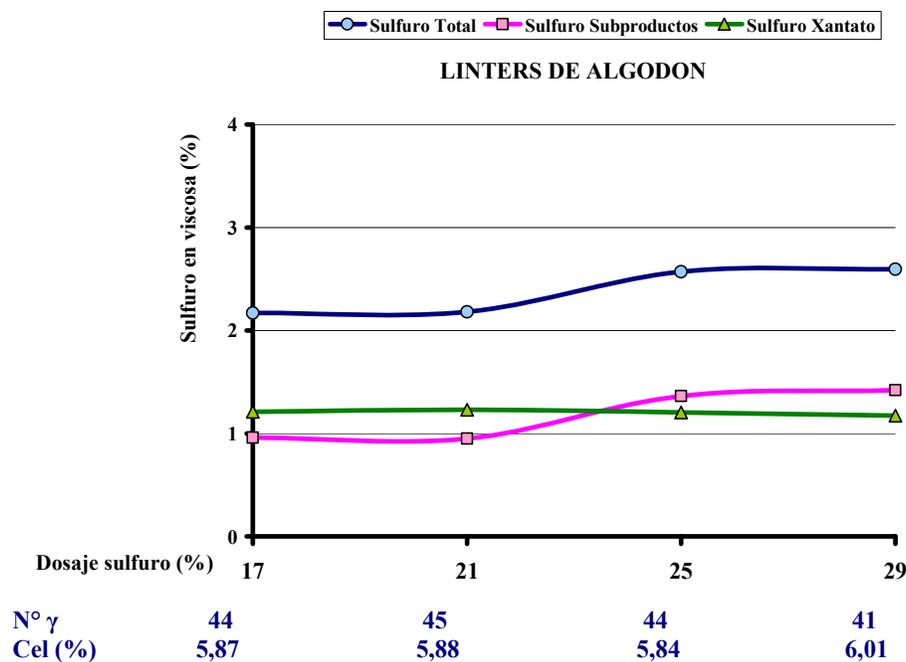
**Figura 3.14.** Variación del contenido de CS<sub>2</sub> total, CS<sub>2</sub> en subproductos y CS<sub>2</sub> como xantato de viscosas obtenidas con las pulpas de eucalipto, en función del tipo de pulpa.



**Figura 3.15.** Variación del contenido de CS<sub>2</sub> total, CS<sub>2</sub> en subproductos y CS<sub>2</sub> como xantato de viscosas obtenidas con las pulpas de pino, en función del tipo de pulpa.

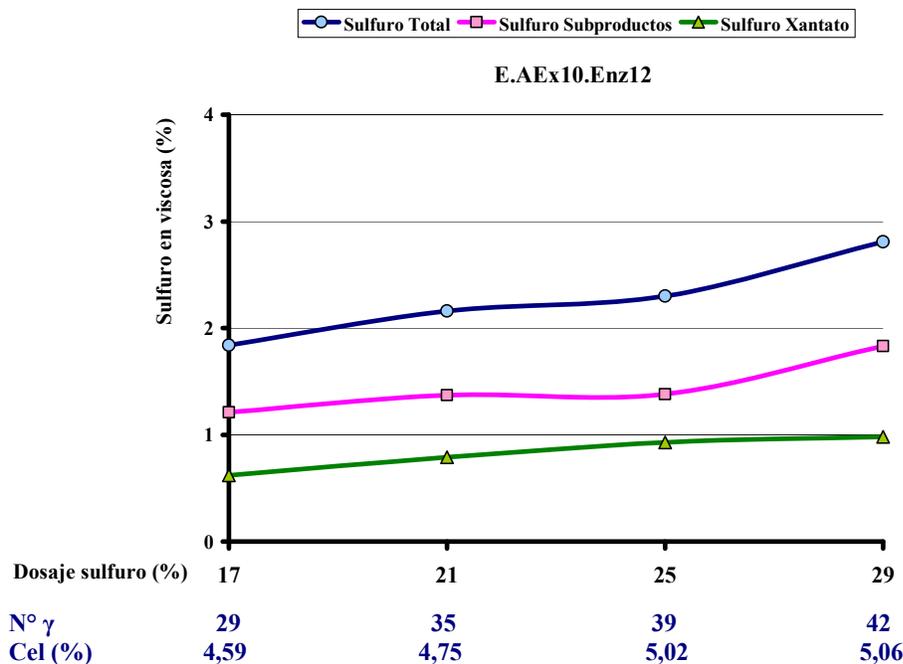
En ambos casos, se pudo observar un comportamiento similar frente a la reacción de xantación de las pulpas. Con el aumento de la concentración de NaOH utilizado en la purificación de la pulpa original, aumentaron los contenidos de CS<sub>2</sub> total y en subproductos, aunque permanecieron en un rango muy pequeño los contenidos de CS<sub>2</sub> como xantato de celulosa (entre 1,00 y 1,24%), denotando un grado de sustitución similar. Las variaciones en el número gamma estarían reflejando la dependencia del grado de sustitución con el contenido de celulosa en viscosa. Igualmente, los valores de número gama obtenidos están en el rango de los requeridos para una viscosa técnica, según *Peska et al.* [43].

En las Figuras 3.16 y 3.17 se puede observar la distribución del CS<sub>2</sub> agregado, como CS<sub>2</sub> total, CS<sub>2</sub> en subproductos y CS<sub>2</sub> como xantato de celulosa, de las viscosas preparadas con los diferentes dosajes de CS<sub>2</sub>, a partir de linters de algodón y E.AEx10.Enz, respectivamente.



**Figura 3.16.** Variación del contenido de CS<sub>2</sub> total, CS<sub>2</sub> en subproductos y CS<sub>2</sub> como xantato de viscosas obtenidas con linters de algodón en función de los diferentes dosajes

En este caso, si bien los contenidos de CS<sub>2</sub> total fueron en aumento con el dosaje aplicado, los contenidos de CS<sub>2</sub> como xantato fueron muy similares, obteniéndose valores de número gamma entre 40 y 45. Este comportamiento era predecible, por lo que se podría disminuir el consumo de sulfuro de carbono al utilizar pulpas con este grado de pureza.



**Figura 3.17.** Variación del contenido de CS<sub>2</sub> total, CS<sub>2</sub> en subproductos y CS<sub>2</sub> como xantato de viscosas obtenidas con E.AEx10.Enz en función de los diferentes dosajes de CS<sub>2</sub> (%).

En el caso de la pulpa de eucalipto tratada con enzimas (figura 3.17), se observó una disminución en el contenido de CS<sub>2</sub> con la disminución del dosaje agregado, como también en el número gamma obtenido. Pero el aumento de reactividad permitió obtener viscosas con características muy similares hasta un dosaje de 21% de CS<sub>2</sub>, alcanzando niveles de número gamma entre 35 y 42, utilizados en la producción a nivel comercial [63]. De esta manera, se podría utilizar una pulpa para papel de eucalipto con purificación alcalina y tratamiento enzimático, como alternativa para la producción de viscosa.

### 3.4.3. Análisis de la calidad de las viscosas

Para analizar la calidad de las viscosas obtenidas se realizó la determinación del valor de taponamiento de filtro ( $K_w$ ), parámetro utilizado para estudiar la filtrabilidad

de las mismas. En paralelo se determinó la viscosidad dinámica *Brookfield*, con el fin de analizar su posible influencia sobre la filtrabilidad.

En la Tabla 3.16 se pueden observar los resultados obtenidos de estas determinaciones sobre las viscosas.

**Tabla 3.16.** Viscosidad aparente (*Brookfield*) y Kw de las diferentes viscosas.

VISCOSA	$\eta_{\text{Brookfield}}$ (Pa . s)	Kw
Linters_29	3,56	168
Euc. Orig.	9,95	1148
E.AEx5	12,14	29
E.AEx10	18,00	16
E.AEx10.Enz_29	0,28	ND
E.AEx10.Enz_25	0,27	ND
E.AEx10.Enz_21	0,25	ND
E.AEx10.Enz_17	0,25	ND
Pino Orig.	5,35	8
P.AEx5	14,28	42
P.AEx10	19,60	16

Las determinaciones de la viscosidad aparente *Brookfield* y del Kw se realizaron a 25°C para obtener resultados comparativos, ya que ambos valores dependen mucho de la temperatura.

Según la enciclopedia *Ullman* [63] la viscosidad dinámica de una viscosa técnica se encuentra entre 3,5 y 10 Pa.s, pero en este caso, solamente las viscosas de las pulpas originales y la de referencia presentaron valores en dicho rango. Se pudo observar que los bajos valores de viscosidad dinámica obtenidos con las viscosas a partir de la pulpa tratada con enzimas, tuvieron gran influencia durante el proceso y sobre las características de las esferas de celulosa. No se analizó el efecto de los altos valores de este parámetro en la producción de celulosa esférica.

*Sixta* [65] realizó una clasificación de las viscosas según el valor de taponamiento de filtro (Kw) que se muestra en la Tabla 3.17.

**Tabla 3.17.** Clasificación de las viscosas según Kw [65].

Kw	Clasificación
0 - 300	Muy Buena
300 - 500	Buena
500 - 800	Aceptable
800 - 1500	Pobre
> 1500	Inaceptable

Según esta clasificación, todas las viscosas obtenidas son de “muy buena” calidad a excepción de la obtenida a partir de eucalipto original, que es de calidad “pobre”. Sin embargo, debido a la complejidad de esta metodología y al tiempo requerido para su puesta a punto, no se pudo realizar una cantidad suficiente de determinaciones que permitieran generalizar los resultados. El Kw de las viscosas obtenidas a partir de la pulpa tratada enzimáticamente no se pudo determinar, ya que pasaban por el filtro antes de que fuera aplicada la presión requerida para la determinación. Este comportamiento estaría relacionado a la muy baja viscosidad de estas viscosas.

### **3.5. Obtención de celulosa esférica por TSGT**

#### ***3.5.1. Puesta a punto de la metodología. Selección de condiciones***

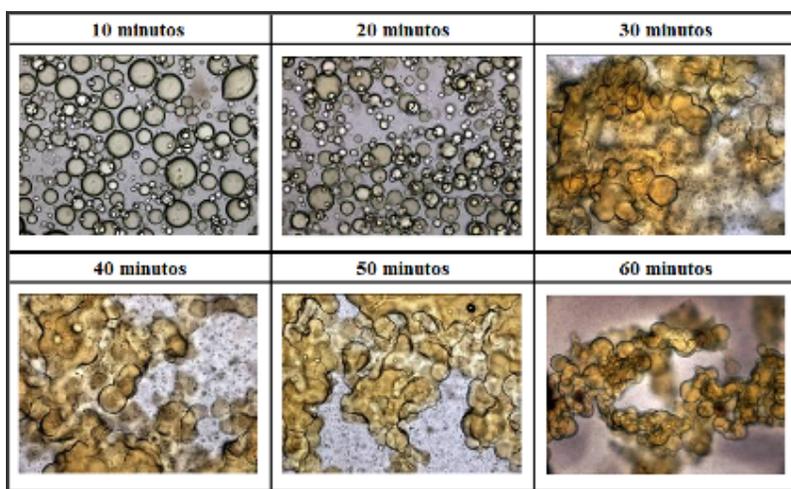
La puesta a punto de las condiciones de TSGT para la obtención de esferas de celulosa se realizó utilizando viscosas preparadas a partir de pulpa de linters de algodón. Los parámetros analizados fueron:

➤ **Medio inmiscible:** tal como se explicó en el capítulo 2.5.2.b), se utilizó kerosene frente a clorobenceno, por disponibilidad, costo y facilidad de manipulación. La eliminación del kerosene se realizó con etanol desde la mezcla de reacción, una vez finalizada la TSGT y durante la etapa de filtración de las esferas, antes de la etapa de regeneración.

➤ **Tiempo de reacción:** se tomaron muestras de la mezcla emulsionada en el reactor cada 10 minutos y se analizó, mediante micrografías, el tiempo al cual se formaban las gotas de viscosa estables y el momento en que comenzaban a formarse aglomeraciones y/o a colapsar. De esta manera, se pudo determinar el tiempo de reacción en el que, luego de la regeneración, se formaban esferas poco aglomeradas.

En la Tabla 3.18 se muestra un ejemplo de este estudio con las micrografías obtenidas a diferentes tiempos de reacción a velocidad y concentración de surfactante constante.

**Tabla 3.18.** Micrografías demostrativas de ensayos realizados a diferentes tiempos de reacción, a velocidad de agitación y concentración de surfactante constantes.

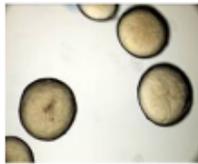
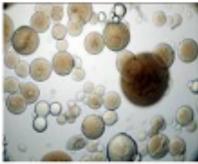
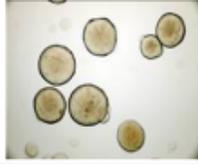
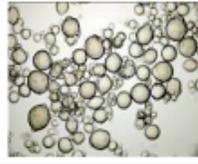


Un tiempo de reacción mayor a 40 minutos generaba la formación de aglomeraciones o el colapso de las gotas de viscosa. Esto se debe a que la temperatura de reacción ayuda al desprendimiento de los grupos xantato y a la consecuente regeneración de la celulosa, de manera que el surfactante no cumple la misma función sobre la superficie de las esferas de celulosa que sobre las gotas de viscosa. A tiempos menores de 40 minutos, si bien se observó la formación de gotas de viscosa, se pudo comprobar que el proceso no se completaba, permaneciendo viscosa sin emulsionar dentro del reactor, o colapsaban las gotas de viscosa al detener la agitación.

➤ Velocidad de agitación y cantidad de surfactante: para la evaluación de estos parámetros se utilizó la información obtenida de bibliografía [37] y se realizaron pruebas a diferentes concentraciones de surfactante y a distintas velocidades de agitación. La formación de aglomerados de partículas, la pérdida de material, el rango de tamaños y/o el colapso de las partículas fueron los criterios que se utilizaron para la determinación de estos parámetros.

En la Tabla 3.19 se muestran los resultados del tamaño promedio de partículas obtenido durante 40 minutos de reacción a distintas velocidades de agitación (400, 800 y 1200 rpm) y cantidad de surfactante (1,0, 1,6 y 2,3 %) y las micrografías correspondientes a cada ensayo.

**Tabla 3.19.** Micrografías demostrativas de ensayos realizados a diferentes velocidades de agitación y concentración de surfactante, a tiempo de reacción constante.

Velocidad de agitación (rpm)	400		
Concentración surfactante (%)	1,0	1,6	2,3
			
Media (micrones)	320,3	214,7	172,4
Velocidad de agitación (rpm)	800		
Concentración surfactante (%)	1,0	1,6	2,3
			
Media (micrones)	154,1	101,4	139,5
Velocidad de agitación (rpm)	1200		
Concentración surfactante (%)	1,0	1,6	2,3
			
Media (micrones)	127,6	109,9	103,5

Se pudo observar que a la mayor velocidad de agitación (1200 rpm) y concentración de surfactante (2,3%), se obtuvieron tamaños de partícula de aproximadamente 100

micrones, es decir, del mismo rango que las obtenidas en condiciones de menor velocidad y/o menor concentración de surfactante (por ejemplo, a 800 rpm - 1,6% y a 1200 rpm – 1,6%). Teniendo en cuenta las condiciones de procesamiento y de costo de surfactante, se eligieron como condiciones para realizar las comparaciones las velocidades de agitación de 400 y 800 rpm que son fácilmente adquiribles con agitadores comunes y concentraciones de 1,0 y 1,6% de surfactante.

En cualquiera de las condiciones utilizadas y con viscosas a partir de linters de algodón, no se observaron pérdidas significativas de material, muy pocas aglomeraciones y, en lo que respecta al colapso de las partículas, el efecto fue más notorio a alta velocidad (1200 rpm) y alta concentración de surfactante (2,3%).

La aglomeración y/o el colapso de las partículas esféricas, así como la pérdida de material se produjeron en mayor cantidad y frecuencia utilizando otras pulpas para la preparación de viscosa. Particularmente, aquellas preparadas a partir de las pulpas originales de eucalipto y pino que no dieron resultados satisfactorios en la obtención de esferas de celulosa. La pérdida de material, el colapso de las partículas y las aglomeraciones fueron inevitables en prácticamente todas las condiciones de TSGT, de manera que no se logró la formación de gotas de viscosa, por lo que se decidió no trabajar con estas pulpas para la obtención de celulosa esférica.

Las viscosas obtenidas a partir de la pulpa E.AEx10.Enz presentaron características muy diferentes, principalmente la viscosidad dinámica de las mismas, que afectó la estabilidad de la emulsión. Se realizaron pruebas a menor velocidad de agitación (200 rpm) y a las mismas concentraciones de surfactante (1,0 y 1,6%), pero aún así no se pudieron obtener esferas de celulosa a partir de esta pulpa.

➤ **Regeneración:** La elección de agua caliente como medio de regeneración durante la etapa de filtración de la celulosa esférica frente a la solución de ácido acético y etanol, estuvo basada únicamente en función de los costos y practicidad de la metodología.

### **3.5.2. Aplicación de la metodología. Resultados y caracterización de las esferas obtenidas**

Por los motivos expuestos anteriormente, las viscosas que se utilizaron para la obtención de esferas de celulosa, fueron aquellas preparadas con las siguientes pulpas: linters de algodón, E.AEx5, E.AEx10, P.AEx5 y P.AEx10, con un dosaje de CS<sub>2</sub> del 29% y siempre en condiciones de índice de sal mayor a 8%.

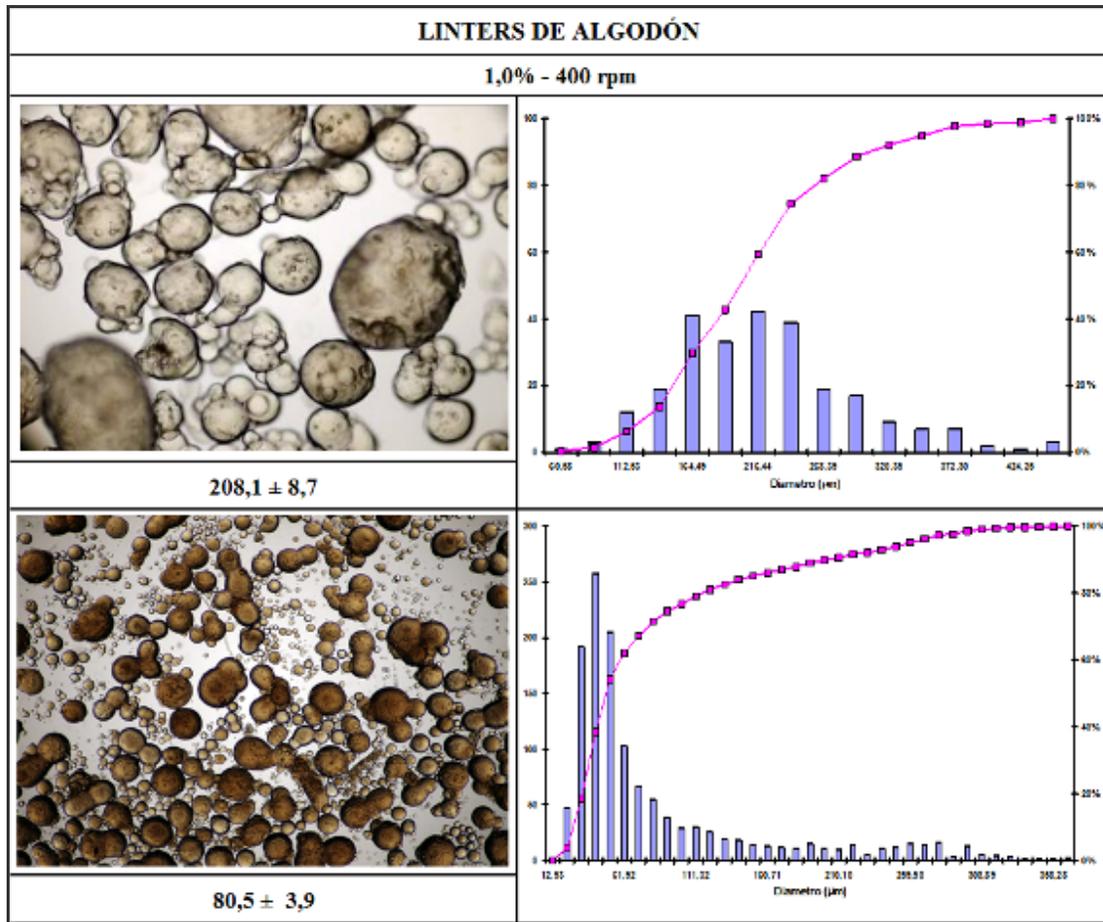
Para presentar los resultados se armaron las Tablas 3.20 a 3.24. En cada tabla, la columna de la izquierda muestra la micrografía representativa del ensayo correspondiente a una determina velocidad de agitación y cantidad de surfactante y el diámetro promedio de la población, en micrones (μm), expresado como:

$$\mu = \bar{X} \pm Z_{(95\%)} * \frac{S}{\sqrt{n}}$$

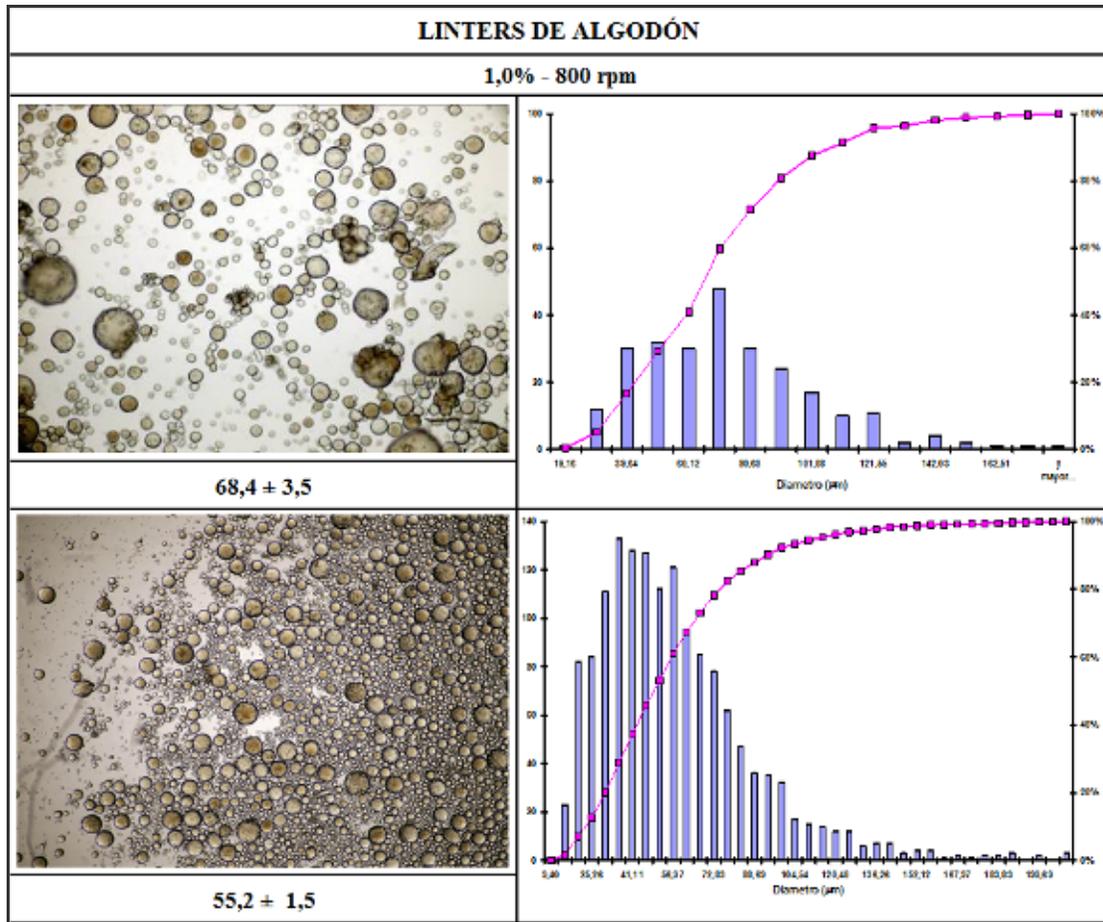
Donde  $n$  es el número de mediciones (entre 250 y 1000),  $\bar{X}$  es el valor promedio,  $S$  es la desviación estándar,  $Z_{(95\%)}$  es el estadístico aplicado cuyo valor es 1,96 cuando  $n$  es mayor a 30.

En la columna de la derecha, se grafica la distribución de tamaños (en micrones) y el porcentaje acumulado en función de la frecuencia.

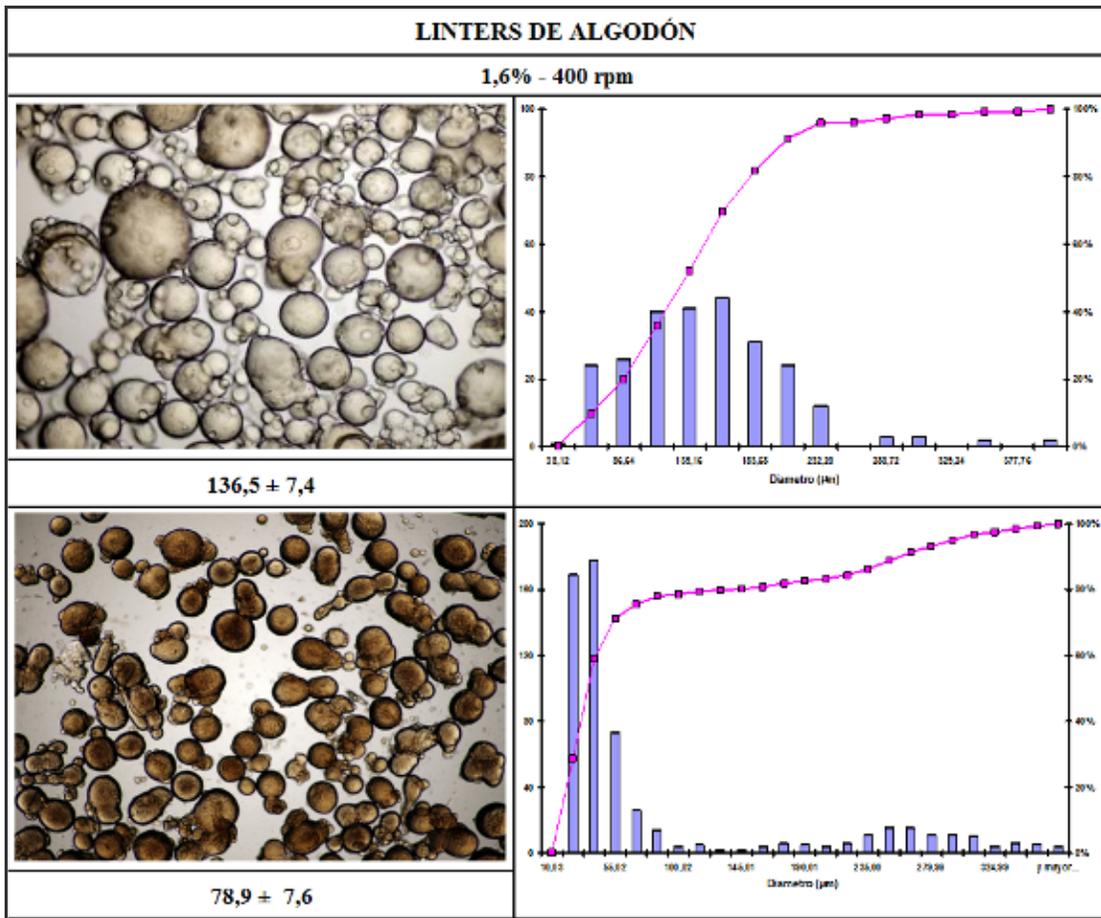
**Tabla 3.20.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de linters de algodón.



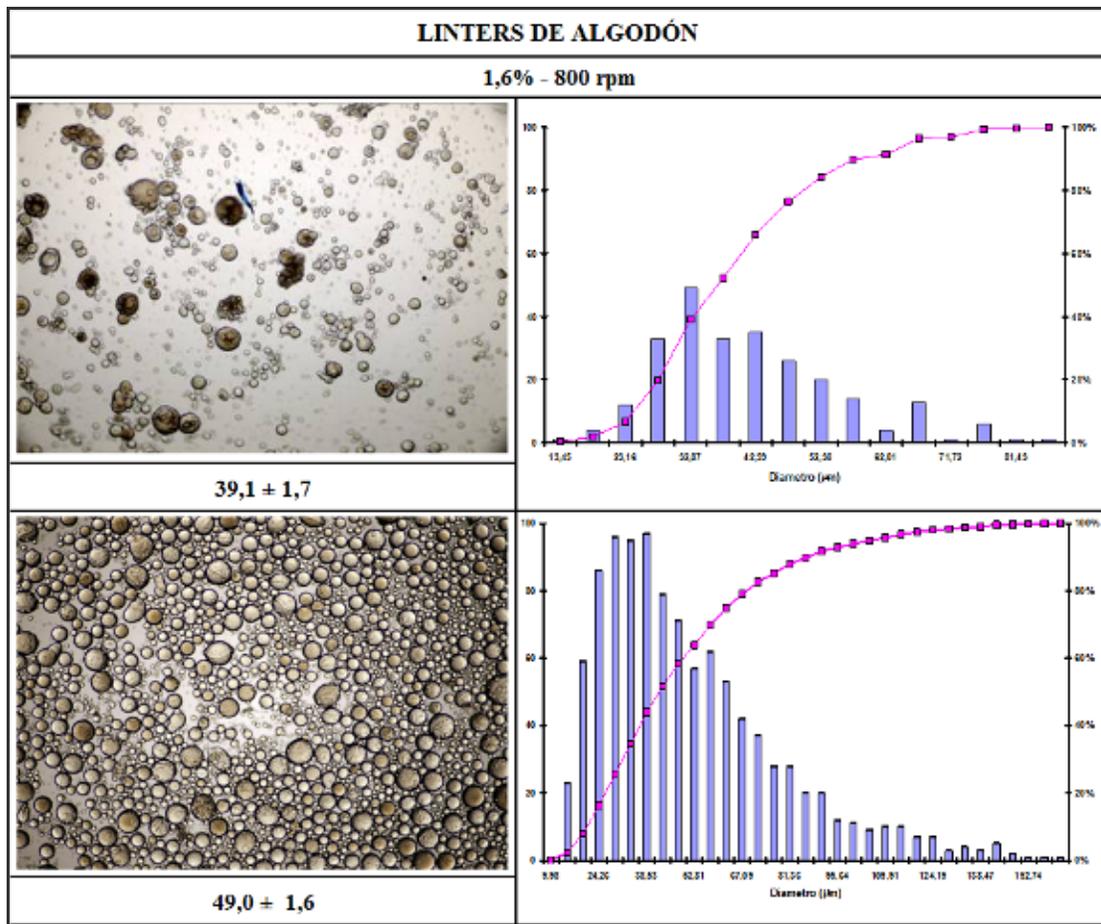
**Tabla 3.20.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de linters de algodón (*continuación*).



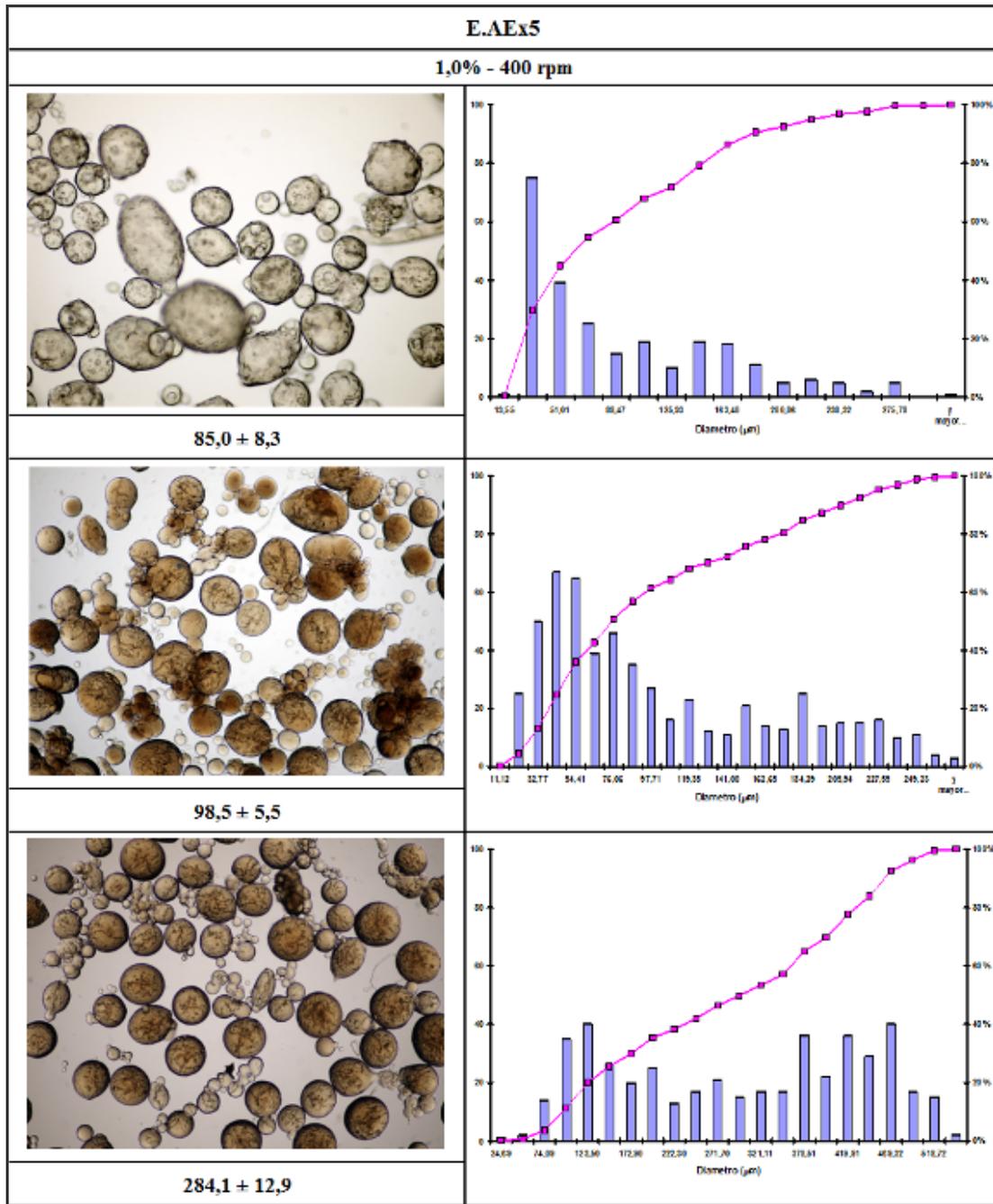
**Tabla 3.20.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de linters de algodón (*continuación*).



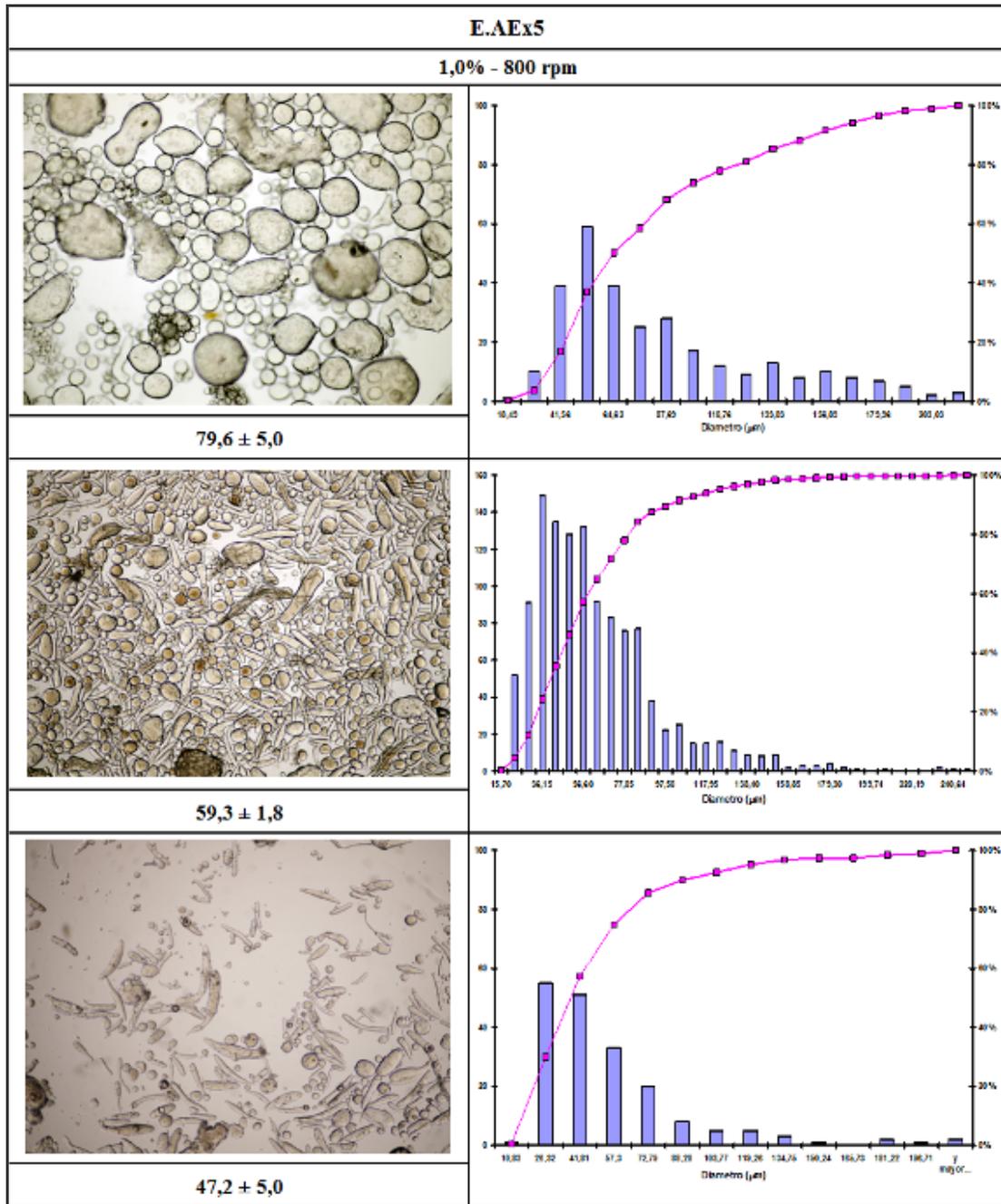
**Tabla 3.20.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de linters de algodón (*continuación*).



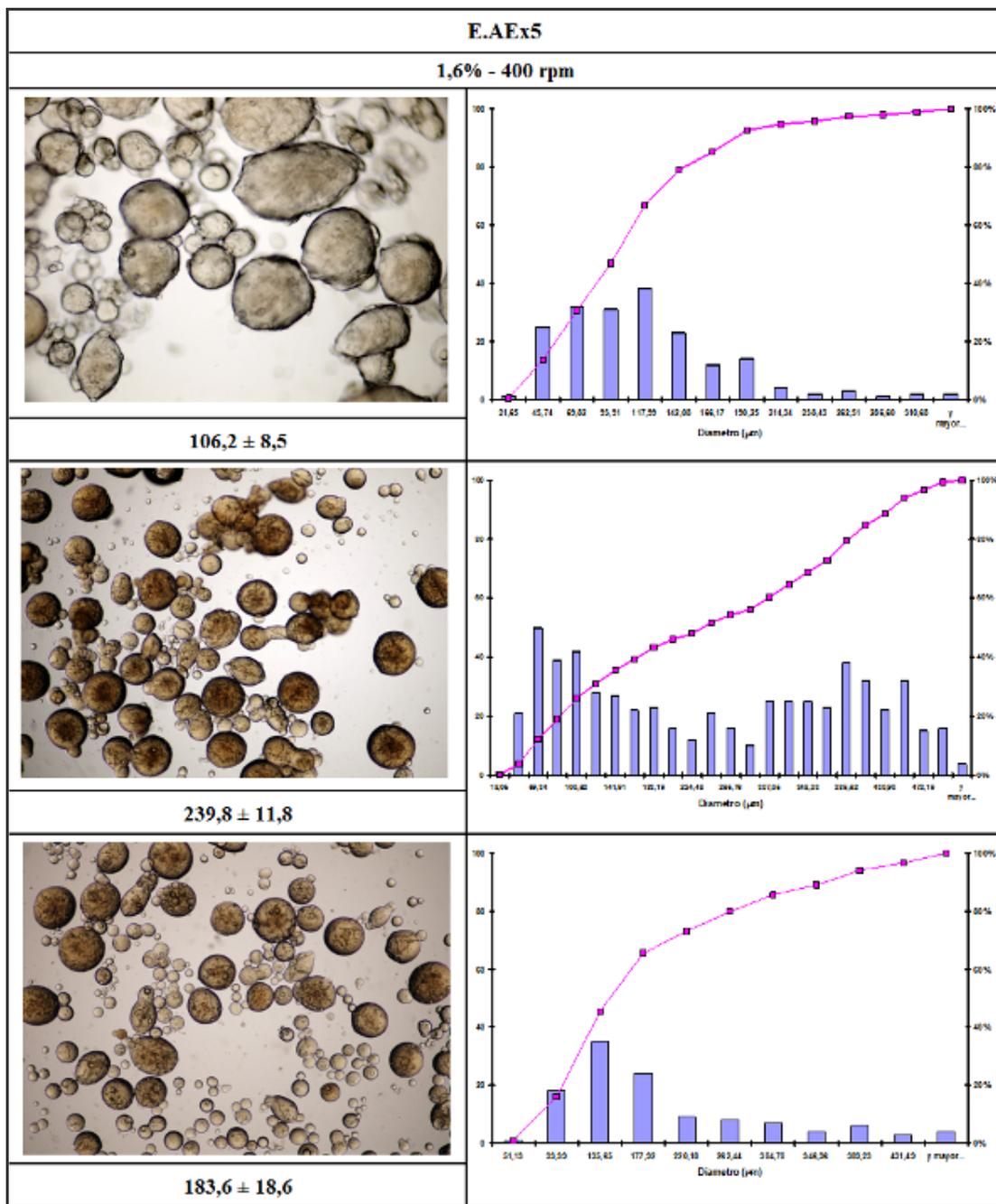
**Tabla 3.21.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx5.



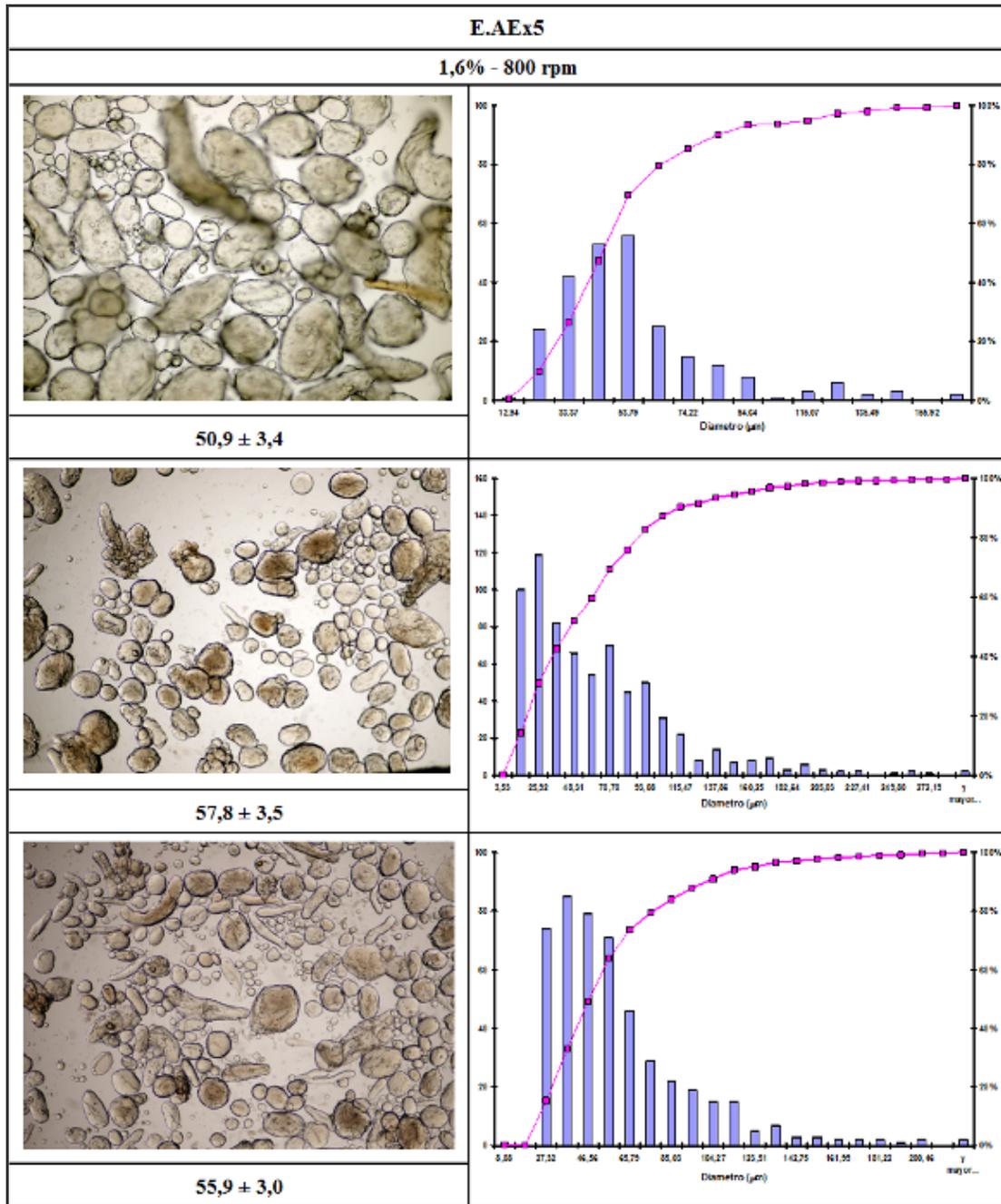
**Tabla 3.21.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx5 (continuación).



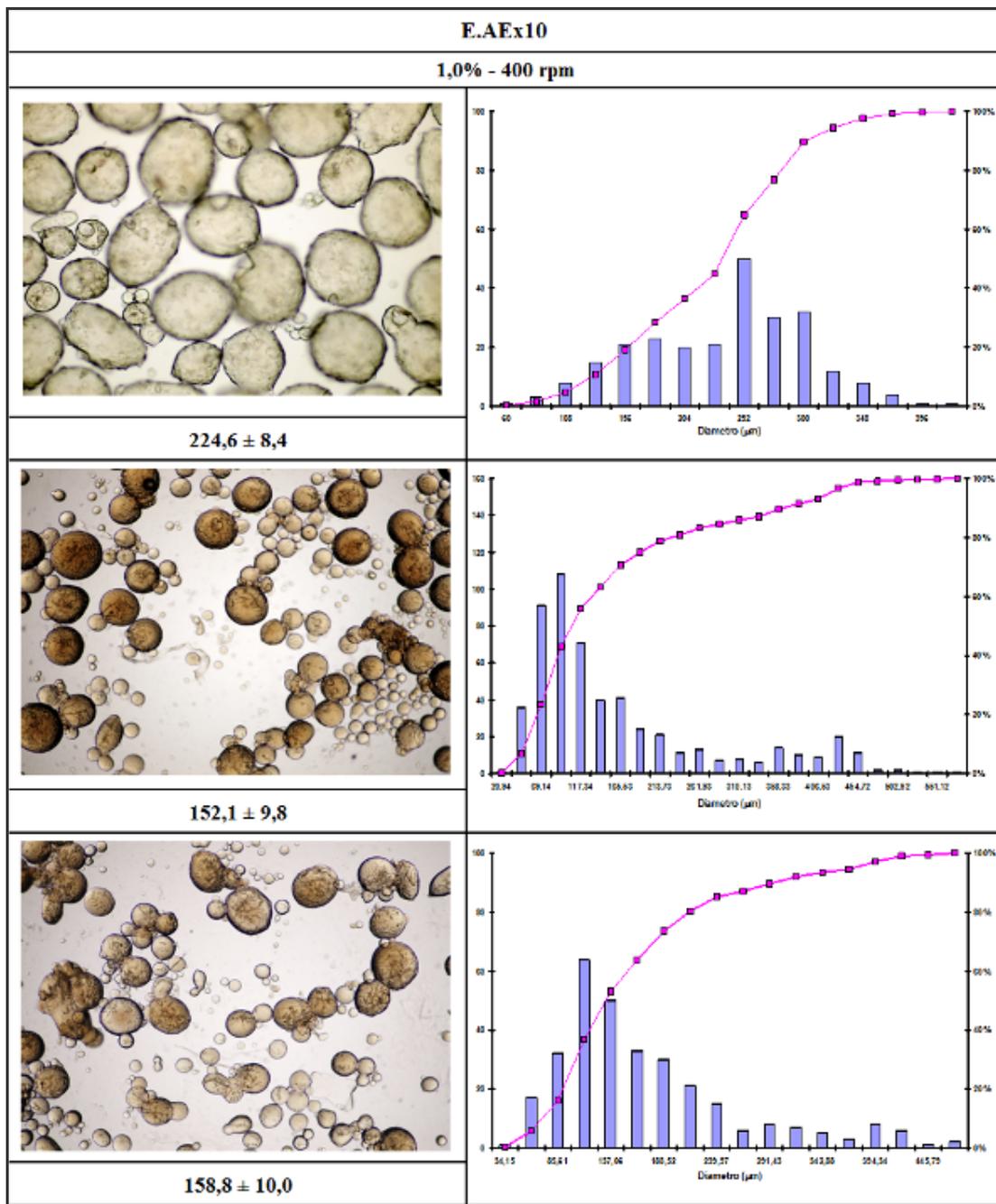
**Tabla 3.21.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx5 (continuación).



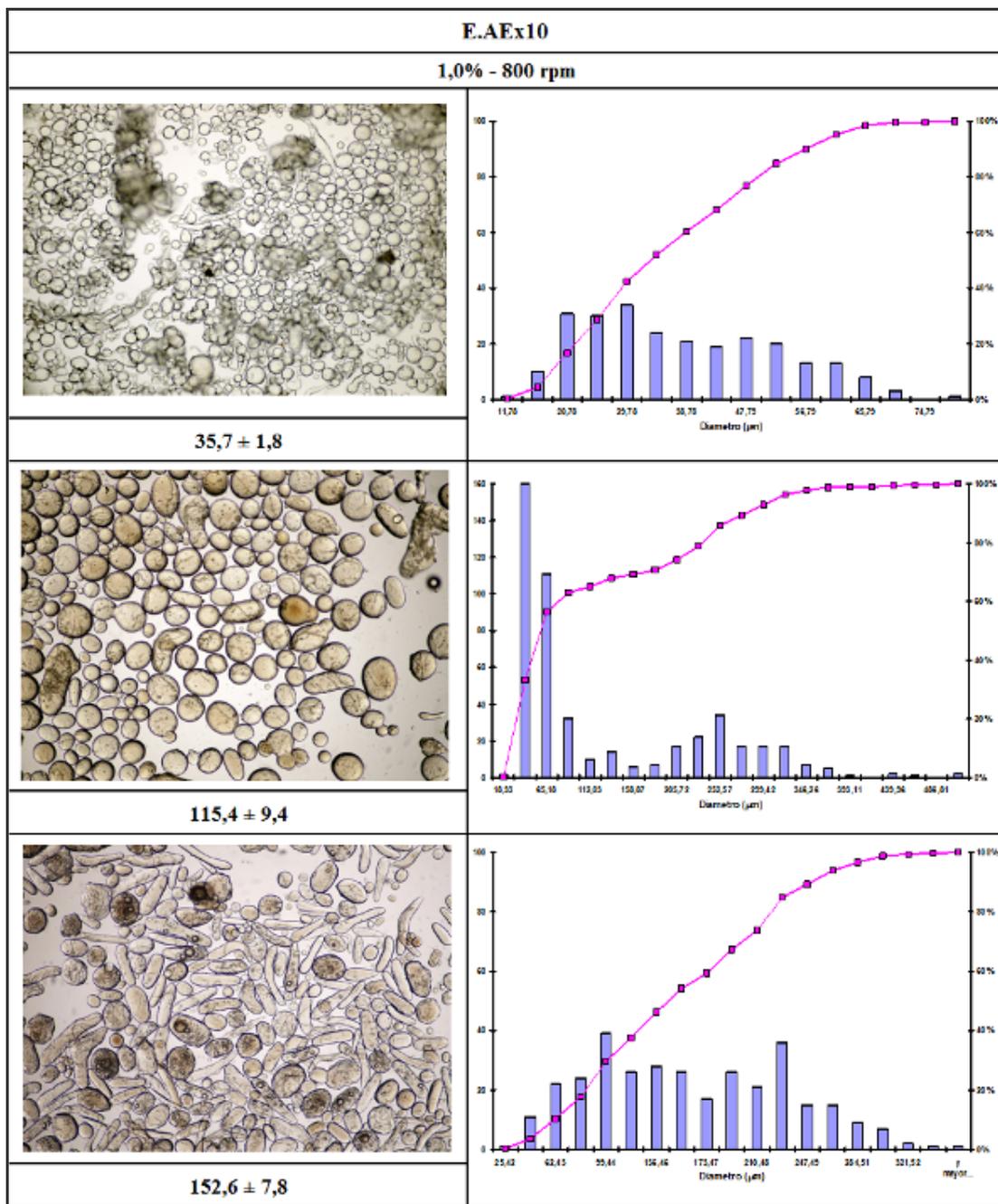
**Tabla 3.21.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx5 (continuación).



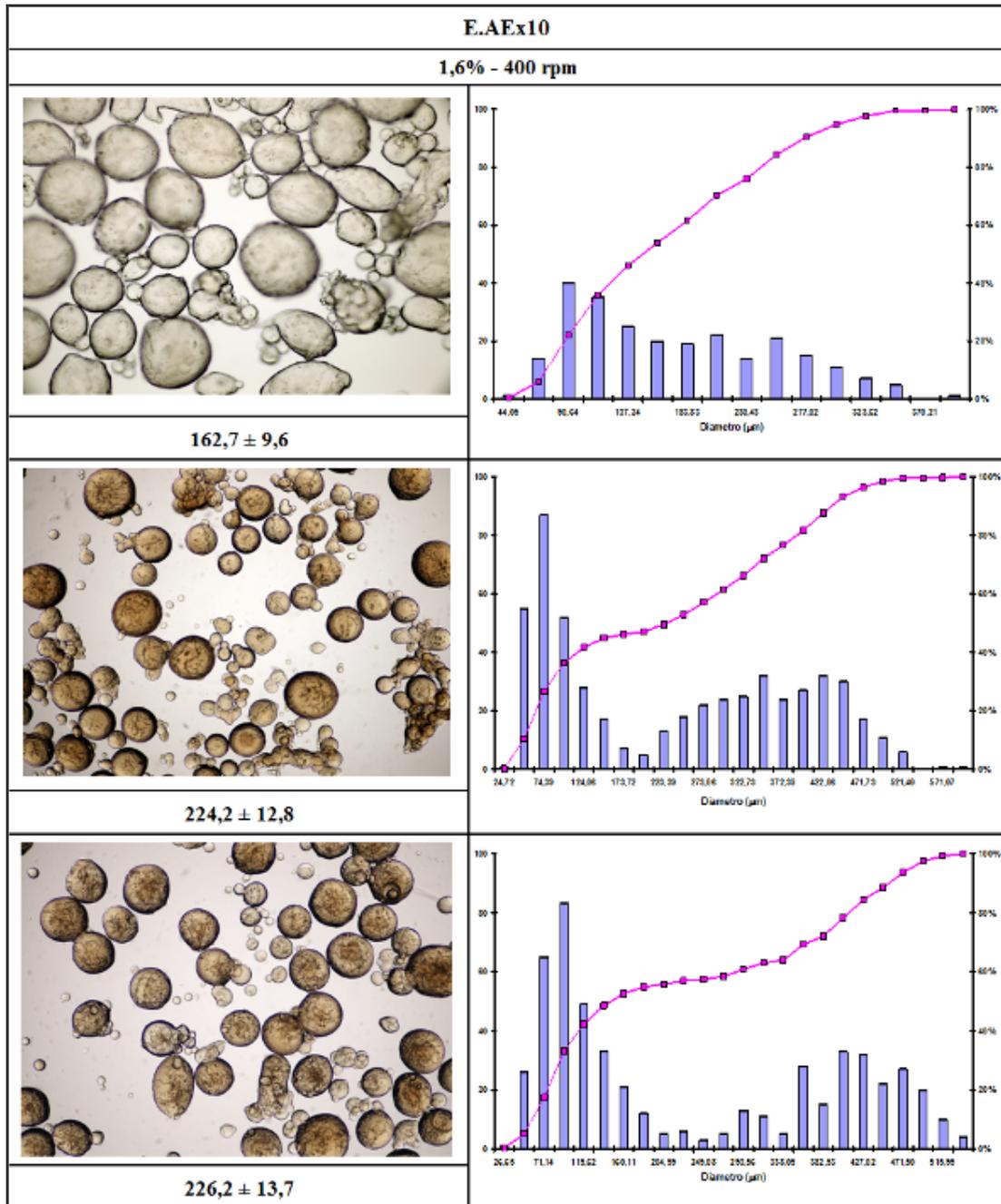
**Tabla 3.22.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx10.



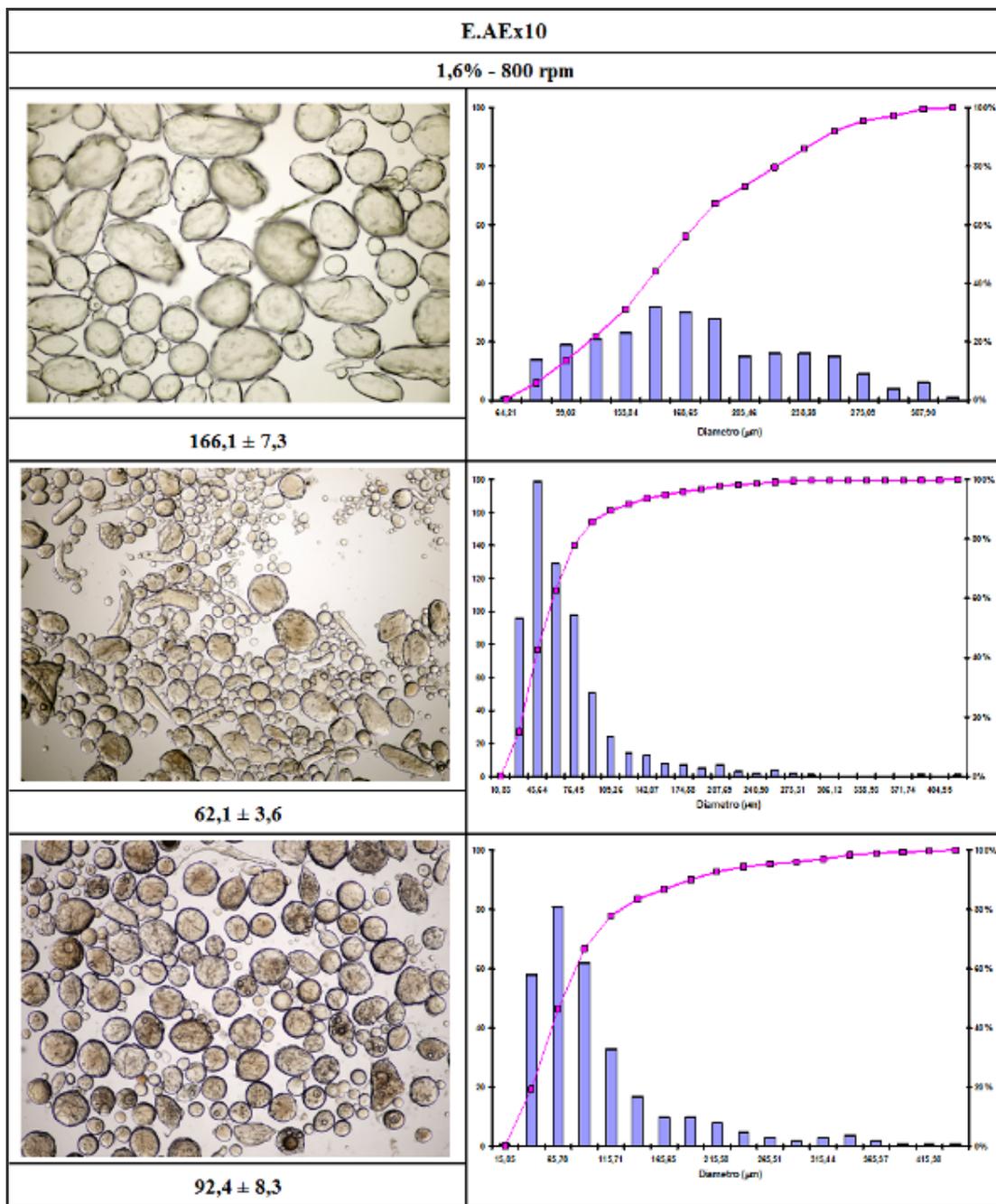
**Tabla 3.22.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx10 (continuación).



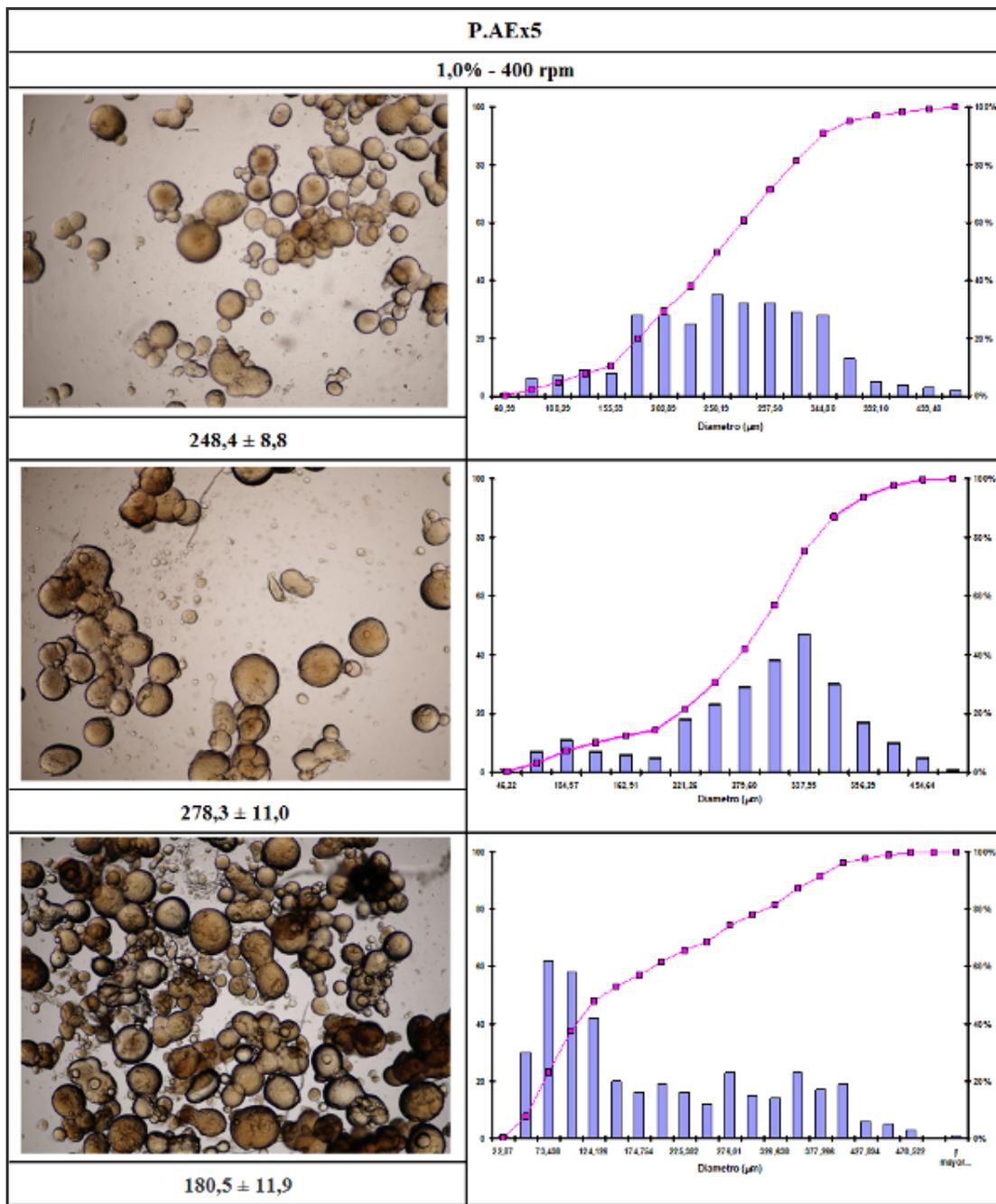
**Tabla 3.22.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx10 (continuación).



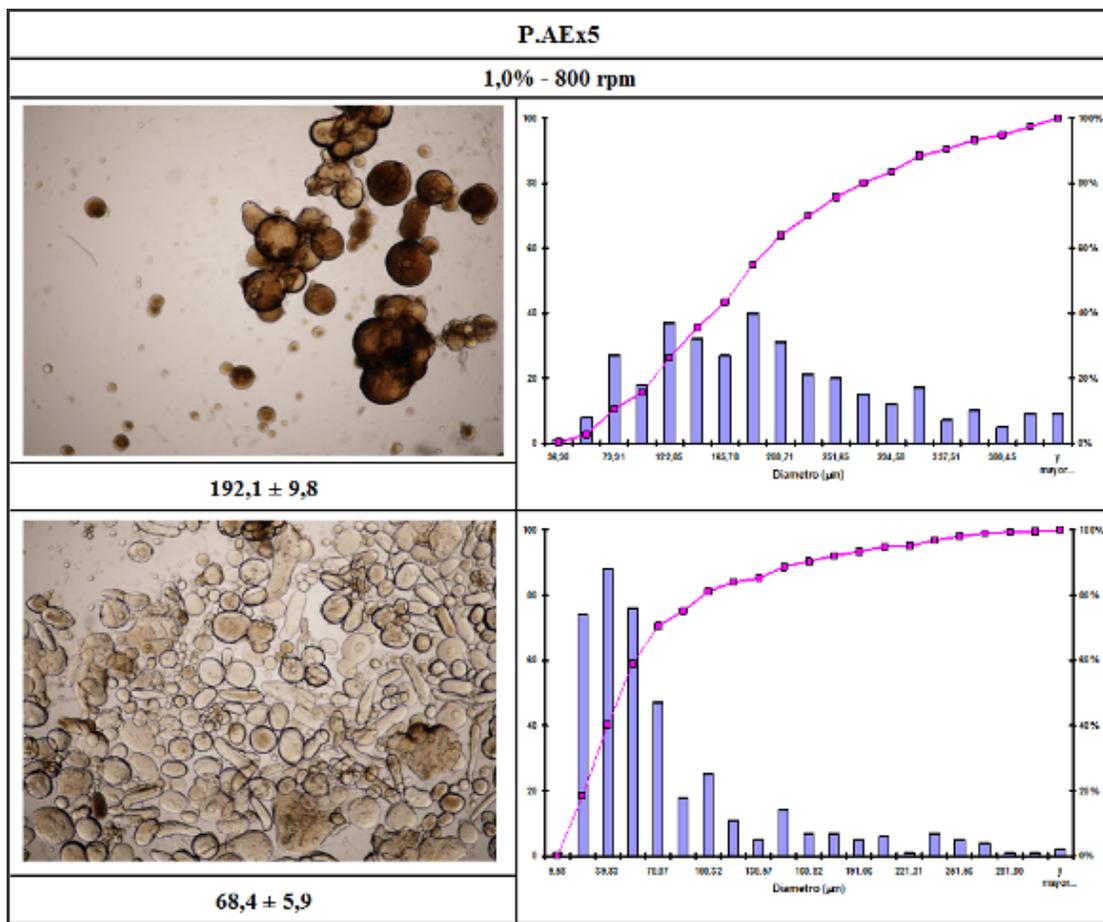
**Tabla 3.22.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de E.AEx10 (continuación).



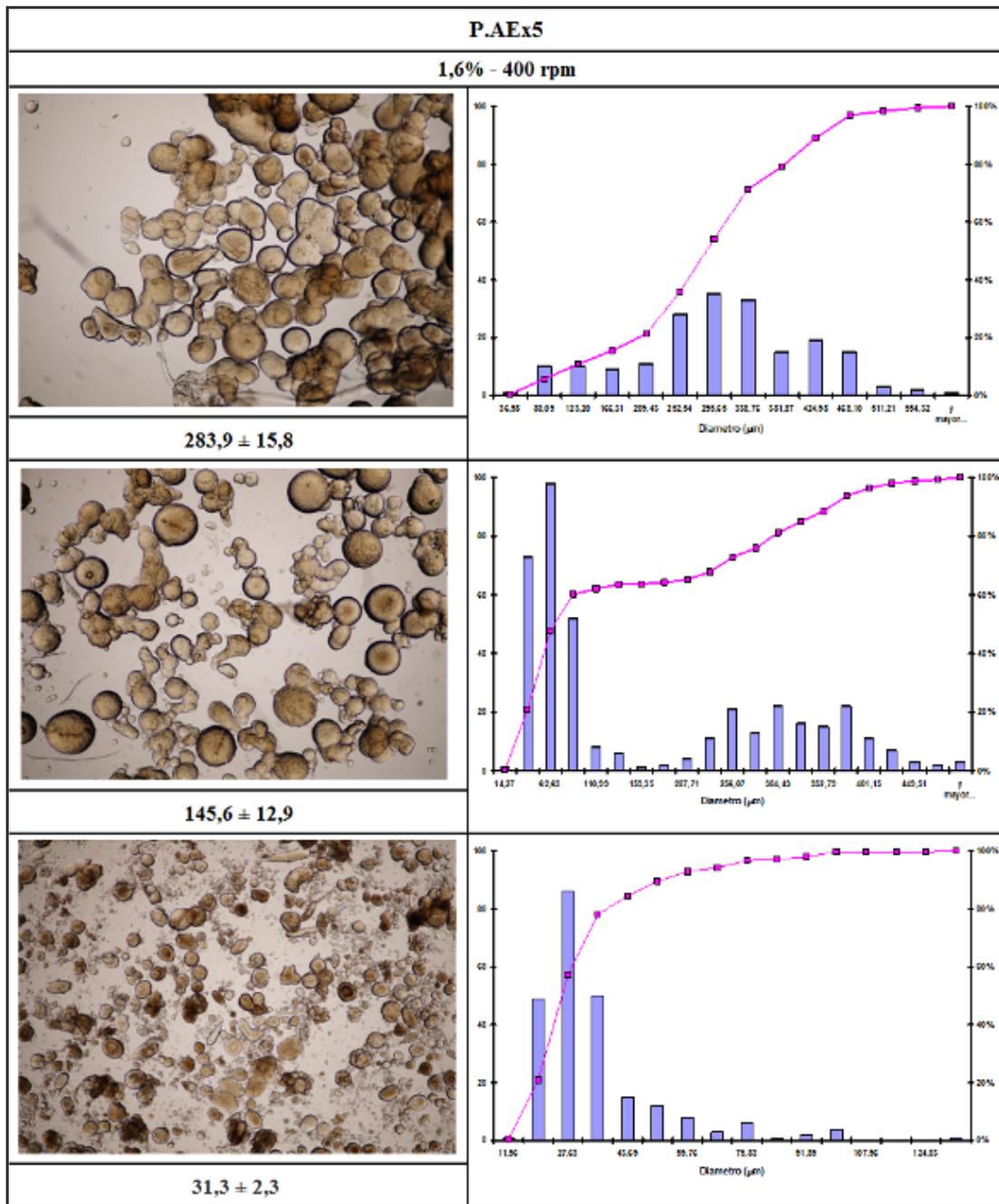
**Tabla 3.23.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx5.



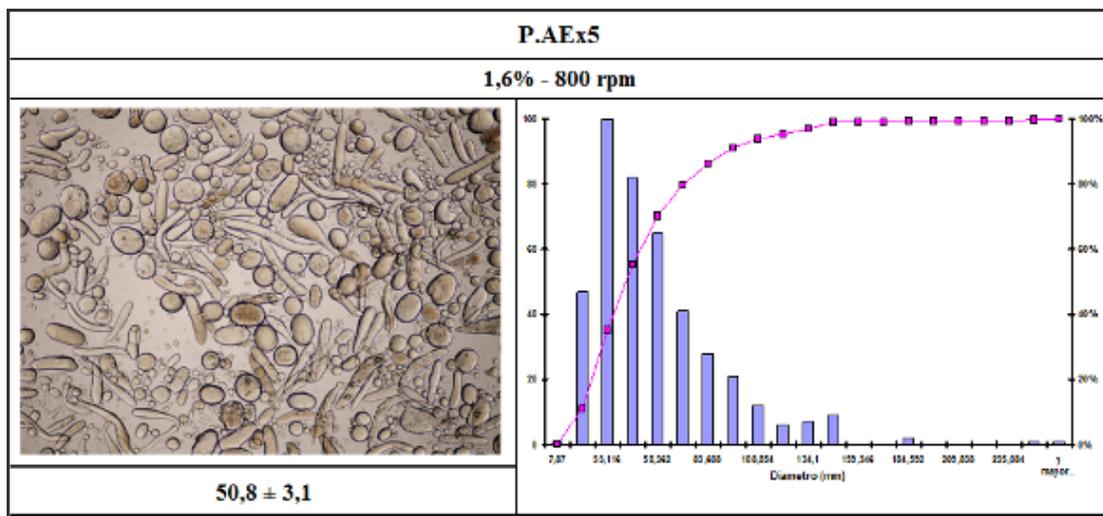
**Tabla 3.23.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx5 (continuación).



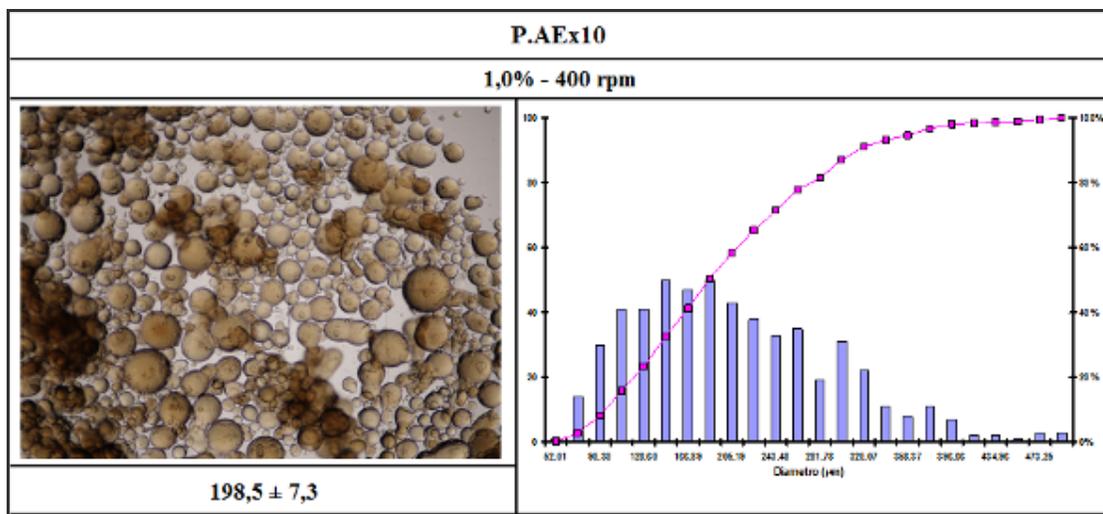
**Tabla 3.23.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx5 (continuación).



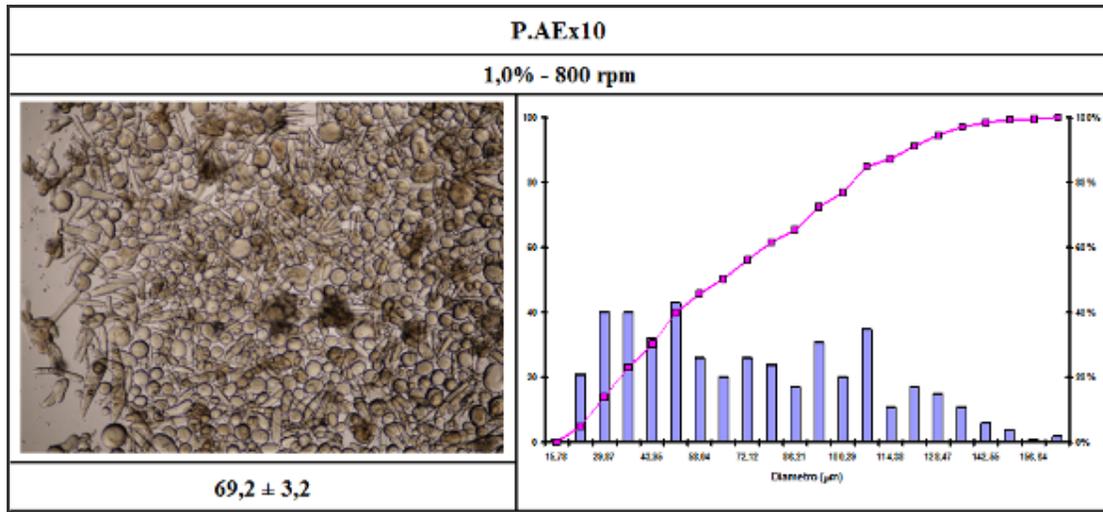
**Tabla 3.23.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx5 (continuación).



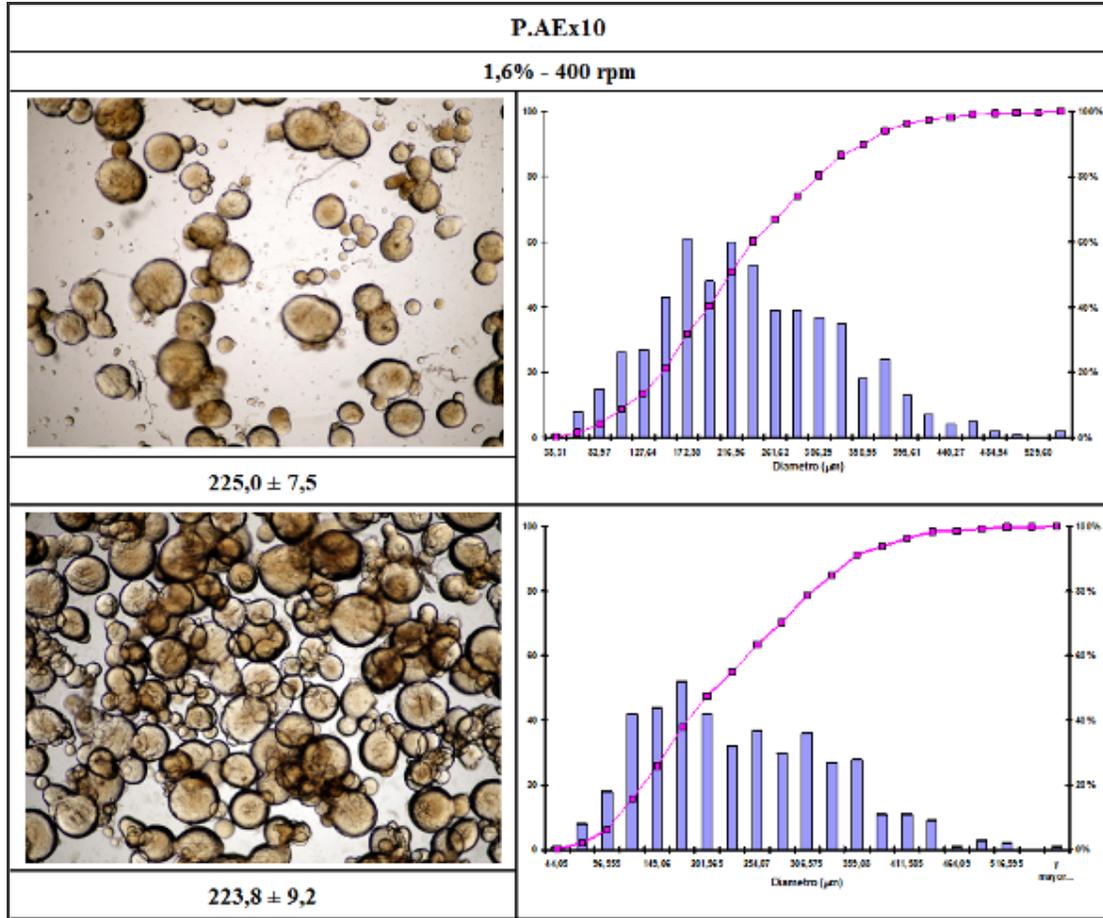
**Tabla 3.24.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx10.



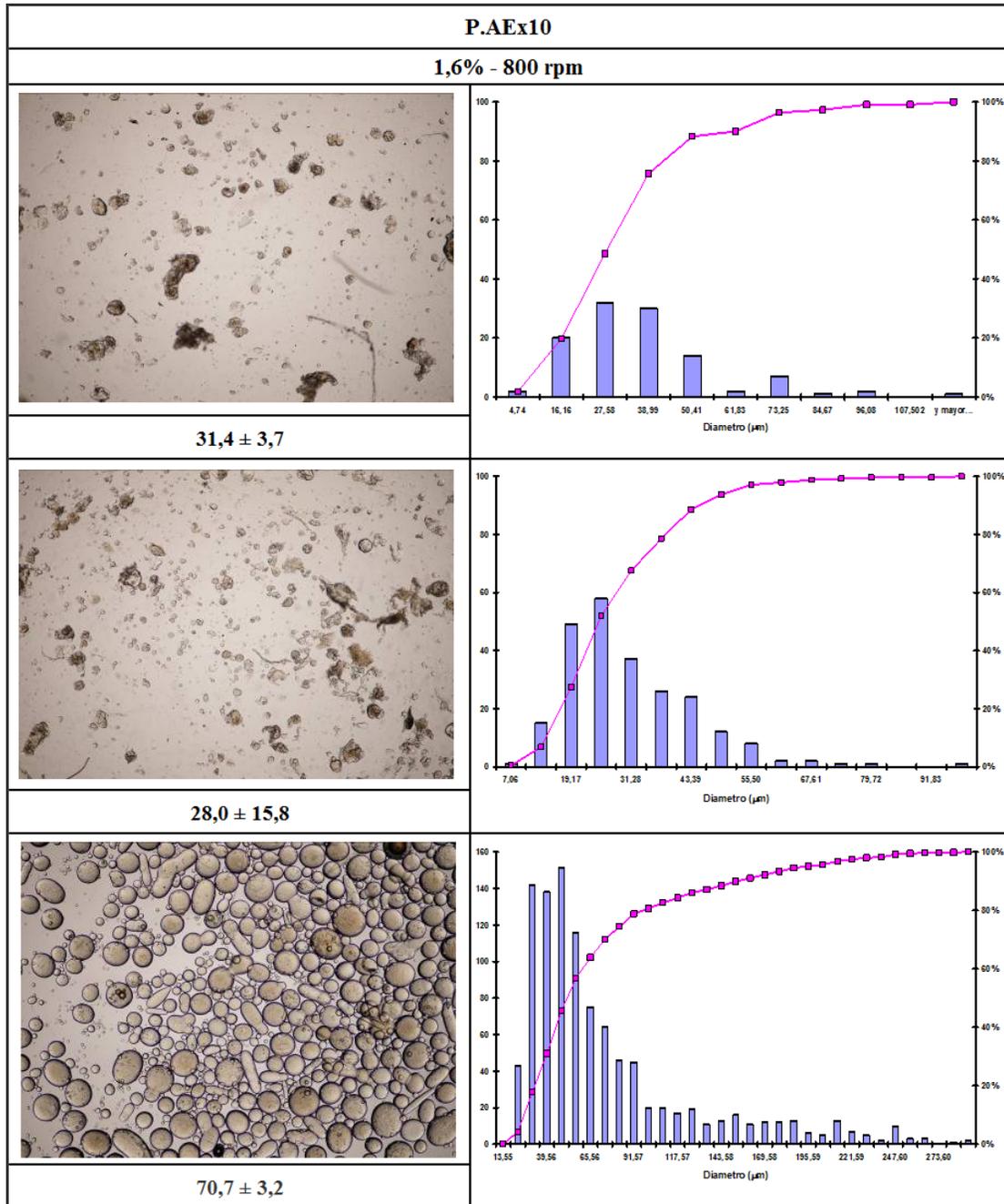
**Tabla 3.24.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx10 (continuación).



**Tabla 3.24.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx10 (continuación.)



**Tabla 3.24.** Micrografías demostrativas, medias poblacionales y distribución de tamaños de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa preparada con pulpa de P.AEx10 (continuación).

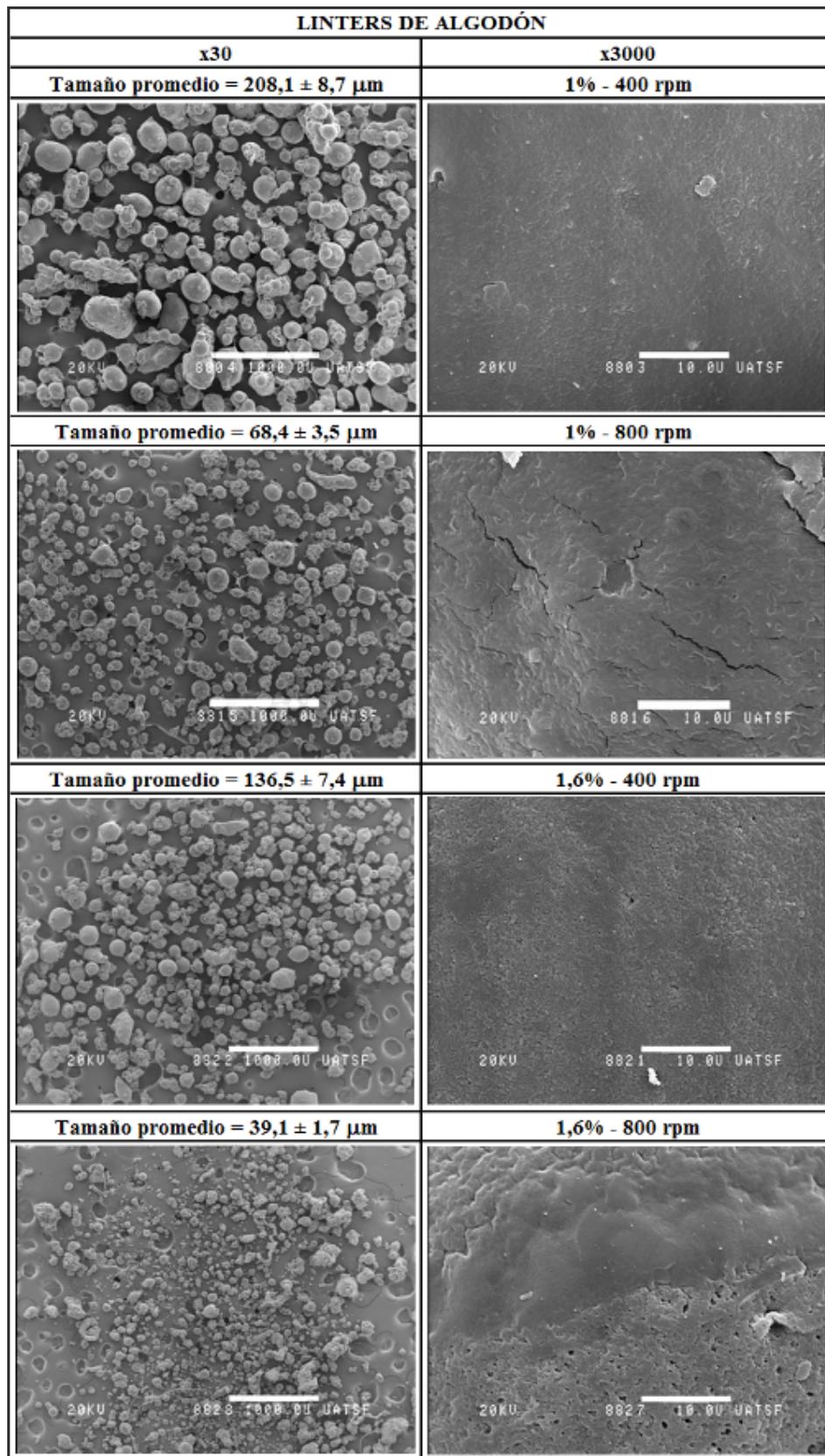


No se alcanzó a determinar los motivos por los cuales se obtuvieron diferencias, tanto en el tamaño promedio como en la distribución de tamaños, al utilizar las mismas condiciones de velocidad de agitación y concentración de surfactante, y con viscosas a partir de una misma materia prima. Sería necesario más tiempo para estudiar más profundamente las condiciones para obtener un rango de tamaños y una distribución acordes al uso final de las esferas.

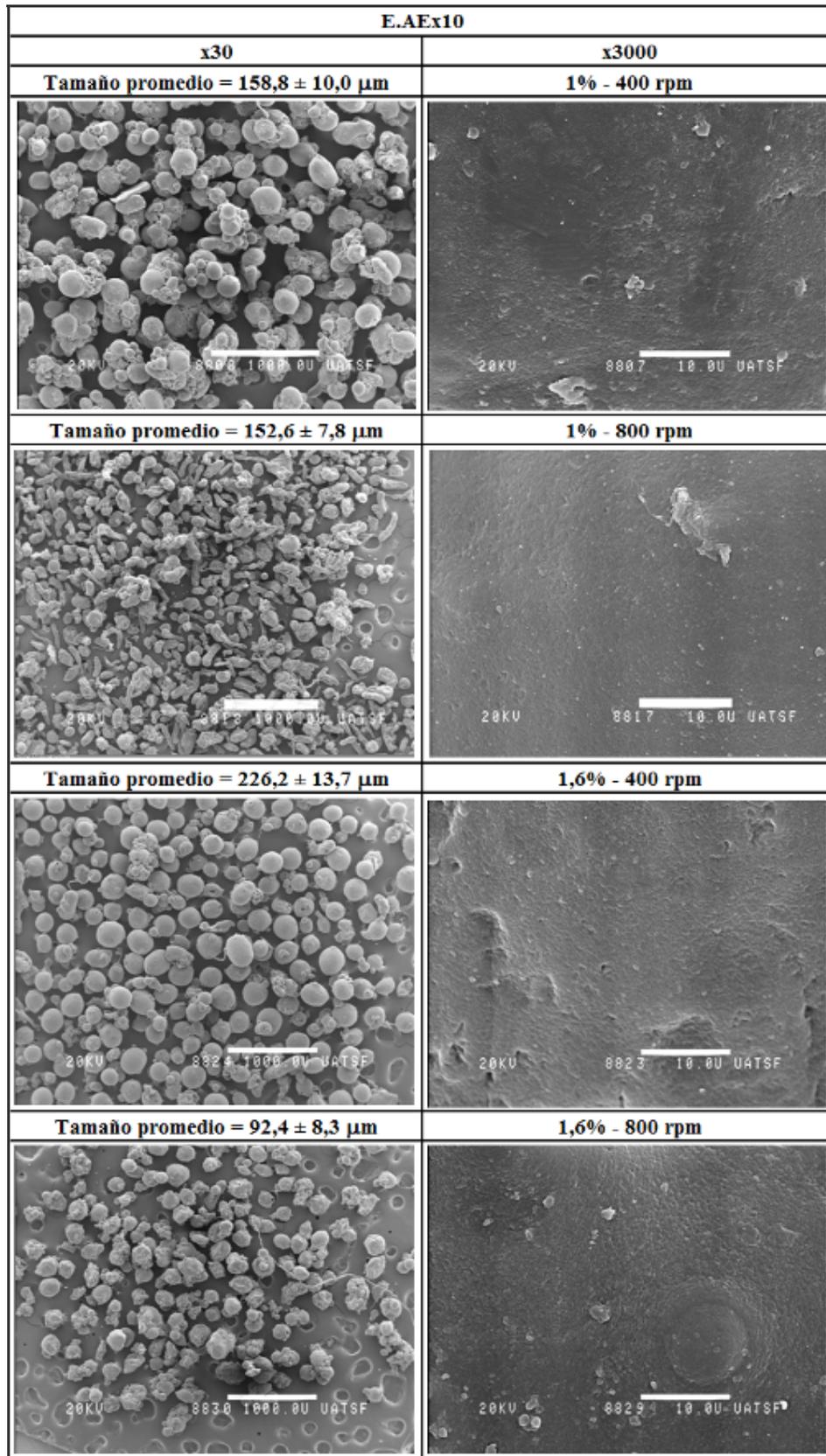
Los resultados de absorción física de nitrógeno gaseoso usando el método BET demostraron que las esferas obtenidas a partir de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10 en las diferentes condiciones, y en consecuencia diferentes tamaños, dieron un área superficial específica menor a  $1 \text{ m}^2/\text{g}$ . Para relleno de columnas cromatográficas, *Luo et al.* [66] preparó microesferas de celulosa con un área de  $16 \text{ m}^2/\text{g}$  y para inmovilización de enzimas, *Juang et al.* [67] utilizó esferas de quitosano con un área superficial específica de  $12,5 \text{ m}^2/\text{g}$ . De manera que los valores obtenidos son demasiado bajo para tales usos. La bibliografía consultada predice estos bajos valores cuando la celulosa esférica es regenerada con agua y se analiza la posibilidad de modificar la superficie mediante el intercambio de solventes [68].

En las Tabla 3.25 a 3.27 se pueden observar micrografías de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10 en las diferentes condiciones de TSGT, realizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM), donde se observó superficie rugosa pero no porosa, verificándose los resultados obtenidos por BET de baja superficie específica.

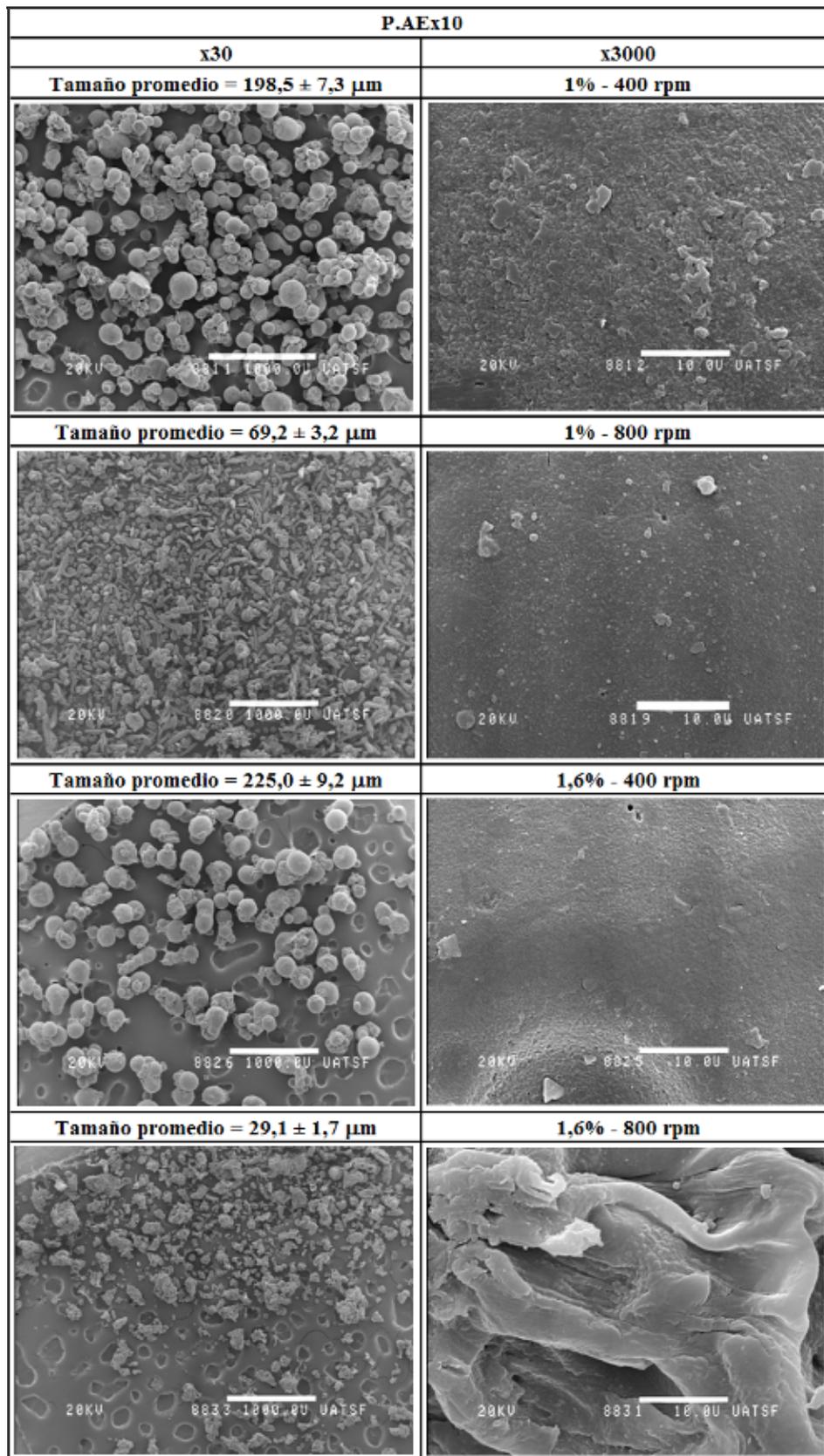
**Tabla 3.25.** Micrografías SEM de esferas de celulosa obtenidas con viscosas preparadas a partir de linters de algodón, en todas las condiciones de TSGT.



**Tabla 3.26.** Micrografías SEM de esferas de celulosa obtenidas con viscosas preparadas a partir de E.AEx10, en todas las condiciones de TSGT.

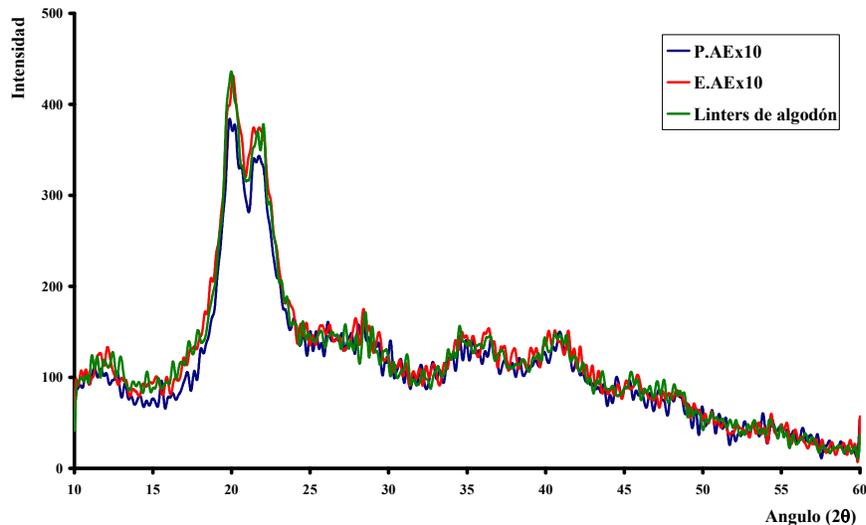


**Tabla 3.27.** Micrografías SEM de esferas de celulosa obtenidas con viscosas preparadas a partir de P.AEx10, en todas las condiciones de TSGT.



Para analizar la estructura cristalina de la celulosa en las esferas de celulosa se realizaron los difractogramas de rayos X y espectros de infrarrojo con Transformada de Fourier.

La celda cristalina de la celulosa mercerizada y de los productos regenerados es Celulosa II. Para Celulosa II, se encuentran dos picos cristalinos con alta intensidad correspondientes a los planos de reflexión  $hkl$  021 y 002. Este último aparece con menor intensidad entre los  $21^\circ$  y  $22^\circ$ , pero igualmente se toma como referencia para el cálculo del CrI. La zona de celulosa desordenada también presenta un corrimiento hacia menores valores con respecto a Celulosa I, encontrándose entre los  $15^\circ$  y  $16^\circ$  [52]. En la Figura 3.19 se observan los difractogramas correspondientes a las esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10, con el fin de analizar su estructura.



**Figura 3.18.** Difractograma de RX de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosa de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10.

En la Tabla 3.28 se muestra la ubicación del pico cristalino correspondiente al plano de reflexión  $hkl$  002, a lo zona desordenada y el CrI calculado con los datos de

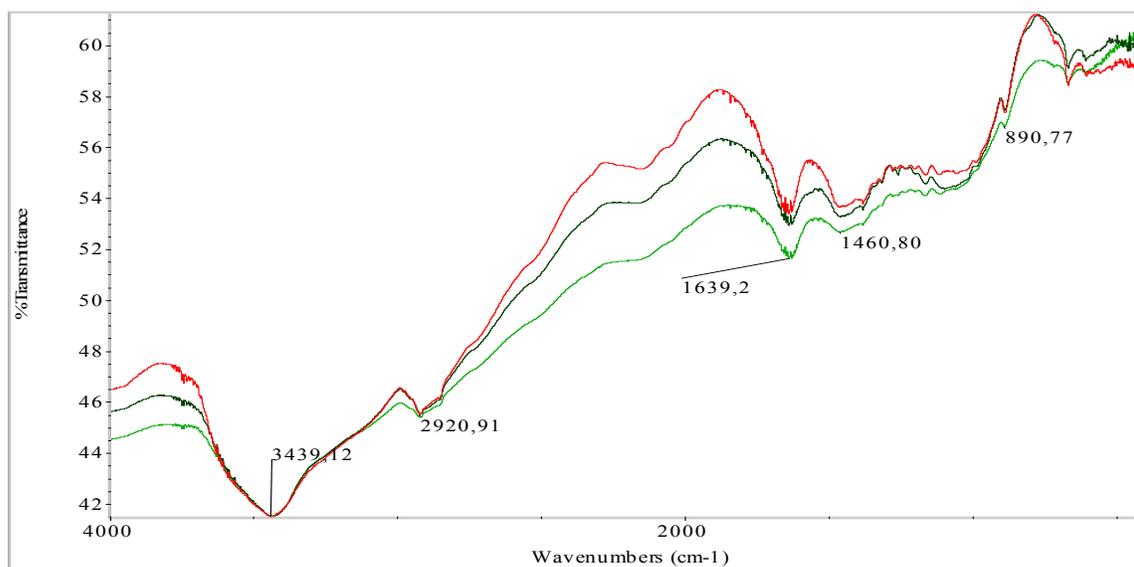
intensidad obtenidos a partir de los difractogramas, según lo descrito en el capítulo 2.1.2e) para las pulpas.

**Tabla 3.28.** Ubicación de los picos cristalino y amorfo e índice de cristalinidad de las esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10.

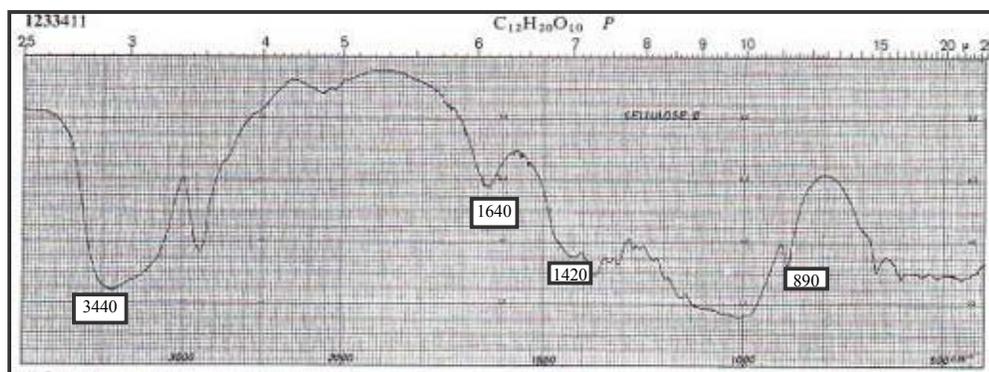
PULPA	Linters	E.AEx10	P.AEx10
$2\theta_{002}$	21,8	21,6	21,7
$2\theta_{am}$	15,6	15,6	15,8
CrI (%)	71,4	73,2	74,1

Los difractogramas de las esferas de celulosa a partir de las diferentes pulpas fueron prácticamente coincidentes, y la ubicación del pico cristalino  $002$  y de la zona de celulosa desordenada se encontró dentro del rango correspondiente al informado para Celulosa II, confirmándose este tipo de estructura en el producto regenerado objeto de esta investigación.

En las Figuras 3.19 y 3.20 se muestran los espectros FTIR de las esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas de linters de algodón, E.AEx5 y E.AEx10, y el de celulosa mercerizada (Celulosa II) obtenido de bibliografía, respectivamente.



**Figura 3.19.** Espectros de FTIR de esferas de celulosa obtenidas a partir de viscosas de pulpa de (---) Linters de algodón, (---) E.AEx5 y (---) E.AEx10.



**Figura 3.20.** Espectros de FTIR de Celulosa II obtenido de bibliografía de una pulpa de linters de algodón mercerizada.

La banda ancha en la región de 3600-3100  $\text{cm}^{-1}$ , debida a las vibraciones de estiramiento del grupo OH, ofrece información importante concerniente a los enlaces puente hidrógeno. Cuando se trata de muestras amorfas, estos picos se hacen más agudos, disminuyen su intensidad y se corren a mayores valores de números de onda, lo que puede estar relacionado a la escisión de los enlaces intra e intermoleculares. La presencia de la banda a 2900  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones de estiramiento C-H, cuya intensidad disminuye en muestras de celulosa amorfa [69].

La llamada “banda de agua enlazada” se encuentra a 1640  $\text{cm}^{-1}$  y sus vibraciones de flexión interfieren en la interpretación de espectros ya que se encuentra en la zona de grupos carbonilo [70].

Se observa también la banda de absorción de FTIR a  $1430\text{ cm}^{-1}$  que es la correspondiente a las vibraciones simétricas de flexión del grupo  $\text{CH}_2$ , involucrando un cambio conformacional de *trans-gauche* (*t-g*) a *gauche-trans* (*g-t*) del  $\text{CH}_2\text{OH}$  del  $\text{C}_6$  en la celulosa. Esta banda es llamada “banda de cristalinidad”, de manera que una disminución en su intensidad refleja un decrecimiento del grado de cristalinidad de la muestra [69].

Finalmente, se verifica la banda a aproximadamente  $890\text{ cm}^{-1}$  que se asigna al estiramiento  $\text{C-O-C}$  de los enlaces  $\beta$ -1,4-glicosídicos. Esta banda de absorción “amorfa” sufre un incremento en su intensidad en el caso de las muestras amorfas [69].

La Celulosa II tiene una compleja red de enlaces hidrógeno dentro y entre las capas moleculares, lo cual fue precisamente analizado por *Langan et al.* [4]. Estos numerosos puentes hidrógeno inducen a mayor estabilidad de la Celulosa II comparada con la Celulosa I [4].

A partir de los resultados de FTIR y DRX se pudo confirmar que la estructura de la celulosa en la celulosa esférica cambia de Celulosa I a Celulosa II durante el proceso de disolución y posterior regeneración.

Sobre la base del trabajo experimental desarrollado durante la purificación alcalina de las pulpas para papel blanqueadas comerciales de pino y eucalipto, se pudieron obtener las siguientes conclusiones:

- La purificación alcalina permitió incrementar el contenido de  $\alpha$ -celulosa a niveles cercanos al de la pulpa para disolver de referencia, linters de algodón, siendo este parámetro determinante de la calidad de las mismas para la producción de derivados de celulosa.
- La purificación de la pulpa de pino produjo menor pérdida de material y mejor eficiencia de purificación (0,76) respecto a la de eucalipto, teniendo en cuenta que la pérdida de material es inevitable durante estos procesos.
- Se obtuvieron pulpas de alta pureza a partir de pulpas para papel mediante purificación alcalina al 10%. La remoción de hemicelulosas y/o celulosa degradada con este tratamiento se confirmó a través de las DMM obtenidas por SEC-MALLS.
- La estructura cristalina de las pulpas de madera no fue afectada por estos tratamientos, verificándose la presencia de celulosa I por DRX, aún después de la extracción con la mayor concentración de álcali.
- La reactividad de Fock de las pulpas para papel, con extracción alcalina al 10%, llegó a los niveles de la pulpa de referencia, linters de algodón. La mayor reactividad de las pulpas iniciales podría ser consecuencia de la presencia de hemicelulosas y celulosa degradada, que son más reactivas.
- La cantidad de material soluble en NaOH al 9% y -5°C de las pulpas con tratamiento alcalino al 10% disminuyó con respecto a las pastas iniciales, alcanzando los valores de la pulpa de referencia.

Respecto al tratamiento con la enzima MULTIFECT A40 sobre la pulpa de eucalipto purificada con NaOH al 10% se puede decir que:

- Se obtuvo una disminución muy importante en la viscosidad intrínseca y en el  $DP_v$  a los niveles recomendados por la bibliografía. Además, las severas condiciones del tratamiento generaron, como efectos no deseados, una alta disminución en el contenido de  $\alpha$ -celulosa y un notable aumento en la cantidad de celulosa degradada ( $\beta$ -celulosa y  $S_{10}$ ), en consecuencia, una elevada pérdida de material.
- La reactividad de Fock presentó un aumento importante con respecto a la pulpa sin tratamiento enzimático y la accesibilidad de las pulpas, determinada por WRV, aumentó con los tratamientos alcalinos, y aún más con el tratamiento enzimático.

La utilización de una pulpa para disolver de referencia como el linters de algodón grado filtro permitió establecer las condiciones para la preparación de viscosa grado técnico a escala laboratorio. Mediante la caracterización de las viscosas obtenidas a partir de las distintas pulpas se concluyó que:

- Utilizando un dosaje de 29% de  $CS_2$ , se obtuvieron viscosas técnicas con contenidos de 4,7-6,3% de celulosa y 7-8% de álcali total. Pino, eucalipto y sus correspondientes pulpas purificadas, reaccionaron de manera similar frente a la sulfidación. Para  $CS_2$  como xantato, relacionado al DS, se obtuvieron valores en un rango muy estrecho y, teniendo en cuenta que el DS depende del contenido de celulosa en viscosa, también se alcanzaron niveles similares en el número gamma.
- Por otra parte, el aumento de reactividad de Fock de la pulpa E.AEx10.Enz permitió la preparación de viscosas con dosajes decrecientes de  $CS_2$ , las que

presentaron características similares en cuanto a contenido de celulosa (4,5-6,0%), álcali total (7-8%) y DS (número gamma), utilizando hasta 30% menos de CS<sub>2</sub> durante la preparación de viscosa.

Utilizando viscosas preparadas a partir de linters de algodón, se pudieron establecer las condiciones de TSGT para la obtención de celulosa esférica. Teniendo establecidos el tiempo y la temperatura de reacción, la fase orgánica continua y el medio de regeneración de las esferas, y variando los parámetros: velocidad de agitación y concentración de surfactante, se realizaron ensayos con viscosas a partir de las diferentes pulpas.

- Se descartó la posibilidad de utilizar pulpas para papel sin purificar con NaOH en la producción de viscosa destinada a la obtención de celulosa esférica, debido a que no se pudo obtener este derivado en ninguna de las condiciones preestablecidas de velocidad de agitación y concentración de surfactante.
- En el caso de las viscosas preparadas con la pulpa tratada enzimáticamente, no se obtuvo celulosa esférica, aún disminuyendo la velocidad de agitación, ya que no se pudieron evitar las aglomeraciones y/o el colapso de las gotas de viscosa, antes de la regeneración.
- En general, se obtuvieron esferas de celulosa a partir de las viscosas preparadas con todas las pulpas de pino y eucalipto purificadas y con linters de algodón, combinando dos velocidades de agitación (400 y 800 rpm) y dos concentraciones de surfactante (1,0 y 1,6%).
- No se pudo establecer una relación entre las condiciones de TSGT y los tamaños promedio de las partículas obtenidas. Viscosas preparadas a partir de la misma pulpa y en una misma condición de TSGT, presentaron un comportamiento

distinto con valores de diámetro promedio muy dispares. Sería necesario estudiar más profundamente el comportamiento y las condiciones de los sistemas sol-gel, que permitan obtener repetibilidad del tamaño de esferas de celulosa.

- Mediante FTIR y DRX fue posible comprobar que la estructura cristalina de la celulosa esférica, obtenida con viscosas a partir de linters de algodón, E.AEx10 y P.AEx10, es celulosa II.
- Se obtuvo una baja área superficial específica de las esferas (menor a  $1 \text{ m}^2/\text{g}$ ), comportamiento previsible cuando las esferas se regeneran con agua. Además se pudo observar una superficie rugosa pero no porosa mediante las imágenes de celulosa esférica obtenidas por SEM.

Trabajos a futuro en esta línea debieran comprender la utilización de condiciones de tratamiento enzimático menos agresivas, con las que se puedan obtener viscosas cuyas características permitan la obtención de celulosa esférica. Para ello será necesario un estudio profundo del comportamiento del sistema completo TSGT.

Además, sería interesante utilizar las viscosas preparadas con menores dosajes de  $\text{CS}_2$  para la obtención de productos regenerados.

En cuanto a celulosa esférica, un campo de estudio importante es la modificación de la superficie de las esferas y/o la utilización de distintos medios de regeneración que permitan obtener esferas con mayor porosidad y área superficial específica, requisitos fundamentales para la utilización de las mismas, por ejemplo, como soporte para la inmovilización de enzimas.

## **RESUMEN**

*La celulosa es el polímero natural más abundante en la tierra con propiedades como biocompatibilidad, biodegradabilidad y estabilidad química y térmica. Es el componente principal en todas las células vegetales formando la estructura básica de la pared celular.*

*Todo el comportamiento físico, mecánico y químico de la celulosa – incluyendo su insolubilidad – es responsabilidad de los numerosos enlaces puente de hidrógeno inter e intramoleculares.*

*Las pulpas para disolver, también llamadas celulosas químicas o grados especiales de alto alfa, tienen características como alto contenido de celulosa (90-98%), bajo contenido de hemicelulosas, muy poca lignina residual, bajo contenido de extractivos y minerales. También se caracterizan por tener alto brightness y una distribución muy uniforme de su peso molecular. Se preparan por proceso de pulpado kraft con prehidrólisis o al sulfito ácido multietapas a partir de maderas y pulpado a la soda para el linters de algodón.*

*La extracción alcalina, en frío o en caliente, son procesos de purificación tradicionales utilizados para la remoción de carbohidratos de bajo grado de polimerización cuando se requieren pulpas de muy alto alfa. Se considera un método de purificación tradicional que se utiliza para la remoción de carbohidratos de una pulpa de madera destinada a la obtención de pulpa de alta pureza.*

*La celulosa es difícil de procesar debido a su estructura sobremolecular que la hace insoluble en la mayoría de los solventes. Industrialmente los métodos de disolución aplicados son el proceso de viscosa y el de N-óxido de N-metilmorfolina (NMMO). El proceso de viscosa es el más utilizado pero es costoso y origina problemas ambientales causados por el disulfuro de carbono. En la actualidad se están estudiando nuevos procesos más económicos y seguros para reducir el riesgo ambiental de las plantas de viscosa.*

*Para el proceso de viscosa se utilizan pulpas de altos grados de polimerización, que requieren una etapa de envejecimiento para reducirlo al nivel requerido de trabajo. La pulpa se trata con sulfuro de carbono para obtener un intermediario metaestable, el xantato de celulosa. Este se solubiliza en NaOH diluido formando la solución de viscosa. Los productos moldeados se logran cuando se desprende el sustituyente y se regenera la celulosa de alta pureza.*

*La accesibilidad de los grupos hidroxilos presentes en la celulosa depende de la reactividad y la impenetrabilidad de la estructura celulósica.*

*El tratamiento enzimático ofrece la posibilidad tanto de incrementar la accesibilidad y en consecuencia la reactividad del material celulósico como de facilitar las etapas posteriores de preparación de viscosa. Este incremento en la reactividad de Fock permite la reducción en el consumo de sulfuro de carbono y, en consecuencia, la disminución de las emisiones de subproductos del azufre.*

*La celulosa esférica tiene amplia aplicación en las industrias farmacéuticas, petroquímica y biotecnológicas, entre otras. Las perlas de celulosa y sus derivados poseen propiedades como la disponibilidad y bajo precio, la forma esférica, la alta porosidad, hidrofilidad y reactividad química en derivatizaciones. Además, las esferas con grupos carbonilos, hidroxilos o aminos pueden ser usadas para la inmovilización de enzimas, anticuerpos y otras proteínas a través de enlaces covalentes.*

*La obtención de las partículas esféricas por Transición Sol-Gel Térmica (TSGT) consiste en la dispersión de viscosa (xantato de celulosa disuelto en álcali), en un solvente inmisible, con una cantidad determinada de surfactante. El reactor de vidrio con esta mezcla emulsionada es colocado en un baño termostatzado a 90°C, temperatura a la cual se hidrolizan más fácilmente los grupos xantatos y se produce el cambio de fase.*

*Las características del producto están determinadas por las condiciones del proceso de emulsificación, la composición del medio de dispersión, la intensidad de agitación y la temperatura de la transición sol-gel. La composición y calidad de la viscosa son también de gran importancia.*

1. D. Fengel, G. Wegener. “Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions”. Ed. Walter de Gruyter. Berlin – New York (1984).
2. E. Sjöström. “Wood chemistry: Fundamental and applications”. Academic Press. London. (1981).
3. C. Barba Pacheco. “Síntesis de carboximetilcelulosa (CMC) a partir de pastas de plantas anuales”. Memoria presentada para optar al grado de Dr. Ingeniería Química. Universitat Rovira I Virgili. Tarragona (2002). [www.tesisenred/handle/10803/8503](http://www.tesisenred/handle/10803/8503) (última consulta 20 de marzo de 2012).
4. M. M. Egal. “Structure and properties of cellulose/NaOH aqueous solutions, gels and regenerated objects”. PhD Thesis, Ecole Des Mines, Paris (2006).
5. M. Maximino. “Aspectos básicos de la fabricación de pulpas celulósicas y papeles”. Facultad Ingeniería Química. UNL. Santa Fe. Argentina (2011).
6. S. A. Rydholm. “Pulping Processes”. Interscience Publishers. New York – London – Sydney. Primera edición 1965.
7. D. Hon. “Cellulose: a random walk along its historical path”. Cellulose, 1(1):1-25 (1994).
8. J. E. Kline 1982, 1991. Reimpreso por Paper and Paperboard con autorización.
9. A. F. Turbak. “High purity pulps. Testing, accessibility and reactivity”. Copyright © 2003 by Tappi Press. Atlanta, USA (2003).
10. K. Elg Christoffersson. “Dissolving Pulp – Multivariate Characterization and Analysis of Reactivity and Spectroscopic Properties”. Akademisk avhandling. Copyright © 2005 by Kristina Elg Christoffersson. Printed in Sweden by VMC-KBC. Umeå University, Umeå 2005 (2005).
11. M. Ioelovich. “Accessibility and crystallinity of cellulose”. BioResources 4(3):1168-1177 (2009).

12. R. Petra Wollboldt, G. Zuckerstätter, H. K. Weber, P. T. Larsson, H. Sixta. “Accessibility, reactivity and supramolecular structure of *E. Globulus* pulps with reduced xylan content”. *Wood Science and Technology*, 44(4):533-546 (2010).
13. N. Kvarnlöf. “Activation of dissolving pulps prior to viscose preparation”, Dissertation, Karlstad University Studies 2007:46. Copyright © 2007 by Niklas Kvarnlöf. (2007).
14. FAO. FAOSTAT. <http://faostat.fao.org/site/626/default.aspx#ancor> (Última consulta 20 de marzo de 2012).
15. J. F. Hinck, R. L. Casebier, J. K. Hamilton. “VIII Dissolving Pulp Manufacture”. *In Pulp and paper manufacture. Volume 4: Sulfite Science & Technology*. Ed. by O. V. Ingruber, M. J. Kocurek and A. Wong. Third edition (1985).
16. H. Sixta. “Comparison between new organosolv and acid sulfite dissolving pulps for viscose fibres”. *Das Papier*, 55:22-31 (2001).
17. D. Klemm, B. Heublein, H-P Fink, A. Bohn. “Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material”. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(22):3358-3393 (2005).
18. K. Fisher, H. Mobius, T. Poggi. “Manufacture of viscose and of articles therefrom”. US Patent 6538130, Marzo 2003.
19. N. Kvarnlöf, U. Germgard, L. Jönsson, C-A Söderlund. “Enzymatic treatment to increase the reactivity of a dissolving pulp for viscose preparation”. *Appita Journal* 59(3):242-246 (2006).
20. Biotechnological Process for manufacturing cellulosic product with added value (BIOCELSOL). <http://www.chtf.stuba.sk/kvt/doc/Doc/Biocelsol/BIOCELSOL.pdf> (última consulta 20 de marzo de 2012).

21. M. G. Paice, L. Jurasek. "Removing hemicellulose from pulpa by specific enzymic hydrolysis". *J. of Wood Chemistry and Technology*, 4(2):187 (1984).
22. L. Rahkamo, M. Siika-aho, M. Vehviläinen, L. Dolk, L. Viikari, P. Nousianen, J. Buchert. "Modification of hardwood dissolving pulp with purified *Trichoderma reesei* cellulases". *Cellulose* 3(1):153-163 (1996).
23. L. Rahkamo, L. Viikari, J. Buchert, T. Paakkari, T. Suortti. "Enzymatic and alkaline treatments of hardwood dissolving pulp". *Cellulose* 5(2):79-88 (1998).
24. L. Rahkamo, M. Siika-aho, L. Viikari, T. Leppänen, J. Buchert. "Effects of cellulases and hemicellulase on the alkaline solubility of dissolving pulps". *Holzforschung* 52(6):630-634 (1998).
25. L. S. Jackson, J. A. Jr. Heitmann, T. W. Joyce. "Production of dissolving pulps from recovered paper using enzymes". *Tappi Journal* 81(3):171-178 (1998).
26. A-C Engström, M. Ek, G. Henriksson. "Improved accessibility of dissolving pulp for the viscose process: pretreatment with monocomponent endoglucanase". *Biomacromolecules*, 7(6):2027-2031 (2006).
27. R. Kotek. Chapter 10: Regenerated Cellulose Fibers *in Handbook of Fiber Chemistry*. Third Edition. Edited by Menachem Lewin. CRC Press 2006.
28. L. T. To Vo; B. Siroká; A. P. Manian; T. Bechtold. "Functionalization of cellulosic substrates by a facile solventless method of introducing carbamate groups" *Carbohydrate Polymers*, 8(4):1191-1197 (2010).
29. G. Ingram, B. A. Toms. "The hydrolysis of sodium trithiocarbonate and its reaction with ethanol". *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 4328-4344 (1957).
30. G. Henriksson, M. Christiernin, R. Agnemo. "Monocomponent endoglucanase treatment increases the reactivity of softwood sulphite dissolving pulp". *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 32(5):211-214 (2005).

31. R. Janzon, J. Puls, B. Saake. "Upgrading of paper-grade pulps to dissolving pulps by nitren extraction: optimization of extraction parameters and application to different pulps" *Holzforschung* 60(4):347-354 (2006).
32. J. Puls, R. Janzon, B. Saake. "Comparative removal of hemicelluloses from paper pulps using NITREN, CUEN, NaOH and KOH". *Lenzinger Berichte* 86:63-70 (2006).
33. V. Gehmayr, H. Sixta. "Dissolving pulps from enzyme treated kraft pulps for viscose application". *Lenzinger Berichte* 89:152-160 (2011).
34. V. Köpcke, D. Ibarra, P. T. Larsson, M. Ek. "Optimization of treatment sequences for the production of dissolving pulp from birch kraft pulp". *Nordic Pulp and Paper Research Journal*, 25(1):31-38 (2010).
35. P. Strunk, B. Eliasson, C. Hägglund, R. Agnemo. "The influence of properties in cellulose pulps on the reactivity in viscose manufacturing". *Nordic Pulp and Paper Research Journal* 26(1):81-89 (2011).
36. P. Gemeiner, M. J. Benes, J. Stamberg. "Bead cellulose and its use in biochemistry and biotechnology". *Chem. Papers*, 43(6):805-848 (1989).
37. E. Bordallo, V. Leon, G. Marquez, J. Sanchez, I. Menendez Cuesta, R. Hernandez. "Celulosa Esférica. Obtención y Caracterización". IV CIADICYP. Santiago. Valdivia. Chile (2006).
38. G. T. Tsao, L. F. Chen. "Porous cellulose beads". US Patent 4090022, May 1978.
39. R. Sescousse, R. Gavillon, T. Budtova. "Wet and dry highly porous cellulose beads from cellulose-NaOH-water solutions: influence of the preparation conditions on beads shape and encapsulation of inorganic particles". *Journal Material Science*, 46(3):759-765 (2011).
40. G. T. Tsao, L. F. Chen. "Porous cellulose beads and the immobilization of enzymes therewith". US Patent 4063017, Dec. 1977.

41. Y. Morimoto, N. Tsukida, H. Saga, H. Saito. "Method of manufacturing cellulose beads". European Patent Application 0850979 A2, Julio 1998.
42. J. J. O'Neill Jr., R. Reichardt, E. P. Reichardt. "Method of producing cellulose pellets". US Patent 2543928, Marzo 1951.
43. J. Peska, J. Stamberg, Z. Blace. "Method for manufacturing of spherical cellulose particles". US Patent 4055510, Octubre 1977.
44. H. Determann, F. Main, T. Wieland. "Gel filtration process". US Patent 3597350, Agosto 1971.
45. F. Loth, C. Fanter. "Bead-shaped cellulose products for separating and carrier materials and their manufacture". US Patent 5527902, Junio 1996.
46. J. Stamberg, J. Peska. "Preparation of porous spherical cellulose". *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents (Short communication)*, 1(2):145-147 (1983).
47. J. Stamberg. "Bead Cellulose". *Separation and Purification Methods*, 17(2):155-183 (1988).
48. J. Lenfeld, J. Peska, J. Stamberg. "Preparation of porous bead cellulose with technical grain size". *Die Angewandte Makromolekulare Chemie* 197(1):201-206 (1992).
49. Norma TAPPI T203 cm-99. "Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp" (1999).
50. Norma TAPPI T235 cm-00. "Alkali solubility of pulp at 25°C" (2000).
51. M. Marx-Figini. "The acid-catalized degradation of cellulose linters in distinct ranges of degree of polymerization". *Journal of Applied Polymer Science*, 33:2097-2105 (1987).
52. K. Kamide. "Cellulose and cellulose derivatives. Molecular characterization and its applications". Elsevier. Ed. 2005 (2005).
53. Norma SCAN-C 62:00: "Water Retention Value" (2000).

54. W. Fock. "Eine modifizierte Method zur Bestimmung der Reaktivität von Zellstoffen für die Viskoseherstellung". *Das Papier* 13(3):92-95 (1959).
55. Commission on Biotechnology, International Union of Pure and Applied Chemistry, "Measurement of Cellulase Activities" New Delhi, 1984.
56. R. Whistler – "Methods in Carbohydrates Chemistry", Vol. III, 43, 238-250 (1963).
57. H. Barthélemy, L. Williams. "Determination of total sulphur and of the gamma number of viscose". *Industrial and Engineering Chemistry* 17(10):624-626 (1945).
58. E. Treiber; J. Rehnström; C. Ameen; F. Kolos. "Über eine Laboratoriums-Viskose-Kleinanlage zur Testung von Chemiefaser Zellstoffen". *Das Papier*, 16(3):85-94 (1962).
59. Dyer and Smith. "Studying particles in viscose". *In Textile and Paper Chemistry and Technology*. J. Arthur. ACS Symposium. American Chemical Society. Washington, DC (1977).
60. Anhui Xuelong Chemical Fibre Co. Ltd. <http://www.xlhx.com/ecpjs.htm> (última consulta: 20 de marzo 2012)
61. D. Ibarra, V. Köpcke, M. Ek. "Exploring enzymatic treatments for the production of dissolving grade pulp from different wood and non-wood paper grade pulps". *Holzforschung* 63(6):721-730 (2009).
62. C. W. Tait. R.J. Vetter. J.M. Swanson. P. Debye. "Physical characterization of cellulose xanthate in solution". *Journal of Polymer Science*, VII(2/3):261-276 (1950).
63. Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Release 2002. 6<sup>th</sup> Edition (2002).
64. S. Ramachandra Rao. Chapter 9: Xanthates in the cellulose industry. Page: 395. *In Xanthates and Related Compounds*. Marcel Dekker Inc. New York 1971.

65. H. Sixta, H. Harms, S. Dapia, J. C. Parajo, J. Puls, B. Saake, H. P. Fink, T. Röder. "Evaluation of new organosolv dissolving pulps. Part I: Preparation, analytical characterization and viscose processability". *Cellulose*, 11(1):73-83 (2004).
66. X. Luo, L. Zhang. "Creation of regenerated cellulose microspheres with diameter ranging from micron to millimeter for chromatography applications"; *Journal of Chromatography A*, 1217(38):5922-5929 (2010).
67. R-S Juang, F-C Wu, R-L Tseng. "Use of chemically modified chitosan beads for sorption and enzyme immobilization". *Advances in Environmental Research*, 6:171-177 (2002).
68. J. Peska, J. Stamberg, Z. Pelzbauer. "Regenerated cellulose in the bead form. Aftertreatments and their effects on the porous structure of cellulose". *Cellulose Chemistry and Technology*, 21:419-428 (1978).
69. D. Ciolacu, F. Ciolacu, V. I. Popa. "Amorphous cellulose – Structure and Characterization". *Cellulose Chemistry and Technology*, 45 (1-2):13-21 (2011).
70. J. Lojewska, P. Miskowicz, T. Lojewski, L. M. Proniewicz. "Cellulose oxidative and hydrolytic degradation: In situ FTIR approach". *Polymer Degradation and Stability*, 88:512-520 (2005).