

Capítulo 4

Producción y caracterización de nanocelulosa obtenida a partir de madera de bolaina proveniente de una plantación de Ucayali, Perú

*Sergio André Arango Pérez^{1, 2}
Aldo Joao Cárdenas Oscanoa²
Héctor Enrique Gonzáles Mora²
Silvia Patricia Ponce Álvarez²*

<https://doi.org/10.61728/AE20246051>

¹ Laboratorio de Productos Forestales de Transformación Química de la facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) del Perú.

² Laboratorio de Docimasia de la facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de Lima (Perú).

Resumen

La necesidad por parte del sector forestal de crear productos con valor agregado, ha motivado la búsqueda de alternativas que cumplan con este propósito. En efecto, la nanocelulosa es un material biodegradable con gran acogida en el mercado, por ser un material ligero con excelentes propiedades mecánicas, térmicas y químicas. Generalmente es usada como material de refuerzo en industrias con gran demanda dedicadas a la creación de tableros compuestos, papeles, envolturas de alimentos, cosméticos, entre otros; debido a los beneficios que provee con respecto al aumento de propiedades físicas y mecánicas. Además, es usada como material adsorbente. El objetivo del presente estudio fue obtener y caracterizar nanocelulosa fibrilar (NCF) de la madera de bolaina blanca (*Guazuma crinita Mart*) a diferentes alturas del eje longitudinal del fuste de árboles de una plantación de tres años y medio; proveniente de la región Ucayali. La NCF fue obtenida mediante un tratamiento mecánico de trituración usando un molino planetario de bolas. Se caracterizó el producto mediante las técnicas analíticas: SEM, XRD, TGA, FTIR, UV-Vis, además, se halló el grado de polimerización. Se evaluó el efecto de la posición longitudinal en las características de la NCF mediante la comparación de medias, evaluadas mediante las pruebas estadísticas de ANOVA y Kruskal – Wallis. El rendimiento de la producción de NCF a partir de la sección apical, media y basal fue de 32,1; 33,6 y 31 por ciento, respectivamente. Los resultados revelaron que la NCF obtenida obtuvo un diámetro significativamente mayor para la zona apical (84 nm) en comparación a la zona media (75 nm) y basal (69 nm), las cuales no mostraron significancia entre sí; la longitud se mantuvo por encima de la micra; con respecto al grado de polimerización, se encontraron valores entre los 200 y 300 monómeros de glucosa que componen la red celulósica, donde la zona basal presenta valores significativamente mayores a la zona media y apical, respectivamente. El producto mostró un polimorfismo típico de celulosa tipo I y con índices de cristalinidad con valores de 76, 93 y 96 por ciento para las sección apical, media y

basal, respectivamente. El tamaño de cristales encontrados en la NCF obtuvo valores para sección apical, media y basal de 3; 3,6 y 3,4 nanómetros, respectivamente. Con respecto a la termoestabilidad de la NCF obtenida, esta mostró una tasa de degradación máxima para temperaturas entre los 335 °C y 341 °C, siendo la NCF proveniente de la zona basal la más estable. Se evaluó el poder de adsorción que tiene la NCF sobre tinte de azul de metileno, donde se encontró que tiene una eficiencia por encima del 60 por ciento, el producto de la zona apical fue la que mostró valores significativamente mejores en comparación a las demás zonas.

Introducción

El desarrollo de las sociedades en la actualidad se dirige con la consigna de un mejor uso de los recursos naturales aplicando alta eficiencia y exigiendo calidad en los productos obtenidos con criterios de sostenibilidad e impacto reducido con noción de economía circular. Lo antes mencionado se aplica en el aprovechamiento de los recursos forestales a nivel mundial, permitiendo que se logren excelentes resultados durante la obtención de productos provenientes de la transformación de la madera, en particular de procesos químicos. Un sector forestal que siempre destacada es la industria celulósica en donde desde hace muchos años se investiga y se viene innovando sus productos y la tecnología de sus procesos aplicados, obteniéndose principalmente una celulosa de calidad con excelentes aptitudes para la industria papelera, a partir de recursos renovables y aplicando técnicas para un óptimo manejo de sus residuos y efluentes con un mínimo impacto ambiental, además de recuperar reactivos, generar energía beneficiando a la sociedad.

Debido a los cambios y modalidades de consumo de los productos celulósicos, acentuada en los últimos años en la sociedad, la industria celulósica ha está permanentemente innovando sus productos con el fin de aumentar la variedad de los mismos y la versatilidad en sus usos. El producto principal, la celulosa ha ido variando en su forma de presentación y uso como fibras enteras, tamaño de 1 a 4 mm, para la industria papelera y de paneles, pasando luego a la microcelulosa (*cellulose powder*) de aplicación en la industria farmacéutica en el siglo pasado, hasta la nanocelulosa, fibrilar y cristalina, desarrollada en los últimos años. Las investigaciones recien-

tes demuestran la aplicación de la nanocelulosa en diferentes formas de uso: como refuerzo en la industria papelera, como aditivo en la industria química farmacéutica e incluso con posibilidades de uso en la industria alimentaria.

La aplicación de la nanotecnología en el sector forestal se ha venido efectuando con mayor frecuencia desde el año 2000, facilitando no solo la generación de conocimiento para el desarrollo de nuevos productos innovadores de origen forestal, sino también ha permitido incorporar nuevas materias primas y con una mayor eficiencia y mejor aprovechamiento de las materias primas forestales. Dentro de estas materias destaca la madera que se caracteriza por la alta concentración de fibras lignocelulósicas, comparada con otras materias primas vegetales, caracterizándose además por la presencia en su composición de celulosa con una fracción cristalina alta, mayor al 60 %, lo que favorece la producción de nanocelulosa de grado fibrilar o grado cristalina.

En el Perú, desde el año 2010 se viene ejecutando planes gubernamentales para el desarrollo forestal, principalmente en la región amazónica, con el fin de reponer bosques y zonas degradadas, además de generar biomasa forestal con fines maderables y que reemplazará a la forma de aprovechamiento de la tradicional industria forestal que aún se aprovisiona de madera de bosques nativos que son parte del problema ambiental en esta zona. En la nueva modalidad de desarrollo forestal, destaca el uso como principal especie forestal de reposición, la “bolaina blanca” (*Guazuma crinita Mat*), especie cuyos árboles pueden ser cosechados desde los 6 años, alcanzando valores de cosecha mayor a 30 m³ de madera en cada hectárea, por año. Este valor, equivalente a más de 12 t de madera (masa seca) transformada en madera que logra valores de rendimiento aprovechable de hasta 70 %, dejando entre 3 a 4 t/ha por año de desperdicio maderable. Hasta el presente se estiman en más de 6000 ha de bosque plantado con bolaina blanca, siendo probablemente la especie forestal más importante en la Amazonia peruana, con relevancia en las regiones de Huánuco y Ucayali; la bolaina blanca es la tercera especie forestal más utilizada para plantaciones en el Perú, luego del eucalipto y los pinos. Por los motivos expuestos, los bosques plantados de bolaina blanca son una fuente importante de materia prima lignocelulósica, de donde se podría obtener nanocelulosa.

La nanocelulosa (NC) posee propiedades físicas muy destacadas: su módulo de Young y resistencia a la tracción, alcanza valores de 130 GPa y 7,5 GPa respectivamente a una densidad promedio de 1,6 g/cm³ (Castro y Delgado, 2016; Herrera, 2018; Pulido et al., 2016). Asimismo, las propiedades físico químicas son relevantes debido al carácter cristalino y capacidad de enlaces lo que la hace particularmente interesante en su uso como aditivo de refuerzo.

En el Perú, La Universidad de Lima y la Universidad Agraria La Molina, y con el apoyo de la Red CYTED Nanocelia, vienen investigando en forma intensa, a nivel de laboratorio, el uso de la madera de bolaina blanca para la obtención de la nanocelulosa y que han sido aplicados en diferentes usos, con buenos resultados: como aditivo para reforzar propiedades en papel, para la elaboración de bioláminas (biofilms) incluso como material compuesto para envoltura de alimentos. La elección de la madera de bolaina blanca, proveniente de una plantación de la región Ucayali es una opción determinada en función del desarrollo en la región y el uso que se le viene dando, como madera, para la elaboración de muebles, paneles, parihuelas y otros productos maderables. (*Guazuma crinita*). Esta especie es considerada de rápido crecimiento y su madera tiene mucha demanda en el mercado local y regional en Ucayali; la producción de madera de bolaina por tanto deberá diversificar sus usos en más productos, además de promover el uso de los residuos generados que pueden ser reutilizados o dispuestos en otras formas por su origen orgánico y de carácter biodegradable.

En la presente investigación se estudió la nanocelulosa fibrilar (NCF) mediante el tratamiento mecánico de trituración a partir de la madera de bolaina blanca (*Guazuma crinita*) a diferentes alturas del eje longitudinal del fuste de árboles de una plantación de tres años y medio; proveniente de la región Ucayali; en la investigación se caracterizó el producto obtenido a través de sus características físico químicas empleando métodos instrumentales.

Sobre la Bolaina blanca (*Guazuma crinita*)

De las especies forestales con valor comercial existentes en la Amazonia peruana, encontramos a la bolaina blanca; está, es una especie tropical que se puede encontrar de manera natural en bosques primarios o secundarios. En la actualidad, esta especie está siendo cultivada a gran escala mediante el sistema plantaciones forestales debido a su rápido crecimiento y cualidades que tiene su madera para su industrialización.

En la Tabla 1 se muestra la clasificación jerárquica y sistemática de la especie en estudio.

Tabla 1. *Taxonomía de Guazuma crinita*

Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Diapétalas
Orden	Malvales
Familia	Malvaceae
Género	Guazuma spp.
Especie	Guazuma crinita C. Martius
Nombre común	Bolaina, Bolaina blanca.

Fuente: Reynel et al. (2003)

Como se mencionó anteriormente, la madera de esta especie tiene características atractivas para el desarrollo de productos. Su madera es blanda, duradera y fácil de trabajar, se utiliza principalmente para armarios, paredes y cajas y también tiene excelentes propiedades para paneles, carpintería interior, molduras y fósforos (Reynel et al., 2003). En el año 2015, la bolaina estuvo en la lista de las diez especies con mayor producción para madera rolliza, ocupando el lugar número nueve en Perú (SERFOR; 2016).

Su madera puede tener diversas tonalidades que dependen de la edad del árbol, sin embargo, está se encuentra clasificada de color rosa grisáceo en el sistema CIELab (Chavesta et al., 2022), además se caracteriza por

presentar grano recto, sabor y olor no distintivos, brillo y textura medio; los anillos de crecimiento son visibles a simple vista (INIA, 1996). A un nivel microscópico, la madera de bolaina presenta parénquima del tipo apotraqueal, paratraqueal y difusos en agregados; radios heterogéneos tipo III, presenta poros solitarios o múltiples radiales de 2 a 4 y de 2 a 7 poros/mm², fibras libriformes no estratificadas con diámetro tangencial promedio de 18 μm , pared celular de 3 μm de espesor y longitud entre 484 -830 μm (Piccone, 2019).

Con respecto a la composición química de la madera de bolaina, la siguiente Tabla 2 muestra algunos valores obtenidos por investigaciones.

Tabla 2. *Composición química de la madera de bolaina*

Concepto	Unidad	Malpartida (2010)			Milciades et al. (2019)
Edad de la madera	años	3	4	5	4
Celulosa	%	47,23	48,36	49,03	51,9
Hemicelulosa	%	27,56	25,13	23,07	27,4
Lignina	%	19,38	20,38	21,12	28,6
Extractivos	%	4,28	4,85	5,61	1,8
Cenizas	%	1,53	1,28	1,17	-

Nanocelulosa y sus tipos

La nanocelulosa es la celulosa en un tamaño nanométrico en alguna de sus dimensiones biométricas (ancho, largo). El término nanocelulosa se puede encontrar en diferentes tipos, según su estructura o fuente de la cual fue sintetizada.

Nanocelulosa fibrilar (NCF)

Carchi (2014) menciona que la NCF tiene un diámetro que va en un rango de 10 a 40 nm y una longitud en el orden de los micrómetros (> 1000 nm), por otro lado, Ruiz et al. (2016) menciona que la NCF presenta longitudes entre 0,5 y 10 μm y diámetros en el rango de 10 a 100 nm, de forma cilíndrica alargada y flexible, similar a los fideos. La NCF se puede obtener por

diferentes métodos, pero los más usados son los tratamientos mecánicos sobre las pastas celulósicas. Durante el tratamiento mecánico, las fricciones generadas hacen que se rompan los enlaces interfibrilares entre las cadenas de celulosa, dando como resultado nanofibrillas con un diámetro en el rango de 10 a 100 nm y longitud similar a la fibra original (Muñoz; 2018).

Nanocelulosa cristalina (NCC)

La nanocelulosa cristalina es definida por Herrera (2018) como nanopartículas cristalinas obtenidas de la zona ordenada de las fibras de celulosa tras liberarlas de su porción amorfa mediante hidrólisis en un medio ácido. Con respecto a sus dimensiones, el diámetro de la NCC está comprendido en un rango de 3 a 20 nm y una longitud, de 100 a 600 nm. Es importante mencionar que las dimensiones y cristalinidad dependerán de la fuente de celulosa, así como de los parámetros que se usan en su obtención; con respecto a su morfología, la NCC es descrita como barras alargadas similares los granos de arroz (Pech; 2018 y Herrera; 2018).

Nanocelulosa Bacteriana (BC)

A diferencia de los otros dos tipos de nanocelulosa, su término se le atribuye a la fuente de la que fue sintetizada la celulosa. La celulosa bacteriana es un polímero sintetizado por fermentación con bacterias del género *Acetobacter*. A diferencia de la celulosa vegetal, el grado de pureza es mayor, debido a que no se encuentra asociada a lignina y hemicelulosa (García, 2017). Con respecto a su morfología, su diámetro se encuentra entre los 20 a 100 nm (Klemm et al., 2011).

Nanocelulosa por tratamientos mecánicos

Los tratamientos mecánicos con pastas celulósicas, consisten en molien- das o refinados sucesivos seguidos de procesos de homogenización para la obtención de nanocelulosa fibrilar (Borja, 2018; Herrera, 2018). Durante el refinado de la pasta, las fibras se van desprendiendo de las capas de su

pared celular, principalmente de la capa primaria y la capa secundaria S1, llegando hasta la capa secundaria S2, capa con mayor contenido de celulosa, todo esto lleva a la fibrilación interna, contando con nanofibras sin pared celular, ideal para el proceso de homogenización, que tiene como finalidad la individualización de las nanofibrillas.

Las metodologías más usadas en este tipo de tratamientos son la molienda en equipos (molino planetario de bolas, mazuko, etc.), homogenizador de altas presiones, microfluidización, refinadores de discos, entre otros.

Molienda mediante molino planetario de bolas

El equipo molino planetario de bolas consiste de molinos cerrados con bolas en su interior, puestos en una plataforma giratoria. La molienda es realizada por las bolas que impactan a gran velocidad con la muestra debido al movimiento rotacional de la plataforma. El movimiento genera una acción centrífuga que movilizan las bolas a gran intensidad, de tal manera que generan fuerzas de cizallamiento sobre los haces de fibras, liberando las nanofibrillas que la componen.

La molienda es realizada sobre pasta celulósica en solución con agua a una consistencia del 1 al 5 por ciento en peso. Debido a las fuerzas de cizallamiento originadas por el movimiento de las bolas, se rompe la pared celular de las fibras, atacando la pared primaria y secundaria, hasta llegar a la pared S2, la cual contiene el mayor porcentaje de celulosa; los enlaces de hidrógeno son destituidos y las fibrillas se individualizan en una escala nanométrica.

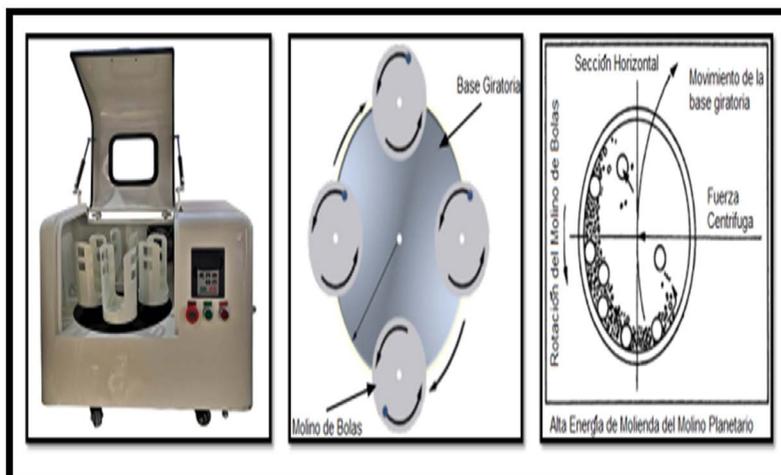


Figura 1. Molino planetario de bolas Changsha Samy modelo XYQM – 2L.

Fuente: Pagina web Metallurgist (<https://www.911metallurgist.com/metalurgia/molino-de-bolas-planetario/>).

El molino planetario de bolas es usado en moliendas de no gran escala, principalmente para metodologías que se adecuan a investigaciones; sin embargo, funciona bajo el principio de cizallamiento el cual es característico de los tratamientos mecánicos. La generación de información mediante este método puede ser replicado en otros equipos con escala industrial como lo es el Mazuko.

Metodologías y técnicas de caracterización para evaluar nanocelulosa

La pasta celulósica al someterse a tratamientos mecánicos o químicos, la morfología de las fibras se ve modificada en tamaño y aspecto, así como también sus propiedades que se evalúan por diferentes métodos de microscopía y análisis instrumental. La finalidad de caracterizar adecuadamente la nanocelulosa es para analizar su posible aplicación además de la seguridad del producto.

La nanocelulosa generalmente esta se encuentra suspendida en agua, durante su producción y debido a la desfibrilación mecánica de los ha-

ces originales, las fibras se desintegran a nanofibras, lo que conlleva a un aumento en la relación de aspecto y área superficial que, en conjunto al carácter higroscópico de la nanocelulosa en suspensión, la correlación con el agua y entre ellas aumenta; originando que el valor de la viscosidad de la suspensión se dilate significativamente.

Por otro lado, para la caracterización morfológica de la nanocelulosa, se usan técnicas como la microscopía electrónica de barrido (SEM), la cual permite obtener imágenes a una alta resolución. Mediante este método se observa la NC y se puede realizar la medición de su diámetro.

Otras técnicas como la espectroscopia infrarroja de transformación de Fourier (FTIR), permite determinar la estructura química de la nanocelulosa, dando a conocer su entorno químico como los grupos funcionales y enlaces presentes (Borja, 2018; Vázquez, 2012). Mediante la difracción de Rayos X (XRD) se obtiene información de la composición cristalina presente en la nanocelulosa, de tal manera que se permite realizar un análisis cuantitativo y cualitativo de la fase ordenada de su estructura. El análisis termogravimétrico (TGA) permite conocer la termoestabilidad de la nanocelulosa y la tasa máxima de degradación. Mediante este tipo de información se conoce la temperatura inicial y final a la que un polímero está empezando y terminando de descomponerse y así mismo también se conoce la cantidad de material volátil presente en la muestra.

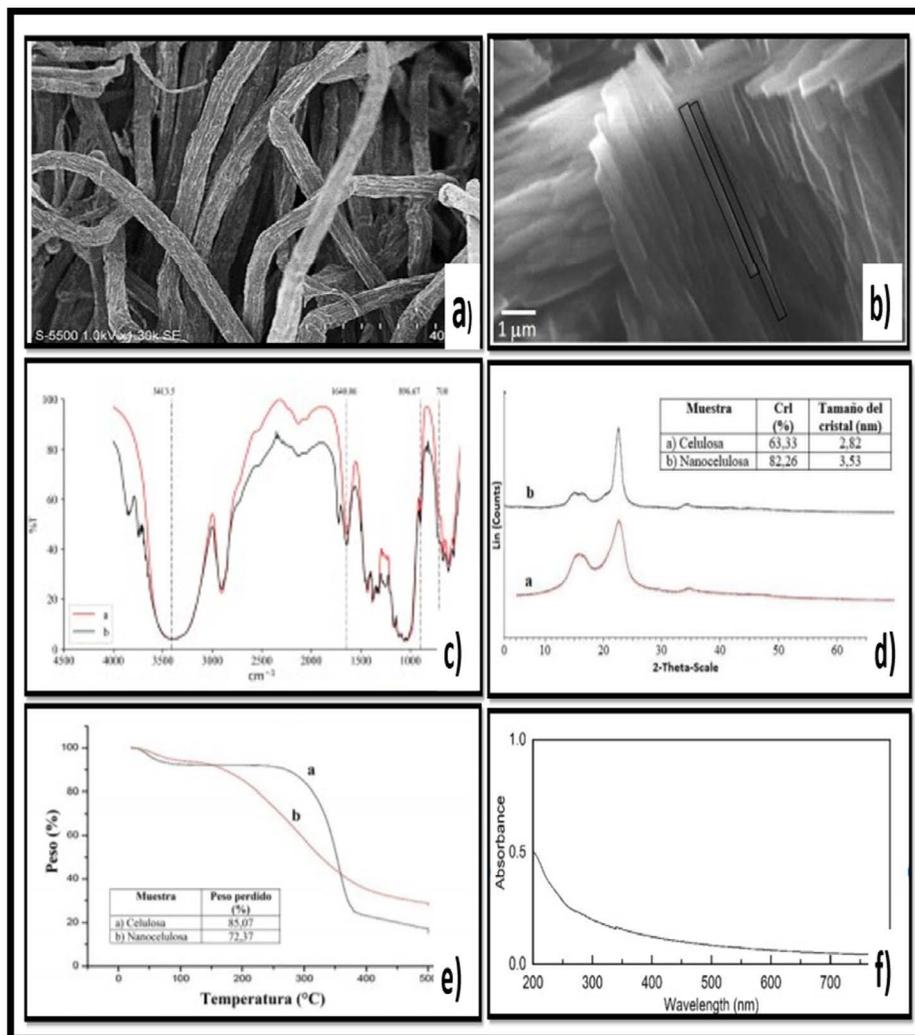


Figura 2. Imágenes y espectros de caracterización de nanocelulosa.

- a. Micrografía electrónica de barrido de nanofibras de tulle. Fuente: Pulido et al., 2016.
- b. Micrografía electrónica de barrido de microfibras de Tara. Fuente: Ponce et al. (2020).
- c. Espectro FTIR de pulpa celulósica y NCC de puntas de abacá pulpa. Fuente: Herrera, Sinche y Bonilla (2019).
- d. Espectro XRD de pulpa celulósica y NCC de puntas de abacá. Fuente: Herrera, Sinche y Bonilla (2019).
- e. Termograma TGA de pulpa celulósica y NCC de puntas de abacá. Herrera, Sinche y Bonilla (2019).
- f. Espectro UV-visible de nanocelulosa de cáñamo. Fuente: Dalle et al. (2021).

Caso de estudio: producción y caracterización de nanocelulosa a partir de la madera de bolaina

Como parte del proyecto: “Desarrollo de papel de embalaje biodegradable y antibacterial utilizando un film bicapa basado en nanocelulosa procedente de residuos forestales de bolaina (*Guaezuma crinita*) con incorporación de nanopartículas de cobre para la industria alimentaria” auspiciado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica, conocido en Perú como CONCYTEC bajo el contrato N°009-2020; se realizó la investigación sobre el uso de la madera de bolaina como materia prima para la producción de nanocelulosa.

La celulosa es el polímero natural más abundante en el planeta, encontrada en diferentes fuentes de origen vegetal o sintetizada por microorganismos. Sin embargo, no todas las fuentes son apropiadas para la producción de nanocelulosa (NC), ya que es sabido por diferentes estudios que las propiedades morfológicas de la fibra, así como la composición química de la misma, tienen influencia sobre el producto final. Entre las principales fuentes para la producción de NC, encontramos a los residuos agrícolas como paja de arroz, trigo, tallos de piña, quinua y entre otras más, además, están presente las fuentes lignocelulósicas como la madera. Las principales especies usadas en la producción de NC son las coníferas del género *Pinus* y en menor uso latifoliadas como el Eucalipto o Tara.

La presente investigación toma como caso, el uso de una especie latifoliada como lo es la bolaina blanca, la cual se encuentra de manera masiva en plantaciones forestales en Perú y es buena opción para usarse como materia prima de manera continua para la producción de nanocelulosa, de tal manera que se generen productos forestales con valor agregado.

Se evaluó el efecto de la posición longitudinal del fuste del árbol de bolaina sobre las propiedades de la nanocelulosa. El procedimiento consistió en obtener muestras representativas de madera de cada sección de estudio del fuste (sección basal, media y alta), estas fueron chipeados para su digestión en soda y obtener pulpa celulósica. Luego la pulpa obtenida fue blanqueada bajo parámetros controlados. Por último, se realizó una molienda mecánica usando como equipo el molino planetario de bolas para la obtención de nanofibrillas.

La nanocelulosa obtenida de los diferentes niveles de la variable (altura del fuste), fue caracterizada para conocer su grado de polimerización, diámetro, índice de cristalinidad (IC), tamaño de cristales, termoestabilidad y capacidad de adsorción.

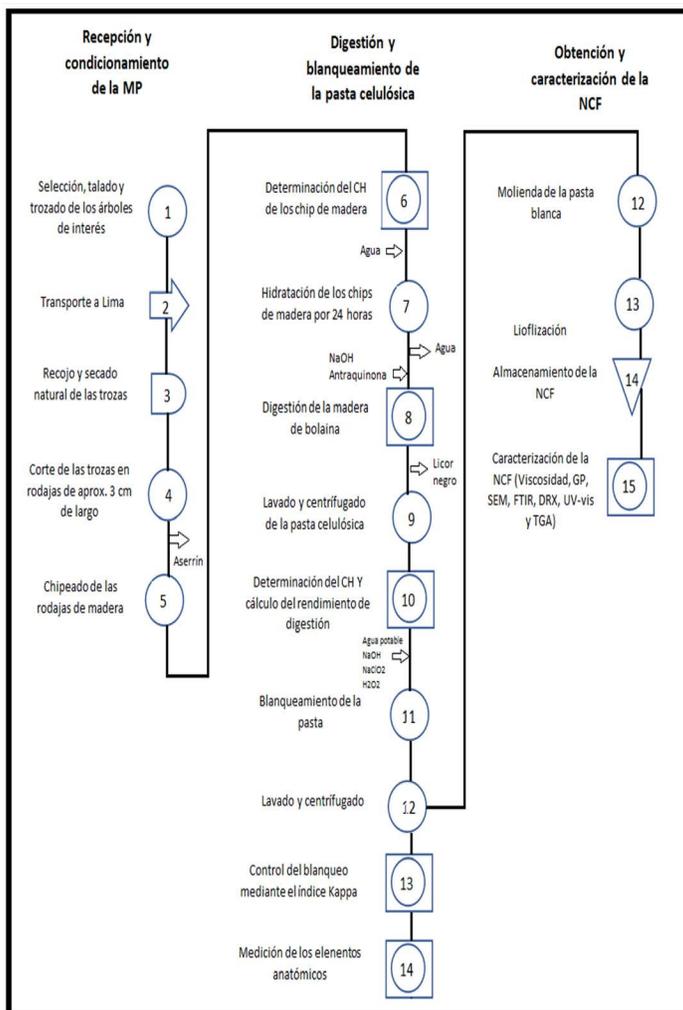


Figura 3. Diagrama de operaciones y procesos de la investigación



Figura 4. Trozas correspondientes a las secciones de interés (sección: basal, media y alta)

Grado de polimerización (GP)

Para conocer el grado de polimerización de la nanocelulosa obtenida, se calculó viscosidad intrínseca (η) según norma TAPPI T230. Luego, se utilizó la fórmula desarrollada por Marx Figini.

$$[\eta] = K * DP^a$$

Donde η es la viscosidad intrínseca, DP es el grado de polimerización y los valores “K” y “a” son constantes que dependen del polímero y del solvente.

Tabla 3. Ecuación para determinar GP

Ecuación	Rango DP
$[n] = 2.29 * DP^{0.76}$	DP > 1000
$[n] = 0.42 * DP$	DP < 1000

Fuente: Marx Firgini (1995).

El grado de polimerización de la NCF demuestra diferencias con la altura del fuste del cuál fue obtenido, disminuyendo al incrementar la altura de la misma (Ver Tabla 3). Esto coincide con lo descrito por Abreu et al. (2004), quienes mencionan que a mayor altura del fuste las fibras se encuentran menos reticuladas entre estas debido a un menor contenido de lignina y menor desarrollo de las mismas, sugiriendo un menor grado de polimerización de las unidades monoméricas que la compone.

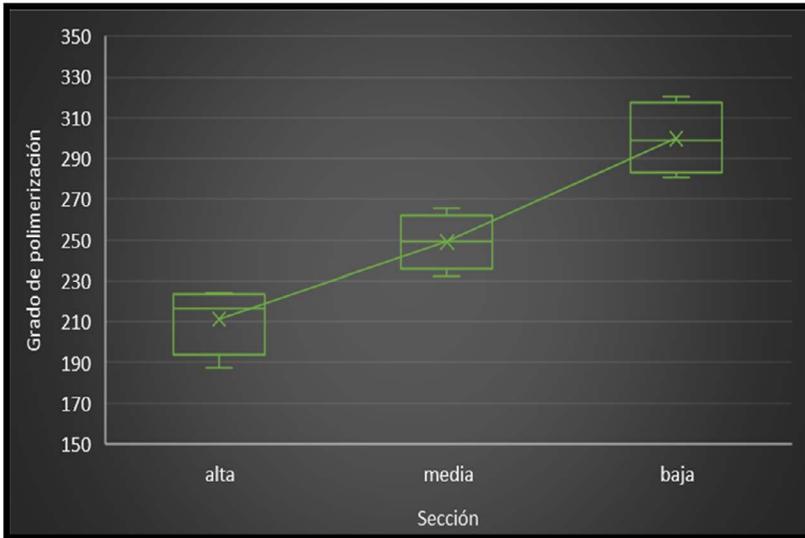


Figura 5. Variación del GP de NCF de bolaina proveniente de diferentes secciones

A diferencia con otros autores que siguieron la misma metodología para hallar el GP, encontramos a Barra (2019) quien obtuvo un valor para el

GP de 290 para NCF obtenida mediante oxidación TEMPO a partir de Pulpa Kraft blanqueada de Eucalipto; Tárres (2017) obtuvo valores en un rango de 300 y 450 para NCF obtenida mediante hidrolización enzimática (Endo- β -1,4-glucanasa) a partir de Eucalipto; para NCF obtenida mediante tratamientos mecánicos como la molienda mediante discos, Megashah (2020) obtuvo valores de GP de 500 para NCF obtenida de palma aceitera y Chuanshuang Hu et al., (2014) en su investigación para la obtención de NCF obtenida de Eucalipto halló un GP de 660. Es evidente que el GP será variable según el material del cual se obtenga la NCF, además del tratamiento o metodología que se use para su elaboración.

Morfología de la nanocelulosa obtenida

Se determinó la morfología de la NCF de bolaina proveniente de diferentes secciones del eje longitudinal del fuste a través de SEM.

Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante el software ImageJ para determinar el tamaño del diámetro sobre las fibras. Las fibras evaluadas corresponden a las visibles y sin defectos de resolución.

En las Figuras 6 (A, D y G) se observan las nanofibrillas obtenidas señaladas por flechas rojas, su morfología es muy similar a las fibras originales, pero a un tamaño nanométrico en su diámetro. La desfibrilación de las fibras celulósicas ocurrió durante la molienda mecánica mediante el uso del molino planetario de bolas. La pasta blanca usada en la molienda, contenía un nivel de deslignificación mayor al 98 por ciento, razón por la cual las nanofibrillas tuvieron mayor factibilidad a ser liberadas por las fuerzas de cizallamiento producidas por el impacto de las bolas en movimiento sobre la pasta. Henriksson et al. (2007) menciona que los tratamientos mecánicos modifican la estructura de las microfibrillas al reducir su masa molar y grado de cristalinidad, además de cambiar su morfología.

Las Figuras 6 (B, D, E, G y H) muestran la liberación de las nanofibrillas de las fibras originales, las cuales están conformando una estructura similar a la de una red. De las Figuras 6 (C, F e I) se observan superficies rugosas (encerradas en círculos rojos) presentes en las nanofibrillas, Ramesh y Radhakrishnan, (2019) mencionan que esto se debe a la disolución de los compuestos de lignina y hemicelulosa, los que fueron eliminados

durante la hidrólisis alcalina y el proceso de blanqueamiento. La apariencia de rugosidad por pérdida de los componentes no celulósicos se debe al hecho que estos cumplen el rol de sedimentar las fibras en la pared celular vegetal, y al ser removidos estos dejan desgastadas a las fibrillas.

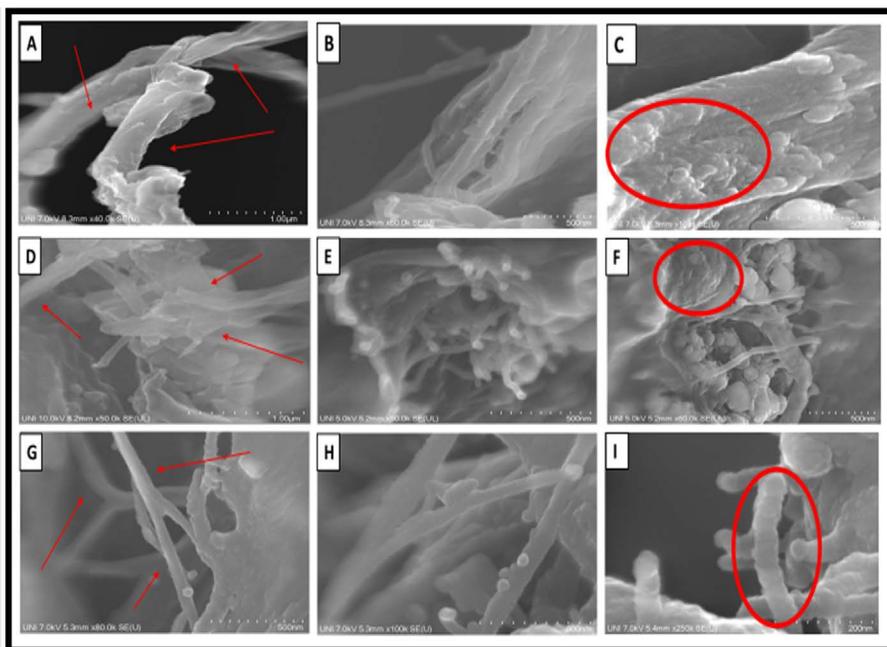


Figura 6. Micrografías SEM de NCF de bolaina proveniente de diferentes secciones. A), B) y C) SEM de la sección apical; D), E) Y F) SEM de la sección media y G), H) e I) son SEM de la sección basal

La Tabla 4 muestra el análisis estadístico de los resultados en la medición del diámetro de las nanofibrillas correspondiente a cada sección del eje longitudinal del fuste.

Tabla 4. Medias estandarizadas según prueba estadística Mann – Whitney para el diámetro de las nanofibrillas

Sección	N	Diámetro promedio Mann - Whitney(nm)
Alta	62	84 (a)
Media	44	75 (b)
Baja	48	69 (b)

Donde: N es cantidad de haces de nanofibrillas medidas por sección.

Nota: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Como se mencionó anteriormente, se midió el diámetro a las nanofibrillas visibles en las imágenes SEM, razón por la cual la cantidad es variable para cada sección de interés. Al tener muestras de distinto tamaño, no se obtuvo una distribución normal y se procedió a analizar los resultados mediante la prueba No Paramétrica “Kruskal Wallis”, donde se evidenció que hay diferencias significativas. La sección apical muestra valores significativamente diferentes a la sección media y basal. Se esperó no encontrar diferencias, debido a que el tratamiento mecánico se hizo en las mismas condiciones para las tres secciones. Las fibras originales en la pasta blanca tenían un diámetro aproximado de 30 μm , al liberarse las nanofibrillas que la componen, el diámetro se redujo a diámetros cercanos a 100 nm.

Entorno químico

El estudio del entorno químico de la nanocelulosa para conocer los grupos funcionales asociados, se realizó bajo Espectroscopia infrarroja de transformación de Fourier (FTIR). Se utilizó el módulo de reflexión atenuada (ATR) con escaneos sucesivos sobre la muestra a una resolución de 4 cm^{-1} con longitudes de onda en el rango de 400 a 4000 cm^{-1} . Una vez obtenidos los espectros de las muestras de nanocelulosa, se procedió al procesamiento de estos usando el software Essential FTIR donde se eliminaron los efectos de interferencia (dispersión de luz, ruido y variaciones de la longitud de trayectoria), además se realizó el suavizado, variación normal estándar, corrección de dispersión multiplicativa y corrección de línea recta.

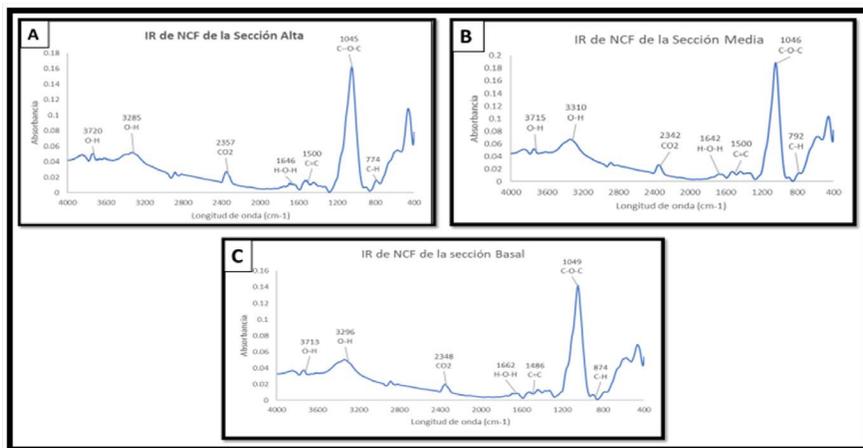


Figura 7. Espectros IR de NCF de bolaina. A) IR correspondiente a la sección alta, B) IR correspondiente a la sección media y C) IR correspondiente a la sección basal

Los espectros obtenidos, como se observa en la Figura 7, muestran una absorción muy marcada en el rango de 1045 – 1049 cm^{-1} , los cuales representan señales características del enlace C-O-C correspondiente a los anillos piranosas que conforman la celulosa. Además de picos leves que ocurren cerca al intervalo de 791 a 890 cm^{-1} , lo cuáles son propios de enlaces C-H y que se relacionan directamente a las vibraciones de enlaces glucosídicos de los monómeros de glucosa, también es un indicador de la zona amorfa de la celulosa (Draman et al., 2016; Mandal y Chakrabarty, 2011). El pico de vibración en 1049 cm^{-1} denota un gran estiramiento lo cual se relaciona a la cristalinidad de la celulosa (Elanthikkal et al., 2010).

Por otro lado, se visualiza vibraciones atenuadas entre 1475 – 1600 cm^{-1} que corresponden a interacciones entre enlaces C=C que se originan en los anillos aromáticos de la lignina (McMurry, 2008). Kumar et al. (2014) y Johar et al. (2012), mencionan que los picos cercanos entre 1630 y 1730 cm^{-1} , son representaciones de las vibraciones correspondientes a enlaces estér acetil y urónico de hemicelulosa, así como también de enlaces estér presentes en grupos carboxílicos de la lignina. Los espectros obtenidos no presentan absorciones relacionados a la presencia de hemicelulosa, pero sí atenuaciones muy leves correspondientes a la presencia de lignina.

El tratamiento con NaOH durante la digestión, así como también el NaClO y H₂O₂ usados en el blanqueamiento, tuvo gran efecto en la oxidación y remoción parcial de los elementos no celulósicos.

En los espectros IR obtenidos, se visualizan absorciones leves muy cercanas a 2,346 cm⁻¹ que indican la presencia de CO₂ en las muestras. La presencia de este gas es muy frecuente en este tipo de ensayos ya que está presente en la atmósfera propia del lugar de trabajo y se puede añadir con facilidad en la superficie del material de estudio mediante el fenómeno de adsorción (Oancea et al.; 2012).

Del mismo modo, se observa estiramientos de picos en una banda ancha que tiene el rango de 3000 a 4000 cm⁻¹, estas corresponden a enlaces O-H que se originan por los hidroxilos presentes en las moléculas de celulosa (Larkin et al., 2018).

Rigg (2018) menciona que los picos absorbidos cerca de 3330 y 1635 cm⁻¹ corresponden a enlaces O-H, propio de los puentes de hidrógeno. En las muestras obtenidas estos picos se presentan entre 3311- 3329 cm⁻¹ y 1631-1665 cm⁻¹. Los enlaces puente de hidrógenos son característicos de los enlaces intermoleculares entre las cadenas de celulosa. Las absorciones en dichos picos, son tenues ya que el agua en la NCF fue removida por la operación de liofilización.

Evaluación de la composición cristalina

Se estudió la zona ordenada de la nanocelulosa obtenida mediante difracción de rayos X (DRX). De los espectros obtenidos, se extrapolaron las reflexiones máximas y mínimas de cada muestra analizada para determinar el porcentaje de cristalinidad a través del método de Segal:

$$C = \left(1 - \frac{I_{18}}{I_{22.6}}\right) \times 100$$

Dónde:

I₁₈ e I_{22,6} son las magnitudes correspondientes al diagrama de difracción para los ángulos $2\theta = 18^\circ$ y $2\theta = 22,6^\circ$, correspondientes a los planos de reflexión (110) y (200), respectivamente.

Por otro lado, se determinó el tamaño promedio de los cristales de celulosa mediante la ecuación de Scherrer (1918), hallada en el plano de reflexión máximo la cual corresponde a 200 ($2\theta = 22,6$).

$$D = \frac{0,94 \lambda}{b \cos \theta}$$

Donde:

0,94 es el valor de la constante de Scherrer correspondiente a la simetría y forma de los cristales de la celulosa.

λ es la longitud de onda de los rayos X el cual tiene un valor de 1 5406 Å
 b es la anchura a media altura del pico (en radianes) el cual es hallado mediante el software con el que se trabaja.

A través de la Figura 8 se observan los difractogramas obtenidos del ensayo de difracción de Rayos X a partir de muestras de NCF que corresponden a diferentes secciones del eje longitudinal del fuste del árbol de bolaina.

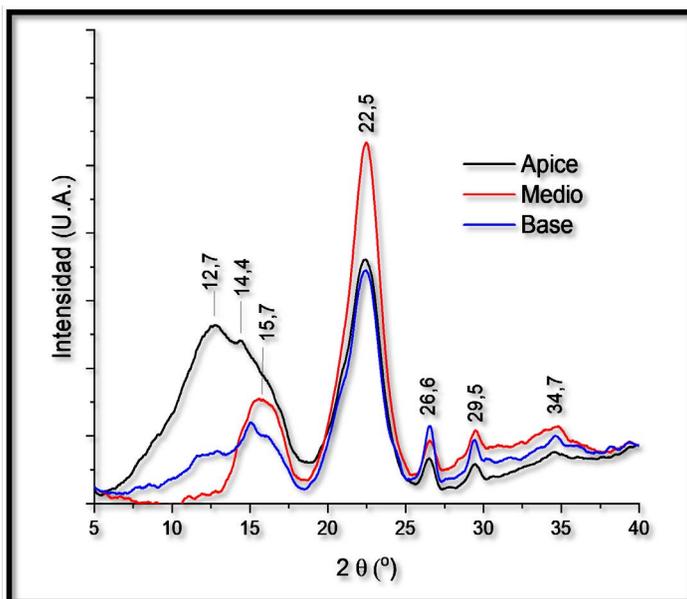


Figura 8. Diffractogramas de NCF de bolaina obtenida de tres diferentes secciones del eje longitudinal del fuste

De los difractogramas obtenidos se observan diferentes picos, entre ellos lo más marcados son los que se presentan en $2\theta = 15,7^\circ$; $22,5^\circ$ y $34,7^\circ$. Los cuales corresponden a planos de cristalinidad de 110, 200 y 004 respectivamente, propios de celulosa tipo I β . La tendencia de estos picos se evidencia mucho más para la zona basal y media. Si se observa el difractograma de la NCF obtenida de la zona apical, no encontramos picos de intensidad para $2\theta = 15,7^\circ$ pero si para $2\theta = 12,7^\circ$ y $14,4^\circ$, lo cuales se asocian al plano 110 de una región cristalina característica de celulosa tipo II. (Herrera M.; 2018); el tratamiento químico realizado para la liberación de celulosa de otros compuestos, tuvo un mayor efecto sobre la zona apical, desordenando y/o afectando de alguna manera la cristalinidad de su estructura.

Tabla 5. Índice de cristalinidad y diámetro de cristal

Zona	IC (%)	D (nm)
Ápice	76	3,0
Media	93	3,6
Baja	96	3,4

Donde: IC: Índice de cristalinidad y D: Diámetro.

De acuerdo con lo obtenido, hay un mayor grado de cristalinidad en la sección basal con un valor de 96 por ciento seguido de la zona media y apical con 93 y 76 por ciento, respectivamente. La disminución de la cristalinidad de la NCF con respecto al aumento de la altura del fuste del cual fue obtenida, tiene la misma tendencia con respecto al grado de polimerización hallado anteriormente, por lo que la cantidad de monómeros que componen la cadena celulósica influye de manera directamente proporciones en el IC.

Los altos valores de cristalinidad indican que gran parte de las regiones amorfas de la estructura de la celulosa fueron removidas como ya se había visto anteriormente en los espectros IR; debido al tratamiento alcalino y oxidativo (blanqueo) hasta la molienda de la pasta.

Termoestabilidad de la nanocelulosa

El estudio de la estabilidad térmica de la nanocelulosa se realizó bajo análisis termogravimétrico (TGA). Con el registro de la pérdida de masa con respecto al aumento de temperatura, se construyeron los termogramas.

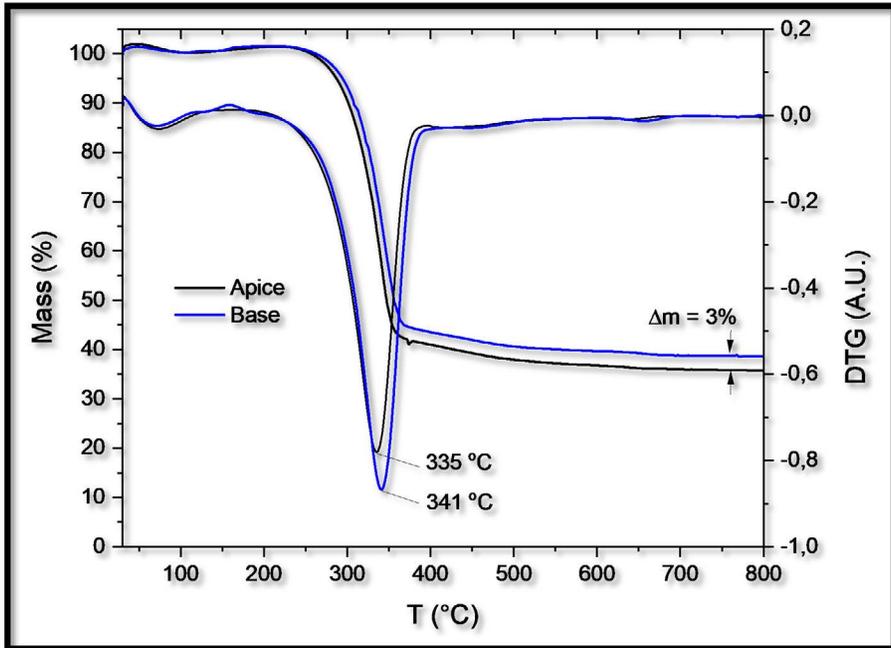


Figura 9. Termograma de NCF obtenida de la sección apical y basal

La temperatura de máxima velocidad de descomposición para la NCF proveniente de la zona basal es mayor con respecto a la NCF de la zona apical; la diferencia es de 6°C. La muestra del ápice pierde un porcentaje ligeramente mayor de masa (3 % aprox.) que la muestra de la base, como se aprecia en la Figura 9.

La tendencia encontrada se relaciona al hecho que las nanofibrillas de la zona basal son más desarrolladas que las del ápice, lo que se corrobora con los resultados de grado de polimerización y grado de cristalinidad. La muestra de la zona basal al tener una mayor cantidad de monómeros que constituyen su estructura, además de una mejor ordenación a nivel molecular (índice de cristalinidad); será más rígida y por lo tanto se necesitará de

mayor energía para su descomposición en comparación a la NCF apical.

Capacidad de adsorción en tinte de azul de metileno

Se utilizó espectroscopia ultravioleta visible (UV-Vis) para determinar la capacidad de adsorción de la NCF sobre tinte de azul de metileno. La NCF liofilizada fueron analizadas a dos concentraciones de azul de metileno: 10 ppm y 20 ppm. En cada caso, se tomó una muestra de 15 mL de la solución y se depositó en un tubete del mismo volumen por duplicado. La muestra fue centrifugada por 30 minutos, para sedimentar las partículas de NCF. La fracción líquida, sin sedimento, se llevó a lectura en el espectrofotómetro; también se tomó lecturas en blanco.

En la Tabla 6 se muestran los valores de concentración inicial del colorante de azul de metileno y la concentración de equilibrio de la misma después de ser expuestos a dos pesos diferentes de NCF preparada a partir de fibras de bolaina.

Tabla 6. Valores de remoción de azul de metileno en diferentes concentraciones con uso de NCF

Concentración inicial de azul de metileno	Masa de adsorbente (NCF)	Sección	Ce (mg/L)	qe (mg/g)
20 mg/L	50 mg	Alta	9,51	10,34
		Media	10,06	9,97
		Baja	9,89	9,98
	100 mg	Alta	6,74	6,51
		Media	7,07	6,47
		Baja	7,56	6,17
10 mg/L	50 mg	Alta	3,84	6,83
		Media	4,14	6,52
		Baja	4,34	6,21
	100 mg	Alta	2,96	3,85
		Media	3,04	3,78
		Baja	3,55	3,51

Ce: Concentración de equilibrio y qe: Adsorción específica.

Mediante la Tabla 7, se observan los resultados obtenidos para la capacidad remoción de azul metileno expresados en porcentaje. Los resultados para las diferentes secciones no siguieron una distribución normal, por lo que el análisis estadístico se atribuyó a pruebas no paramétricas como la Kruskal Wallis y la Mann -Whitney.

Tabla 7. Resultados de Adsorción de azul de metileno por NCF de diferentes secciones

Sección	% Remoción de azul de metileno
Alta	65 (a)
Media	62 (b)
Baja	61 (b)

Nota: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Los resultados obtenidos validan una eficiencia por encima del 60 por ciento para la remoción del azul de metileno en diferentes concentraciones (10 ppm y 20 ppm) mediante el uso de NCF a dos diferentes pesos (50 y 100 mg). La capacidad de adsorción es significativamente mayor en la zona apical con un valor del 65 por ciento, seguido de la zona media y basal (que no muestran significante entre sí) con valores de 62 y 61 por ciento, respectivamente.

Anteriormente, se mencionó que la NCF proveniente de la zona apical contiene una mayor área de zona amorfa en su estructura al presentar un índice de cristalinidad mucho menor a la zona media y basal; por lo tanto, tiene más disponibilidad de generar enlaces con las moléculas que componen el reactivo azul de metileno.

El tiempo de contacto entre el adsorbato (Azul de metileno) y adsorbente (NCF) fue de dos horas en constante agitación a una temperatura ambiente del lugar de estudio. El tiempo de contacto es un parámetro importante porque indica el comportamiento cinético de adsorción para un adsorbente en una determinada concentración inicial de adsorbato (NASCIMENTO et al., 2014). Al aumentar la concentración inicial del adsorbato desde 10 ppm hasta 20 ppm, el porcentaje de remoción disminuye de 61,6 % a 50,8 % y de 70,2 % a 64,3 % para las masas de adsorbente de 50 y

100 mg de NCF, respectivamente. Esta tendencia se podría explicar al área superficial del adsorbato, el cual se relaciona a los sitios disponibles donde ocurre la adsorción. En ese sentido, a una mayor disponibilidad de sitios disponibles de adsorción a bajas concentraciones del adsorbato, gran parte de estas pueden ser removidas con mayor eficacia. Sin embargo, cuando se incrementa la concentración inicial del adsorbato, se aumentará la competencia por adherirse a los sitios disponibles por parte de las moléculas de azul de metileno y aun después de haber alcanzado el equilibrio, quedan moléculas en la disolución, lo que reduce el porcentaje de remoción (Ahmad y Alrozi, 2010; Baskaralingam et al. 2007).

Conclusión

El rendimiento de la Nanocelulosa fibrilar (NCF) obtenida desde madera de bolaina de tres secciones del fuste de tres años y medio de edad fue en promedio 32 por ciento.

Las microfibrillas de la sección apical presentaron mayor diámetro con respecto a las microfibrillas de las secciones media y basal.

La cristalinidad y el grado de polimerización de la NCF obtenida fue mayor en la sección basal, aumentando su termoestabilidad en comparación a la NCF proveniente de la sección media y apical, respectivamente.

La NCF obtenida presentó características de adsorción favorables, donde la proveniente de la sección apical fue la que mostró mejores resultados. Se puede proponer que la NCF obtenida de madera de bolaina mediante molienda mecánica puede tener un uso en la industria papelera como agente de refuerzo y mejora en propiedades de adsorción de tinte.

Referencias

- Ahmad, M.A. and Alrozi, R. (2010). Optimization of Preparation Conditions for Mangosteen Peel-Based Activated Carbons for the Removal of Remazol Brilliant Blue R Using Response Surface Methodology. *Chemical Engineering Journal*, 165, 883-890. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.10.049>
- Barra Roa, R. E. (2019). *Modificación superficial de nanocelulosa utilizando estrategias de química verde y sustentable* [Universidad de Concepción]. <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/5907>
- Baskaralingam, P.; Pulikesi, M.; Ramamurthi, V.; Sivanesan, S. (2007). Modified hectorites and adsorption studies of a reactive dye-technical note. *Appl. Clay Sci.* 37(1-2):207-214
- Borja Muñoz, B. (2018). *Síntesis y caracterización de nanocelulosas de orígenes diversos* [Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de Barcelona]. <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/120299>
- Carchi Maurat, D. E. (2014). *Aprovechamiento de los Residuos Agrícolas provenientes del cultivo de Banano para obtener Nanocelulosa* [Universidad de Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/5292/1/tesis.pdf>
- Chavesta, M., Montenegro, R., Romedo, J., Tomazello-Filho, Carneiro, M., & Nisgoski, S. (2022). Calorimetría y densitometría en madera de Guazuma crinita. *Maderas-Cienc Tecnol*, 24, 1–20. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2022005XXXXXX>
- Dalle Vacche, S., Karunakaran, V., Ronchetti, S. M., Vitale, A., & Bongiovanni, R. (2021). Nanocellulose from Unbleached Hemp Fibers as a Filler for Biobased Photocured Composites with Epoxidized Cardanol. *Journal of Composites Science*, 5(1), 11. <https://doi.org/10.3390/jcs5010011>
- Draman, S. F. S., Daik, R., & Mohd, N. (2016). Eco-friendly extraction and characterization of cellulose from Lignocellulosic fiber. *ARPJ Journal of Engineering and Applied Sciences*, 11(16), 9591–9595.
- Elanthikkal S, Gopalakrishnapanicker U, Varghese S, Guthrie JT. (2010). Microfibras de celulosa producidas a partir de desechos de plantas de banano: aislamiento y caracterización. *Polímeros de carbohidratos* 80: 852-859.

- García Martínez, R. M. (2009). *Síntesis y caracterización de nanopartículas a partir de celulosa de Eucalyptus saligna y de hojas de maíz* [Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo]. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/166/FI-TECMA-M-2009-0002.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Henriksson M.; Henriksson G.; Berglund L y Lindström T. (2007). An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *Eur. Polym. J.*, 43, 8, 3434–3441.
- Herrera Terán, M. P. (2018). *Obtención de Nanocelulosa a partir de Celulosa de puntas de Abacá* [Escuela Politécnica Nacional]. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/19544/1/CD-8942.pdf>
- Herrera, M., & Bonilla, L. S. O. (2019). Obtención de Nanocelulosa a partir de Celulosa de Puntas de Abacá. *Afinidad*, 76(586), 123–131.
- INIA (Instituto Nacional De Innovación Agraria). 1996. *Manual de identificación de especies forestales de la Subregión Andina*, INIA– OIMT. PD 150/91. Lima, Perú.
- Johar, N.; Ahmad, I. y Dufresne, A. (2012). "Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk". *Industrial Crops and Products*, vol. 37, pp. 93-99.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H-P., Bohn, A. (2011). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*. vol. 36
- Kumar, A.; Negi, Y. S.; Choudhary, V. y Bhardwaj, N. K. (2014). "Characterization of cellulose nanocrystals produced by acid-hydrolysis from sugarcane bagasse as agro-waste," *Journal of Materials Physics and Chemistry*, vol. 2, pp. 1-8.
- Larkin, P. J. (2018). *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*, 2 edn. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Malpartida Isaac, C. V. (2010). *Determinación De La Composición Química De La Especie Bolaina Blanca (Guaçuma Crinita Mart.) Procedente Del Sector Cadenatingo María* [Universidad Nacional Agraria de la Selva]. <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/556/T.FRS-159.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Mandal, A., & Chakrabarty, D. (2011). Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), 1291-1299. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.06.030
- McMurry, J. (2008). "Química Orgánica" 5a Edición. Cengage Learning Editors S.A. Distrito Federal, México. p. 1224.
- Megashah, L. N., Ariffin, H., Zakaria, M. R., Hassan, M. A., Andou, Y., & Padzil, F. N. M. (2020). Modification of cellulose degree of polymerization by superheated steam treatment for versatile properties of cellulose nanofibril film. *Cellulose*, 27(13), 7417–7429. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03296-2>
- Miguel, M.; Iwakiri, S.; Trianoski, R.; Gonzales, H. & Miguel, C. (2019). Producción de tableros de partículas con Bolaina (*Guazuma crinita* Mart.) procedente de una plantación de cuatro años. *Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science)*, 10(2), 197-204. doi: 10.12953/2177-6830/rcm.v10n3p197-204
- Nascimento, R. F; Lima, A. C. A de Vidal, C. B.; Melo, D. Q.; Raulino, G. S. C. (2014). *ADSORCIÓN: aspectos teóricos y aplicaciones ambientales*. Fortaleza: Imprensa Universitária.
- Oancea, A.; et al. (2012). Espectro de reflexión infrarroja de laboratorio de hidratos de clatrato de dióxido de carbono para aplicaciones de tele-detección astrofísica. *Revista Icarus* Vol. 221 (2), 900 – 910. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.09.020>
- Pech Cohuo, S. C. (2018). *Obtencion y modificacion de nanocristales de celulosa de residuos de Agave Tequilana Weber para la producción de nanorefuerzos para poli (ácido láctico)* [Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.].
- Piccone Sandoval, M. F. (2019). *Caracterización anatómica de la madera de 10 clones de Guazuma crinita Mart. de 3 años de Huánuco-Perú* [Universidad Nacional Agraria La Molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3888/piccone-sandoval-mayra-fiorella.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ponce, S., Chavarria, M., Norabuena, F., Chumpitaz, D., & Gutarra, A. (2020). Cellulose Microfibres Obtained from Agro-Industrial Tara Waste for Dye Adsorption in Water. *Water, Air, and Soil Pollution*, 231(10). <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04889-0>

- Pulido Barragán, E., Morales Cepeda, B., Zamudio Aguilar, M., & Lugo del Angel, F. (2016). Obtención y caracterización de nanocelulosa a partir de tule (*Typha domingensis*). *Revista de Energía Química y Física* Marzo, 3(6), 31–38. www.ecorfan.org/bolivia
- Ramesh, S., & Radhakrishnan, P. (2019). Cellulose nanoparticles from agro-industrial waste for the development of active packaging. *Applied Surface Science*, 484, 1274-1281
- Reynel, C., Pennington, R., Pennington, T., Flores, D., Daza, C. A. (2003). *Árboles útiles de la Amazonía Peruana, Manual de identificación ecológica y propagación de las especies*. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Rigg, P. (2018). *Efecto de la adición de micro-nanocelulosa cristalina en adhesivos y su aplicación en aglomerados de madera de especies forestales tropicales* [Instituto Tecnológico de Costa Rica]. https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/9783/efecto_adición_micro-nanocelulosa_cristalina_adhesivos.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ruiz-Hitzky, E., Aranda, P., Darder, M., & González del Campo, M. del M. (2016). *Material composite de nanocelulosa y arcillas fibrosas, procedimiento de fabricación y uso* (Patent No. 2558472).
- Tárres Farrés, J. A. (2017). *Endo-β-1,4-glucanasa para la fabricación de micro/nanocelulosa: propiedades y aplicaciones*. In TDX (Tesis Doctorals en Xarxa). <http://www.tdx.cat/handle/10803/456211>

