

INDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	2
1.1. Introducción:	2
1.2. Objetivos	8
1.3. Estructura del proyecto	9
1.4. Bibliografía Capítulo 1.	10
CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN A LA CELULOSA	14
2.1. Polisacáridos naturales: Celulosa	14
2.2. Membrana celular: Biosíntesis de la celulosa	15
2.3. Estructura de las fibras de celulosa	17
2.3.1. El nivel molecular	18
2.3.2. El nivel agregativo o supramolecular.....	21
2.3.3. El nivel macroestructural o morfológico.....	25
2.4. Estructuras microfibrilares de celulosa de algas, tunicados y bacteriana	31
2.4.1. Celulosa de algas y tunicados.	31
2.4.2. Celulosa bacteriana.	33
2.5. Celulosa microcristalina y nanocelulosa (celulosa microfibrilada y nanocristales de celulosa).	35
2.5.1. Celulosa microcristalina.....	36
2.5.2. Nanocelulosa: celulosa microfibrilada y celulosa nanocristalina.....	37
2.6. Bibliografía Capítulo 2.	40
CAPÍTULO 3. EXPERIMENTOS, RESULTADOS Y DISCUSION	44
3.1. Materiales de partida:	45
3.1.1. Celulosa purificada.	45
3.1.2. Activantes de la celulosa.....	46
3.1.3. Agente acetilante.....	47
3.1.4. Catalizadores.....	47
3.1.5. Disolventes de reacción	47
3.1.6. Disolventes de triacetato de celulosa (TAC).....	48
3.1.7. Plastificantes	48
3.2. Métodos de pretratamiento de la celulosa purificada:	48
3.2.1. Activación química	48
3.2.2. Mercerizado	53
3.3. Métodos de acetilación:	55
3.3.1. Introducción	55
3.3.2. Catálisis ácida (catalizador ác. sulfúrico) con y sin disolvente.	57
3.3.3. Homogéneo sin catalizador, disolvente líquido iónico.	60
3.3.4. Homogéneo sin disolvente y catalizador Yodo.....	63
3.3.5. Homogéneo y catalizador Yodo para muestras activadas con AcOH acuoso.	68
3.3.6. Heterogéneo con un no-disolvente (tolueno) y catalizador Yodo, en una única etapa.	71
3.3.7. Heterogéneo con un no-disolvente (tolueno) y catalizador HClO ₄ , en una única etapa.	74
3.4. Preparación, plastificación y caracterización de membranas de TAC.	79
3.5. Bibliografía Capítulo 3.	83

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1. Introducción:

La celulosa es el material biorenovable más abundante, con una amplia base tecnológica establecida [1-2]. Sus productos derivados presentan una gran variedad y cantidad de importantes aplicaciones en numerosas industrias, entre las que cabe destacar las de, papel, fibras, membranas, polímeros, etc. [3-4]. Los ésteres de celulosa y en especial, los acetatos de celulosa son productos industriales con muchas aplicaciones comerciales bien conocidas como fibra textil, filtros de cigarrillos, membranas de filtración, soporte de películas fotográficas, etc. [5-9].

Actualmente, existe una voluntad creciente de mejorar los procesos establecidos de derivatización de la celulosa y de desarrollar materiales celulósicos nuevos, dado que la celulosa es un recurso extraordinariamente abundante, además de renovable y biodegradable y que por consiguiente, sus derivados pueden presentar un impacto ambiental mucho menor que los polímeros obtenidos de fuentes fósiles. No obstante, muchas de las tecnologías utilizadas normalmente en el procesamiento de celulosa son consideradas no verdes.

En especial, los procesos de obtención de acetatos de celulosa exigen un esfuerzo continuado de investigación básica. En este sentido, este proyecto revisa nuevos métodos de acetilación de celulosa aparecidos en la bibliografía en los últimos cinco años y que aparentemente, suponen mejoras considerables de los procesos convencionales, especialmente desde el punto de vista medioambiental [10-23].

En este proyecto se pretende estudiar y si fuese posible optimizar, ciertos parámetros de la reacción de acetilación (tiempo, temperatura, estequiometría) de aquellos procesos que producen una baja degradación de la celulosa, utilizando disolventes y catalizadores de bajo impacto medioambiental. Estos nuevos métodos son principalmente, los que emplean líquidos iónicos [11-15] y aquellos que utilizan yodo como catalizador [15-23].

En particular, la acetilación de celulosa se puede realizar en ausencia de disolvente con catalizador yodo, que no presenta impacto ambiental negativo y puede recuperarse fácilmente. Sin embargo, nosotros hemos comprobado que al ser un catalizador poco efectivo requiere de temperaturas elevadas y/o tiempos de reacción elevados. En especial, en este nuevo método las temperaturas elevadas producen una considerable reducción del peso molecular de la celulosa. Además, durante la acetilación no se conserva la estructura fibrosa original de la celulosa [19-20]. Por tanto, en este proyecto se pretende estudiar esta nueva acetilación de celulosa y

procurar optimizarla para conservar la estructura fibrosa de la celulosa sin la reducción de su peso molecular.

Estos estudios se realizaron siempre, en comparación con métodos convencionales de acetilación de celulosa, que emplean pequeñas cantidades de catalizadores ácidos minerales fuertes y muy efectivos, como el ácido perclórico. En especial, estudiaremos el proceso heterogéneo de acetilación catalizada con HClO_4 , que a temperatura ambiente, permite conservar la estructura fibrosa de la celulosa y evita el consumo de los reactivos y el uso de disolventes adicionales para la precipitación de los acetatos de celulosa disueltos en el medio de reacción de los procesos homogéneos [2-4].

Estos nuevos métodos de acetilación con líquidos iónicos o con yodo como catalizador fueron seleccionados también por ser lo suficientemente sencillos como para poderse llevar a cabo en el laboratorio de prácticas de docencia de química orgánica de la EUITIZ [11-23]. Sin embargo, pronto rechazamos los métodos con líquidos iónicos al observar que producían una degradación considerable del peso molecular de la celulosa. Posteriormente y durante la finalización de la parte experimental de este proyecto, estos métodos fueron revisados en la bibliografía [11], descubriéndose que el agua y otras impurezas en los líquidos iónicos, eran las responsables de la degradación de la celulosa, además de otras reacciones laterales indeseables. Por consiguiente, estos métodos requieren de líquidos iónicos de una gran pureza y que en cualquier caso, están fuera del alcance de las técnicas de purificación de nuestro laboratorio.

Generalmente, el seguimiento de las reacciones de acetilación lo realizamos mediante microscopía óptica con luz polarizada, observando la desaparición de la fuerte birrefringencia de las fibras de celulosa a medida que se van acetilando [24]. Este método cualitativo tan simple, resulto ser adecuado ya que no pretendemos estudiar ninguna cinética de reacción. Únicamente determinamos el punto final de la reacción de acetilación, que normalmente coincide con el 100% de la conversión de la celulosa. La siguiente microfotografía (*Figura 1*) muestra la diferente birrefringencia de fibras de algodón sin acetilar (izquierda) y completamente acetiladas (derecha), correspondiente al seguimiento rutinario de una acetilación de este proyecto (50X, polarizadores cruzados).

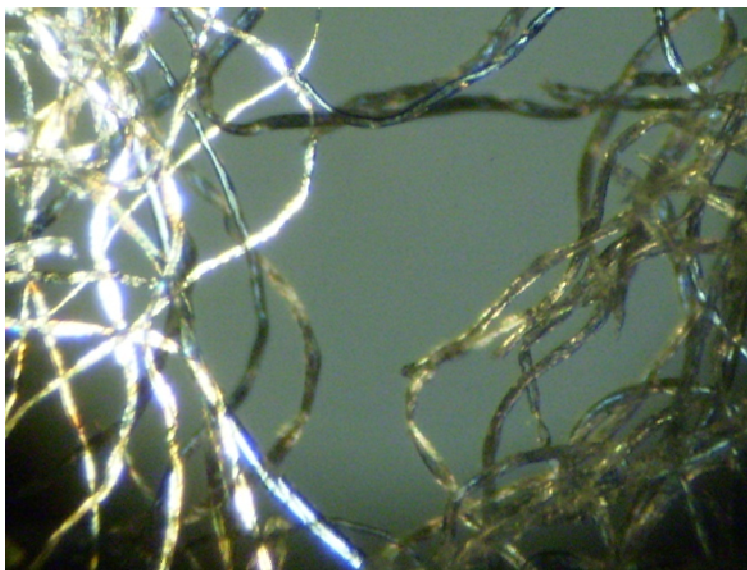


Figura 1: Birrefringencia de las fibras de algodón sin acetilar (izquierda) y completamente acetiladas (derecha), correspondiente al seguimiento rutinario de una acetilación de este proyecto (50X, polarizadores cruzados).

La mayor parte de las acetilaciones las realizamos en fase sólida, conservando la estructura fibrosa original de la celulosa. La acetilación en fase sólida produce la rotura de las estructuras microfibrilares pero afecta poco a las estructuras microcristalinas de la celulosa. Por otra parte, la compleja y heterogénea morfología de la celulosa afecta enormemente la reactividad de los grupos hidroxilo. En ausencia de disolvente, la accesibilidad de los grupos hidroxilo disminuye según su localización en zonas amorfas, en el exterior de regiones cristalinas, o completamente inaccesibles en el interior de cristales perfectos de celulosa [25]. La heterogeneidad de la acetilación la observamos incluso a nivel macroscópico, casi a simple vista. Por ejemplo, durante la fase final de acetilación en fase sólida de algodón, puede observarse en una única fibra aislada, distintos tramos desordenados de varios milímetros de longitud, mostrando distintas birrefringencias que indican grados de acetilación completamente diferentes. Probablemente, las zonas más débiles, torsionadas, con defectos (cracks, poros, capilares y huecos), roturas, etc. de la fibra resultan más accesibles a los reactivos de acetilación [26]. La siguiente microfotografía (**Figura 2**) ilustra estas observaciones (acetilación de este proyecto, 200X, polarizadores cruzados).

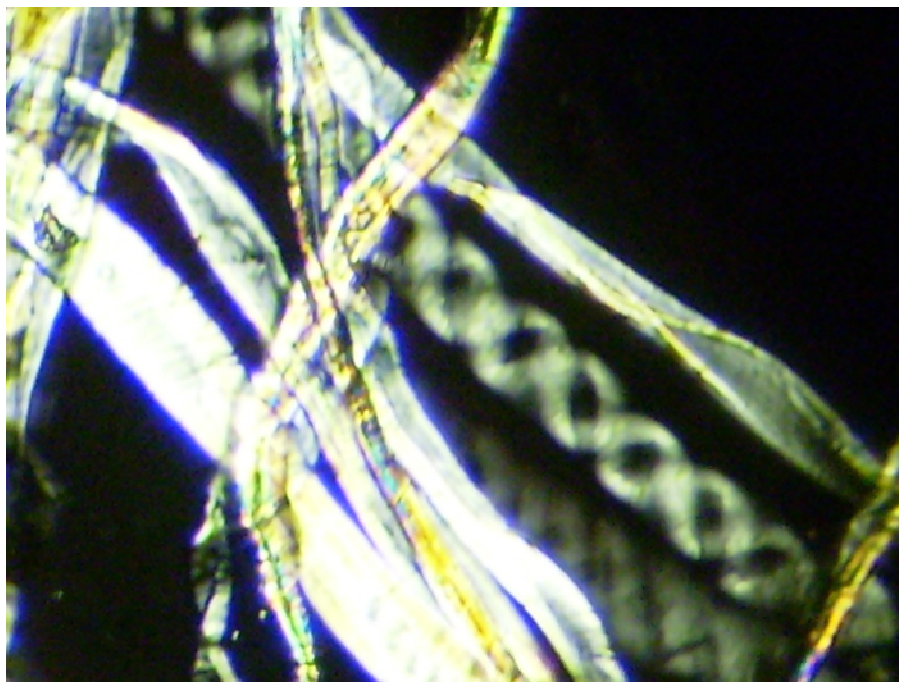


Figura 2: Acetilación de la fibra 200X, polarizadores cruzados

Debido a que los productos de las acetilaciones en fase sólida pueden ser particularmente heterogéneos, normalmente, solo consideramos detalladamente aquellos experimentos cuyos resultados indican que todos los hidroxilos de la celulosa (3 por unidad repetitiva o anhidroglucosa) resultan completamente acetilados y que la celulosa se convierte cuantitativamente a triacetato de celulosa, sin disminución considerable de su peso molecular. Así pues, solo tenemos en cuenta los experimentos con rendimientos en el intervalo 95 - 100% que producen sólidos totalmente solubles en diclorometano, sin residuos insolubles de celulosa poco y/o nada acetilada. Sobre todo, consideramos que la evaporación del diclorometano de estas disoluciones debe de producir filmes o películas incoloras y totalmente transparentes. Debido a la escasa degradación del peso molecular de la celulosa durante su acetilación, el triacetato obtenido presenta un peso molecular elevado. Por consiguiente, estas películas (de 0.01 a 0.05 mm de espesor) resultan extraordinariamente robustas y por ejemplo, soportan ser plegadas repetidamente en forma de cono de papel de filtro rápido, sin dar ninguna muestra de desgaste o rotura. La siguiente fotografía (**Figura 3**) muestra algunas películas obtenidas en este proyecto plegadas de esta forma característica (películas de aproximadamente 0.03mm de espesor y 12cm de diámetro).



Figura 3: Películas de triacetato de celulosa 0.03mm de espesor y 12cm de diámetro

Puede ocurrir, que el producto de reacción de la acetilación completa de una muestra de celulosa sea heterogéneo en cuanto a la distribución de grupos acetilo. Por ejemplo, la reacción competitiva de acetólisis de la celulosa puede generar oligómeros peracetilados de celulosa (grado de acetilación > 3). Entonces el producto de esta acetilación, aun presentando un rendimiento del 100%, puede consistir en oligómeros peracetilados y celulosa con grado de acetilación similar pero < 3 , y todavía este producto (de peso molecular elevado) resultaría completamente soluble en diclorometano y sus filmes resultarían robustos. Afortunadamente, los oligómeros peracetilados resultan fácilmente extraíbles por disolventes como acetona hirviendo, para producir filmes (por evaporación de la acetona) idénticos a los de triacetato, pero con poca o ninguna resistencia mecánica. Generalmente, en los experimentos considerados, el contenido en oligómeros extraíbles por acetona a ebullición es $< 10\%$. Esta proporción puede aumentar considerablemente, si se incrementan por ejemplo, cualquiera de los siguientes parámetros de la acetilación: la temperatura, el tiempo y la cantidad de catalizador.

Las características estructurales, el peso molecular, la reactividad, etc. de las muestras de celulosa pura, vienen determinadas por su origen y el proceso de aislamiento a partir del material celulósico nativo. El proceso biosintético de celulosa es el mismo para todos los organismos, pero existen diferencias en los complejos celulosa sintasa que determinan el tamaño y grosor de las microfibrilas [27-29]. En definitiva, el grado de cristalinidad y el tamaño de los cristales dependen del origen de la celulosa. Posteriormente, según los procesos físicos y químicos a que se someta la celulosa durante su aislamiento, se producirán variaciones estructurales de la

celulosa y en particular de su peso molecular. En este proyecto, utilizamos principalmente algodón purificado y blanqueado como fuente de celulosa pura (α -celulosa >95%, DP = 1000 - 15000) y como comparación, papel de filtro (α -celulosa >98%, DP = 700 - 900) y celulosa microcristalina de linters (α -celulosa >98%, DP = 200 - 400).

Finalmente, la detallada caracterización espectroscópica (IR, RMN) de los TACs sintetizados forma parte de otro proyecto fin de carrera actualmente en desarrollo. En el proyecto aquí presentado, la caracterización se ha realizado de forma puntual y siempre como mera comprobación de que las acetilaciones estudiadas producían invariablemente acetatos de celulosa con grados de acetilación comprendidos entre 2.85 y 3.0.

1.2. Objetivos

El presente proyecto tiene como objetivo principal preparar triacetato de celulosa (TAC) de elevado peso molecular para la preparación de membranas y en especial como polímero matriz de membranas de inclusión (PMIs), homogéneas, transparentes, flexibles y resistentes mecánicamente [30-35].

Estas membranas PMI, suelen constar de: 1º.- un polímero matriz que sirve de soporte y es el responsable de las propiedades mecánicas, 2º.- un compuesto activo que actúa como transportador, extractante, etc. proporcionando permeabilidad selectiva, 3º.- un plastificante que aporta flexibilidad y sirve como fase líquida donde el compuesto activo puede difundir [31-32].

La permeabilidad de las PMIs es mayor (entre otros factores) cuanto menor es su grosor y mayor su área y la proporción de plastificante (frecuentemente, reduciendo la proporción de polímero matriz a proporciones < 40%). A pesar de su bajo contenido de polímero matriz y su elevada delgadez, área y plastificación, las PMIs deben de ser estables, homogéneas, transparentes, flexibles y resistentes mecánicamente [32]. Por consiguiente, es importante que el polímero matriz no presente bajo peso molecular.

Triacetato de celulosa (TAC) es uno de los polímeros más frecuentemente usado como soporte en PMIs [30-35]. Es un polímero no cristalino soluble en diclorometano que por evaporación forma fácilmente filmes amorfos totalmente transparentes que resultan muy robustos aun plastificados, cuando su peso molecular es elevado.

Las PMIs de TAC con suficiente peso molecular, pueden prepararse fácilmente con bajos grosores de típicamente 10 a 50 μm , resultando muy robustas mecánicamente incluso con elevadas cantidades de plastificante y presentando baja resistencia al transporte de iones [31-32].

La consecución de este objetivo general, se realizará mediante los siguientes objetivos parciales que se detallan a continuación:

- 1º.- Preparación de membranas de TAC (triacetato de celulosa) que aparentemente presenten unas propiedades mecánicas y ópticas que permitan suponer su aplicabilidad en cualquiera de los usos convencionales del TAC.
- 2º.- Síntesis de TAC, a partir de fuentes comunes de celulosa purificada, con suficiente peso molecular como para permitir la preparación de membranas de TAC con buenas propiedades mecánicas.

3°.- Síntesis de TAC mediante procesos homogéneos, heterogéneos y catalizadores ácidos.

4°.- Síntesis de TAC mediante procesos homogéneos (sin disolvente), heterogéneos y con yodo I_2 como catalizador.

5°.- Optimización de las condiciones de acetilación homogéneas y heterogéneas. Principalmente, la minimización de las etapas, de las cantidades de reactivos y catalizadores y la reutilización de las mezclas de acetilación. Siempre que estas minimizaciones, no supongan tiempos de reacción excesivamente largos, conversiones incompletas o la disminución del peso molecular de la celulosa.

6°.- Caracterización cualitativa de los TACs sintetizados mediante microscopía óptica y estudio de su solubilidad y además, pruebas sencillas de hidrólisis, hidrofobicidad, tinción, etc. y finalmente, inspección de sus propiedades cristal líquido.

7°.- Plastificación y coloración de las membranas de TAC: Plastificantes convencionales (ftalatos) y alternativos (citratos).

1.3. Estructura del proyecto

El proyecto consta de las siguientes partes:

1°.- La primera parte es meramente bibliográfica y consiste en una introducción elemental a la estructura y propiedades de la celulosa y sus principales derivados. Esta parte puede ser obviada por aquellos que posean conocimientos elementales acerca de la compleja estructura y reactividad de la celulosa.

2°.- La segunda, es la parte experimental del proyecto, en la que se describen los experimentos realizados y se exponen los resultados obtenidos siempre tratando de analizarlos, explicarlos y discutirlos.

La bibliografía se introduce al final de cada capítulo para facilitar su manejo inmediato aun a pesar de la inevitable repetición de algunas referencias comunes a varios capítulos.

1.4. Bibliografía Capítulo 1.

- [1] Dieter Klemm. Cellulose fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte chemie Int. Ed.*, **2005**, *44*, 3358-3393.
- [2] Krässig HA (ed) (1993) In: Cellulose: Structure, Accessibility, and Reactivity. Gordon and Breach, Yverdon.
- [3] Omar A. El Seoud., Thomas Heinze. Organic Esters of Cellulose: New Perspectives for Old Polymers. *Adv. Polym. Sci.* **2005**, *186*, 103–149
- [4] Edgar, K.J.; Buchanan, C.M.; Debenham, J.S.; Rundquist, P.A.; Seiler, B.D.; Shelton, M.C.; Tindall, D. Advances in cellulose ester performance and application. *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 1605-1688.
- [5] Steffen Fischer, Katrin Thümmeler, Bert Volkert, Kay Hettrich, Ingeborg Schmidt, Klaus Fischer. Properties and Applications of Cellulose Acetate. *Macromol. Symp.* **2008**, *262*, 89–96.
- [6] Tohru Shibata. Cellulose acetate in separation technology. *Macromol. Symp.* **2004**, *208*, 353-369.
- [7] Rachel C. Law. Cellulose acetate in textile application. *Macromol. Symp.* **2004**, *208*, 255-265.
- [8] Paul Rustemeyer. Cellulose acetate filter tow for cigarette filters. *Macromol. Symp.* **2004**, *208*, 267-291.
- [9] Hiroaki Sata. Properties and applications of cellulose triacetate film. *Macromol. Symp.* **2004**, *208*, 323-333.
- [10] Lifeng Yan, Wan Li, Zhonghui Qi and Shaoyang Liu. Solvent-free Synthesis of Cellulose Acetate by Solid Superacid Catalysis. *Journal of Polymer Research* **2006**, *13*, 375-378
- [11] Tim Liebert, Thomas Heinze. Solvents and reaction media for the modification of cellulose. *Bioresources*, **2008**, *3(2)*, 576-601.
- [12] Yan Cao, JinWu, Jun Zhang, Huiquan Li, Yi Zhang, Jiasong He. Room temperature ionic liquids (RTILs): A new and versatile platform for cellulose processing and derivatization. *Chemical Engineering Journal.* **2009**, *147*, 13–21.

- [13] Granstrom, M., Kavakka, J., King, A., Majoinen, J., Makela, V., Helaja, J., Hietala, S., Virtanen, T., Maunu, S.L., Argyropoulos, D.S., Kilpelainen, I. Tosylation and acylation of cellulose in 1-allyl-3-methylimidazolium chloride. *Cellulose* **2008**, *15*, 481–488.
- [14] Susann Barthel and Thomas Heinze. Acylation and carbanilation of cellulose in ionic liquids. *Green Chem.*, **2006**, *8*, 301–306.
- [15] Ren, J.L.; Sun, R.C.; Liu, C.F.; Cao, Z.N.; Luo, W. Acetylation of wheat straw hemicelluloses in ionic liquid using iodine as a catalyst. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *70*, 406-414.
- [16] Phukan, P. Iodine as an extremely powerful catalyst for the acetylation of alcohols under solvent free conditions. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4785-4787.
- [17] Balaram Mukhopadhyay, K. P. Ravindranathan Kartha, David A. Russell, and Robert A. Field. Streamlined Synthesis of Per-O-acetylated Sugars, Glycosyl Iodides, or Thioglycosides from Unprotected Reducing Sugars. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7758-7760.
- [18] Ahmed, N.; van Lier, J.E. Molecular iodine in isopropenyl acetate (IPA): a highly efficient catalyst for the acetylation of alcohols, amines and phenols under solvent free conditions. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 5345-5349.
- [19] Abdelmajid Memmi, Robert Granet, Yves Champavier, Pierre Krausz. A highly efficient, solvent-free and energy-effective method of cellulose acetylation. *e-Polymers* **2005**, n° 083.
- [20] Biswas, A.; Shogren, R.L.; Willett, J.L. Solvent-free process to esterify polysaccharides. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1843-1845.
- [21] Biswas, A.; Selling, G.; Appell, M.; Woods, K.K.; Willett, J.L.; Buchanan, C.M. Iodine catalyzed esterification of cellulose using reduced levels of solvent. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *68*, 555-560.
- [22] M. Peres de Paula, T. M. Lacerda, E. Frollini. Sisal cellulose acetates obtained from heterogeneous reactions. *EXPRESS Polymer Letters* **2008**, *2*, 423–428.
- [23] Jing Li, Li-Ping Zhang, Feng Peng, Jing Bian, Tong-Qi Yuan, Feng Xu and

Run-Gang Sun. Microwave-Assisted Solvent-Free Acetylation of Cellulose with Acetic Anhydride in the Presence of Iodine as a Catalyst. *Molecules* **2009**, *14*, 3551-3566

[24] Masayuki Yamaguchi, Takuya Iwasaki, Kyoko Okada, Kenzo Okamoto. Control of optical anisotropy of cellulose esters and their blends with plasticizer. *Acta Materialia* **2009**, *57*, 823–829.

[25] Sassi, J.F.; Chanzy, H. Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose. *Cellulose* **1995**, *2*, 111-127.

[26] Abu-Rous M, Ingolic E, Schuster K. Visualization of the fibrillar and pore morphology of cellulosic fibers applying transmission electron microscopy. *Cellulose* **2006**, *13*, 411–419.

[27] Lerouxel, O.; Cavalier, D. M.; Liepman, A. H.; Keegstra, K. Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides – a complex process. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2006**, *9*, 1–10.

[28] Paredez, A. R.; Somerville, C. R.; Ehrhardt, D. W. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science*, **2006**, *312*, 1491–1495.

[29] Diotallevi, F. The physics of cellulose biosynthesis - Polymerization and selforganization from plants to bacteria, Ph.D. Thesis, FOM Institute for Atomic and Molecular Physics, Wageningen University, Amsterdam, **2007**, 136 p.
<http://www.amolf.nl/publications/theses/diotallevi/diotallevi.html>

[30] Nghiema, L. D.; Mornanea, P.; Potter, I. D.; Perera, J. M.; Cattrall, R. W.; Kolev, S. D. Extraction and Transport of Metal Ions and Small Organic Compounds using Polymer Inclusion Membranes (PIMs). *J. Membr.Sci.* **2006**, *281*, 7-41.

[31] Natalie Pereira, Alexander St John, Robert W. Cattrall, Jilska M. Perera, Spas D. Koleva. Influence of the composition of polymer inclusion membranes on their homogeneity and flexibility. *Desalination* **2009**, *236*, 327–333.

[32] Joseph S. Gardner, Jedediah O. Walker, John D. Lamb. Permeability and durability effects of cellulose polymer variation in polymer inclusion membranes. *J. Membr.Sci.* **2004**, *229*, 87-93.

[33] Yu. A. Mikheev, L. N. Guseva, and Yu. A. Ershov. Mechanism of Hydrostimulated Displacement of Aromatic Compounds from Cellulose Triacetate Films. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, **2010**, *84(2)*, 291–298.

[34] Prasanta K. Mohapatra, Priyanath N. Pathak, Anup Kelkarz and Vijay K. Manchanda. Novel polymer inclusion membrane containing a macrocyclic ionophore for selective removal of strontium from nuclear waste solution. *New. J.Chem*, **2004**, *28*, 1004 – 1009.

[35] Jennifer A. Riggs and Bradley D. Smith. Facilitated Transport of Small Carbohydrates through Plasticized Cellulose Triacetate Membranes. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2765-2766.

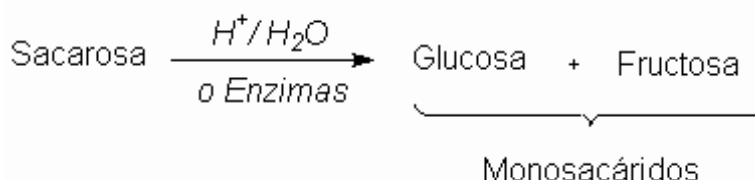
CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN A LA CELULOSA

2.1. Polisacáridos naturales: Celulosa

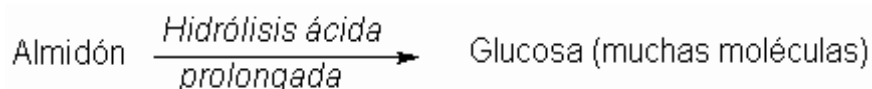
Los glúcidos son las biomoléculas más abundantes en la tierra. Existen 3 clases de glúcidos: monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

Monosacáridos (azúcares o carbohidratos simples): consisten en una unidad de polihidroxialdehído o cetona. El más abundante es la dextrosa.

Oligosacáridos: consisten en cadenas cortas de unidades de monosacáridos unidas por enlaces glucosídicos característicos. Los más abundantes son los **disacáridos** y el más conocido es la **sacarosa** o azúcar de caña, formado por los azúcares de D-glucosa y D-fructosa.



Todos los monosacáridos y disacáridos comunes tienen nombres terminados en -osa. Aquellos que contienen más de 20 unidades de monosacáridos se denominan **polisacáridos**. Algunos como la celulosa son cadenas lineales, otros como glucógeno tienen cadenas ramificadas.



Los polisacáridos naturales más abundantes y mejor conocidos **almidón**, **celulosa**, **glucógeno** y **quitina** presentan dos funciones biológicas diferentes: 1°.- elemento estructural de vegetales y madera (celulosa) y del esqueleto animal (quitina), y 2°.- almacenamiento de energía (almidón y glucógeno).

La **celulosa** es el polisacárido más ampliamente distribuido en la naturaleza. Es biosintetizado por plantas, algas, bacterias y animales marinos y es el principal polímero constituyente de la materia vegetal. Se encuentra en plantas, madera y fibras naturales, por lo general combinada con otras sustancias (lignina, hemicelulosas, pectinas, etc). La madera contiene aproximadamente un 50% de celulosa. Es un polímero lineal compuesto por unidades de glucosa (**anhidroglucosa** o anhidroglucopiranososa), unida por enlaces **β-glucosídicos**. Se encuentra en forma prácticamente pura únicamente, en las fibras de algodón y en las secreciones

extracelulares (celulosa bacteriana) de ciertas especies de bacterias como por ejemplo, *Acetobacter*.

2.2. Membrana celular: Biosíntesis de la celulosa.

La pared de las células vegetales está constituida principalmente por **celulosa** y **lignina**. Entre las dos constituyen aproximadamente el 90% del total de la planta (excluyendo al agua). La fracción del vegetal correspondiente a la celulosa se le conoce como **holocelulosa** y está formada principalmente por **α -celulosa** y **hemicelulosa**.

$$\text{Holocelulosa} = \alpha\text{-celulosa} + \text{Hemicelulosa}$$

La **α -celulosa** (celulosa propiamente dicha, también llamada celulosa noble) es la parte de **holocelulosa** insoluble en NaOH (17,5%, 20°C), mientras que la **hemicelulosa** es la parte soluble. El más insoluble de estos polisacáridos es la α -celulosa que es la que presenta mayor grado de polimerización y de cristalinidad. Mientras que los polisacáridos de la hemicelulosa presentan grados de polimerización mucho menores, no son cristalinos y parte de ellos son ramificados y solubles incluso en agua caliente. La holocelulosa constituye aproximadamente entre el 65 y 75% de la madera (40-50% celulosa y 25-35% hemicelulosa del peso de madera seca.)

En este proyecto no utilizaremos frecuentemente el término holocelulosa ni el de α -celulosa. Únicamente emplearemos el término de **celulosa** para referirnos a la α -celulosa y el término **hemicelulosa** para aludir a los polisacáridos de la pared celular extraíbles con álcalis acuosos (que incluyen a todos los polisacáridos estructurales salvo la celulosa).

La pared celular de las plantas es un material compuesto principalmente por **microfibrilas de celulosa** y una matriz compuesta de lignina, hemicelulosa, pectinas y proteínas. La célula sintetiza las microfibrilas de celulosa en el complejo celulosa sintasa (**CSC**) y el **aparato de golgi** produce la matriz de polisacáridos [1-2].

En las plantas superiores y algunas algas el CSC está formado por una roseta de 6 subunidades y cada una de estas subunidades está formada a su vez por 6 proteínas CESA. Por consiguiente, el CSC es un complejo de 36 proteínas CESA, cada una capaz de producir una cadena de celulosa.

El siguiente dibujo (**Figura 4**) (a) y (b), ilustra como las proteínas CESA utilizan la UDP-glucosa para producir cadenas de celulosa, las cuales se unen mediante fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrogeno para formar microfibrilas de celulosa. (c) La matriz de polisacáridos producida en el aparato de golgi es depositada por la

vesícula secretoria en la pared interior de la célula uniendo las microfibrilas de celulosa. [1-2]

Un gran número de CSC presentes en el plasma de la membrana celular van depositando las microfibrilas de celulosa en la superficie de la célula donde quedan unidas por la matriz de polisacáridos producidos por el aparato de golgi. Cuando la pared celular está formada la célula muere y queda la compleja y perfectamente organizada estructura de polisacáridos que constituye la fibra de celulosa.

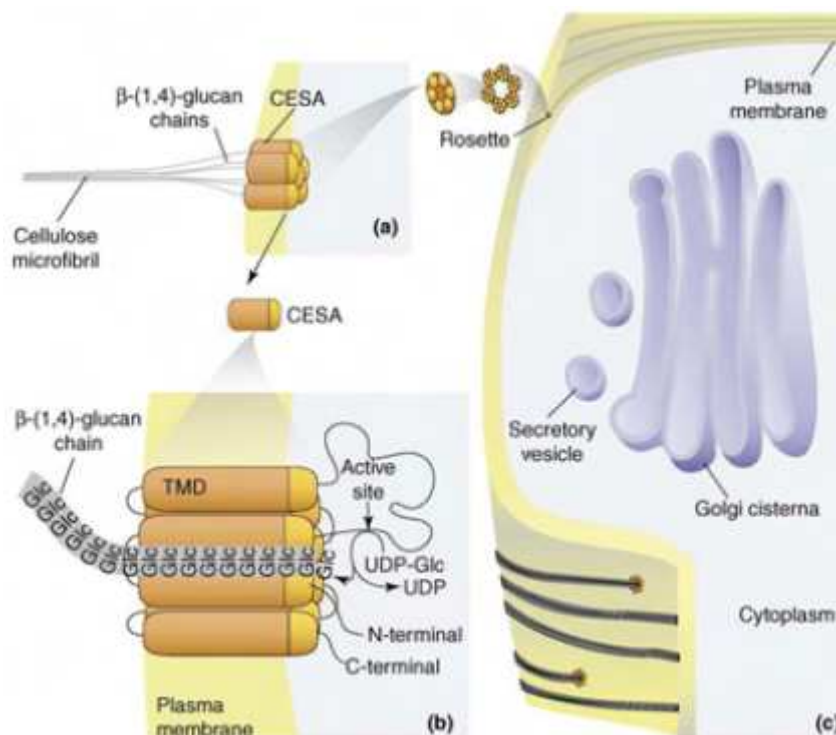


Figura 4: Las proteínas CESA utilizan la UDP-glucosa para producir cadenas de celulosa, las cuales se unen mediante fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrogeno para formar microfibrilas de celulosa.

El siguiente esquema (**Figura 5**) muestra como seis cadenas de celulosa (producidas por cada una de las 6 CSEA de una subunidad de 36 CSC) se unen para formar una **fibrila elemental**. Seis de estas fibrilas se unen para formar una **microfibrila** de 36 cadenas de celulosa y un número variable de microfibrilas se unen formando las **macrofibrilas** de la pared celular de una planta superior [1-3]. En las plantas y algunas algas verdes, las microfibrilas suelen tener entre 36 y 90 cadenas de celulosa, pero según la especie, su número varía ampliamente llegando hasta 1400 cadenas de celulosa en algas como *Valonia macrophysa*. [1-3]

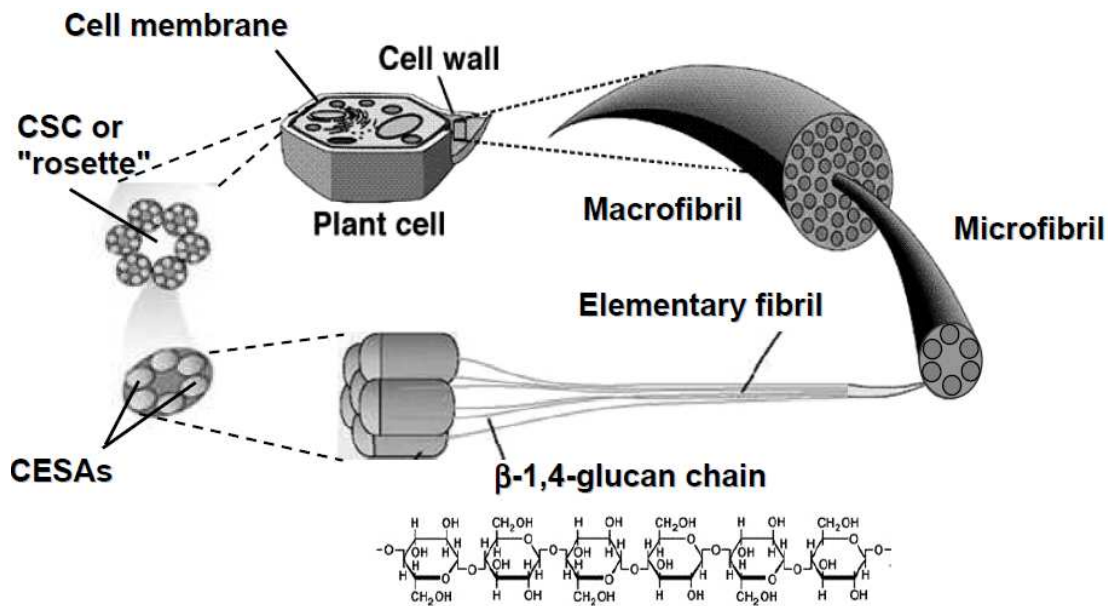


Figura 5: Formación de macrofibrilas a partir de una fibrila elemental creada a partir de seis cadenas de celulosa (producidas por cada una de las 6 CSEA de una subunidad de 36 CSC).

2.3. Estructura de las fibras de celulosa

Las propiedades físicas y químicas de la celulosa sólo pueden entenderse adecuadamente combinando el conocimiento de la naturaleza química de la molécula de celulosa y su estructura y morfología en el sólido, principalmente en estado de fibra. Para analizar los efectos de la estructura en las propiedades físicas y químicas es necesario conocer la *forma estructural de la celulosa*.

En este apartado, describiremos la manera en que se organiza la celulosa junto con los componentes no celulósicos en los distintos niveles estructurales de la fibra. Usualmente se distinguen los siguientes tres niveles estructurales en las fibras de celulosa:

- 1) **El nivel molecular (Å):** en el que se incluye la constitución química, la conformación estérica, la masa molecular, la distribución de la masa molecular, los grupos funcionales hidroxilo, las interacciones intramoleculares, etc.
- 2) **El nivel supramolecular (nm):** que engloba la agregación de las cadenas moleculares de celulosa en cristales elementales, fibrilas y microfibrilas (interacciones intermoleculares, redes cristalinas, grado de orden, etc.)
- 3) **El nivel morfológico (nm – μ m):** organización espacial de las microfibrilas y macrofibrilas en capas y paredes (las distintas capas de las membranas celulares en las fibras de celulosa nativa o las distintas capas en las estructuras núcleo-corteza en fibras de celulosa regenerada,

la presencia de componentes no celulósicos así como de huecos, poros o intersticios interfibrilares, etc).

2.3.1. El nivel molecular

Actualmente, se conoce bastante bien la celulosa a nivel molecular es decir; su composición química, conformación estérica, peso molecular su distribución, la posición y funcionalidad de los 3 grupos hidroxilo y sus interacciones intra e intermoleculares.

a) Estructura química

La siguiente figura (**Figura 6**) ilustra la estructura molecular de la celulosa [4-5]. Aparte de los grupos terminales hidroxilo (reductor y no reductor) de la cadena, cada unidad repetitiva de anhidroglucosa (AGU) presenta 3 grupos hidroxilo, uno primario en el C6 y dos secundarios en C2 y C3.

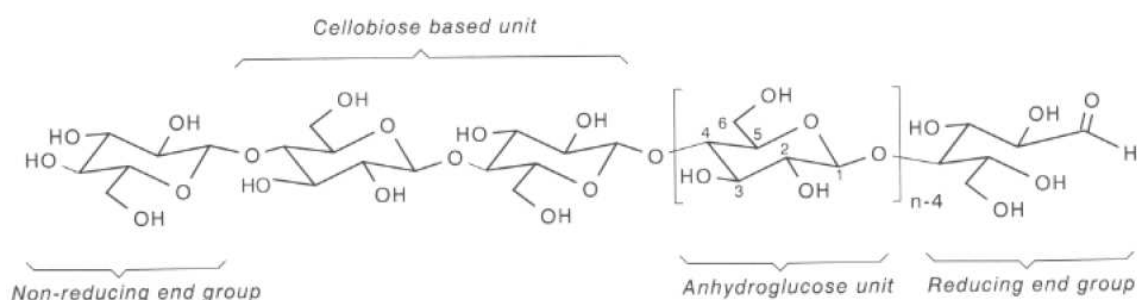


Figura 6: Estructura molecular de la celulosa

La siguiente figura (**Figura 7**) muestra (a) [5] las dos conformaciones (1C_4 y 4C_1) más probables de las unidades AGU y (b) la fórmula de la conformación estérica de la molécula de celulosa, donde puede apreciarse que (generalmente), las unidades AGU adoptan en las cadenas la conformación termodinámicamente más estable, la conformación silla 4C_1 (con los grupos $-OH$ en 2 y 3 y el grupo $-CH_2OH$ en 6 en posición ecuatorial, fuera del plano del anillo).

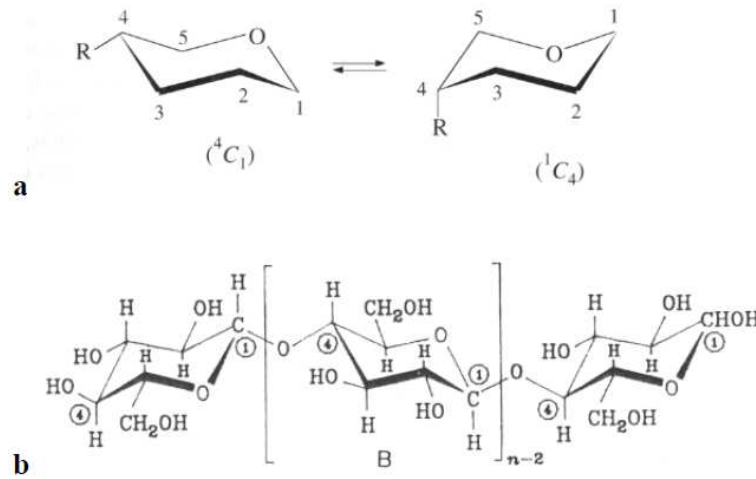


Figura 7: Conformaciones posibles de la molécula de celulosa

b) Distribución de pesos moleculares

Como puede observarse en el gráfico (**Figura 8**) y tabla siguiente (**Tabla 1**), el peso molecular y la polidispersidad de la celulosa dependen fuertemente de su origen y del proceso a que ha sido sometida durante su aislamiento. La siguiente figura muestra las curvas de distribución de pesos moleculares (GPC) de diferentes muestras de celulosas [6] (eje X, grado de polimerización DP = 0-10000). *a* y *b* algodón y *linters*, respectivamente, *c* y *e* dos especies de ramie, *d* lino, *f*, *g* y *h* madera de bálsamo, abeto y álamo, respectivamente. Puede apreciarse, que prácticamente casi todas las muestras son bastante polidispersas y que su polidispersidad y pesos moleculares varían ampliamente con el origen de la celulosa.

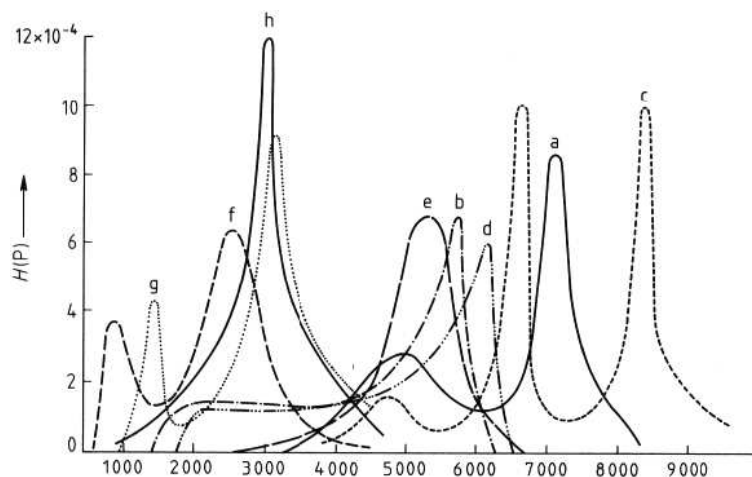


Figura 8: Curvas de distribución de pesos moleculares

Tabla 1: Pesos moleculares de distintas muestras de celulosa

Source	Wood	Valonia	Cotton	Acetobacter xylinum	Cotton linters	Flax	Pulp	Kapok	Ramie
*DP _w (10 ³)	8-9	25-27	8-15	2-6	1-5	7-8	2.1	9.5	9-11

*DP_w weight average DP determined by viscometric methods

También puede observarse que los DP's más elevados corresponden a celulosa de algas de la clase Valonia (25-27 10³), esto no es debido únicamente a su origen, sino también al suave proceso de aislamiento de la celulosa de las algas. Sobre todo, si lo comparamos con los drásticos procesos mecánico-químicos comúnmente empleados en el aislamiento de la celulosa de la madera (madera 8-9 10³, pulpa 1-2 10³). El DP de la celulosa bacteriana es muy elevado (16-20 10³). Sin embargo, solo el mero proceso de secado de los geles de celulosa producidos por *Acetobacter xylinum* reduce su DP a 1/3.

c) Enlaces hidrógeno intramoleculares

Los tres hidroxilos en cada unidad base AGU de la molécula de celulosa forman puentes de hidrogeno, mediante interacciones intermoleculares e intramoleculares. La fuerza de esos enlaces de hidrógeno es de 25 kJ/mol y por tanto 100 veces más fuerte que las fuerzas de van der Waals (aprox. 0.15 kJ/mol) pero una décima parte menor que la fuerza del enlace covalente O-H (460 kJ/mol). La siguiente figura (**Figura 9**) muestra (a) los dos enlaces de hidrogeno intramoleculares y (b) enlace de hidrogeno intermolecular, posibles en las cadenas de celulosa [5].

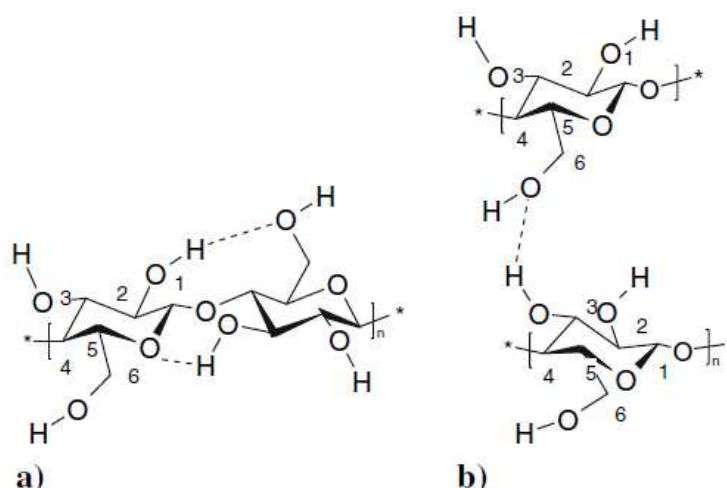


Figura 9: Enlaces de hidrógeno en la molécula de celulosa

Estos enlaces de hidrogeno intramoleculares son los principales responsables de la rigidez de las cadenas de celulosa. Aunque, la conformación silla del anillo de piranosa de la unidad AGU y los enlaces β -glucosídicos favorecen también, la rigidez y linealidad de la macromolécula.

2.3.2. El nivel agregativo o supramolecular

a) **Arquitectura (cristalinidad)**

En las secciones anteriores hemos descrito que debido a la rigidez, linealidad y especialmente, la gran capacidad de formación de puentes de hidrogeno, las cadenas de celulosa presentan una elevada tendencia a alinearse y agregarse, formando entidades mayores como son las fibrilas elementales, microfibrilas y macrofibrilas. La agregación de las fibrilas elementales en microfibrilas forma unidades cristalinas llamadas cristalitas elementales. La siguiente figura (**Figura 10**) ilustra una representación de un modelo (el más aceptado [5]) que trata de describir la organización interna de la estructura fibrilar. Este asume regiones amorfas y cristalinas ordenadas según un modelo de micela a franjas. En una micela coexisten franjas de zonas cristalinas alineadas, agrupadas en haces y embebidas en una matriz amorfa. Según este modelo, las fibrilas elementales se agregan en cristalitas elementales formando microfibrilas y macrofibrilas. Esta supraestructura cohesionada por la red de puentes de hidrogeno presenta defectos como las zonas desordenadas de la microfibrilas, los intersticios entre fibrilas en las microfibrilas y los grandes espacios vacios entre microfibrilas en las macrofibrilas.

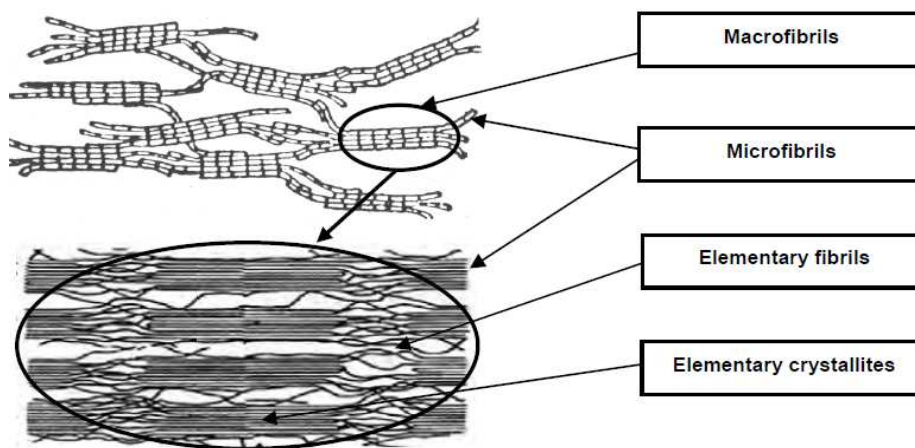


Figura 10: Representación de la estructura fibrilar

Dependiendo del origen de las microfibrilas, sus diámetros varían ampliamente, normalmente de 2 a 20 nm pero pueden alcanzar hasta varios cientos de nm. Como no incluyen pliegues de las cadenas de celulosa y presentan un número muy bajo de

defectos, cada microfibrila se puede considerar compuesta de una serie de franjas cristalinas alternando con zonas amorfas (o zonas cristalinas menos ordenadas). Las microfibrilas aisladas, presentan un modulo y resistencia a la tracción similares al de un cristal perfecto de celulosa nativa (150 GPa y 10GPa, respectivamente, valores parecidos a los de Kevlar y fibras de carbono).

b) Polimorfismo de la celulosa

La celulosa presenta diferentes formas cristalinas, o *polimorfismos*, dependiendo de su origen natural o de los tratamientos artificiales a que es sometida. La figura siguiente (*Figura 11*) muestra un esquema resumido que ilustra el polimorfismo de la celulosa.

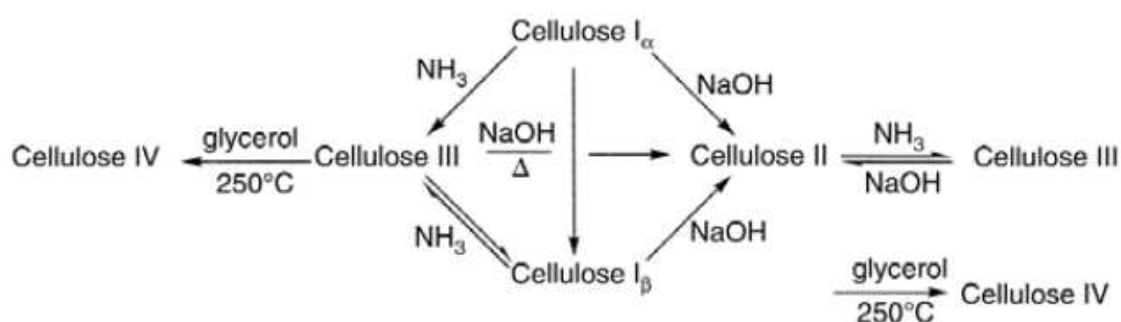


Figura 11: Polimorfismos de la celulosa

Se conocen cuatro polimorfos o alomorfos, **Celulosas I II, III y IV**, y han sido identificadas subclases para todas (p.ej. **celulosa I_α** y **celulosa I_β**), excepto para la **celulosa II**. La forma molecular y el modo general de empaquetamiento en estas diferentes formas son similares. La celulosa nativa se presenta casi por completo, como la forma **I** y se transforma en la forma **II** mediante un proceso de importancia industrial (mercerizado). Las formas **III** y **IV** tienen una importancia práctica mucho menor.

La **celulosa I_α** y la **celulosa I_β** son dos formas diferentes o alomorfos de **celulosa I** que tienen similares sistemas de enlaces de hidrógeno y empaquetamiento cristalino. **Celulosa I_α** es metaestable y se puede transformar mediante tratamiento térmico (anelado) en la fase **celulosa I_β** termodinámicamente más estable.

La mayor parte de las celulosas nativas son mezclas de estos dos alomorfos de **celulosa I**, en una proporción que varía ampliamente según las especies (*Tabla 2*) [7-10]. La **celulosa I_β** es la más importante en las plantas superiores y los animales marinos tunicados, mientras que la **celulosa I_α** es la más importante en organismos

más primitivos como algas y bacterias. La **celulosa I_α** está presente únicamente en un 10-20% en las plantas celulósicas superiores como por ejemplo, en el algodón y en animales marinos *Halocynthia*. Sin embargo, también existen sistemas bifásicos que contienen elevadas cantidades de las dos fases, como en la pared celular del alga verde *Microdictyon tenuius* donde coexisten simultáneamente en dos fases, **celulosa I_α** y **celulosa I_β**, dentro de la misma microfibrilla en dominios discretos bien definidos. Parece ser que en este caso, los dominios de **I_α** y **I_β** alternan a lo largo de cada microfibrilla, mientras que en *Valonia* o *Cladophora*, la situación es más complicada, pues en estas algas dominios de **I_α** y **I_β** (dominios discretos de unos tamaños sustanciales y bien separados) aparecen a lo largo y a lo ancho de las microfibrilas. En estos casos se ha encontrado que la fase **I_α** es más reactiva que la **I_β** frente a la acetilación y degradación enzimática y por el contrario, durante su desacetilación la fase termodinámicamente más estable **I_β** aparece más rápidamente. [7-14].

Tabla 2: Relación entre I_α y I_β para diferentes fuentes de celulosa

Type	Class	Ratio I _α /I _β (%)
<i>Glucanoacetobacter</i>	Bacterial	64/36
<i>Valonia</i>	Vegetal (algae)	60/40
<i>Halocynthia</i>	Animal	10/90

Estos dos alomorfos **celulosa I_α** y **celulosa I_β**, se pueden convertir de forma irreversible en la forma más estable **celulosa II**, mediante **mercerización** o **regeneración**. Ampliamente empleado desde hace más de 150 años, el **proceso de mercerizado** consiste en tratar el algodón tejido con álcali diluido (típicamente en el laboratorio NaOH 18%, una hora a 0°C - 25°C), lavarlo (neutralizarlo) y secarlo. Mediante este tratamiento, los tejidos adquieren una apariencia sedosa, su resistencia a la tensión aumenta considerablemente y se produce una drástica modificación polimórfica del estado cristalino, que va de la **celulosa I** a la **celulosa II**. La misma forma cristalina **celulosa II** se obtiene cuando las disoluciones de celulosa nativa (forma **I**) se precipitan, hilan o regeneran (así que esta forma se conoce también como celulosa regenerada y celulosa mercerizada) o cuando acetato de celulosa se desacetila mediante saponificación [5]. La celulosa mercerizada es menos reactiva que la nativa y únicamente resulta más reactiva que la **I**, por ejemplo frente a la acetilación, si se activa previamente con agua o con ácido acético (con ácido acético requiere de un tiempo prolongado).

Otro proceso industrial de mucha menor importancia, que afecta profundamente a las propiedades de los tejidos de algodón es el **tratamiento con amoníaco líquido**, que mejora su suavidad y facilidad de teñido. En este caso, la modificación polimórfica

del estado cristalino, va de la **celulosa I** a la **celulosa III_I**, y de la **celulosa II** a la **celulosa III_{II}**. El tratamiento (hinchado) de celulosa con amoníaco líquido o con aminas, diaminas o poliaminas, produce este cambio de fase y resulta, un procedimiento muy efectivo para aumentar la accesibilidad y reactividad de la celulosa cristalina (**celulosa I** y **celulosa II**) al convertirse en la forma **celulosa III**. Las moléculas de estos disolventes hinchan la celulosa al penetrar en sus cristales, produciendo no solo una drástica distorsión de los cristales, sino que también modifican la conformación de los grupos hidroximetileno (-CH₂OH) dentro de la red cristalina. De manera, que cuando de los cristales hinchados se retiran estas moléculas, dejan una morfología cristalina distorsionada (arrugada) y los grupos hidroximetileno desordenados. Es decir una estructura más accesible a las moléculas de reactivos.

Actualmente, se sabe que la **celulosa I** y la **celulosa II** están formadas por cadenas de celulosa empaquetadas paralelas y antiparalelas, respectivamente. Sin embargo, no se comprende cómo se produce esta transición irreversible sin un estado intermedio de dispersión de las cadenas de celulosa. (Paralelas quiere decir por ejemplo, que los grupos terminales reductores de las cadenas quedan siempre en el mismo lado, dentro de los dominios cristalinos. Mientras que antiparalelas, es cuando quedan alternando uno a cada lado).

Aunque la forma termodinámicamente más estable es la **celulosa II** esta forma es producida naturalmente por muy pocos organismos (principalmente algas marinas y ciertas bacterias mutantes de *Gluconacetobacter xylinum*). Por ejemplo, la bacteria productora de celulosa *Acetobacter xylinum*, produce dos tipos de entramados de celulosa con dos diferentes estructuras cristalinas (**celulosa I** y **celulosa II**), dependiendo del medio de cultivo. En el medio de Hestrin-Schramm a 28°C, la célula bacteriana extrude un entramado de fibrillas de celulosa en forma de cinta paralelo al eje axial de la célula. Esta cinta está retorcida en forma de α -hélice y contiene cristales de **celulosa I _{α}** (64%) y **celulosa I _{β}** (36%). Por el contrario, esta misma bacteria y en este mismo medio pero a 4°C (o a 28°C pero con este medio solidificado), produce un entramado de celulosa en forma de bandas que contiene cristales del tipo de **celulosa II**. [29].

c) Enlaces hidrógeno intermoleculares

La figura (**Figura 9**) del anterior apartado muestra que se pueden formar uno o dos enlaces de hidrógeno intramoleculares y uno intermolecular. La figura siguiente (**Figura 12**) muestra los enlaces de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares en celulosas **I** y **II** [15-16]. Ambas formas presentan enlaces de hidrógeno intramoleculares similares, pero la posición de los hidroxilos en la **II** favorece los

intermoleculares. Por tanto, el empaquetamiento de las dos formas es muy denso, pero el de la celulosa **II** es el más compacto. La densidad de la fibra de celulosa es 1.55 g/cm^3 y el de la celulosa puramente cristalina es 1.62 g/cm^3 .

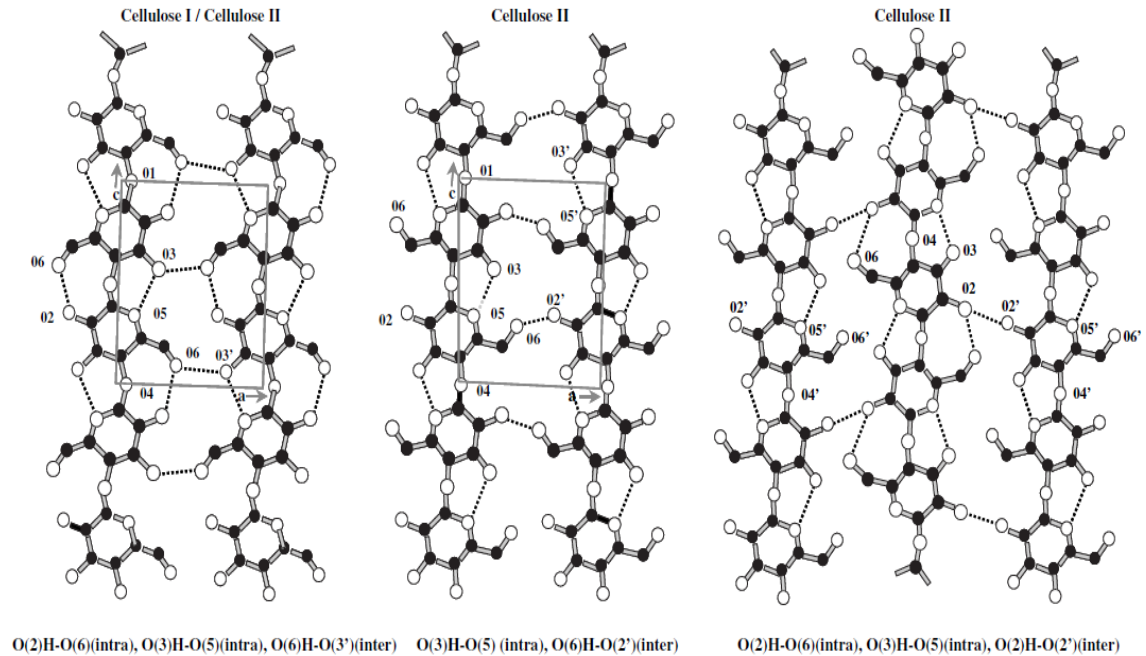


Figura 12: Enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares en celulosas I y II

2.3.3. El nivel macroestructural o morfológico

a) Estructura de la pared celular de las fibras naturales de celulosa

La siguiente figura (**Figura 13**) ilustra la macroestructura morfológica de las fibras de algodón y de madera. Las dos fibras están formadas de capas de celulosa de distinto grosor y diferente orientación microfibrilar [17-18].

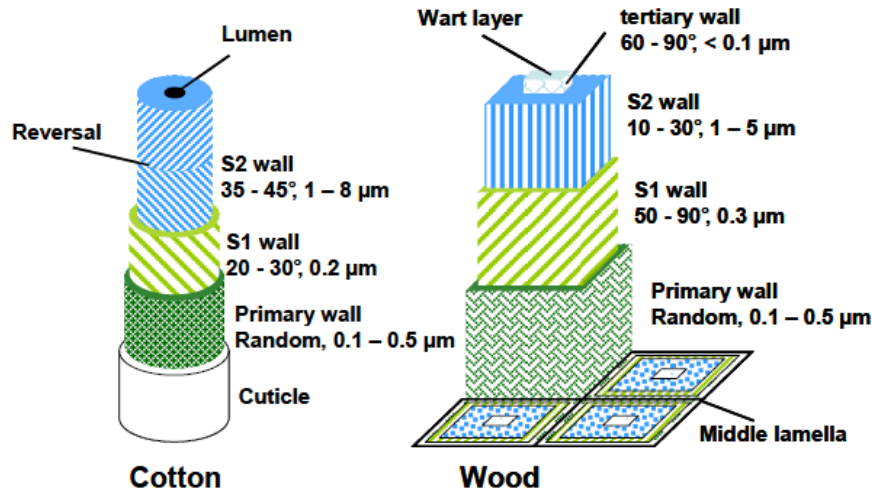


Figura 13: Morfología de las fibras de celulosa

En la capa exterior, la pared primaria (**P**), de un grosor entre 500 y 1000 nm, las microfibrilas están completamente desordenadas. La pared secundaria (**S**) presenta dos capas la **S1** y la **S2**. La **S1** de un espesor de 200-300nm, presenta las microfibrilas paralelas y densamente empaquetadas según una hélice **S** bastante plana, con ángulos espirales que varían ampliamente con el origen de la fibra (ángulos con el eje de la fibra: fibras de algodón 20 - 30° y de madera 50 - 70°). La capa **S2** es mucho más gruesa (varias µm) que las anteriores juntas y por tanto, contiene la mayoría de la celulosa de la fibra. Su espesor depende de la madurez de la fibra. En esta capa **S2**, las microfibrilas de la fibra de algodón están alineadas según una hélice que invierte su sentido de forma periódica (entre **S** y **Z**) y orientadas 35-45° con el eje de la fibra. En la siguiente tabla (**Tabla 3**) se muestran para varias fibras de celulosa, los ángulos que forman el director de las microfibrilas con el eje de la fibra, en la capa **S2**. [17-18

Tabla 3: Características morfológicas de distintas fibras

Fibre	Cellulose content (wt.%)	Spiral angle (°)	Cross-sectional area $A \times 10^{-2} (\text{mm}^2)$	Cell-length L (mm)	L/D -ratio (D is the cell diameter (-))
Jute	61	8.0	0.12	2.3	110
Flax	71	10.0	0.12	20.0	1687
Hemp	78	6.2	0.06	23.0	960
Ramie	83	7.5	0.03	154.0	3500
Sisal	67	20.0	1.10	2.2	100
Coir	43	45.0	1.20	3.3	35

Finalmente la última capa, llamada la capa terciaria (T) en las fibras de madera y S3 en las de algodón, no siempre está presente, es muy delgada (< 100 nm) y sus microfibrilas están alineadas según una hélice muy plana.

b) Componentes de la pared celular de las fibras naturales de celulosa

Las siguientes figuras muestran; 1°.- la distribución de los principales componentes en las distintas capas de la pared celular de fibras vegetales de celulosa (**Figura 14**) [19] y 2°.- un esquema simplificado de la organización de estos tres componentes principales de la pared de la célula vegetal (**Figura 15**) [17-18].

La pared primaria es la más compleja de la pared celular y además de celulosa, hemicelulosa y lignina contiene pectinas (30%) y proteínas (20%). Además, la organización de las microfibrilas varía con el grosor de esta pared primaria, debido a la compresión que experimentan las capas exteriores de microfibrilas (las más antiguas) durante el crecimiento de la célula.

La pared secundaria está formada principalmente por celulosa (50-85%) y hemicelulosa (0-25%) y lignina (0-25%) unidas por puentes de hidrógeno (celulosa-hemicelulosa) y entrecruzamiento covalente (lignina-celulosa y lignina-hemicelulosa). La pared secundaria de las fibras de algodón contiene únicamente celulosa (99%).

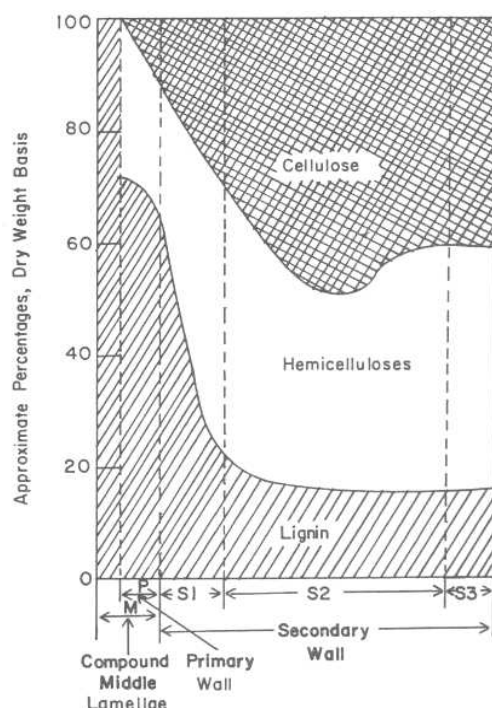


Figura 14: Distribución de los principales componentes en las distintas capas de la pared celular de fibras vegetales de celulosa.

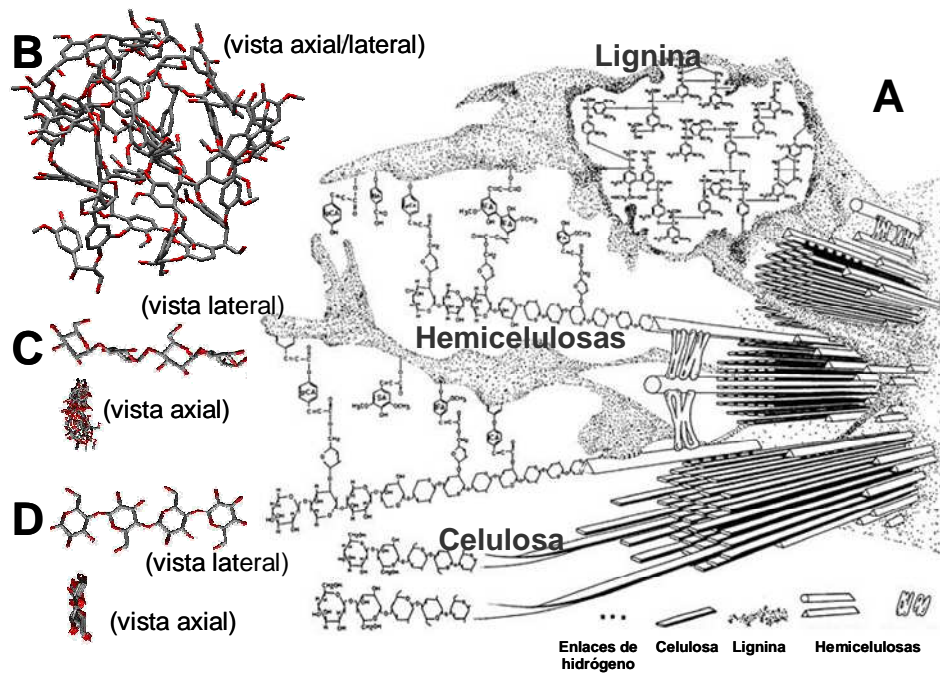


Figura 15: Componentes principales de la pared celular vegetal

c) Estructura de los poros.

En la pared celular vegetal hay un intrincado sistema de poros, capilares, huecos e intersticios con una amplia distribución de formas y tamaños de poros. Esta distribución se altera sensiblemente con pretratamientos de las fibras como; 1°.- mercerización, que disminuye el diámetro de los poros mientras que aumenta la superficie de los microporos, 2°.- hidrólisis enzimática, que aumenta el tamaño de los poros o 3°.- hidrólisis ácida, que elimina la celulosa amorfa de la superficie, descubriendo el sistema de poros y revelando la estructura microfibrilar de la fibra de celulosa. La siguiente figura (**Figura 16**) muestra imágenes de SEM de linters de algodón tratados 30 minutos con H_2SO_4 (0.1 – 0.4M), 150°C, 100psi: De izquierda a derecha; linters de algodón sin tratar, después de hidrolizar el 1% de celulosa y después de hidrolizar el 25.5%. [20-21].

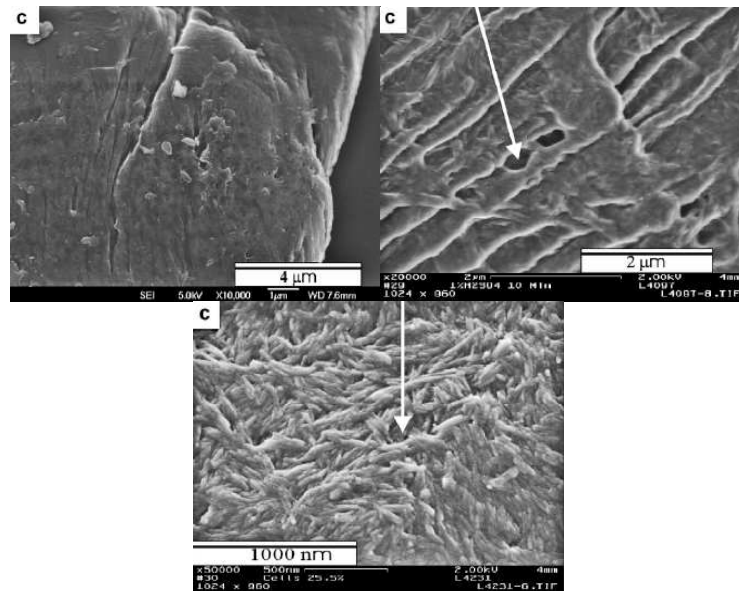


Figura 16: Linters de algodón tratados 30 minutos con H_2SO_4 (0.1 – 0.4M), 150°C, 100psi:

Los poros de las fibras de celulosa son significativamente alterados durante el secado de la fibra. Este es el mecanismo conocido como *hornificación*, según el cual se produce una irreversible reducción del volumen de poros debido al cierre de los poros más pequeños. La siguiente figura (*Figura 17*) ilustra este mecanismo de hornificación; cuando el agua se evapora (desde a hasta c) las fuerzas capilares debidas a la gran tensión superficial del agua obligan a aproximarse a las paredes y por tanto colapsan o reducen el tamaño del poro [20-21].

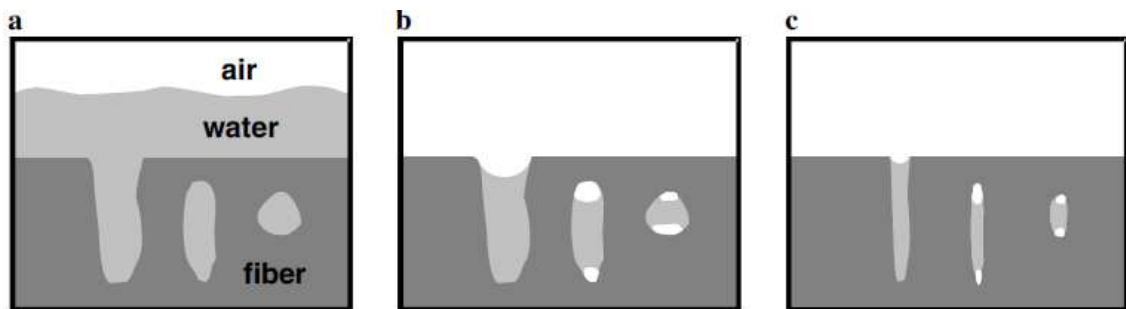


Figura 17: Hornificación de los poros que produce una irreversible reducción del volumen de poros debido al cierre de los poros más pequeños.

El secado causa una irreversible contracción física de la pared de las células de la fibra y por tanto, si ha sido previamente secada, cuando sea tratada con un disolvente se hinchará menos.

d) Formas características de las fibras de algodón.

El secado de la fibra de algodón implica la aparición de tensiones mecánicas que acaban produciendo deformaciones a lo largo de la fibra. Cuando la fibra de algodón madura y se seca, su forma de tubo hueco cambia notablemente, aparecen a lo largo de la fibra twists no periódicos que cambian frecuentemente de dirección y su sección transversal toma una forma arriñonada. En la siguiente figura (**Figura 18**) se muestra a la izquierda una microfotografía tomada en este proyecto (100X, polarizadores cruzados) de las fibras de algodón utilizadas rutinariamente en este proyecto, donde pueden apreciarse los característicos twists. A la derecha una imagen SEM mostrando la forma arriñonada de la sección transversal de una fibra de algodón. [22].



Figura 18: Microfotografía de las fibras de algodón

La inversión de la espiral S-Z (alineación de la microfibrilas según una hélice S-Z en la capa **S2**) cambia únicamente de 1 a 3 veces por milímetro, mientras que el número de twists es mucho mayor (de 4 a 6.5 veces por milímetro). Sin embargo, el número de twists en la fibra seca está relacionado con la alineación lateral de las inversiones de las espirales microfibrilares en las distintas capas concéntricas de la pared **S2**. Cuando un número suficiente de inversiones microfibrilares coincide lateralmente, la tensión generada produce un twist. Por consiguiente, un twist es una región donde las inversiones microfibrilares se solapan entre las diferentes capas concéntricas de la pared **S2**. El proceso inverso, el untwisting de la fibra al hincharla con disolventes, resulta un fenómeno más aparente cuanto mejor es el disolvente utilizado. [22-25]

Debido a las tensiones mecánicas que aparecen durante el secado la fibra se deforma, cambiando su sección transversal de circular a arriñonada. La siguiente figura (**Figura 19**) muestra a la izquierda, las tensiones mecánicas (flechas continuas) y las deformaciones (flechas discontinuas) producidas por el colapsamiento de la fibra

durante su secado. En consecuencia, la densidad de empaquetamiento y orientación microfibrilar cambia, tal y como propone el esquema del modelo, en la derecha de la figura [26].

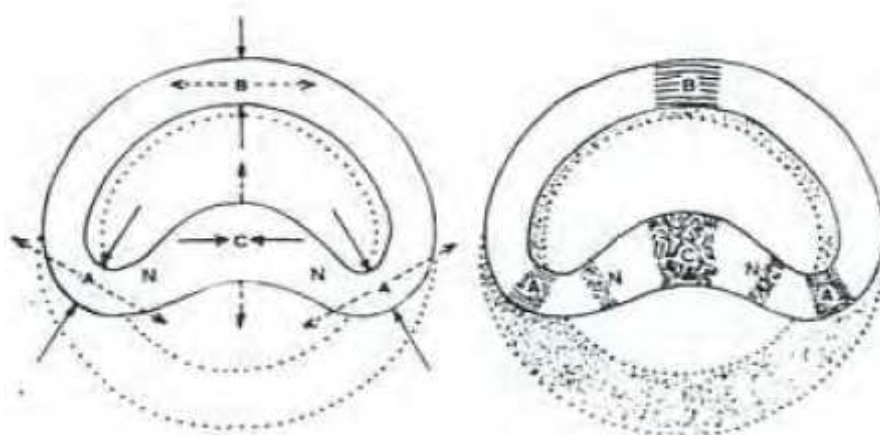


Figura 19: Tensiones mecánicas producidas por el colapsamiento de la fibra

2.4. Estructuras microfibrilares de celulosa de algas, tunicados y bacteriana.

2.4.1. Celulosa de algas y tunicados.

Celulosa ha sido extraída de la pared celular de una gran variedad de algas con rendimientos entre 1 y 20% [27-28]. La estructura supramolecular de la celulosa de la pared celular de las algas es significativamente diferente de la de las plantas superiores. La anchura de las cristalitas elementales de la celulosa de las plantas es 4 – 5 nm, mientras que las de la de las algas es mucho mayor, aproximadamente 20 nm. El área específica superficial de la celulosa de las algas es también significativamente mayor que la de las plantas terrestres y se aproxima a la de los adsorbentes industriales (entre 100 y 1000 m²/g, para estos últimos). Con las siguientes imágenes SEM (**Figura 20**) se trata de comparar la estructura porosa (como una esponja, formada por una red de microfibrilas de un ancho 20 -30 nm) de una partícula de celulosa de alga *Cladophora*, con la de una partícula de celulosa microcristalina de algodón [27-28].

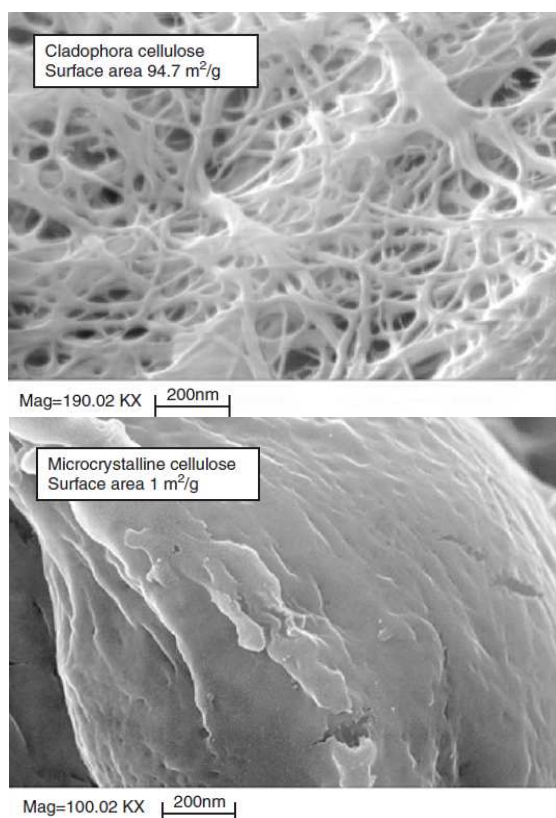


Figura 20: Estructura de una partícula de celulosa de alga Cladophor y de una partícula de celulosa microcristalina de algodón

Aunque actualmente se conocen bien pocas celulosas de algas, la celulosa extraída del alga *Valonia* se ha estudiado extensivamente y se caracteriza por presentar un grado de polimerización y de cristalinidad muy elevados. Las siguientes imágenes SEM (**Figura 21**) muestran las microfibrilas de la pared celular de dos diferentes algas verdes *Valonia ventricosa*.

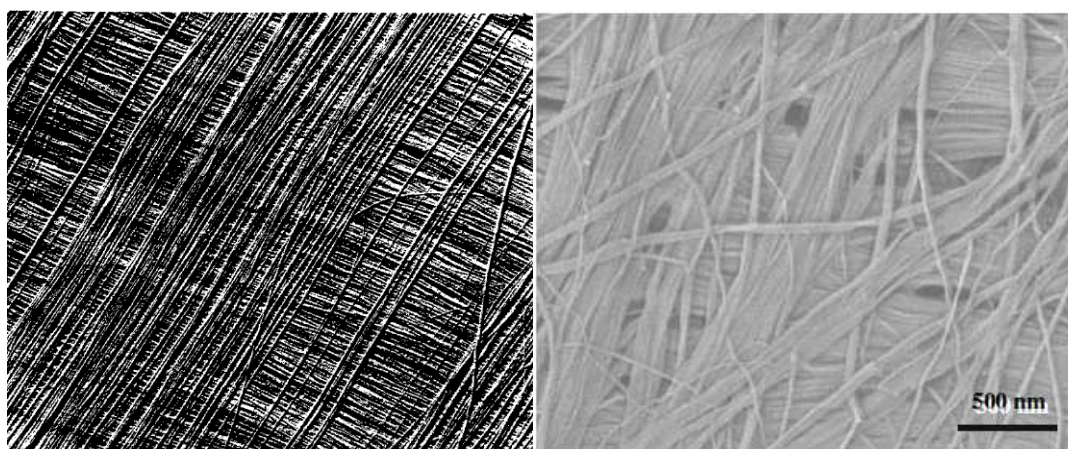


Figura 21: Microfibrilas de la pared celular de dos tipos de algas verdes.

2.4.2. Celulosa bacteriana.

Las bacterias aeróbicas (del vinagre) *Acetobacter xylinum* (y otros géneros, *Agrobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium* y *Sarcina*) extruyen nanofibrilas de celulosa pura extracelular (sin hemicelulosa ni lignina) que se agregan, formando un gel fuertemente hidratado que contiene más del 99% de agua. La siguiente figura (**Figura 22**) muestra una imagen SEM de *Gluconacetobacter xylinum* produciendo una fibra de celulosa por agregación de numerosas microfibrilas (cintas de 50 nm de ancho), las flechas indican el grosor de estas microfibrilas. [29]



Figura 22: Formación de una fibra de celulosa por agregación de numerosas microfibrilas

Las células de *Gluconacetobacter xylinum* tienen en sus membranas más de cien poros que extruyen una cadena de celulosa cada uno. 36 de estas cadenas se agregan para formar una fibrila elemental o nanofibrila en forma de cinta plana (de una anchura 7-13 nm). Alrededor de 50 de estas cintas nanofibrilares se unen mediante enlaces de hidrógeno formando microfibrilas con forma de cintas o bandas mayores (delgadas y planas, de una anchura 70-150 nm). Finalmente, estas microfibrilas de cientos de nm de longitud se enroscan entre sí, formando una fibra que en la superficie del medio de cultivo se enreda con otras incorporando agua, para formar la red tridimensional que constituye el pseudo-hidrogel de celulosa bacteriana. Se trata de una ultraestructura compuesta de nanofibrilas (rango 1 nm) agregadas en microfibrilas (rango 10 nm), las cuales unidas por cadenas de celulosa producen las cintas (rango 100 nm) que son la unidad básica de la estructura densamente reticulada de la celulosa bacteriana estabilizada por numerosos enlaces de hidrógeno. Esta estructura presenta un grado de cristalinidad una orientación cristalina muy elevadas, como resultado del elevado número de puentes de hidrógeno entre cadenas de celulosa que crean una ordenación cristalina regular. Consecuencias de esta particular estructura son por ejemplo, los elevados módulos de Young entre 16 y 30 GPa y el elevado grado de absorción de agua de las películas preparadas secando el gel de celulosa bacteriana. La siguiente figura (**Figura 23**) compara un esquema muy

simplificado del modelo de celulosa bacteriana con el modelo de micela a franjas propuesto para la celulosa vegetal. La siguiente imagen TEM (*Figura 24*) muestra cintas de 60 nm de celulosa bacteriana. [29]

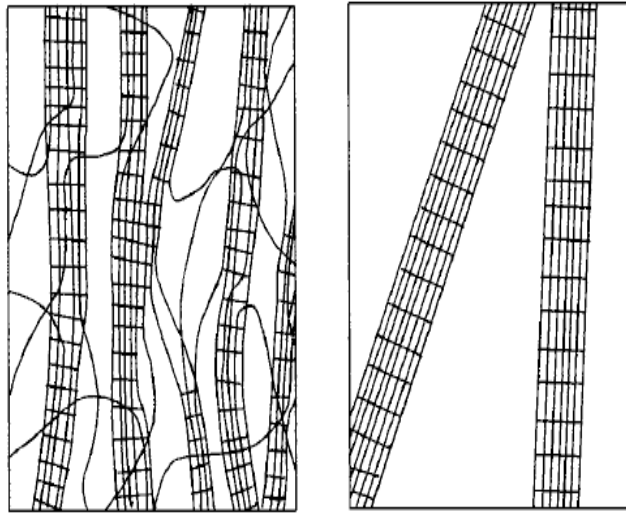


Figura 23: Modelo de celulosa bacteriana y modelo de micela a franjas

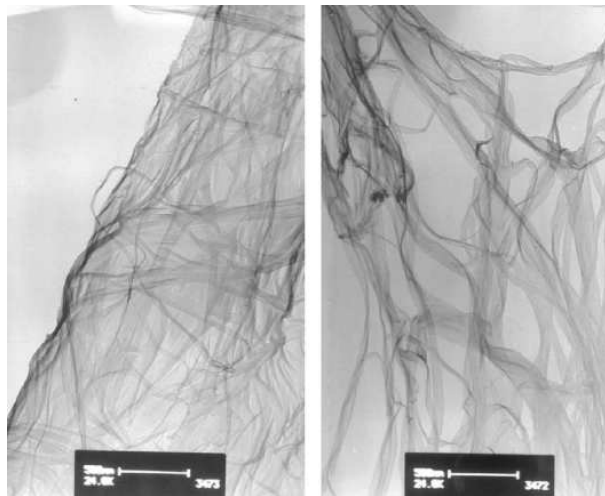


Figura 24: Cintas de celulosa bacteriana

La siguiente tabla (**Tabla 4**) muestra algunas aplicaciones de celulosa bacteriana en industrias alimenticias, farmacéutica, papelera, etc. [29]

Tabla 4: Aplicaciones de celulosa bacteriana

Area	Application
Cosmetics	Stabilizer of emulsions; component of artificial nails
Textile industry	Artificial textiles; highly absorbent materials
Sports and tourism	Sporting clothes; tents; camping material
Mining and refinery	Sponges for recovery spilled oil; material for toxin adsorption
Wastes treatment	Recycling of minerals and oils
Sewage purification	Urban sewage purification; water ultrafiltration
Broadcasting	Sensitive diaphragms for microphones and stereo headphones
Forestry	Artificial wood replacer, multi-layer plywood, heavy-duty containers
Paper industry	Specialty papers, archival documents repairing, more durable banknotes, diapers, napkins
Machine industry	Car bodies, airplane parts, sealing of cracks in rocket casings
Food production	Edible cellulose (<i>nata de coco</i>)
Medicine	Temporary artificial skin for therapy of burns and ulcers, component of dental implants
Laboratory	Immobilization of proteins, cells; chromatographic techniques; medium for tissue cultures
New applications	Cellulose thin films for documents and book recovery; fibres (including optical); biodegradable plastics; oriented templates; liquid crystal displays; luminescent materials; fuel cell membranes; drug delivery; stents covering; ophthalmic, cardiovascular and neurological prostheses; bulletproof materials

2.5. Celulosa microcristalina y nanocelulosa (celulosa microfibrilada y nanocristales de celulosa).

La arquitectura de la celulosa nativa se puede desestructurar en sus componentes elementales; cristales, microfibrilas y fibrilas y cristalitas elementales. Si se realiza mecánicamente se obtiene **celulosa microfibrilada** compuesta de nanofibrilas ($\varnothing = 10\text{-}40\text{ nm}$) que conservan la parte amorfa y cristalina de las microfibrilas de la celulosa original, pero que presenta la estructura de *una fina red tridimensional de nanofibrilas* interconectadas.

Si la desestructuración de la celulosa se realiza por medios químicos, mecánico-químicos o enzimáticos, que eliminan la parte amorfa de las microfibrilas, se obtienen cristales de celulosa de distinto tamaño según el proceso empleado. Cuando celulosa se trata con **HCl diluido** se obtiene **celulosa microcristalina** formada por cristales de celulosa de dimensiones $> 1\ \mu\text{m}$. Si se trata con **sulfúrico concentrado (65%)**, se obtienen **nanocristales o whiskers de celulosa** de 2 a 20 nm de diámetro. La tabla siguiente (**Tabla 5**) muestra las dimensiones de las partículas de estas micro y nanocelulosas.

Tabla 5: Dimensiones de micro y nanocelulosas

Cellulose structure	Diameter (nm)	Length (nm)	Aspect ratio (L/d)
Microfibril	2-10	>10,000	>1,000
Microfibrillated cellulose (MFC)	10-40	>1,000	100-150
Cellulose whisker	2-20	100-600	10-100
Microcrystalline cellulose (MCC)	>1,000	>1,000	~1

2.5.1. Celulosa microcristalina

La celulosa microcristalina es una forma no fibrosa de celulosa parcialmente despolimerizada, que se presenta como un sólido pulverulento cristalino compuesto de partículas porosas (normalmente con un tamaño 10-15 μm). Se prepara tratando con ácidos minerales diluidos α -celulosa obtenida como pulpa fibrosa, a partir de todo tipo de materiales celulósicos y lignocelulósicos. Se emplea en industrias de cosméticos, alimentación y sobre todo farmacéutica, como excipiente pues permite preparar tabletas muy robustas que sin embargo, se desintegran rápidamente en agua, debido al gran poder de absorción de agua de las partículas microcristalinas de celulosa. En el laboratorio se utiliza como fase estacionaria en cromatografías y como producto de partida para la preparación de derivados de celulosa.

En medio ácido diluido, (como por ejemplo, 2.5M HCl, 100°C, 15 minutos), los enlaces glicosídicos $\beta(1-4)$ de la celulosa se hidrolizan selectivamente, produciendo la disminución de su grado de polimerización (DP). Típicamente, el DP de la celulosa microcristalina es de 200 a 400 mientras que el DP de las celulosas de partida suelen ser mayores de 1000. El ácido penetra mucho más rápidamente en las regiones amorfas que en las cristalinas, hidrolizando las primeras para producir oligómeros solubles en agua. El tiempo de hidrólisis se limita de manera que las regiones cristalinas resulten muy poco afectadas. [30-31].

Las siguientes gráficas (**Figura 25**) muestran la disminución del DP de celulosas de diferentes orígenes en función de la [HCl] y la temperatura [30-31]. Puede observarse que los DPs disminuyen rápidamente al principio de la hidrólisis ácida, debido a la degradación de la celulosa amorfa. Poco después, cuando la celulosa amorfa desaparece, se produce una estabilización de los DPs, correspondiente a los DPs de las cadenas de celulosa de las zonas cristalinas resistentes a la hidrólisis ácida.

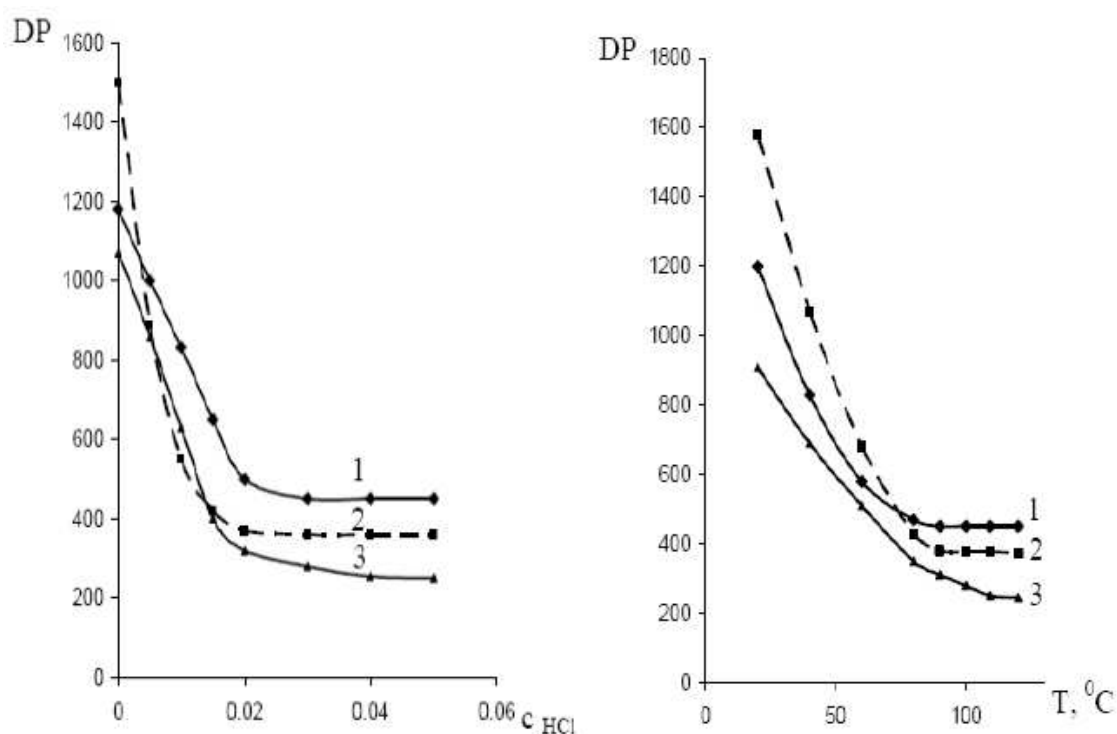


Figura 25: Representación de Dp en función de la [HCl] a 110°C (gráfica 1) y la Tª (gráfica 2) a una [HCl] de 0,04% para muestras de pasta de (1) abedul, (2) álamo y (3) pino

2.5.2. Nanocelulosa: celulosa microfibrilada y celulosa nanocristalina.

a) Celulosa microfibrilada.

Microfibrilas y nanofibrilas han sido extraídas de una gran variedad de materiales celulósicos de diferentes orígenes. La separación de las microfibrilas de celulosa resulta un proceso dificultoso, pues requiere la rotura de la red de puentes de hidrogeno interfibrilares. Generalmente, se emplea un proceso mecánico intensivo de homogenización a alta presión sobre suspensiones de fibras de celulosa en agua. Cuando las suspensiones acuosas contienen $> 1\%$ de celulosa se convierten en un gel homogéneo, debido a la formación de una fina red tridimensional de microfibrilas y nanofibrilas interconectadas. Las enormes fuerzas de cizalla producen la desfibrilación de las fibras de celulosa produciendo la separación de las microfibrilas. Las microfibrilas y nanofibrilas generadas se agregan a través de puentes de hidrogeno interfibrilares, formando una fina red tridimensional de microfibrilas y nanofibrilas interconectadas entre sí. [32].

Debido a esta estructura reticulada y aunque, las microfibrilas conservan gran parte de sus dominios amorfos, la celulosa microfibrilada presenta un área específica superficial, capacidad de absorción de agua, relación longitud a diámetro, modulo y resistencia a la tracción, mucho mayores que la fibra de celulosa original.

Debido a estas propiedades la celulosa microfibrilada se emplea como modificador reológico en la industria farmacéutica, de alimentos, pinturas y cosméticos y como

relleno en materiales compuestos y papel. Celulosa microfibrilada de pulpa de madera y de celulosa bacteriana son comercializadas bajo el nombre de Cellish® y Cellulon®, respectivamente. [32]

La figura (**Figura 26**) muestra imágenes SEM del proceso de desfibrilación de macrofibrilas de celulosa mediante un homogenizador de alta presión [32]. a) las macrofibrilas después de 5 pases por el homogenizador de alta presión. Puede observarse que no se produce desfibrilación suficiente como para producir nanofibrilas. b) c) y d) después de 10, 15 y 20 pases, respectivamente. Puede observarse como a medida que la desfibrilación aumenta se va produciendo una densa red de nanofibrilas interconectadas.

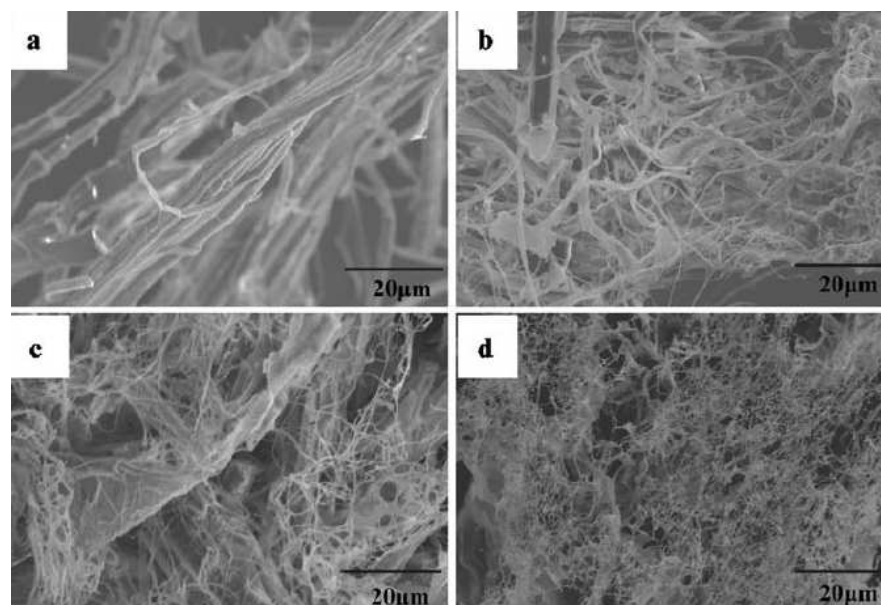


Figura 26: Desfibrilación de macrofibrilas de celulosa mediante un homogenizador de alta presión

b) Celulosa nanocristalina.

Numerosos nanocristales de celulosa o whiskers se han preparado disolviendo, mediante hidrólisis ácida (H_2SO_4 65%), los dominios menos ordenados o amorfos de las microfibrilas de celulosas de diferentes orígenes. El tratamiento ácido corta la microfibrilas en cada defecto, obteniéndose verdaderos nanocristales de celulosa que conservan intactas las propiedades morfológicas y cristalinas de la celulosa original.

Las regiones cristalinas aisladas presentan forma de fina aguja con dimensiones que dependen de la fuente de celulosa y del proceso de hidrólisis. Normalmente, longitudes de 100-600 nm y diámetros de 2-20 nm. En especial, los whiskers de tunicados pueden tener varias μm de longitud (típicamente, $26 \text{ nm} \times 2.2 \mu\text{m}$). Además presentan un área superficial específica de unos $200 \text{ m}^2/\text{g}$ una relación longitud/diámetro de 100.

Debido a la casi perfecta ordenación cristalina existente en los nanocristales de celulosa, estos whiskers de tunicados presentan un modulo de unos 140 GPa y se

utilizan como elemento de refuerzo (extraordinariamente efectivo) en materiales compuestos (nanocomposites). [33-35]

Una vez dispersados en agua, y debido a su forma de varilla rígida, forman suspensiones coloidales estables, que aparecen birrefringentes cuando se observan con luz polarizada. Cuando se secan delgadas películas de estas suspensiones, se obtienen filmes de celulosa muy robustos y estables, utilizados en como membranas de diálisis y en medicina regenerativa.

La siguiente figura (**Figura 27**) muestra de izquierda a derecha, un imagen SEM de un film de whiskers de tunicado *Styela clava* y la formación de dominios birrefringentes en una suspensión coloidal estable (acuosa al 0.5%), polarizadores cruzados. [33-35]

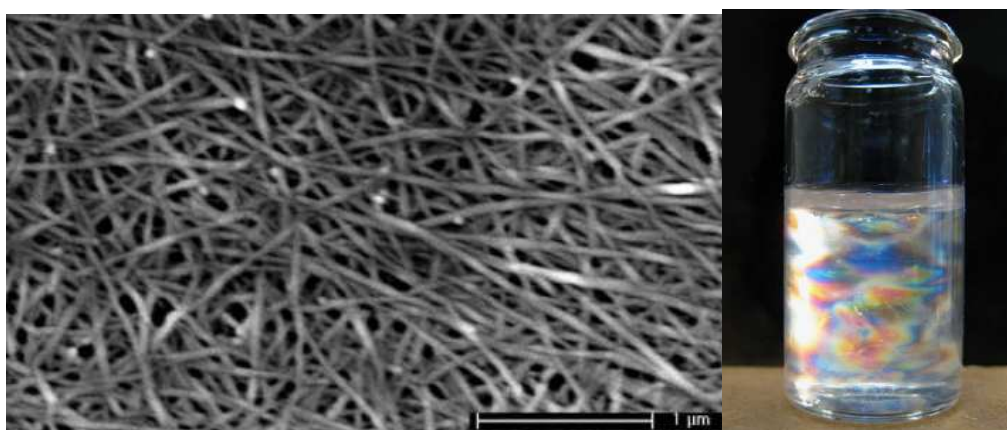


Figura 27: Film de whiskers de tunicado *Styela clava* y formación de birrefringencia en una suspensión coloidal

La siguiente figura (**Figura 28**) muestra de izquierda a derecha, whiskers de celulosa de algodón (5 nm × 500 nm), whiskers de tunicado *Halocynthia roretzi* (15 nm × 1000 nm) y la birrefringencia de una suspensión de estos últimos whiskers (0.5% en agua) cuando se observa entre polarizadores cruzados. [33-35]

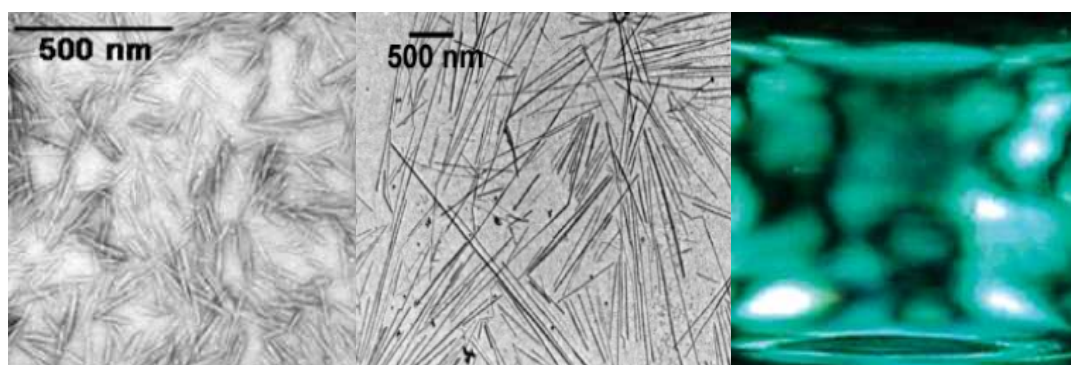


Figura 28: Whiskers de celulosa de algodón, de tunicado *Halocynthia roretzi* y birrefringencia de estos en una suspensión.

2.6. Bibliografía Capítulo 2.

[1] M. Nicolas Le Moigne. MECANISMES DE GONFLEMENT ET DE DISSOLUTION DES FIBRES DE CELLULOSE, Ph.D. Thesis, l'Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris, 2008.

[2] Lerouxel, O.; Cavalier, D. M.; Liepman, A. H.; Keegstra, K. Biosynthesis of plant cellwall polysaccharides – a complex process. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2006**, *9*, 1–10.

[3] Saxena, I. M.; Brown Jr, R. M. Cellulose biosynthesis: Current views and evolving concepts. *Ann. Bot.*, **2005**; *96*, 9–21.

[4] Klemm, D.; Philipp, B.; Heinze, T.; Heinze, U.; Wagenknecht, W. Comprehensive Cellulose Chemistry. Vol. 1, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.

[5] Krassig, H. A. Cellulose - Structure, Accessibility and Reactivity. Polymer Monographs 11, ed. Huglin M.B., Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, **1993**.

[6] Rieckmann, Th. Laboratory: Decomposition of Cellulose (Pyrolysis). Department of Plant Design and Chemical Engineering.

http://www.av.fhkoeln.de/professoren/rieckmann/chemischeprozessstechnik/lab_pyrolysis/pyrolysis.html.

[7] JEAN-FRANÇOIS SASSI, PIOTR TEKELY and HENRI CHANZY. Relative susceptibility of the I_{α} and I_{β} phases of cellulose towards acetylation. *Cellulose* **2000**, *7*, 119–132.

[8] Imai, T. and Sugiyama, J. Nanodomains of I_{α} and I_{β} cellulose in algal microfibrils. *Macromolecules* **1998**, *31*, 6275–6279.

[9] Hayashi, N., Sugiyama, J., Okano, T. and Ishihara, M. Selective degradation of the cellulose I_{α} component in *Cladophora* cellulose with *Trichoderma viride* cellulase. *Carbohydr. Res.* **1998**, *305*, 109–116.

- [10] Hayashi, N., Sugiyama, J., Okano, T. and Ishihara, M. The enzymatic susceptibility of cellulose microfibrils of the algal–bacterial type and the cotton-ramie type. *Carbohydr.Res.* **1998**, *305*, 261–269.
- [11] Larsson, P. T., Westermark, U. and Iversen, T. (1995) Determination of the cellulose I_{α} allomorph content in tunicate cellulose by CP/MAS ^{13}C -NMR spectroscopy. *Carbohydr.Res.* *278*, 339–343.
- [12] Sassi, J-F. and Chanzy, H. (1995) Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose. *Cellulose 2*, 111–127.
- [13] Sugiyama, J., Persson, J. and Chanzy, H. (1991) Combined infrared and electron diffraction study of the polymorphism of native celluloses. *Macromolecules 24*, 2461–2466.
- [14] Sugiyama, J., Vuong, R. and Chanzy, H. (1991) Electron diffraction study on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall. *Macromolecules 24*, 4168–4175.
- [15] Sang Youn Oh, Dong Il Yoo, Younsook Shin, Hwan Chul Kim, Hak Yong Kim, Yong Sik Chung, Won Ho Parkd and Ji Ho Youke. Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Research* **2005**, *340*, 2376–2391.
- [16] Bledzki A.K., Gassan J., Composites reinforced with cellulose based fibers. *Prog. Polym.Sci.*, **1999**, *24*, 221–274.
- [17] La paroi cellulaire. Universite de la Mediterranee, departement de biologie. (Mayo 2010).
http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p210/4_la_pari.pdf.
- [18] Prat, R.; Mosiniak, M.; Roland, J. C. La paroi primaire de la cellule végétale. Universite Pierre & Marie Curie. (Mayo 2010).
<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/paroi/index.htm>.

[19] Céline CUISSINAT. ETUDE DES MECANISMES DE GONFLEMENT ET DE DISSOLUTION DES FIBRES DE CELLULOSE NATIVE, Ph.D. Thesis, l'Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris, 2006.

[20] Maloney, T. C., & Paulapuro, H. The formation of pores in the cell wall. *Journal of Pulp and Paper Science*, **1999**, 25(12), 430–436.

[21] Mihranyan, A., Piñas Llagostera, A., Karmhag, R., Strømme, M., & Ek, R. Moisture sorption by cellulose powders of varying crystallinity. *International Journal of Pharmaceutics*, **2004**, 269(2), 433–442.

[22] Cotton Fiber Chemistry and Technology (International Fiber Science and Technology). CRC Press; 1 edition (**2006**).

[23] Natural fibers synthetic fibers, Cotton. Swicofil AG Textile Services, (**mayo 2010**)

<http://www.swicofil.com/products/001cotton.html>

[24] International Forum for Cotton Promotion (IFCP), Cotton Promotion Bulletin, 16, (**mayo 2010**)

http://cottonpromotion.org/image/features/bremen/cotton_fibre_650x488/

[25] Naylor, G., Fineness & Maturity Testing: a renaissance in cotton testing. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO), Textile and Fiber Technology, (**mayo 2010**).

<http://www.tft.csiro.au/>

[26] Kassenbeck, P. Bilateral structure of cotton fibers as revealed by enzymatic degradation. *Text. Res. J.*, **1970**, 40, 330–334.

[27] MAKIKO KOYAMA, JUNJI SUGIYAMA, TAKAO ITOH. Systematic survey on crystalline features of algal celluloses. *Cellulose* **1997**, 4, 147–160.

- [28] Mihranyan, A., Strømme, M. Rheological properties of cellulose hydrogels prepared from Cladophora cellulose powder. *Food Hydrocolloids* **2007**, *21*, 267–272.
- [29] Édison Pecoraro, Danilo Manzani, Younes Messaddeq, Sidney J.L. Ribeiro. Bacterial Cellulose from *Glucanacetobacter xylinus*: Preparation, Properties and Applications. Monomers, Polymers and Composite from Renewable Resources, *M.N. Belgacem & A. Gandini*. Chapter 17, 369-833.
- [30] Paul Madus Ejikeme. Investigation of the physicochemical properties of microcrystalline cellulose from agricultural wastes I: orange mesocarp. *Cellulose* **2007**.
- [31] Foster A. Agblevor, Maha M. Ibrahim, Waleed K. El-Zawawy. Coupled acid and enzyme mediated production of microcrystalline cellulose from corn cob and cotton gin waste. *Cellulose* **2007**, *14*, 247–256.
- [32] István Siró, David Plackett. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose* **2010**.
- [33] My Ahmed Said Azizi Samir, Fannie Alloin, and Alain Dufresne. Review of Recent Research into Cellulosic Whiskers, Their Properties and Their Application in Nanocomposite Field. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 612-626.
- [34] Rafeadah Rusli, Kadhiravan Shanmuganathan, Stuart J. Rowan, Christoph Weder, Stephen J. Eichhorn. Stress-Transfer in Anisotropic and Environmentally Adaptive Cellulose Whisker Nanocomposites. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 762–768.
- [35] Kimura, S.; Itoh, T. In *Biogenesis and Function of Cellulose in the Tunicates, in Cellulose: Molecular and Structural Biology*; Brown, R. M., Nobles D. R., Eds.; Springer: New York, **2007**; pp 217-236.

CAPÍTULO 3. EXPERIMENTOS, RESULTADOS Y DISCUSION

1°.- Materiales de partida:

I) Fuentes comerciales comunes de celulosa purificada: papeles y algodones comunes purificados y blanqueados.

II) Fuentes comerciales específicas de celulosa purificada con características definidas (grado de polimerización DP).

III) Agentes activantes de la celulosa.

IV) Agente acetilante

V) Catalizadores.

VI) Disolventes de reacción.

VII) Disolventes TAC.

VIII) Plastificantes.

2°.- Métodos de pretratamiento de la celulosa purificada:

- a) Activación mecánica (molienda).
- b) Activación química (con disolventes acuosos: ác. Acético del 80-90%)
- c) Mercerizado

3°.- Métodos de acetilación:

- I) Introducción
- II) Catálisis ácida (catalizador ác. sulfúrico) con y sin disolvente.
- III) Homogéneo sin catalizador, disolvente líquido iónico.
- IV) Homogéneo sin disolvente y catalizador Yodo.
- V) Homogéneo y catalizador Yodo para muestras activadas con AcOH acuoso.
- VI) Heterogéneo con un no-disolvente y catalizador Yodo, en una única etapa.
- VII) Heterogéneo con un no-disolvente y catalizador HClO₄, en una única etapa.

4°.- Preparación, plastificación y caracterización de las membranas de TAC.

3.1. Materiales de partida:

3.1.1. Celulosa purificada.

Como fuente de celulosa purificada comercial se emplearan **papel (de filtro, higiénico y sanitario) y algodón puro 100% (sanitario, quirúrgico, de higiene íntima, tejidos convencionales, etc.)**.

Cada una de estas muestras comerciales puede haber sido sometida a tratamientos diferentes y por consiguiente sus características pueden variar significativamente, especialmente en lo referente a su peso molecular. Por este motivo, resulta esencial disponer *de fuentes de celulosa de características conocidas, para utilizarlas como referencias*. Además, en todos los experimentos se incluyen *uno o más blancos* como referencias perfectamente conocidas que indican cuando las características de las muestras de celulosa comerciales varían significativamente.

En nuestro caso, estas referencias serán muestras comerciales específicas de celulosas puras (>95% de α -celulosa) con índices de cristalinidad >70%: Utilizaremos dos que se diferencian significativamente en sus grados de polimerización:

Celulosa microcristalina (DP \approx 200 - 400) y linters de algodón (DP \approx 1000 -1300).

Todas estas fuentes contienen **>90% de α -celulosa y >5% de agua** y generalmente se utilizan tal y como se reciben. En algunos casos resulta necesario secar la celulosa, como ocurre tras su mercerizado. El secado se realizara al aire, a presión normal y a temperatura ambiente 25°C. De esta manera, se consigue que el contenido en agua no llegue a ser nunca <5%, ya que en caso contrario puede producirse la **desactivación irreversible de la celulosa**. Los poros de las fibras de celulosa son significativamente alterados durante el secado de la fibra. Este es el mecanismo conocido como **hornificación**, según el cual se produce una irreversible reducción del volumen de poros debido al cierre de los poros más pequeños. [1-6]

El secado de todas estas fuentes de celulosa durante 24 horas en estufa a vacío (\approx 1tor) y 100°C produce su desactivación. Una vez desactivadas, suelen presentar conversiones <50% en las reacciones de acetilación. Esta desactivación no resulta irreversible y puede eliminarse activando con agua, ácido acético o mezclas ácido acético / agua. [6]

Algunas muestras de algodón presentaron conversiones <50% en todas las reacciones de acetilación, independientemente de los diferentes procesos de activación que les fueron aplicados en nuestro laboratorio. Estos algodones no suelen estar bien purificados [7-10]. Se distinguen por esta mal cardados (presentando un número elevado de nudos entre las fibras) y colorear de amarillo las disoluciones de NaOH durante su mercerizado. Suelen ser comercializados como algodones hidrófilos sanitarios en rollo y con menor frecuencia plisados en zig-zag.

Probablemente, esta baja reactividad es debida a un secado heterogéneo excesivo que disminuye el contenido en humedad de muchas de las fibras por debajo del 5%. También hemos observado en el microscopio óptico, que algunas de las fibras de algodón de estas muestras, aparecen menos hidrófilas y se tiñen peor con rojo congo [11-13]. Estas observaciones indican que las fibras conservan **la cutícula**.

La cutícula es la pared más exterior de la fibra y presenta una composición lípido (ceras) - proteica, a diferencia de las paredes 1ª (P) y 2ª (S), que presentan un contenido mayoritario de celulosa. La cutícula de ceras hace a la fibra más hidrófoba y puede reducir muy efectivamente el acceso de los reactivos de acetilación a las capas interiores de celulosa de la fibra y por tanto, puede reducir total o parcialmente su accesibilidad y reactividad. Normalmente, se elimina durante el proceso de purificación del algodón, durante la etapa de scouring con NaOH en condiciones suaves que saponifican las ceras y hacen al algodón más hidrófilo [7-10].

Estas observaciones parecen confirmar la deficiente purificación de algunas fibras de ciertas muestras de algodón. Estas muestras fueron rechazadas en este proyecto, como material celulósico de partida para la preparación de derivados, acetatos de celulosa.

Las muestras de algodón que mayor interés práctico presentan, son algodones orgánicos hidrófilos, 100% algodón puro, bien cardados y purificados, con un bajo número de nudos entre las fibras. Especialmente, en su presentación comercial en forma de discos desmaquilladores o rollos dentales por su elevada reactividad ≈ 100%, fácil manejo y gran capacidad de absorción de los reactivos.

Los discos de algodón son las muestras de celulosa empleadas rutinariamente durante todo el desarrollo de este proyecto. Se eligieron discos de las siguientes 3 distintas procedencias:

<http://www.korott.com/laempresa.php#>

http://www.boots.com/en/Boots-Double-Faced-Pads-50-Pads_929440/

<http://www.superdrug.com/SUPERDRUG-COTTONWOOL-NEW-PADS-X100/invt/862169&bklist>

3.1.2. Activantes de la celulosa

El agua es un poderoso activante de la celulosa, mientras que el ácido acético es más lento. Este último se vuelve mucho más rápido mezclado con agua. Sin embargo, el agua consume reactivo acetilante y por tanto debe ser extraída antes de la acetilación o empleada en pequeñas cantidades y con exceso de reactivo acetilante. [17-18]

Emplearemos en todos los casos **ácido acético y/o agua** como agentes activantes. Generalmente, en los **métodos de activación previa a la acetilación** emplearemos 1º.- ácido acético / agua (90/10, v/v) y 2º ácido acético glacial para extraer el agua.

Mientras que en los **métodos de activación directa** en la mezcla de reacción, utilizaremos pequeñas cantidades de ácido acético acuoso con un contenido máximo en agua del 20%.

La molienda convencional de las muestras de celulosa se empleará más que como una activación mecánica, como un simple acondicionamiento de la celulosa que facilita su manejo y la absorción de los reactivos. En particular, el papel como fuente de celulosa lo moleremos unos pocos minutos en un molinillo convencional hasta obtener una apariencia casi idéntica a la del algodón sanitario.

El mercerizado de las muestras de celulosa no resulta de utilidad para su activación. Por el contrario, produce su desactivación, acompañada de una considerable disminución de su peso molecular. Es necesario activar la muestra de celulosa mercerizada con agua o mezclas agua/acético para que presente una reactividad igual o superior a la muestra de partida. [14]

3.1.3. Agente acetilante

En todas las reacciones de acetilación emplearemos únicamente **anhídrido acético** como agente acetilante.

3.1.4. Catalizadores

Emplearemos únicamente **catalizadores ácidos** principalmente **ác. perclórico 60%** o **yodo elemental** como catalizador.

Generalmente, las acetilaciones de **catálisis básica** son más suaves que las ácidas. Temperaturas elevadas y cortos tiempos de reacción producen una degradación mínima de la celulosa y por consiguiente, conducen a la obtención de TAC's de mayores pesos moleculares que en la catálisis ácida. Sin embargo, suelen requerir grandes cantidades de disolventes y catalizadores (aminas básicas por ejemplo, **piridina**).

3.1.5. Disolventes de reacción

En los **métodos homogéneos ácido acético** y en los **heterogéneos, tolueno**. Como única excepción emplearemos un líquido iónico como disolvente homogéneo. Si bien este método de acetilación homogéneo, fue abandonado debido a que producía TAC's de bajo peso molecular.

3.1.6. Disolventes de triacetato de celulosa (TAC)

Diclorometano (cloruro de metileno) se empleara casi de forma exclusiva en todos los procesos de preparación de membranas de los TAC's sintetizados. Excepto, en las pruebas de solubilidad donde se emplean una gran variedad de disolventes y en el estudio de la propiedades de cristal liquido de los TAC's en disolución, donde se empleará principalmente **ác. trifluoroacético** como disolvente.

3.1.7. Plastificantes

De los plastificantes comúnmente empleados en la preparación de membranas de inclusión de TAC: (Mezclas de ftalatos de dibutilo y diisooctilo, fosfato de triisooctilo, 2-nitrofeniloctileter, etc.), se utilizará únicamente **ftalato de dibutilo**. [15]

Citrato de trietilo se empleará como un plastificante alternativo de bajo impacto medioambiental. [15-16]

3.2. Métodos de pretratamiento de la celulosa purificada:

3.2.1. Activación química

La función del proceso de activación es hacer accesibles los hidroxilos de la celulosa a los agentes acetilantes. La activación implica el hinchado de la celulosa para hacer accesible la superficie de la microfibrilas a los reactivos. La velocidad y extensión del hinchado dependen del origen de la celulosa, la calidad del activante, y la temperatura y el tiempo del proceso de activación.

Por su tamaño y polaridad, la molécula de agua resulta ideal para el hinchado de la celulosa. En cuanto a la extensión del hinchado el **ác. acético** es tan efectivo como el agua, pero es mucho más lento. Sin embargo, la presencia de una pequeña cantidad de agua acelera la velocidad de hinchado con **ác. acético**.

El método más sencillo de activación con **ác. acético** consiste en sumergir la celulosa en agua o mezclas de **ác. acético / agua** o en **ác. acético glacial**. Una vez escurridas, se sumergen en **ác. acético glacial** para extraer el agua. Se vuelven a escurrir y se dejan envejecer durante un tiempo antes de la acetilación.

Otro método más efectivo de activación con **ác. acético**, cosiste en rociar las fibras de celulosa con **ác. acético** mientras son sometidas a trabajo mecánico. Este método

mecánico, aumenta más la reactividad de las fibras y reduce el tiempo de envejecimiento.

En la bibliografía consultada, es frecuente encontrar que la activación de la celulosa se realiza con ác. acético al que se le ha añadido el catalizador de la acetilación, normalmente HClO_4 o H_2SO_4 , con idea de facilitar la rotura de los enlaces de hidrogeno y así, favorecer el hinchado.[17-19] Desde luego, en lo que respecta al H_2SO_4 , se ha comprobado que incluso en muy pequeñas cantidades (muy diluido), disminuye considerablemente la velocidad de hinchado. Probablemente, esto es debido, a que es adsorbido en la superficie de las microfibrilas bloqueando la entrada de los poros. Como es adsorbido selectivamente por la celulosa, incluso muy diluido en ác. acético, produce una disminución notable de la velocidad de hinchado de la celulosa. [17-19]

En nuestro laboratorio la activación de las muestras de celulosa se llevo a cabo siempre con ác. acético y/o mezclas ác. acético/agua, mediante los dos métodos siguientes:

1°.- Método convencional, la activación es previa a la acetilación.

2°.- Método directo, la activación y acetilación se realizan en una única etapa.

Generalmente, en los dos métodos se emplea agua que resulta muy efectiva activando las muestras de celulosa, Sin embargo, es necesario emplearla en cantidades muy pequeñas (< 20% del peso de celulosa pura) o extraerla antes de la acetilación. Pudimos comprobar, que cuando el agua está presente en la mezcla de reacción en cantidades mucho mayores del 20% del peso de celulosa, reacciona con el anhídrido acético de forma fuertemente exotérmica y difícil de controlar. En este caso y debido al aumento incontrolado de la temperatura, las muestras suelen disolverse en la mezcla de acetilación, incluso en las acetilaciones en fase solida. El producto de la acetilación en estos casos son oligómeros de muy bajo peso molecular.

a) **Método convencional** en el que la activación es una etapa previa a la acetilación. Se realiza de la siguiente manera:

La celulosa se sumerge en **ácido acético acuoso del 90% durante 1h a temperatura ambiente 25°C**. Las muestras de celulosa fibrosa muy voluminosas (muy poco densas) deben de quedar perfectamente sumergidas, por lo que en ocasiones pueden requerir mayores volúmenes del activante.

Después de una hora a remojo con en el activante a 25°C, este se extrae de la muestra hinchada mediante escurrido y prensado o centrifugación y la muestra se somete al menos, a dos intercambios con ác. acético glacial, para reducir la cantidad de agua que haya podido absorber. Estos intercambios de disolvente se realizan de la siguiente manera:

Una vez escurrida la muestra, se introduce en ácido acético glacial durante 10 – 15 minutos a 25°C. Después, esta última operación se repite de nuevo, al menos una vez

más. El volumen de ácido acético glacial empleado en cada intercambio, es el mismo que el de ác. acético acuoso del 90%.

Finalmente, la muestra se vuelve a escurrir/prensar o centrifugar hasta extraer la mayor parte del ác. acético. El contenido final de ác. acético se ajusta extrayéndolo de la muestra mediante una pipeta cuentagotas hasta el peso final deseado (normalmente 4-5 g de ác. acético por gramo de muestra celulósica). Después, la muestra puede guardarse o almacenarse envejeciendo durante meses (en un Erlenmeyer tapado con Parafilm) en frigorífico a 5°C.

Pudimos comprobar, que muestras **activadas y envejecidas en estas condiciones durante al menos 6 meses**, resultan muy reactivas frente a las acetilaciones y sin embargo, no presentan ningún signo visible de degradación, y producen TAC's de pesos moleculares similares a las muestras utilizadas inmediatamente después de su activación.

Este procedimiento de activación previa a la acetilación, tiene el inconveniente de emplear volúmenes de ác. acético relativamente elevados. Aunque en la mayoría de los casos puede recuperarse fácilmente (simplemente filtrándolo para eliminar los residuos fibrosos de celulosa), su contenido en agua resulta desconocido y por tanto, no puede utilizarse directamente para activar nuevas muestras.

También hemos observado, que debido a que el agua está siempre presente en las muestras celulósicas secas (5%), únicamente el ác. acético resulta imprescindible en su activación. Por tanto, el hinchado de la muestras con ácido acético del 90% puede obviarse y basta sumergir las muestras en ác. acético glacial durante 10-15 minutos y almacenarlas en el frigorífico. Sin embargo, estas muestras resultan menos reactivas y su peso molecular disminuye más acusadamente durante la acetilación que las activadas en presencia de mayores cantidades de agua (ác. acético acuoso 90%). El agua absorbida selectivamente por la celulosa resulta muy efectiva haciendo más accesibles los hidroxilos de la celulosa, pero también diluye el HClO_4 y por tanto disminuye la velocidad de degradación de las cadenas de celulosa mediante hidrólisis ácida y /o acetólisis.

b) Método directo en el que el agente activante forma parte de la mezcla de acetilación.

Pronto observamos, que las mezclas acetilantes de muestras activadas por el método convencional pueden reutilizarse, para acetilar eficazmente celulosas sin activación previa. Una mezcla acetilante recién preparada no contiene ác. acético. Por el contrario, una reutilizada contiene el ác. acético absorbido por la muestra durante su activación (4-5 veces el peso de la muestra) y el ác. acético subproducto de la reacción de acetilación con anhídrido acético. Por consiguiente, quedo claro que la activación y la acetilación pueden realizarse en una sola etapa, simplemente añadiendo ác. acético a la mezcla acetilante.

Además observamos también, que las mezclas reutilizadas conservaban gran parte de su poder acetilante, incluso una semana (conservadas a 5°C) después de su primera utilización. Lo que indica que su contenido en agua es muy pequeño y que además, la

velocidad de hidrólisis del anhídrido acético en la mezcla de reacción no es muy elevada a 5°C, probablemente debido, a la inmiscibilidad del agua en la mezcla de reacción.

Estos hechos sugieren claramente, que la activación puede realizarse conjuntamente con la acetilación en **una única etapa**, empleando mezclas de acetilación que incluyan ác. acético glacial o acuoso como activante.

Aunque no es imprescindible, la presencia de una pequeña cantidad de agua adicional al 5% que contienen las muestras, resulta beneficioso pues aumenta la velocidad de acetilación y disminuye la degradación de la celulosa. Hemos encontrado que la cantidad de agua añadida a la mezcla de acetilación no debe de ser mucho mayor del >2% v/v.

Mezclas de acetilación con contenidos de agua >2% v/v, aparecen turbias debido a la inmiscibilidad del agua con la mezcla de reacción. La adición de la celulosa a estas mezclas causa los siguientes efectos:

- 1°.- Su inmediata clarificación al absorber la celulosa selectivamente la fase acuosa.
- 2°.- Una rápida reacción fuertemente exotérmica que aumenta notablemente la temperatura de la mezcla.
- 3°.- La disolución de parte o toda la celulosa en la mezcla de reacción.

Estos hechos indican, que al absorber la celulosa preferentemente la fase acuosa y el catalizador ácido (HClO_4) induce la formación de concentraciones locales elevadas de catalizador HClO_4 , que aceleran las reacciones de hidrólisis del anhídrido acético y de la celulosa.

De hecho, si se añade la muestra de celulosa en dos porciones consecutivas, la primera porción consume el exceso de agua en su hidrólisis y en la del anhídrido acético. Mientras que la segunda encuentra la cantidad de agua ajustada para acetilarse normalmente.

Finalmente encontramos, que una mezcla con un **10% de ác. acético del 80%**, es decir con un 2% de agua, resulta efectiva para acetilar en una única etapa y en fase sólida, celulosas no activadas. Se consigue que el agua sea miscible con la mezcla de acetilación cuando se incorpora a diluida en ác. acético por ejemplo, como ác. acético 80%.

Cuando estas mezclas se guardan en nevera a 5°C, conservan gran parte de su poder de acetilación, incluso casi una semana después de su preparación. De hecho, el tiempo de conservación de su poder acetilante es casi similar al de las mezclas sin activante (sin agua ni ác. acético) o que solo tienen ác. acético glacial como activante.

La tabla siguiente (**Tabla 6**), expone los tiempos necesarios para convertir cuantitativamente en TAC, 3 muestras iguales de celulosa (1 a 3), en función de la cantidad de mezcla acetilante, catalizador y de la temperatura de reacción.

Muestra 1, método acetilación en fase sólida con tolueno y HClO₄ (60%), dos etapas (activación de la celulosa previa a la acetilación con AcOH 90% 1h y dos intercambios de 15 min. con ác. acético glacial).

Muestras 2 y 3 método acetilación en fase sólida con tolueno y HClO₄, una sola etapa (activación directa, la mezcla de reacción contiene un 10% de AcOH 80%).

Tabla 6: Tiempo necesario para convertir 3 muestras de celulosa en función de la cantidad de acetilante, catalizador y la temperatura

Muestra (0.5g)	Mezcla acetilante (mL)	Catalizador HClO ₄ (60%) (mg)	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)
1*	5	≈3.5	30	12
2**	5	≈3.5	30	24
3**	10	≈7	30	12

* En dos etapas. Muestra previamente activada con AcOH 90%.

** Una sola etapa (activación directa AcOH 80%).

En los resultados mostrados en esta tabla, puede observarse que el menor tiempo de conversión corresponde a la muestra 1, tratada por el método tolueno y HClO₄ en dos etapas (celulosa previamente activada). En condiciones equivalentes, el método en una sola etapa (activación directa) requiere el doble de tiempo (muestra 2). Finalmente, para obtener este mismo tiempo de conversión, el método de activación directa requiere doblar la cantidad de catalizador y de mezcla (muestra 3).

Esto es debido, a que en el método directo no hay etapa de hinchado-envejecimiento de la muestra y por consiguiente se necesita más catalizador y/o más tiempo para obtener resultados similares al de dos etapas.

Aunque este método directo es menos efectivo que el de dos etapas, presenta la ventaja de ahorrar el tiempo y las elevadas cantidades de ác. acético que requieren la etapa de activación del último.

Resumen de los métodos de activación química.

1.- La activación resulta imprescindible cuando la muestra se va a acetilar en fase sólida. [17-19]

2.- **Los activantes empleados son agua y ác. acético.** Como la primera está presente (5%) en todas las muestras, resulta que *el ác. acético es el activante imprescindible* a emplear antes (método dos etapas) o durante la acetilación (una etapa).

3.- Emplear como activante **ác. acético acuoso (80 -90%) es más efectivo** que emplear ácido acético glacial. Con el primero la velocidad de acetilación es mayor y la degradación de la celulosa menor.

4°.- **Las muestras se pueden acetilar directamente** (de inmediato) por cualquiera de los dos métodos, pues en el de dos etapas las muestras pueden almacenarse activadas en el frigorífico. Aunque este método es más efectivo, también consume cantidades mucho mayores de ácido acético que el directo.

5°.- Los procedimientos de acetilación con **líquidos iónicos y con yodo** como catalizador **no necesitan la activación de la muestra**.

Sin embargo, en nuestro laboratorio hemos podido comprobar que si en la acetilación con yodo se utiliza una muestra activada con ácido acético, o se añade una pequeña cantidad de ácido acético a la mezcla de acetilación, la velocidad de reacción aumenta considerablemente y la muestra se disuelve por completo en el medio de reacción.

La siguiente fotografía (**Figura 29**) muestra el resultado de acetilar con $\text{Ac}_2\text{O} / \text{I}_2$ (4 ml / 50 mg), en idénticas condiciones (50°C) dos discos de algodón iguales (0.5 g). Únicamente, en el matraz de la derecha se añadió 1ml de ácido acético.

Después de 12h de reacción, el disco de la izquierda tan apenas ha reaccionado mientras que el de la derecha (que contiene ácido acético) se ha convertido cuantitativamente en TAC totalmente disuelto por la mezcla acetilante.



Figura 29: Acetilación con $\text{Ac}_2\text{O} / \text{I}_2$ (4 ml / 50 mg) de dos discos de algodón iguales (0.5 g) a 50°C . En el matraz de la derecha se añadió 1ml de ácido acético.

3.2.2. Mercerizado

Este proceso convierte la **celulosa I** en **celulosa II**, disminuye la cristalinidad global, aumenta la accesibilidad de las zonas más desordenadas y cambia la estructura de los poros. Disminuye el diámetro de los poros, pero aumenta la superficie de los

microporos. [14] Sin embargo, aunque en nuestro laboratorio se utilizó como método de pretratamiento de algunas muestras de celulosa purificada, no resultó efectivo para su activación.

La muestra de celulosa se introduce en 20-50 veces su peso de **NaOH al 18%** a 25°C y se deja sumergida en la disolución durante 1 hora. Después se escurre y se introduce en 300 veces su peso de agua destilada, donde se neutraliza con ac. acético del 5%. Después de dejar reposar al menos 1 hora a pH neutro, se lava con abundante agua destilada, se escurre y se seca al aire (al menos 24h), hasta peso constante.

Con objeto de aumentar su reactividad, se sometieron a este proceso de mercerizado, algodones hidrófilos que presentaban reactividades menores del 50% en los procesos de acetilación. Durante el proceso de mercerizado perdieron del 5 al 20% de su peso original y aunque su reactividad no aumentó por encima del 50%, las TAC's obtenidas mostraron claros síntomas de bajo peso molecular (malas propiedades mecánicas).

A este mismo proceso de mercerización, se sometieron muestras de celulosas 100% reactivas en las acetilaciones y que ni si quiera necesitan activación de ninguna clase en ciertas acetilaciones con yodo.

El resultado fue que perdieron su reactividad en estas acetilaciones con yodo, si no eran previamente activadas. Una vez activadas, aparentemente se acetilaban normalmente para producir TAC's de bajo peso molecular.

Todos estos resultados indican que este proceso de mercerización no es muy efectivo aumentando la reactividad de nuestras muestras de celulosa y adicionalmente, implica de forma imprescindible el proceso de activación común con ác. acético. Además, produce la disminución del peso molecular de las muestras celulósicas.

3.3. Métodos de acetilación:

3.3.1. Introducción

Este apartado comprende la parte central de este proyecto y trata esencialmente del **estudio comparativo y optimización de los métodos de acetilación completa de celulosa (a TAC) publicados en la bibliografía en estos últimos cinco años**. En particular, los métodos de conversión de celulosa en triacetato de celulosa (TAC) con catalizador yodo, comparados con otros catalizadores ácidos.

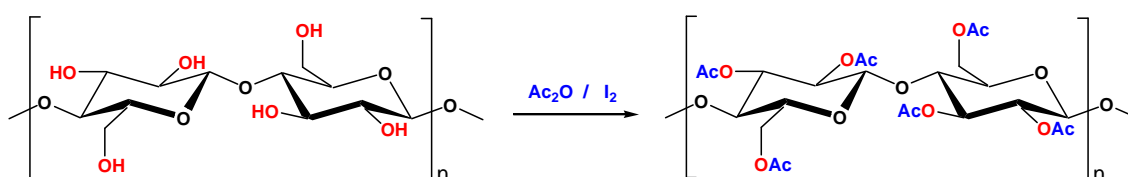


Figura 30: Conversión de celulosa a triacetato de celulosa

a) Algunas características de las muestras celulósicas

Para este estudio, se utilizaron **muestras de celulosa extraídas de distintas fuentes y por diferentes procedimientos**. Por consiguiente, las muestras se diferencian en muchos aspectos y en particular en sus **grados de polimerización (DP) comprendidos en un amplio rango de DP (entre 250 y 1300)**.

A continuación, se expone un resumen de las principales muestras de celulosa utilizadas, ordenadas por DP creciente:

Celulosa microcristalina (Fluka) DP \approx 250 – 350.

Fibras de celulosa de madera deslignificada, purificadas. DP \approx 500 – 850.

Fibras de algodón 100% purificado. DP \approx 500 – 1300.

Linters de algodón (Fluka) DP \approx 1000.

Otra característica destacada de las muestras empleadas, es su presentación física y en concreto, la **densidad de su masa fibrosa de celulosa**.^[19] La celulosa microcristalina se presenta en forma de polvo fino con una densidad \approx 0.6 g/mL, mientras que 0.6 g de algodón hidrófilo pueden ocupar un volumen incluso cien veces mayor (100mL). Para la celulosa microcristalina basta con 1 mL de mezcla acetilante para obtener una mezcla uniforme y fácil de agitar. Sin embargo, con la celulosa del algodón necesitaríamos un volumen de mezcla de reacción cien veces mayor. Hay que tener en cuenta, que por motivos comparativos, **en las experiencias de laboratorio utilizaremos los mismos volúmenes de mezcla acetilante para todas las muestras de celulosa**.

b) Degradación de las muestras durante su acetilación

Algunos de los métodos estudiados fueron rechazados debido a que conducen a la obtención de TAC's de bajo peso molecular, con todas las muestras de celulosa. Aproximadamente, disminuyen en un orden de magnitud el DP de la muestra. Por consiguiente, los DP's máximos de los TAC's obtenidos son ≤ 100 . Desafortunadamente, las membranas preparadas con estos TAC's ($DP \leq 100$) presentan propiedades mecánicas pobres.

Los métodos estudiados con mayor detenimiento, son los que conducen a la obtención de TAC's de pesos moleculares moderados - altos, con todas las muestras de celulosa. Estos métodos no parecen producir una degradación muy significativa de la celulosa, pues incluso con celulosa microcristalina (de bajo DP $\approx 250 - 350$) conducen a la obtención de TAC's, con los que se preparan membranas que presentan características mecánicas medias. Aunque por supuesto, las mejores propiedades mecánicas las presentan las membranas preparadas con TAC's de algodón (de mucho mayor DP $\approx 500 - 1300$).

Durante la reacción de acetilación, se produce cierta degradación de las cadenas de celulosa para formar oligómeros de bajo peso molecular. Independientemente de si se originan por hidrólisis ácida y posterior acetilación o por acetólisis, estos oligómeros presentan los hidroxilos terminales acetilados y resultan solubles en acetona caliente [20]. Son particularmente abundantes, cuando se emplean cantidades importantes de ácidos minerales como catalizadores ($HClO_4$) y su proporción aumenta con el tiempo de reacción. Normalmente, aparecen en cantidades muy pequeñas ($<5\%$) cuando se emplea yodo como catalizador.

Puesto que son fácilmente extraíbles con acetona hirviendo, podemos conocer su proporción y por tanto tener una idea de la degradación que experimentan las muestras durante su acetilación.

El procedimiento empleado consiste en tratar los TACs obtenidos (1g) con 300 mL de acetona a ebullición durante 30 minutos. Una vez fría, la suspensión fibrosa obtenida se filtra, para obtener un residuo fibroso de TAC purificado y una disolución de acetona. Esta se evapora en el rotavapor, para obtener un residuo que se disuelve en una pequeña cantidad de diclorometano (DCM). Esta disolución se deposita en una placa petri, formando una delgada película y se deja evaporar el DCM hasta obtener un film transparente de oligómeros peracetilados.

Debido al bajo peso molecular de estos oligómeros, sus películas presentan propiedades mecánicas muy pobres. Sin embargo, las películas preparadas a partir del residuo fibroso de TAC purificado (desprovisto de oligómeros) presentan propiedades mecánicas superiores a las correspondientes de TAC sin tratar.

Por consiguiente, este método no solo es un indicador de la degradación de la muestra durante su acetilación, sino que también reduce la dispersión de pesos moleculares de los TACs obtenidos.

c) Condiciones generales de reacción.

Todos los experimentos que se describen en este apartado están realizados en ausencia de agitación y con volúmenes minimizados de mezcla de reacción

Generalmente, los resultados de los experimentos realizados se expondrán como **tiempos de conversión cuantitativa (rendimientos > 95%) de celulosa en TAC (de DP elevado), en función de las variables de reacción;** (temperatura y cantidades de mezcla acetilante y catalizador, en ausencia de agitación).

Puesto que el principal objetivo es obtener TAC de alto peso molecular, los tiempos de conversión son siempre elevados, debido a que tendremos que emplear temperaturas y cantidades de catalizador muy moderadas, para evitar la degradación de la celulosa. Además, la minimización de las cantidades de mezcla acetilante y catalizador contribuyen también, a alargar los tiempos de conversión.

Una idea aproximada de la posible degradación de las muestras durante su acetilación, se obtiene midiendo la **proporción de oligómeros peracetilados extraídos con acetona a ebullición.**[20]

En general, las acetilaciones que conducen a TACs con contenidos en oligómeros extraíbles > 20% no se exponen en este proyecto por considerar que la muestra se ha degradado considerablemente. Estos casos, se producen cuando se emplea HClO₄ como catalizador y condiciones severas de reacción. La mayor parte de las acetilaciones realizadas en este proyecto producen TACs con < 15% de oligómeros extraíbles, debido a que se llevan a cabo en condiciones suaves y con cantidades mínimas de HClO₄. En estas condiciones, incluso con los largos tiempos de reacción empleados, no se producen cantidades de oligómeros extraíbles > 20%.

Finalmente, en los siguientes apartados se exponen únicamente ciertos resultados de los experimentos más significativos de la gran cantidad de experimentos que se han realizado en nuestro laboratorio durante el desarrollo de este proyecto.

3.3.2. Catálisis ácida (catalizador ác. sulfúrico) con y sin disolvente.

Si a una mezcla de celulosa y anhídrido acético (por ejemplo: 1g de celulosa en 20 mL de anhídrido acético) se le añade unas gotas de ác. sulfúrico 98%, comienza de inmediato una reacción fuertemente exotérmica que conduce a la obtención de oligómeros acetilados de muy bajo peso molecular.

La presencia de un disolvente resulta esencial en estos procesos con catalizador ácido muy fuerte y anhídrido acético como agente acetilante. La presencia de un disolvente puede contribuir a **evitar las concentraciones locales de calor y catalizador** y por tanto, obtener derivados acetilados de pesos moleculares mayores.

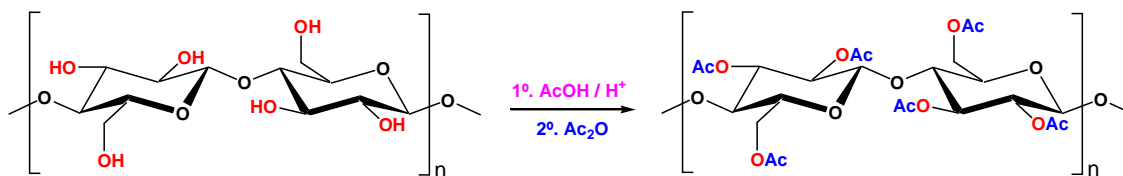


Figura 31: Conversión de celulosa a triacetato de celulosa en presencia de catalizador ácido

Generalmente, en los procesos de acetilación **homogéneos** se utiliza un disolvente en el que se disuelve la celulosa sin acetilar y/o conforme se va acetilando (por ejemplo, ácido acético, cloruro de metileno, líquidos iónicos, etc.). Sin embargo, en los **heterogéneos** o en fase sólida, se emplea un no disolvente (por ejemplo, tolueno) que no disuelve la celulosa, independientemente de su grado de acetilación.[22-29]

En los **procesos industriales (mal llamados homogéneos)** más comunes de obtención de TAC, se utilizan; ácido acético como disolvente y activante (y con menor frecuencia cloruro de metileno), ácido sulfúrico como catalizador y anhídrido acético como agente acetilante.

En realidad estos métodos son realmente heterogéneos puesto que la celulosa solo se disuelve una vez acetilada. Solo con ciertos líquidos iónicos el proceso es realmente homogéneo pues son capaces de disolver por completo la celulosa independientemente de su grado de acetilación.

Lo que debe de quedar claro, es que en este proyecto, la diferencia principal entre los **métodos homogéneos y heterogéneos de acetilación** es que en los primeros, **no se preserva la estructura fibrosa de la celulosa** (puesto que esta se disuelve a un cierto grado de acetilación) mientras que en los últimos, se conserva la estructura fibrosa ya que la celulosa no se disuelve independientemente de su grado de acetilación, es decir la **acetilación se realiza en fase sólida**.[22-29]

En el laboratorio, este proceso homogéneo de acetilación de celulosa lo realizamos de la siguiente manera:[21]

2 g de celulosa se empapan uniformemente con 10mL de ácido acético que contienen 0.1 g de ácido sulfúrico 98%, ayudando con un termómetro de varilla. Con un cuentagotas se absorbe el líquido que empapa la celulosa y se le vuelve a añadir procurando su redistribución homogénea. La operación se repite varias veces hasta obtener una mezcla uniforme. Después de 1 h de reposo a 25°C se le añade una mezcla de 10 mL anhídrido acético y 5mL ácido acético. Igual que antes, con el cuentagotas procuramos la distribución uniforme de la mezcla de reacción en la muestra de celulosa. Entonces, comienza la reacción exotérmica de acetilación y resulta esencial que la temperatura no supere nunca los 50°C (si es necesario, se enfría con baño de hielo para mantener siempre $T < 50^\circ\text{C}$). La celulosa comienza a disolverse en la mezcla de reacción para dar una masa muy viscosa.

Aproximadamente después de 30 minutos de la adicción del anhídrido acético, la celulosa se ha disuelto formando una disolución muy viscosa de TAC en la mezcla de reacción.

El TAC precipita cuando la disolución viscosa se añade sobre 200 mL de agua o de metanol y se recoge por filtración, se lava sucesivamente con agua y metanol y se seca 24h a 60°C en estufa a vacío.

Aunque este procedimiento es más rápido que la acetilación en fase sólida, resulta tedioso en el laboratorio, por la dificultad que representa la agitación disolución muy viscosa de TAC en la mezcla de reacción. Además requiere la precipitación del TAC disuelto en la mezcla de acetilación y no es posible recuperar el anhídrido acético de la mezcla de reacción. Todos estos inconvenientes no se presentan en la acetilación en fase sólida, ya que el TAC no se disuelve en la mezcla de reacción y esta puede recuperarse y reutilizarse fácilmente.[27]

En nuestro laboratorio, el principal inconveniente que encontramos a este procedimiento es que las membranas de los TAC's no resultaron demasiado robustas y flexibles, lo que indica que sus pesos moleculares todavía no son muy elevados, aunque lo son muchísimo más que en el proceso sin disolvente. Probablemente, esto es debido a la gran dificultad de evitar por completo, elevadas concentraciones locales de calor y H^+ en la disolución extremadamente viscosa que se forma cuando la celulosa se disuelve en la mezcla de acetilación.

El principal interés de este procedimiento es que permite la hidrólisis de esta disolución viscosa de TAC, hasta obtener un diacetato que resulta soluble en acetona (debido a su peso molecular moderado-bajo y a una particular distribución de grupos acetilo). Este diacetato soluble en acetona, no puede obtenerse por hidrólisis de los TACs obtenidos en fase sólida.

Este método es parecido al método industrial más común de preparación de acetato de celulosa soluble en acetona.[22]

Algunas variaciones evidentes que podemos introducir en este método de acetilación son: utilizar **mayores cantidades del disolvente y/o menores cantidades de catalizador y/o temperaturas más bajas**. No obstante, estas variaciones implican menores conversiones y mayores tiempos de reacción.

Otras modificaciones que emplearemos en el laboratorio, para evitar de forma más eficaz la formación de elevadas concentraciones locales de calor y H^+ durante la acetilación, son las siguientes:

1°.- Utilizar un **catalizador más suave, como yodo, o simplemente no utilizar catalizador**. Ambas suelen implicar el aumento del tiempo y/o temperatura de reacción.

2°.- **Realizar el proceso heterogéneamente (acetilación en fase sólida)**. Es decir, añadir a la mezcla de reacción un disolvente en el que no sean solubles ni la celulosa ni el TAC, para evitar la formación de disoluciones extremadamente viscosas. Evidentemente, este método podría no ser muy efectivo reduciendo las concentraciones locales de catalizador, ya que el catalizador podría concentrarse en la fase de la celulosa a la que suele ser más afín que al disolvente.

En el laboratorio, llevamos a cabo todas estas variantes o modificaciones, más o menos drásticas, del proceso de acetilación de celulosa con anhídrido acético, de las siguientes maneras:

3.3.3. Homogéneo sin catalizador, disolvente líquido iónico.

Muestras de celulosa (sin purificar ni activar) se disuelven relativamente rápido a **80-120°C** en algunos líquidos iónicos, tal como cloruro de 1-N-alil-3-N-metilimidazol $[AMIM]^+ Cl^-$. [30-34]

Comparando con otros líquidos iónicos, elegimos este por su elevada efectividad como disolvente de celulosa, sus bajos punto de fusión (17°C) y viscosidad y su sencilla preparación.

La figura siguiente (**Figura 32**) muestra un esquema ilustrativo del mecanismo de disrupción de la extensa red de puentes de hidrógeno de la celulosa, llevado a cabo por $[AMIM]^+ Cl^-$ y que acaba produciendo la total disolución de una gran variedad de muestras celulosa de diferentes procedencias. [30-34]

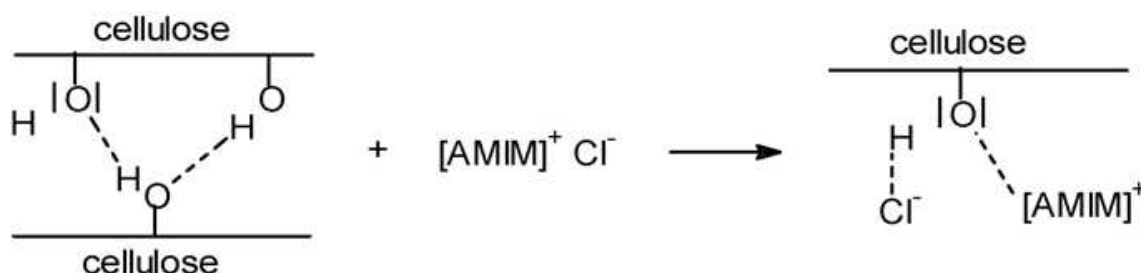


Figura 32: Mecanismo de disrupción de la red de puentes de hidrógeno de la celulosa mediante $[AMIM]^+ Cl^-$

Una vez disuelta, la celulosa reacciona con anhídrido acético, sin necesidad de catalizador, para dar varios acetatos de celulosa (en función de la relación anhídrido acético / unidad de anhidroglucosa **AGU**) y en particular TAC's con buenos rendimientos.

En concreto, y de acuerdo con la bibliografía, es posible obtener TAC de pesos moleculares moderados-altos, acetilando celulosa disuelta en $[AMIM]^+ Cl^-$, sin catalizador, con 5 moles de anhídrido acético por AGU. [30-34]

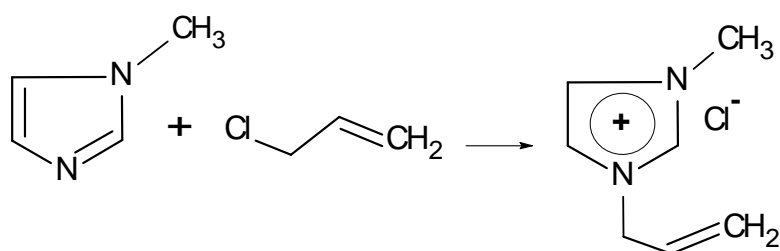
Sin embargo, con los TAC's obtenidos en las experiencias en nuestro laboratorio, solo pudimos preparar membranas con características mecánicas mediocres.

Posteriormente y durante la finalización de la parte experimental de este proyecto, estos métodos fueron revisados en la bibliografía [30], descubriéndose que el agua y otras impurezas en los líquidos iónicos, eran las responsables de la degradación de la celulosa, además de otras reacciones laterales indeseables. Por consiguiente, estos métodos requieren de líquidos iónicos de una gran pureza y que en cualquier caso, están fuera del alcance de las técnicas de purificación de nuestro laboratorio.

El procedimiento que seguimos en el laboratorio es el siguiente:

a) Síntesis de cloruro de 1-N-alil-3-N-metilimidazol: [AMIM]⁺ Cl⁻

Se prepara mediante reacción de sustitución nucleófila entre 1-metilimidazol y exceso de cloruro de alilo. [30-34]



En un matraz de 500mL provisto de agitación magnética y reflujo con tubo desecante de cloruro cálcico, se introducen 100 mL de 1-metilimidazol, 200 mL de cloruro de alilo (relación 1:1.25 moles de 1-metilimidazol a cloruro de alilo) y se mantiene a reflujo a 60°C durante la noche (12h). Después, el matraz se pasa al rotavapor (provisto de bomba rotatoria) donde se deja a vacío a 100°C hasta eliminar todo el cloruro de alilo no reaccionado (durante un máximo de 1 h, pues a esta temperatura el producto [AMIM]⁺ Cl⁻ puede descomponer lentamente). Rendimiento 95%. El producto final, un líquido higroscópico a T>17°C, se guarda a 25°C bien tapado, protegido de la humedad. Proporciones de agua ≥ 1% en líquidos iónicos, disminuyen drásticamente su poder de disolución de celulosa (probablemente, al competir el agua en la formación de puentes de hidrógeno) y producen reacciones laterales indeseables. Por estos motivos resulta crucial el secar adecuadamente [AMIM]⁺ Cl⁻. Debido a su alta temperatura de ebullición >200°C y a que su estabilidad no es muy elevada a estas temperaturas, es más conveniente secar el producto mediante **liofilización** que por destilación a vacío convencional.

b) Reacción de acetilación de celulosa en [AMIM]⁺ Cl⁻.

1 gramo de celulosa (secada en estufa de vacío 5h a 60°C) se dispersa en 20 mL de [AMIM]⁺ Cl⁻ a 25°C y después se aumenta lentamente la temperatura, hasta 100°C, con agitación magnética, y se mantiene a hasta obtener una disolución clara. A esta disolución agitada se le añaden lentamente 3 mL anhídrido acético (aproximadamente 5 mol anhídrido acético por mol AGU $-(C_6H_{10}O_5)_n-$) y se deja la reacción a 100°C durante 12 h para acetilar la totalidad de los hidroxilos de la celulosa y obtener TAC.

Terminada la acetilación la mezcla de reacción se vierte en 300 mL de agua destilada o metanol y el TAC precipitado se recoge por filtración a vacío se lava con abundante agua o metanol y se seca a vacío 24h a 60°C. Una vez seco, se redisuelve en 35 mL de cloruro de metileno y se reprecipita en metanol (300mL). El TCA reprecipitado recogido por filtración a vacío deberá de estar libre de líquido iónico.

Si todavía estuviese contaminado con [AMIM]⁺ Cl⁻ se repite la redisolución/reprecipitación y se seca a vacío 24h a 60°C

Las membranas de los TAC's obtenidos con [AMIM]⁺ Cl⁻ son muy similares a las obtenidas con ácido acético / ác. sulfúrico, es decir no son muy resistentes y flexibles, lo que sugiere que su DP no es muy elevado. Obviamente, la celulosa se degrada durante el proceso, lo que parece coincidir con la bibliografía, tal y como muestra la figura siguiente (*Figura 33*). [30]

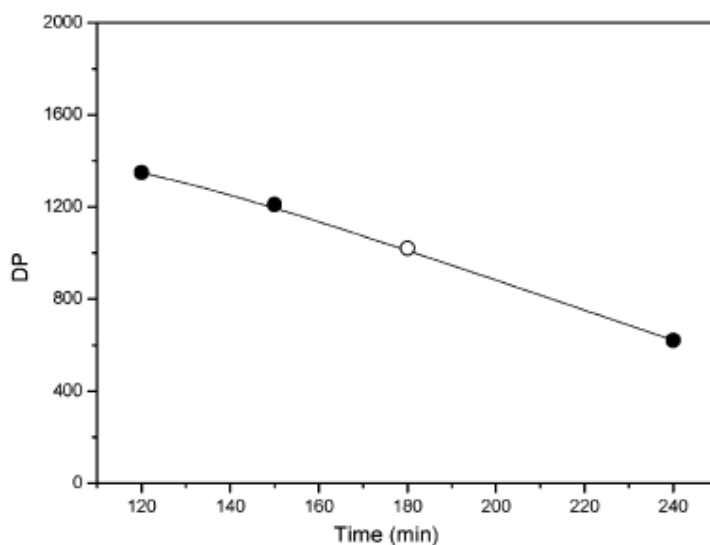
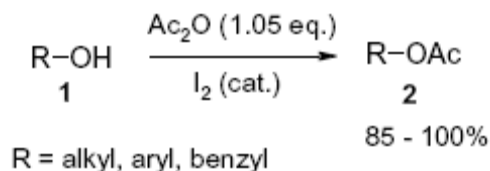


Figura 33: Disminución del grado de polimerización (DP) con el tiempo (minutos) para una muestra de algodón disuelta en [AMIM]⁺ Cl⁻ a: 110 °C. [30]

3.3.4. Homogéneo sin disolvente y catalizador Yodo.

Una gran variedad de grupos hidroxilo (primarios, secundarios, terciarios, fenólicos, hidroxilos de carbohidratos, de polisacáridos, etc.) pueden ser acetilados eficientemente con anhídrido acético, utilizando yodo como catalizador (0.1 eq.) y en ausencia de disolvente. [35-37]



La figura siguiente (**Figura 34**) ilustra el mecanismo de acetilación, con el yodo (como ácido de Lewis) activando el grupo carbonilo del anhídrido acético.

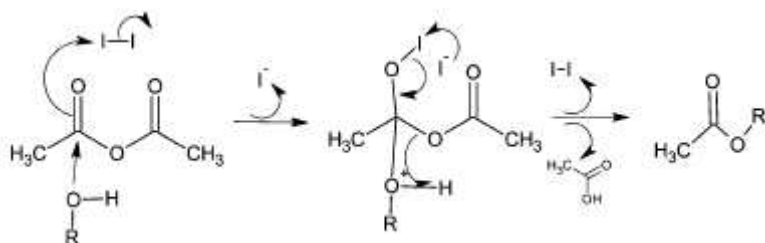
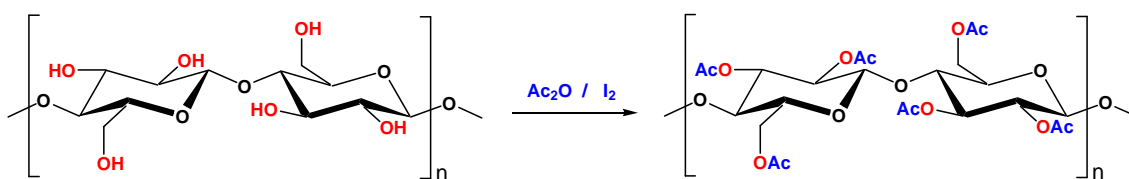


Figura 34: Mecanismo de acetilación con yodo

Este método presenta un interés especial, ya que no requiere ni disolvente ni activación de la celulosa. Esto contrasta fuertemente, con la acetilación de celulosa en fase sólida, donde disolvente y activación son imprescindibles.



En realidad este método únicamente resulta homogéneo, con celulosa microcristalina y a temperaturas elevadas $\approx 100^\circ\text{C}$, que producen una notable degradación de su peso molecular. [38-42] La celulosa microcristalina es la de menor DP, la más reactiva y la única que no es fibrosa, de todas las muestras de celulosa empleadas en este proyecto.

Con todas las muestras empleadas en este proyecto y en especial con las muestras fibrosas y siempre a temperaturas moderadas $\leq 50^\circ\text{C}$, **la acetilación se produce casi en fase sólida**, pues solo se disuelve una pequeña parte de la celulosa, conservando la mayor parte su estructura fibrosa.

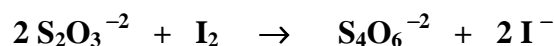
Únicamente, cuando las muestras de celulosa están activadas (previamente con ác. acético acuoso del 90% / ác. acético glacial o añadiendo directamente ác. acético a la mezcla de acetilación), llegan a disolverse por completo en la mezcla de reacción, siempre a temperaturas moderadas $\leq 50^{\circ}\text{C}$.

En este último caso, no podemos decir que el proceso de acetilación es totalmente sin disolvente, pues las muestras activadas retienen cantidades significativas de ácido acético.

En la práctica, el proceso resulta muy sencillo. Simplemente, la celulosa se trata durante largos periodos de tiempo, con una pequeña cantidad de una disolución de yodo en anhídrido acético a temperaturas moderadas $\leq 50^{\circ}\text{C}$.

Cuando toda o una gran parte de la muestra convertida en TAC llega a disolverse en la mezcla de reacción, se le añade cloruro de metileno hasta su total disolución y se precipita en metanol, recogándose cuantitativamente TAC libre de yodo.

Por el contrario, si una parte considerable de la muestra queda sin disolver, el TAC puede aislarse conservando una parte de la estructura fibrosa original de la celulosa (en este caso añadiendo disolución acuosa de tiosulfato sódico para eliminar el yodo convirtiéndolo en yoduro):



La optimización del proceso en el laboratorio consistió, principalmente, en lo referente a la utilización de la mínima cantidad de yodo y anhídrido acético y la máxima temperatura de reacción, que sin degradar la celulosa, permitiese acortar los largos tiempos de reacción.

Los resultados obtenidos después de muchas experiencias en nuestro laboratorio, indican que la práctica totalidad de las muestras de celulosa (sin necesidad de activación) pueden convertirse cuantitativamente en TAC empleando aproximadamente de 7 a 10 mol anhídrido acético por mol AGU $-(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n-$ y la vigésima parte del peso de la celulosa de yodo (50 mg de yodo por gramo de celulosa). Las temperaturas de reacción son obligadamente moderadas (máximo 50°C) si se pretenden obtener pesos moleculares elevados. Como consecuencia, ***los tiempos de reacción son muy largos, por ejemplo 24 h a 50°C o 7 días a 25°C .***

Utilizar Ac_2O y yodo en gran exceso no resulta beneficioso, sino que por el contrario puede conducir a conversiones incompletas y degradación de la celulosa. Es importante pues, que la proporción Ac_2O / yodo se mantenga dentro de ciertos límites convenientes.

Las cantidades de anhídrido acético (7 a 10 mol por mol AGU) pueden reducirse considerablemente hasta aproximadamente la mitad, en particular, en el caso de celulosa microcristalina. Esto es debido a que esta muestra no es demasiado porosa y a que presenta una densidad (de su masa pulverulenta 0.6 g/mL) que permiten su **impregnación y agitación uniformes**, con pequeños volúmenes de mezcla de reacción.

Por el contrario, la mayor parte del resto de muestras comerciales de celulosa se presentan como *masas fibrosas, altamente porosas, con densidades que pueden ser 100 veces inferiores*. Impregnar o empapar y agitar uniformemente estas muestras requeriría volúmenes de anhídrido acético muy elevados. Por consiguiente, la acetilación de este tipo de muestras se realiza sin ningún tipo de agitación.

El estudio de la cinética de la reacción de acetilación resulta complicado por varios factores entre los que destacan los siguientes:

- 1.- Al comienzo la reacción se **desarrolla en fase heterogénea** con la celulosa insoluble en la mezcla de reacción (anhídrido acético y yodo).
- 2.- Conforme la celulosa se acetila, se va disolviendo en la mezcla de acetilación con lo que a continuación, **la reacción progresa en fase homogénea**.
- 3.- El pequeño volumen de mezcla de reacción no es capaz de disolver toda la celulosa acetilada que se va formando. Por consiguiente, la reacción progresa hasta **finalizar, en fase heterogénea**.

El proceso optimizado en el laboratorio es el siguiente:

A continuación, se describe el proceso para una muestra de celulosa representativa, por ejemplo, un disco de algodón puro 100% tal y como se recibe, sin necesidad de tratamiento previo alguno, secado o activación.

a) Reacción de acetilación:

En el fondo de un erlenmeyer de 100 mL ($\varnothing=6$ cm), se ajusta perfectamente plano y extendido un disco de algodón (0.5 g, $\varnothing=6$ cm) y se impregna uniformemente (con cuentagotas o jeringuilla) con una disolución de yodo (0.025g) en anhídrido acético 3 mL a 25°C. (Para disolver rápidamente el yodo en el anhídrido acético, puede calentarse la disolución hasta 40°C y una vez disuelto por completo enfriar a temperatura ambiente). Con un cuentagotas se absorbe el líquido que empapa la celulosa y se le vuelve a añadir, repitiendo el proceso varias veces, hasta repartir uniformemente la mezcla acetilante en la masa fibrosa de celulosa. El erlenmeyer se tapa con parafilm, se introduce en la estufa a 25 o 50°C y se deja en reposo hasta la total conversión de la celulosa en TAC, 7 o 1 días, respectivamente.

A medida que la reacción progresa, el diámetro del disco disminuye hasta unos 4 cm.

El final de la reacción, cuando la celulosa del algodón se ha transformado por completo en TAC, puede determinarse observando la marcada disminución de la fuerte birrefringencia de las fibras de celulosa. Se realiza de la siguiente manera:

Con unas pinzas se arrancan unas pocas fibras del disco, se lavan directamente en un frasquito clip con 1mL de metanol, hasta quedar blancas (libres de yodo) y se secan prensándolas entre papeles de filtro. Las fibras

limpias y secas se observan en el microscopio con luz polarizada a 25°C. Cuando todas las fibras de celulosa han perdido su característica birrefringencia, es indicación de conversión cuantitativa de la celulosa. Entonces se procede a aislar el TAC obtenido.

La siguiente fotografía (**Figura 35**) muestra fibras de celulosa de algodón fuertemente birrefringentes (a la izquierda) y otras prácticamente convertidas en TAC (derecha) que no muestran tan apenas birrefringencia. (Fotografía realizada con polarizadores cruzados a 25 °C y 100X).

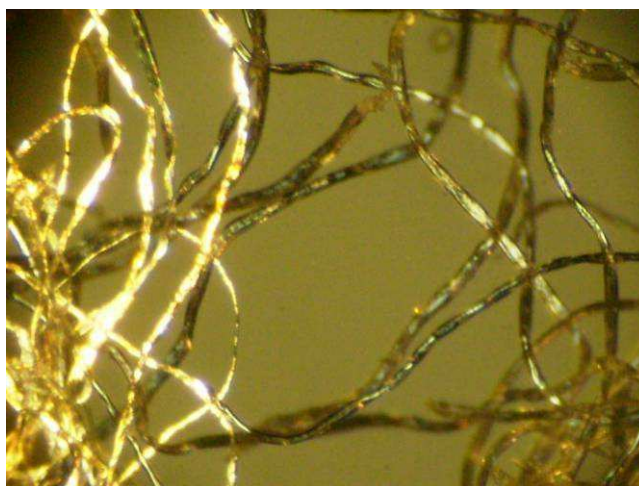


Figura 35: Fibras de algodón. Las de la izquierda presentan birrefringencia y las de las derechas casi convertidas sin birrefringencia.

b) Aislamiento TAC:

La reacción se finaliza añadiendo 25 mL de disolución acuosa saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), que precipita el TAC disuelto en la mezcla de reacción y elimina el yodo convirtiéndolo en yoduro. El TAC se recoge por filtración a vacío, se lava varias veces, sucesivamente, con agua y metanol y se seca en estufa a vacío a 60°C durante 12h. Los lavados con metanol son particularmente efectivos en eliminar la mezcla de reacción ($\text{I}_2 + \text{Ac}_2\text{O} + \text{AcOH}$) retenida en el voluminoso precipitado hidrófobo de TAC. No obstante, parte de esta persiste en el TAC después de los lavados y Ac_2O y AcOH solo son completamente eliminados durante el secado a vacío. Mientras que trazas de yodo persisten en el TAC incluso después del secado a vacío.

El TAC seco obtenido pesa 0.85g (rendimientos entre 95% y 97%) presenta un ligero color marrón claro, debido a contaminación con trazas de yodo.

La siguiente fotografía (**Figura 36**) muestra la reducción del diámetro de un disco de algodón conforme se va acetilando a 50°C con $\text{Ac}_2\text{O}/\text{I}_2$, 4mL/50mg y 0.5 mL de ác. acético. Tiempos de acetilación (de izquierda a derecha), 0h (0.5 g, $\varnothing=6$ cm), 10h, 20h y 30h (0.9 g, $\varnothing=3$ cm). Cuando la conversión de la celulosa en TAC es total, su diámetro se reduce a la mitad, su peso casi se duplica y aparece como un composite de fibras de algodón acetiladas englobadas en TAC no fibroso. Estos resultados

indican que parte de TAC se disuelve en el medio de reacción y parte conserva su estructura fibrosa. Durante el aislamiento el TAC disuelto precipita sobre la masa fibrosa de TAC formando un composite.

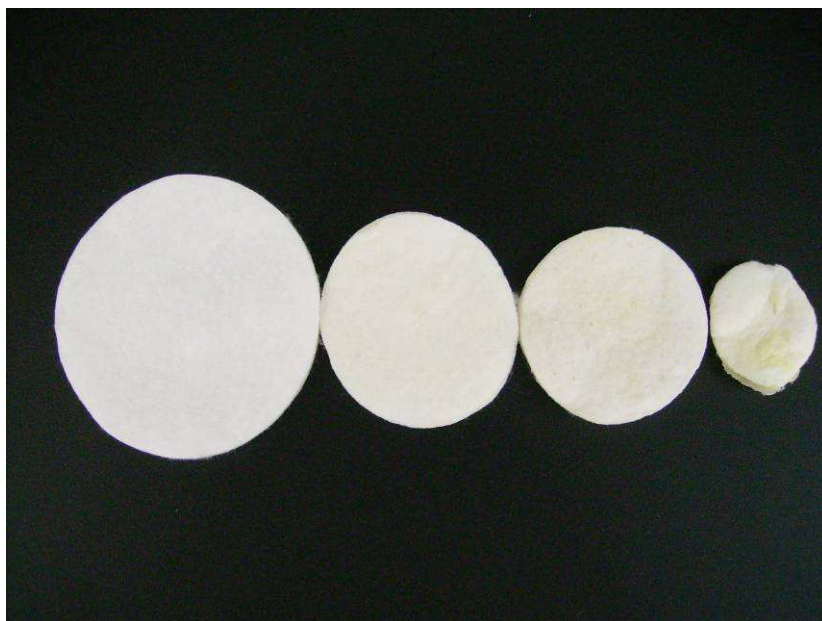


Figura 36: Reducción del diámetro de un disco de algodón después de la acetilación a 50°C con $\text{Ac}_2\text{O}/\text{I}_2$, 4mL/50mg y 0.5 mL de ác. acético. Tiempos de acetilación (de izquierda a derecha), 0h (0.5 g, $\text{Ø}=6$ cm), 10h, 20h y 30h (0.9 g, $\text{Ø}=3$ cm)

La contaminación con yodo del TAC precipitado directamente de la mezcla de reacción es difícil de evitar, ya que se produce cierta segregación de fases entre la fase acuosa y la mezcla de reacción saturada de TAC. La mayor parte del yodo pasa a la fase acuosa como yoduro, pero otra parte queda junto con mezcla de reacción (Ac_2O y AcOH), en el voluminoso precipitado de TAC. Este fenómeno de segregación ocurre también cuando se añade metanol, en lugar de disolución acuosa de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, a la mezcla de reacción. Una manera efectiva de eliminar el yodo consiste en disolver el TAC en un pequeño volumen de Cl_2CH_2 (1g en 25 mL) y precipitarlo en un gran volumen de metanol (250 mL). De esta manera, las trazas de mezcla de reacción ($\text{I}_2 + \text{Ac}_2\text{O} + \text{AcOH}$) quedan en el metanol. El procedimiento experimental se describe a continuación.

Si se quiere eliminar las impurezas de yodo, el TAC se disuelve en 20mL de cloruro de metileno y se precipita en 200 mL de metanol. El TAC precipitado como sólido blanco, se recoge por filtración a vacío, se lava con metanol y se seca en estufa a vacío a 60°C durante 12h (rendimientos entre 83% y 91%). Las membranas del TAC sometido a purificación suelen ser más resistentes y tenaces, probablemente debido a que durante este proceso se eliminan también oligómeros de bajo peso molecular.

3.3.5. Homogéneo y catalizador Yodo para muestras activadas con AcOH acuoso.

En el método con I_2 descrito en el apartado anterior, aplicado a muestras fibrosas, conduce a la obtención de una mezcla de TAC fibroso y no fibroso. Esto es debido, a que solo una parte del TAC se disuelve en la mezcla de reacción. Por consiguiente, incorporando un disolvente en la mezcla acetilante, se puede conseguir disolver el TAC por completo. De hecho lo hemos llevado a cabo en nuestro laboratorio con DCM, cloroformo y AcOH. Siendo este último, el más efectivo y el único que no requiere la activación de la muestra.

En realidad, este es un proceso de acetilación de celulosa con $(I_2 + Ac_2O)$ y AcOH como disolvente. Son suficientes pequeñas cantidades de AcOH, para obtener grandes efectos, pues además de ser disolvente también es un buen activante.

Este procedimiento, tiene **especial interés, para muestras de celulosa poco reactivas.**

La siguiente fotografía (**Figura 37**) muestra un detalle del proceso de acetilación de un disco de algodón activado con AcOH glacial. Después de 12 h a $50^\circ C$, empieza a disolverse por completo en el medio de reacción. [Disco, 0.5g de algodón. Mezcla acetilante, 40 mg I_2 + 3mL Ac_2O . El disco activado peso 4,5g al haber absorbido 4g de AcOH durante su activación].



Figura 37: Acetilación de un disco de algodón activado con AcOH glacial.

Las diferencias con el método sin AcOH, se detallan a continuación.

Las muestras de celulosa activadas con (con AcOH 90%/ AcOH glacial), **reaccionan más rápidamente** con la mezcla de acetilación $(I_2 + Ac_2O)$, que las activadas únicamente con AcOH glacial y estas a su vez son más reactivas que las no activadas. Las diferencias pueden llegar a ser muy significativas (ver tabla siguiente). Además, toda la celulosa acetilada puede llegar a disolverse en la mezcla final de reacción. Por lo que en sus comienzos, el proceso es **heterogéneo pero acaba siendo**

homogéneo. Por consiguiente, este método **no permite preservar la estructura fibrosa** de la muestra de celulosa.

Cuando toda la celulosa se ha disuelto por completo en la mezcla de reacción, esta se disuelve en un pequeño volumen de Cl_2CH_2 y se vierte en un gran volumen de metanol. El TAC precipitado como sólido blanco, se recoge por filtración a vacío, se lava con metanol y se seca en estufa a vacío a 60°C durante 12h (rendimientos entre 85% y 90%).

La fotografía siguiente (**Figura 38**), muestra (de izquierda a derecha) a) un disco de algodón sin activar tratado con la mezcla ($\text{I}_2 + \text{Ac}_2\text{O}$), a $t=0$, b) después de 24h a 50°C y finalmente, c) un disco activado (con AcOH 90%/ AcOH glacial) tratado con ($\text{I}_2 + \text{Ac}_2\text{O}$), después de 24h a 50°C . Después de 24 h de acetilación puede observarse que 1°.- en el disco sin activar se produce una considerable reducción de su diámetro, 2°.- mientras que el disco activado llega a disolverse por completo en la mezcla de reacción. [Discos, 0.5g de algodón. Mezcla acetilante, 40 mg $\text{I}_2 + 3\text{mL}$ Ac_2O . El disco activado peso 3,5g al haber absorbido 3g de AcOH durante su activación].



Figura 38: (De izquierda a derecha) a) un disco de algodón sin activar tratado con la mezcla ($\text{I}_2 + \text{Ac}_2\text{O}$), a $t=0$, b) después de 24h a 50°C y c) un disco activado (con AcOH 90%/ AcOH glacial) tratado con ($\text{I}_2 + \text{Ac}_2\text{O}$), después de 24h a 50°C .

La tabla siguiente (**Tabla 6**) expone los tiempos de conversión cuantitativa en TAC de dos muestras iguales de celulosa (discos de algodón) en función de las cantidades de yodo y mezcla acetilante, a la misma temperatura (50°C).

Tabla 6: Tiempos de conversión cuantitativa en TAC de dos muestras iguales de celulosa (discos de algodón) en función de las cantidades de yodo y mezcla acetilante, a la misma temperatura (50°C).

Muestra (0.5g)	Mezcla acetilante (Ac ₂ O mL)	Catalizador I ₂ (mg)	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)
1*	2.5	25	50	12
2	3	40	50	24

* Muestra activada previamente a la acetilación, con AcOH 90%/ AcOH glacial. Este disco contenía 4g de AcOH absorbidos durante su activación previa. Esta muestra se disolvió casi por completo durante la acetilación.

En los resultados mostrados en esta tabla, puede observarse que la muestra 1, activada previamente a la acetilación con AcOH 90%, requiere la mitad de tiempo de conversión que la no activada (muestra 2), a pesar de disponer de menor cantidad de yodo y mezcla acetilante.

En la fotografía siguiente (*Figura 39*) puede verse en el matraz de la derecha, la **muestra 1** a **t = 12h**, casi completamente disuelta y la **muestra 2** en el de la izquierda a **t = 24h**. Esta última solo presenta reducción de diámetro.



Figura 39: Muestra 1 a **t = 12h** en el matraz de la derecha, casi completamente disuelta y la **muestra 2** en el de la izquierda a **t = 24h**.

3.3.6. Heterogéneo con un no-disolvente (tolueno) y catalizador Yodo, en una única etapa.

Sorprendentemente y de acuerdo con la bibliografía más reciente, el método de acetilación de celulosa con yodo como catalizador solo es efectivo en ausencia de disolvente. Sin embargo, nosotros hemos podido comprobar en el laboratorio, que **este método es muy eficaz en presencia de disolvente, siempre que la muestra de celulosa esté activada.**

No obstante, aunque la muestra precisa activación obligatoriamente, puede ser activada a la vez que se acetila, añadiendo el activante (AcOH glacial) a la mezcla de reacción. Por consiguiente, **este nuevo método con yodo, consigue acetilar la celulosa en una única etapa y preservando su estructura fibrosa.**

(La reacción puede realizarse en dos etapas, activando la muestra previamente a la etapa de acetilación. Para activar la celulosa, se trata con el activante (AcOH 90%/AcOH glacial) antes de la acetilación, tal y como se describe detalladamente en el apartado de pretratamiento de la celulosa purificada; método convencional de activación química).

La principal diferencia de este nuevo método con respecto al anterior sin tolueno, es que imprescindiblemente, **la muestra de celulosa debe activarse.** Pero hay otras muchas diferencias importantes entre las que destacan las siguientes:

1º- Este nuevo método utiliza un disolvente como **tolueno, que no disuelve ni a la celulosa ni al TAC.** Debido a que **este método heterogéneo, preserva por completo la estructura fibrosa de la celulosa,** la muestra una vez convertida en TAC es, a primera vista, indistinguible de la de celulosa de partida. [Excepto, por una ligera coloración marrón, debido a contaminación por trazas de yodo y porque su masa se ha multiplicado por 1.78. (Por supuesto, un estudio un poco menos superficial revela de inmediato, que sus fibras no presentan la fuerte birrefringencia de las de celulosa, que se disuelven fácilmente en Cl_2CH_2 , que son mucho más hidrófobas que las de celulosa y que a diferencia de esta, no se tiñen con rojo congo, etc.).

2º.- Requiere **mayores cantidades de mezcla de acetilación** para alcanzar las mismas conversiones (en tiempos de reacción similares). Esto no es sorprendente, puesto que casi el 50% de la mezcla acetilante es tolueno.

3º.- Puesto que la mezcla de reacción esta diluida al 50% con tolueno, la reacción es considerablemente más suave y por tanto, **puede elevarse la temperatura de reacción por encima de los 50°C,** sin que se produzca un descenso del peso molecular tan drástico como en el método sin tolueno. Sin embargo, **los tiempos de reacción a 70 °C son incluso mayores** que los del método sin tolueno a 50 °C. Además, el TAC obtenido a temperaturas elevadas (70 – 100°C) presenta una mayor coloración marrón, debido a una mayor contaminación por trazas de yodo.

4º.- Puesto que ni la celulosa ni el TAC se disuelven en la mezcla de reacción, esta mezcla puede extraerse fácilmente de la masa de reacción y **reutilizarse para nuevas acetilaciones,** mientras sea rica en Ac_2O . (La mezcla puede

guardarse en nevera a 5°C unos pocos días, menos de una semana, sin que la [Ac₂O] disminuya considerablemente).

Además, el aislamiento del TAC es directo y solo requiere lavados con pequeños volúmenes de metanol y secado.

El proceso optimizado en el laboratorio es el siguiente (una sola etapa):

Después de numerosas experiencias en el laboratorio, a continuación, se describe el proceso con varias de las experiencias más representativas (ver tabla) para muestras de celulosa en forma de discos de algodón puro 100% tal y como se reciben.

a) Reacción de acetilación (método con tolueno):

En el fondo de un erlenmeyer de 100 mL (Ø=6 cm), se ajusta perfectamente plano y extendido un disco de algodón (0.5 g, Ø=6 cm) y se impregna uniformemente (con cuentagotas o jeringuilla) con 5-10 mL de mezcla acetilante a 25°C. Con un cuentagotas se absorbe el líquido que empapa la celulosa y se le vuelve a añadir, repitiendo el proceso varias veces, hasta repartir uniformemente la mezcla acetilante en la masa fibrosa de celulosa. El erlenmeyer se tapa con parafilm, se introduce en la estufa a 50 o 70°C y se deja en reposo hasta la total conversión de la celulosa en TAC, de 20 a 96h (ver tabla).

La mezcla acetilante se prepara de la siguiente manera: En un matraz erlenmeyer de 50 mL conteniendo 20 mL de tolueno y 20 mL de Ac₂O se disuelven 125 – 250 mg de yodo, con agitación y a 25°C. Cuando este se disuelve por completo, se le añade a la disolución resultante 5 mL de AcOH glacial o 5 mL de AcOH al 80% y se sigue agitando hasta que se mezcla homogéneamente (1-2 minutos).

El final de la reacción, cuando la celulosa del algodón se ha transformado por completo en TAC, puede determinarse observando la marcada disminución de la fuerte birrefringencia de las fibras de celulosa. Se realiza de la misma manera que en el método sin tolueno:

b) Aislamiento TAC (método con tolueno):

La reacción se finaliza extrayendo (con jeringuilla o cuentagotas) la mezcla de reacción de la masa fibrosa de celulosa. Una vez extraída la mayor cantidad posible, la celulosa se deposita directamente sobre un buchner (sin papel de filtro) donde se empapa con una pequeña porción de metanol (5 mL) y después se prensa para eliminar el líquido de lavado (o sencillamente se extrae con una pipeta cuentagotas). Esta operación de lavado y prensado, se repiten varias veces hasta eliminar de la celulosa toda la mezcla acetilante. Finalmente, se seca en estufa a vacío a 60°C durante 12h. Rendimientos >95%.

La siguiente fotografía (**Figura 40**) muestra a) dos pequeños rollos (1x6 cm) de algodón (derecha) y TAC (izquierda, método tolueno/I₂, una etapa) que han sido empleados para filtrar una disolución acuosa de colorantes (azoico = naranja metilo y

no azoicos = verde brillante y violeta cristal). El de algodón permite separar en pocos segundos una disolución acuosa de naranja de metilo puro, de los otros dos colorantes que quedan más retenidos por la celulosa. Por el contrario, el de TAC (más apolar) puede tardar varios minutos en dejar pasar el agua, sin producir tan apenas separación.

La foto b) muestra el diferente efecto causado por una gota de diclorometano sobre dos discos de algodón indistinguibles a simple vista. El de arriba se disuelve, pues ha sido acetilado (tolueno/I₂, una etapa). Por el contrario, el de debajo no resulta afectado al no haber sido acetilado.



Figura 40: a) Dos pequeños rollos (1x6 cm) de algodón (derecha) y TAC (izquierda, método tolueno/I₂, una etapa) empleados para filtrar una disolución acuosa de colorantes. b) efecto causado por una gota de diclorometano sobre dos discos de algodón. El de arriba se disuelve (acetilado) (tolueno/I₂, una etapa). El de debajo no resulta afectado al no haber sido acetilado.

La tabla siguiente (**Tabla 7**), expone los tiempos necesarios para convertir cuantitativamente en TAC, cuatro muestras iguales de celulosa (1 a 4), en función de la cantidad de mezcla acetilante, de yodo y de la temperatura de reacción (método con tolueno). Como comparación, la 5 muestra es del método sin tolueno y su mezcla contiene únicamente Ac₂O (sin activante). La composición de la mezcla acetilante de las cuatro primeras muestras es la siguiente: Tolueno 45%, Ac₂O 45% y AcOH glacial 10%.

Tabla 7: *Tiempos necesarios para convertir cuantitativamente en TAC, cuatro muestras iguales de celulosa (1 a 4), en función de la cantidad de mezcla acetilante, de yodo y de la temperatura de reacción (método con tolueno).*

Muestra (0.5g)	Mezcla acetilante (mL)	Catalizador I ₂ (mg)	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)
1	10	100	50	48
2	5	50	50	96
3	10	100	70	20
4	10	50	70	48
5*	2.5*	50	50	24

* Sin tolueno, ni activante, solo 2.5 mL de Ac₂O.

En los resultados mostrados en esta tabla, puede observarse que los mayores tiempos de conversión corresponden a las menores temperaturas y cantidades de yodo y mezcla (muestra 2) y los menores tiempos a las mayores temperaturas y cantidades de yodo y mezcla (muestra 3). No obstante, comparando con la muestra 5, queda claro que el método sin tolueno requiere temperaturas y cantidades de yodo y mezcla mucho menores que el de tolueno.

En particular, muestra 2 (con tolueno) requiere cuatro veces el tiempo de conversión de la 5 y solo se diferencian en 2.5 mL de tolueno presentes en la 2.

3.3.7. Heterogéneo con un no-disolvente (tolueno) y catalizador HClO₄, en una única etapa.

Este método es totalmente análogo al anterior, únicamente se sustituye el catalizador yodo por ácido sulfúrico o perclórico. Por tanto, es un **método de triacetilación cuantitativa de celulosa en una única etapa, que preserva la estructura fibrosa de la muestra**. Requiere obligatoriamente la activación de la muestra, pero puede hacerse al mismo tiempo que la acetilación, por lo que el proceso consta de una sola etapa. **El aislamiento del producto es directo**, simplemente eliminando la mezcla de reacción de la masa fibrosa de TAC.

Sin embargo, el empleo de un catalizador ácido fuerte implica **diferencias significativas**, debidas a:

- 1.- la particular inestabilidad en medio ácido, del enlace glicosídico entre unidades de AGU.
- 2.- la extraordinaria efectividad del catalizador ácido fuerte (HClO₄) comparada con la del yodo.

Estas diferencias (las más importantes) son las siguientes:

1°.- Se requieren cantidades de catalizador 5 veces inferiores al método con yodo. De hecho, tan solo unos 2 - 4 mg de HClO_4 (60%) por gramo de celulosa. Cantidades ligeramente superiores producen degradaciones significativas del peso molecular de la celulosa.

2°.- Las temperaturas de reacción son considerablemente menores que con yodo, siendo la máxima de 30°C. Temperaturas mayores producen degradaciones significativas del peso molecular de la celulosa.

3°.- Aunque los tiempos de reacción siguen siendo largos, son muy inferiores a los del método con yodo.

En definitiva, el HClO_4 resulta muy efectivo catalizando la acetilación de la celulosa pero también degradándola. Por consiguiente, se utiliza en proporciones ínfimas y temperaturas de reacción muy moderadas.

Además, el TAC obtenido por este método **no presenta coloración alguna.**

El proceso optimizado en el laboratorio es el siguiente (una sola etapa):

Después de numerosas consultas bibliográficas [21–29] y experiencias en el laboratorio, a continuación, se describe el proceso con varias de las experiencias más representativas (ver tabla siguiente) para muestras de celulosa en forma de discos de algodón puro 100% tal y como se reciben.

a) Reacción de acetilación (método con tolueno y HClO_4):

En el fondo de un erlenmeyer de 100 mL ($\varnothing=6$ cm), se ajusta perfectamente plano y extendido un disco de algodón (0.5 g, $\varnothing=6$ cm) y se impregna uniformemente (con cuentagotas o jeringuilla) con 5-10 mL de mezcla acetilante a 25°C. Con un cuentagotas se absorbe el líquido que empapa la celulosa y se le vuelve a añadir, repitiendo el proceso varias veces, hasta repartir uniformemente la mezcla acetilante en la masa fibrosa de celulosa. El Erlenmeyer se tapa con parafilm, se introduce en la estufa a 30°C y se deja en reposo hasta la total conversión de la celulosa en TAC, 12 - 24h.

La mezcla acetilante se prepara de la siguiente manera: A un matraz Erlenmeyer de 50 mL, conteniendo 20 mL de tolueno y 20 mL de Ac_2O (a 25°C y con agitación) se añaden 5 mL de AcOH al 80% y se mezcla uniformemente. Entonces se añade una gota (≈ 20 mg) de ácido perclórico HClO_4 del 60% y se agita hasta que se mezcla homogéneamente (≈ 1 minuto).

El final de la reacción, cuando la celulosa se ha transformado por completo en TAC, puede determinarse observando la marcada disminución de la fuerte

birrefringencia de las fibras de celulosa. Se realiza de la misma manera que en el los métodos anteriores, por ejemplo, el de tolueno y yodo.

b) Aislamiento TAC (método con tolueno y HClO_4):

La reacción se finaliza extrayendo (con jeringuilla o cuentagotas) la mezcla de reacción de la masa fibrosa de celulosa. Una vez extraída la mayor cantidad posible, la celulosa se deposita directamente sobre un Buchner (sin papel de filtro) donde se empapa con una pequeña porción de metanol (5 mL) y después se prensa para eliminar el líquido de lavado. Esta operación de lavado y prensado, se repiten varias veces hasta eliminar de la celulosa toda la mezcla acetilante. Finalmente, se seca en estufa a vacío a 60°C durante 12h. Rendimientos $>94\%$.

La siguiente fotografía (**Figura 41**) muestra a la derecha un disco de algodón recién tratado con 10 mL mezcla acetilante [Tolueno 45%/Ac₂O 45%/AcOH 8%/agua 2%]. A la izquierda, otro disco tratado igual, pero sin el 2% de agua. Los dos contienen 3 mg de HClO_4 del 60%. El de la derecha tarda mucho más tiempo en desarrollar coloración al quedar el HClO_4 diluido por el agua. Sin embargo, reacciona más deprisa y degrada menos la celulosa.



Figura 41: A la derecha disco de algodón recién tratado con 10 mL de mezcla acetilante [Tolueno 45%/Ac₂O 45%/AcOH 8%/agua 2%]. A la izquierda, otro disco tratado igual, pero sin el 2% de agua.

La tabla siguiente, expone los tiempos necesarios para convertir cuantitativamente en TAC, cuatro muestras iguales de celulosa (1 a 4), en función de la cantidad de mezcla acetilante, catalizador y de la temperatura de reacción. Muestra 1, método tolueno y HClO_4 , dos etapas. Muestras 2 y 3 método tolueno y HClO_4 , una sola etapa. Muestra 4 método tolueno y yodo, una sola etapa.

Tabla 8: tiempos necesarios para convertir cuantitativamente en TAC, cuatro muestras iguales de celulosa (1 a 4), en función de la cantidad de mezcla acetilante, catalizador y de la temperatura de reacción.

Muestra (0.5g)	Mezcla acetilante (mL)	Catalizador HClO_4 , 60% (mg)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tiempo (horas)
1*	5	≈ 2.5	30	12
2	5	≈ 2.5	30	24
3	10	≈ 5	30	12
4**	10	100 (I_2)	50	48

* En dos etapas. Muestra previamente activada con AcOH 90%.

** Método tolueno y yodo, una sola etapa.

En los resultados mostrados en esta tabla, puede observarse que el menor tiempo de conversión corresponde a la muestra 1, tratada por el método tolueno y HClO_4 en dos etapas (celulosa previamente activada). En condiciones equivalentes, el método en una sola etapa requiere el doble de tiempo (muestra 2). Para obtener el mismo tiempo de conversión el método en una sola etapa, requiere doblar la cantidad de catalizador y mezcla (muestra 3). Finalmente, el método tolueno y HClO_4 requiere tiempos, temperaturas y cantidades de catalizador muy inferiores al método tolueno y yodo (muestra 4).

La siguiente serie de microfotografías (**Figura 42**) muestran (de izquierda a derecha y de arriba abajo) el seguimiento, rutinario durante este proyecto, de la acetilación de fibras de algodón a 30°C. [mezcla acetilante, tolueno 45%, Ac₂O 45%, AcOH glacial 9.5% y I₂ 0.5%]. Conforme se van acetilando las fibras pierden birrefringencia y aparecen transparentes, pudiéndose observar estructuras helicoidales que son un reflejo de la organización helicoidal de las microfibrilas [100-300X, polarizadores cruzados]

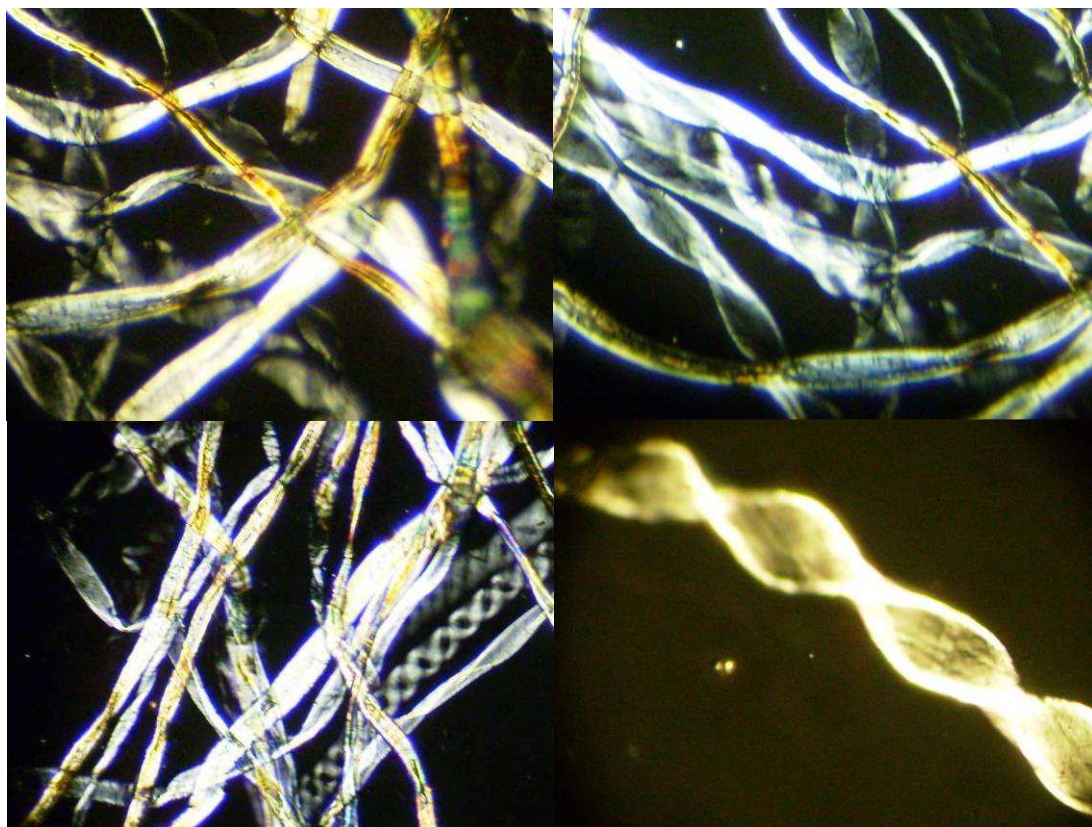


Figura 42: (De izquierda a derecha y de arriba abajo). Seguimiento rutinario durante este proyecto, de la acetilación de fibras de algodón a 30°C. [mezcla acetilante, tolueno 45%, Ac₂O 45%, AcOH glacial 9.5% y I₂ 0.5%].

3.4. Preparación, plastificación y caracterización de membranas de TAC.

Aparentemente, todos los TACs preparados se disuelven lentamente (15-30 min) a temperatura ambiente en **diclorometano** y también en **cloroformo** (1/25, peso TAC/volumen disolvente) para dar una disolución viscosa, incolora y completamente transparente, sin trazas de residuo insoluble. Únicamente producen disoluciones muy débilmente coloreadas de marrón, los TACs obtenidos por acetilación en fase sólida con yodo (lo que indica que contienen pequeñas cantidades del catalizador yodo).

Los TACs sintetizados, también se disuelven a temperatura ambiente en **dimetilacetamida**, pero en este caso sino se eleva la temperatura, su completa disolución es muy lenta.

En **1,4-dioxano** no se disuelven a temperatura ambiente, pero lo hacen rápidamente si la disolución se calienta. Sin embargo, al enfriarse la disolución parece gelificar perdiendo gran parte, sino toda, su fluidez, aunque permanece casi completamente transparente.

Al observar este proceso de disolución en el microscopio óptico, pudimos observar que incluso después de varios días a temperatura ambiente, 1,4-dioxano únicamente hinchaba las fibras de TAC sin llegar a disolverlas.

En ácido trifluoroacético (TFA) se disuelven a temperaturas de 0 a 20°C, incluso en proporciones > 30% (por ejemplo, 1 gramo de TAC en 3mL TFA). Sin embargo, la degradación de la muestra es rápida incluso a 5°C (en el frigorífico).

El TAC se recupera de estas disoluciones mediante precipitación en metanol sin que se observe ninguna degradación (excepto en el caso del TFA). Las disoluciones en dimetilacetamida y TFA pueden precipitarse también con agua.

Las disoluciones de DCM y de cloroformo presentan una gran tendencia a formar películas delgadas por evaporación del disolvente. Si se deja evaporar el disolvente, se obtienen películas muy robustas y completamente transparentes. Mientras que las disoluciones de 1,4-dioxano, producen películas un poco opacas, no completamente transparentes y de poca resistencia mecánica. Observadas al microscopio, las películas de dioxano aparecen muy porosas, mientras que las de DCM y de cloroformo aparecen totalmente uniformes, homogéneas y sin ningún poro.

Las disoluciones de dimetilacetamida y TFA forman películas transparentes en contacto con agua, pero son menos robustas que las de DCM y TFA. Únicamente las películas cristal líquido en TFA (TAC en TFA al 30%) resultaron fibrosas y robustas.

El método general de preparación de membranas de los TACs sintetizados fue el siguiente.

Un gramo de TAC se disuelve con agitación en 25 mL de DCM a 45°, hasta obtener una disolución viscosa, incolora, completamente transparente y sin trazas de residuo insoluble. Si se desea, en este momento se puede añadir el plastificante lentamente, gota a gota. De esta manera se pueden añadir varias veces el peso de TAC de

plastificante sin que la disolución pierda su transparencia. Entonces se para la agitación y se deja reposar a 25°C hasta que la disolución viscosa queda totalmente libre de burbujas de aire.

Aproximadamente, 1/3 de esta disolución (o la cantidad equivalente si se ha añadido plastificante) se vierte en una placa petri de vidrio de 12 cm de diámetro, hasta formar una película transparente y perfectamente uniforme y homogénea. La placa petri se cubre por fuera con un papel de filtro, para evitar las impurezas y las corrientes de aire que podrían alterar su superficie. En estas condiciones se deja evaporar el DCM en vitrina cerrada hasta que se obtiene una película sólida. Entonces la placa petri se sumerge en agua y la película queda libre fácilmente. Se sacude las gotas de agua de la película y se seca a vacío y 50°C durante 12h.

Por este procedimiento se obtienen películas sin plastificar (0.01 a 0.05 mm de espesor) que resultan extraordinariamente robustas y por ejemplo, soportan ser plegadas repetidamente en forma de cono de papel de filtro rápido, sin dar ninguna muestra de desgaste o rotura.

También se obtienen películas plastificadas (0.01 a 0.05 mm de espesor) que aun con elevados (> 200%) contenidos de plastificante (ftalato de dibutilo y/o citrato de trietilo) que aunque, mucho más flexibles que las no plastificadas, permanecen transparentes y robustas, sin que se aprecien signos de segregación del plastificante varios meses después de su preparación.

La siguiente fotografía (**Figura 43**) muestra algunas membranas de TAC obtenidas en este proyecto, con diferentes proporciones de plastificante (de 0 a 200%). Están plegadas y coloreadas de forma característica, para facilitar su identificación. (0.03-0.06 mm de espesor y 12cm de diámetro).



Figura 43: Membranas de TAC obtenidas en este proyecto, con diferentes proporciones de plastificante (de 0 a 200%) y colorantes.

Los TACs obtenidos formaron disoluciones transparentes y débilmente birrefringentes (entre polarizadores cruzados) al disolverse en proporciones elevadas (aproximadamente 30%) en varios disolventes como TFA, dimetilacetamida y ácido nítrico 70%. [43-46]

De estas disoluciones, únicamente las de TFA muestran la marcada tendencia a fibrilar característica de los polímeros cristal líquido. Por este motivo fueron las únicas que se estudiaron con cierto detalle.

La siguiente figura (**Figura 44**) muestra una delgada película (0.05 mm) de TAC en TFA que presenta la marcada tendencia a fibrilar, característica de los polímeros cristal líquido.



Figura 44: Película (0.05 mm) de TAC en TFA que presenta tendencia a fibrilar, característica de los polímeros cristal líquido.

Esta película se preparó de la siguiente manera: 1g de TAC se disuelve en 3 mL de TFA y una gota de agua, la temperatura se mantiene sobre los 5°C para evitar la degradación extensiva de la muestra. La disolución obtenida se deposita formando una delgada película sobre una placa petri y después, esta placa se sumerge en agua destilada hasta que la película solidifica. Una vez despegada del vidrio, la película fibrosa aparece robusta y casi transparente. Observada al microscopio óptico con luz polarizada, aparece débilmente birrefringente en la práctica totalidad de su superficie y únicamente en zonas muy localizadas pueden encontrarse texturas características de la mesofase nemática quiral. [43-46]

Una gota de la disolución cristal líquido de 1g de TAC en 3 mL de TFA y una gota de agua, se colocó entre dos cubre objetos de vidrio y se observó a temperatura ambiente en el microscopio óptico con luz polarizada.

La muestra (**Figura 45**) aparece poco birrefringente, y presenta grandes zonas totalmente isotropas. La débil birrefringencia se recobra al mover ligeramente el

cube, lo que indica que las zonas isótropas son debidas a la elevada tendencia de las moléculas a alinearse perpendicularmente al plano del cubre objetos.

Resultado muy difícil encontrar texturas características de alguna mesofase. Únicamente en zonas muy aisladas y pequeñas, pudo encontrarse las texturas características de una disolución cristal liquido (mesofase nemática quiral o colestérica), [43-46] que muestra la fotografía siguiente: disolución cristal liquido de un gramo de un TAC (sintetizado en este proyecto), en 3 mL de TAC, 300X, polarizadores cruzados, 25°C.

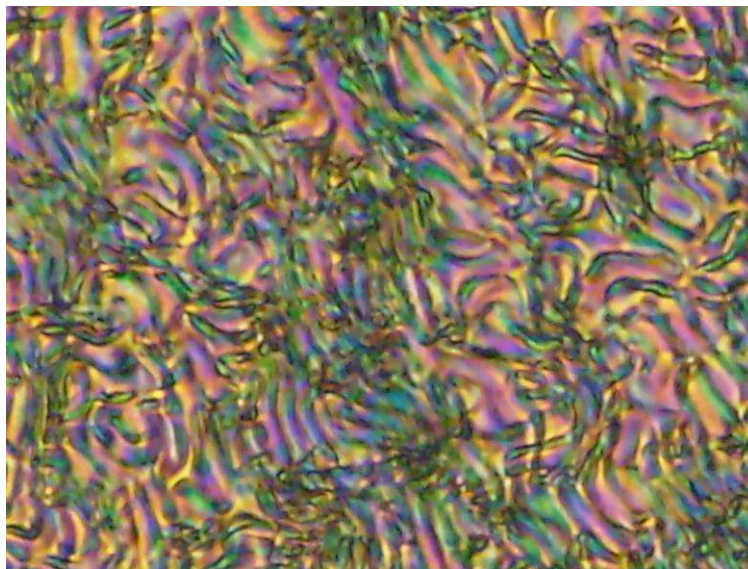


Figura 45: Disolución cristal liquido de 1g de TAC en 3 mL de TFA y una gota de agua, colocada en el microscopio óptico con luz polarizada entre dos cubre objetos de vidrio a temperatura ambiente.

3.5. Bibliografía Capítulo 3.

[1] K. L. KATO AND R. E. CAMERON. A review of the relationship between thermally-accelerated ageing of paper and hornification. *Cellulose* **1999**, 6, 23-40.

[2] Sunky Park. Changes in pore size distribution during the drying of cellulose fibers. *Carbohydrate polymers* **2006**, 66, 97-103.

[3] Haibo Zao. Studying cellulose fiber structure by SEM and acid hydrolysis. *Carbohydrate polymers* **2007**, 68, 235-241.

[4] Maloney, T. C., & Paulapuro, H. The formation of pores in the cell wall. *Journal of Pulp and Paper Science*, **1999**, 25(12), 430–436.

[5] Mihranyan, A., Piñas Llagostera, A., Karmhag, R., Strømme, M., & Ek, R. Moisture sorption by cellulose powders of varying crystallinity. *International Journal of Pharmaceutics*, **2004**, 269(2), 433–442.

[6] Krassig, H. A. Cellulose - Structure, Accessibility and Reactivity. Polymer Monographs 11, ed. Huglin M.B., Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, **1993**.

[7] Cotton Fiber Chemistry and Technology (International Fiber Science and Technology). CRC Press; 1 edition (**2006**).

[8] Natural fibers synthetic fibers, Cotton. Swicofil AG Textile Services, (**mayo 2010**)

<http://www.swicofil.com/products/001cotton.html>

[9] International Forum for Cotton Promotion (IFCP), Cotton Promotion Bulletin, 16, (**mayo 2010**)

http://cottonpromotion.org/image/features/bremen/cotton_fibre_650x488/

[10] Naylor, G., Fineness & Maturity Testing: a renaissance in cotton testing. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO), Textile and Fiber Technology, (**mayo 2010**).

<http://www.tft.csiro.au/>

[11] Jennifer L. Braun, John F. Kadla. Diffusion and Saponification Inside Porous Cellulose Triacetate Fibers. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 152-160.

[12] Tiffany Abitbol and Derek Gray. CdSe/ZnS QDs Embedded in Cellulose Triacetate Films with Hydrophilic Surfaces. *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 4270-4276.

[13] M.K. Inglesby¹, S.H. Zeronian. Direct dyes as molecular sensors to characterize cellulose substrates. *Cellulose* **2002**, *9*, 19–29.

[14] Hiroyuki Kono, Yukari Numata, Tomoki Erata, Mituo Takai. ¹³C and ¹H Resonance Assignment of Mercerized Cellulose II by Two-Dimensional MAS NMR Spectroscopies. *Macromolecules* **2004**, *37*, 5310-5316.

[15] D. V. Novikov, A. V. Varlamov, and S. S. Mnatsakanov. Cluster Structure of the Surface of Plasticized Cellulose Triacetate Films. *RUSSIAN JOURNAL OF APPLIED CHEMISTRY* **2005**, *78(2)*, 301-304.

[16] Masayuki Yamaguchi, Takuya Iwasaki, Kyoko Okada, Kenzo Okamoto. Control of optical anisotropy of cellulose esters and their blends with plasticizer. *Acta Materialia* **2009**, *57*, 823–829.

[17] C. J. MALM, K. T. BARKEY, D. C. MAY, E. B. LEFFERTS. Treatment of Cellulose Prior to Acetylation. *Industrial and Engineering Chemistry* **1952**, *44(12)*, 2905-2909.

[18] CC. J. MALM, K. T. BARKEY, J. T. SCHMITT, D. C. MAY. Evaluating Cellulose Acetylation Reactivity. *Industrial and Engineering Chemistry* **1957**, *49(4)*, 763-767.

- [19] STEPHEN E. DOYLE. RICHARD A. PETHRICK. Structure of Fibrous Cellulose Acetate: X-ray Diffraction, Positron Annihilation and Electron Microscopy Investigations. *Journal of Applied Polymer Science*, **1987**, 33, 95-106.
- [20] Charles M. Buchanan, John A. Hyatt, Stephen S. Kelley, James L. Little. α -D-Cellooligosaccharide Acetates: Physical and Spectroscopic Characterization and Evaluation as Models for Cellulose Triacetate. *Macromolecules* **1990**, 23, 3747-3755.
- [21] D. Braun. *Polymer Synthesis: Theory and Practice*. Springer **2005**, p. 243-244.
- [22] J. Reina Hernández y J. García Areas. Planta piloto para la producción de polímeros celulósicos. *Ingeniería Química* **1999**, octubre, 454-460.
- [23] CARL J. MALM, LEO J. TANGHE, AND BARBARA C. LAIRD. Preparation of Cellulose Acetate ACTION OF SULFURIC ACID. *Industrial and Engineering Chemistry* **1946**, 38(1), 77-82.
- [24] C. J. MALM, L. J. TANGHE, and J. T. SCHMITT. Catalysts for Acetylation of Cellulose. *Industrial and Engineering Chemistry* **1961**, 53(5), 363-367.
- [25] A. J. Rosenthal. The role of acid catalysts in the manufacture of cellulose acetate. *Pure and Applied Chemistry* **1967**, 14(3), 535-546.
- [26] E. L. Akim. On the mechanism of cellulose acetylation. *Pure and Applied Chemistry* **1967**, 14(3), 475-480.
- [27] J. Geurden. Heterogeneous process for acetylation of celluloses. *Pure and Applied Chemistry* **1967**, 14(3), 507-522.
- [28] H. Genevray and J. Robin. Preparation of cellulose from wood pulp by continuous acetylation. *Pure and Applied Chemistry* **1967**, 14(3), 489-506.

- [29] A. Delsemme. Decomposition of sulphuric esters of cellulose formed during acetylation of cellulose. *Pure and Applied Chemistry* **1967**, *14*(3), 481-488.
- [30] Tim Liebert, Thomas Heinze. Solvents and reaction media for the modification of cellulose. *Bioresources*, **2008**, *3*(2), 576-601.
- [31] Yan Cao, JinWu, Jun Zhang, Huiquan Li, Yi Zhang, Jiasong He. Room temperature ionic liquids (RTILs): A new and versatile platform for cellulose processing and derivatization. *Chemical Engineering Journal*. **2009**, *147*, 13–21.
- [32] Granstrom, M., Kavakka, J., King, A., Majoinen, J., Makela, V., Helaja, J., Hietala, S., Virtanen, T., Maunu, S.L., Argyropoulos, D.S., Kilpelainen, I. Tosylation and acylation of cellulose in 1-allyl-3-methylimidazolium chloride. *Cellulose* **2008**, *15*, 481–488.
- [33] Susann Barthel and Thomas Heinze. Acylation and carbanilation of cellulose in ionic liquids. *Green Chem.*, **2006**, *8*, 301–306.
- [34] Ren, J.L.; Sun, R.C.; Liu, C.F.; Cao, Z.N.; Luo, W. Acetylation of wheat straw hemicelluloses in ionic liquid using iodine as a catalyst. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *70*, 406-414.
- [35] Phukan, P. Iodine as an extremely powerful catalyst for the acetylation of alcohols under solvent free conditions. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4785-4787.
- [36] Balaram Mukhopadhyay, K. P. Ravindranathan Kartha, David A. Russell, and Robert A. Field. Streamlined Synthesis of Per-*O*-acetylated Sugars, Glycosyl Iodides, or Thioglycosides from Unprotected Reducing Sugars. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7758-7760.
- [37] Ahmed, N.; van Lier, J.E. Molecular iodine in isopropenyl acetate (IPA): a highly efficient catalyst for the acetylation of alcohols, amines and phenols under solvent free conditions. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 5345-5349.

- [38] Abdelmajid Memmi, Robert Granet, Yves Champavier, Pierre Krausz. A highly efficient, solvent-free and energy-effective method of cellulose acetylation. *e-Polymers* **2005**, n° 083.
- [39] Biswas, A.; Shogren, R.L.; Willett, J.L. Solvent-free process to esterify polysaccharides. *Biomacromolecules* **2005**, 6, 1843-1845.
- [40] Biswas, A.; Selling, G.; Appell, M.; Woods, K.K.; Willett, J.L.; Buchanan, C.M. Iodine catalyzed esterification of cellulose using reduced levels of solvent. *Carbohydr. Polym.* **2007**, 68, 555-560.
- [41] M. Peres de Paula, T. M. Lacerda, E. Frollini. Sisal cellulose acetates obtained from heterogeneous reactions. *EXPRESS Polymer Letters* **2008**, 2, 423-428.
- [42] Jing Li, Li-Ping Zhang, Feng Peng, Jing Bian, Tong-Qi Yuan, Feng Xu and Run-Cang Sun. Microwave-Assisted Solvent-Free Acetylation of Cellulose with Acetic Anhydride in the Presence of Iodine as a Catalyst. *Molecules* **2009**, 14, 3551-3566
- [43] Ritcey, A. M., Holme, K. R. and Gray, D. G. Cholesteric properties of cellulose acetate and triacetate in trifluoroacetic acid. *Macromolecules* **1988**, 21, 2914-2917.
- [44] Bheda, J., Fellers, J. F. and White, J. L. Wet spinning of liquid crystalline solutions of cellulose acetate butyrate and cellulose triacetate. *J. Appl. Polym. Sci.* **1981**, 26, 3955-3961.
- [45] A.B. Shipovskaya. The liquid crystalline state of cellulose acetates. *Fiber Chemistry* **2006**, 38(1), 17-21.
- [46] SHU SHIMAMOTO, DEREK G. GRAY. Chiral nematic cellulose acetate films; reflectivity and effect of deacetylation. *CELLULOSE* **1999**, 6, 15-22.