

## **Nanofibrilación de celulosa del rastrojo de la piña (*Ananas comosus*) con oxidación TEMPO y procesos mecánicos**

*Marianelly Esquivel-Alfaro*<sup>1</sup>

*Kenly Araya-Chavarría*<sup>1</sup>

*Ruth Rojas*<sup>1</sup>

*Karla Ramírez-Amador*<sup>1</sup>

*Orlando Rojas*<sup>2</sup>

*Giovanni Sáenz-Arce*<sup>3</sup>

*Edgar Mauricio Santos Ventura*<sup>4</sup>

*Belkis Sulbarán-Rangel*<sup>#</sup>

<https://doi.org/10.61728/AE20246082>

---

<sup>1</sup> Laboratorio de Polímeros (POLIUNA), Departamento de Química, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

<sup>2</sup> Departamento de Bioproductos y Biosíntesis, Escuela de Ingeniería Química, Aalto University, Espoo, Finland. Departamento de Química, Ingeniería Biológica, Química y Ciencias de la Madera, University of British Columbia, Vancouver, Canadá.

<sup>3</sup> Departamento de Física, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Centro de Investigación en Óptica y Nanofísica, Departamento de Física, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

<sup>4</sup> División de Ingenierías e Innovación Tecnológica. Centro Universitario de Tonalá. Universidad de Guadalajara, Tonalá, México.

## Resumen

El rastrojo de la piña está compuesto por el tallo y las hojas, de las últimas se pueden obtener sus fibras, al remover las capas superficiales. Este material usualmente recibe el nombre de PALF (por sus siglas en inglés, Pineapple Leaf Fiber) y su composición química es principalmente celulosa, lignina y hemicelulosa, donde la primera es el componente más aprovechado ya que se encuentra en mayor proporción y muestra propiedades físicas y químicas con distintas aplicaciones industriales. Su utilidad puede ser ampliada y optimizada si a partir de la celulosa se extraen nanoestructuras de mayor valor agregado como lo son los nanocristales de celulosa (CNC) y la celulosa nanofibrilar (CNF). En esta investigación, se buscó extraer la CNF a partir de la PALF y se caracterizó, con el fin de generar información sobre sus propiedades, para que en estudios posteriores se amplíen o mejoren sus posibles aplicaciones. Se logró obtener CNF de PALF blanqueada y sin blanquear, lo cual es un gran avance ya que se pudo estudiar cómo la presencia de la lignina afecta las propiedades de las nanofibras. Estas se produjeron mediante un pretratamiento oxidativo mediado por un agente oxidante selectivo 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo llamado TEMPO el cual logró convertir una porción de los alcoholes presentes en la celobiosa, unidad repetitiva de la celulosa, en carboxilatos y/o aldehídos y se comprobó que la lignina produce un efecto protector al disminuir el porcentaje de unidades oxidadas para las fibras que no se blanquean. Se determinó que la utilización de tratamientos mecánicos de desfibrilación como lo son la microfluidización y la molienda de fricción ultrafina producen mejoras en las propiedades de la CNF como lo son: una mayor cantidad de zonas moleculares ordenadas (cristalinidad), altas temperaturas de degradación inicial, un porcentaje de oxidación por TEMPO menor y cargas superficiales más homogéneas.

## Introducción

En Costa Rica se ha dado un crecimiento en el sector agroindustrial, principalmente en productos como el banano y la piña, dando como resultado la ubicación del país como uno de los principales productores de piña a nivel mundial, alcanzando un valor de producción promedio alrededor de 3.5 millones de toneladas. La piña es el tercer producto de principal exportación en el país, ocupando aproximadamente 45 000 hectáreas del territorio nacional para su producción (Canapep, 2019; PROCOMER, 2019). Los datos reportados para Costa Rica por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) muestran que los desechos de la producción de piña como el rastrojo, el cual corresponde al material vegetal de la planta, alcanzaron aproximadamente 13.5 millones de toneladas de residuos en el 2018, esto considerando que se generan cerca de 300 toneladas de hojas y tallo por hectárea de cultivo (Nennie y De Boer, 2018).

Los desechos de las hojas de piña son un problema ambiental debido a su volumen y su lenta degradación, por lo que se recurre al uso de herbicidas tóxicos como el dicloruro de dimetil-4,4'-bipiridilo (Paraquat) para secarlo y posteriormente incinerarlo. La toxicidad del Paraquat es acumulativa, contamina los suelos, amenazando el uso futuro de los mismos y al mismo mercado de la agroindustria (Araya, 1998). Por dicha razón en Costa Rica se han buscado metodologías para utilizar este residuo y se ha encontrado que puede aplicarse en la obtención de pulpa con el objetivo de producir papel o como refuerzo para resinas de poliéster (Alvarado et al., 2005). Siguiendo esta línea de investigación se planea aprovechar la celulosa presente en las hojas del rastrojo de piña para extraer nanofibras, con el fin de darles futuras aplicaciones.

Se han realizado distintas investigaciones a nivel internacional para la utilización de residuos vegetales con el fin de obtener celulosa nanofibrilar (CNF) de bajo costo, como lo son: el tallo del kenaf, los residuos del bambú, los racimos de la palma de aceite y las hojas de piña (agregar hojas de piña) (Cherian et al., 2010). Por su parte en Costa Rica únicamente se ha reportado la extracción microcristales de celulosa (CMC) a partir del rastrojo de piña, a través de un tratamiento químico que consiste en tratar el residuo con hidróxido de sodio, luego secar y poner en reflujo con ácido

clorhídrico para al final filtrar y neutralizar. Si la CMC se sigue tratando con ácido sulfúrico en reflujo se puede obtener celulosa nanocristalina (CNC) (Moreno et al., 2017). Como se ha mencionado la biomasa generada en la producción de piña es una fuente de materia prima que puede generar productos de mayor valor agregado con diversas aplicaciones, uno de ellos es la obtención de CNF (Dufresne, 2012). Para esto después de la reacción con hidróxido de sodio y el blanqueo de las fibras se realiza un tratamiento mecánico de alta fuerza de cizallamiento con el fin de dispersar las nanofibras de celulosa, que requiere un alto consumo energético porque se necesitan varios ciclos, y además se puede dar una degradación de la CNF, afectando sus propiedades mecánicas, térmicas y morfológicas (Dufresne, 2012). En este capítulo se mostrará el trabajo realizado en colaboración entre Universidad Nacional de Costa Rica la Universidad de Guadalajara de México y la Universidad de Aalto de Finlandia en donde se trabajó con utilizar la oxidación mediada por TEMPO como pretratamiento para minimizar los consumos de reactivos y facilitar la nanofibrilación de celulosa obtenida del rastrojo de la piña con un procesamiento mecánico. La principal ventaja de esta oxidación controlada es que afecta levemente, o no genera cambios del todo, a la morfología ni la cristalinidad de las fibras ya que la reacción se lleva a cabo en la superficie, principalmente en el grupo hidroxilo del carbono 6 de la glucosa. Esto potencia la posibilidad de poder dispersar las nanofibras porque se repelen entre ellas gracias a la repulsión electrostática generada por la formación de grupos aniónicos carboxilatos en la superficie. Cabe resaltar que esta técnica se ha aplicado con éxito en matrices como la celulosa bacteriana, fibras de algodón y pulpa de madera blanqueada con sulfito. Adicional a esto se presentan resultados sobre el uso de celulosa de piña blanqueada y sin blanquear para obtener celulosa nanofibrilar y potenciar sus aplicaciones como un biomaterial.

### **Composición de las hojas del rastrojo de piña**

En los países tropicales como Costa Rica, la agroindustria produce plantas fibrosas disponibles en grandes cantidades donde sus hojas son un producto de desecho. Por lo tanto, las fibras de hojas de piña (PALF) se puede

obtener para fines comerciales con un bajo costo en cuanto a materia prima. La PALF es una fibra natural importante, que exhibe una alta resistencia específica y rigidez. Estas tienen una estructura alargada y consisten en un sistema de haces vasculares presentes en forma de conglomerados de células fibrosas (Figura 1a). Las fibras se pueden obtener por la eliminación mecánica de todos los tejidos epidérmicos y se caracterizan por ser muy higroscópicas, relativamente baratas, abundantemente disponibles y tener propiedades mecánicas superiores (Figura 1b). Estas últimas están asociadas a un alto contenido de celulosa y un ángulo microfibrilar comparativamente bajo ( $14^\circ$ ) (Cherian et al., 2010).



Figura 1. Rastrojo de la Piña: a) Hojas del rastrojo de piña y b) Fibras de hojas de piña (PALF) (Araya Chavarría, 2021)

Las PALF poseen características muy prometedoras al estar húmedas, pero si se secan, pueden pasar por un proceso denominado hornificación, al igual que cualquier otro material vegetal se vuelven rígidas, con una capacidad de retención de agua pobre, baja capacidad de dispersión y propiedades mecánicas reducidas (Kekäläinen et al., 2014). Los efectos de este fenómeno se reflejan en cambios morfológicos en la distribución del tamaño de los poros, debido al colapso y cierre de los mismos, por lo que se ha reportado que esta transformación es irreversible y el procedimiento

de rehumedecer no restaura todas las propiedades iniciales. Las razones químicas subyacentes radican en la formación de enlaces de hidrógeno entre las superficies de celulosa, lo que mejora la unión entre sus partes y provoca esta modificación estructural, ver Figura 2. Esto ocasiona que sea mejor realizar cualquier extracción sin exponer el material a altas temperaturas.

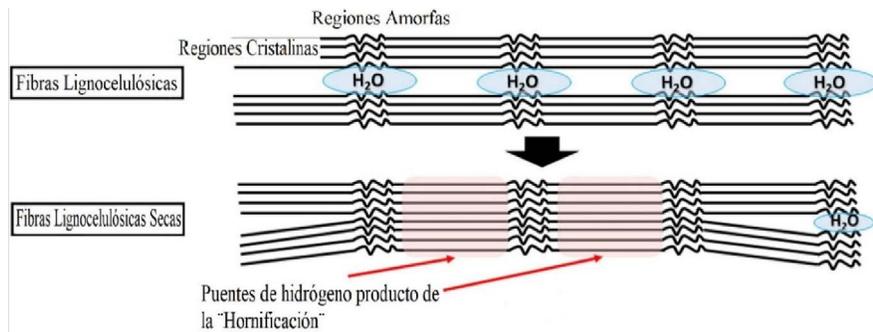


Figura 2. Proceso de formación de puentes de hidrógeno producto de la hornificación (Hideno et al., 2016)

Los componentes generales presentes en las PALF son la celulosa, las hemicelulosas, las ligninas, pectinas, ceras y sustancias solubles en agua. Es necesario definir las primeras tres ya que son las que se encuentran en mayor proporción dentro de la PALF, son los materiales con mayor aprovechamiento si se extraen y determinan la mayoría de sus propiedades (Lopattananon et al., 2006). La celulosa es un homopolisacárido no ramificado constituido por unidades de  $\beta$ -D-glucopiranosas, es insoluble en agua y se encuentra en la pared celular de las plantas. Se considera la biomolécula orgánica más abundante en la superficie del planeta Tierra, ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre, estando presente en plantas, bacterias, hongos, algas e incluso animales (O'Sullivan, 1997). Las hemicelulosas son definidas como polisacáridos de bajo peso molecular que contienen comúnmente D-xilosa, D-manosa, D-galactosa, D-glucosa y L-arabinosa, donde su estructura amorfa y altamente ramificada le permite una fácil conversión en diferentes compuestos (Puls, 1997)EndNote>. El xilano es la hemicelulosa más abundante en la naturaleza y consiste en residuos de  $\alpha$ -D-xilopiranosas (xilosa) unidos mediante enlaces glucosídicos -1-4. Tam-

bién podrían unirse otras unidades químicas como arabinosa o ácido glucurónico a la cadena principal del xylano produciendo subcategorías como el homoxilano, arabinoxilano, glucuronoxilano y arabinoglucuronoxilano (Banerjee et al., 2018). La lignina consiste en heteropolímeros aromáticos complejos que endurecen y fortifican las paredes celulares gracias a que generan una matriz densa que une las fibras de celulosa, está presente en las plantas vasculares y como muchos componentes de la biomasa se forma durante las reacciones producidas por la fotosíntesis (Martone et al., 2009). Estructuralmente la lignina no se ha definido claramente porque su estructura variable y compleja afecta su aislamiento y caracterización. La naturaleza de sus múltiples unidades constituyentes, las cuales no suelen repetirse de forma regular, afecta su estructura generando variaciones que dependen de su origen y el método de extracción o purificación utilizado (Mandal et al., 2023).

### *Pretratamiento de oxidación mediado por TEMPO*

El pretratamiento más utilizado en la actualidad para preparar celulosa nanofibrilar es la oxidación mediada por TEMPO (Isogai et al., 2011). Este pretratamiento consiste en disolver cantidades específicas de TEMPO y bromuro de sodio (NaBr) en disoluciones de polisacáridos a pH 10-11, para luego iniciar la reacción al agregar hipoclorito de sodio (NaClO) como oxidante, esto ocasiona que los grupos hidroxilos primarios se transformen en aldehídos (-CHO) y posteriormente en grupos carboxilato (-COO-) si la condiciones son las indicadas. Para comprobar que la modificación química se llevó a cabo con éxito se pueden realizar dos análisis, el primero es la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), con la cual se observa la presencia del grupo carbonilo en la estructura y entre más efectiva sea la oxidación mayor será la absorbancia; y el segundo es la titulación conductimétrica que genera un dato cuantitativo del contenido de grupos carboxilatos y carbonilos de aldehídos (Saito et al., 2006).

Para el caso de la celulosa, la reacción es selectiva ya que se lleva a cabo solo en los hidroxilos del carbono 6 de los monómeros que se encuentren en la superficie de las nanofibrillas de la celulosa como se observa en la

Figura 3. El proceso de oxidación se puede controlar a partir del consumo de hidróxido de sodio, que se agrega reiteradamente a la mezcla de reacción para mantener un pH de 10 durante la modificación química (Isogai et al., 2011).

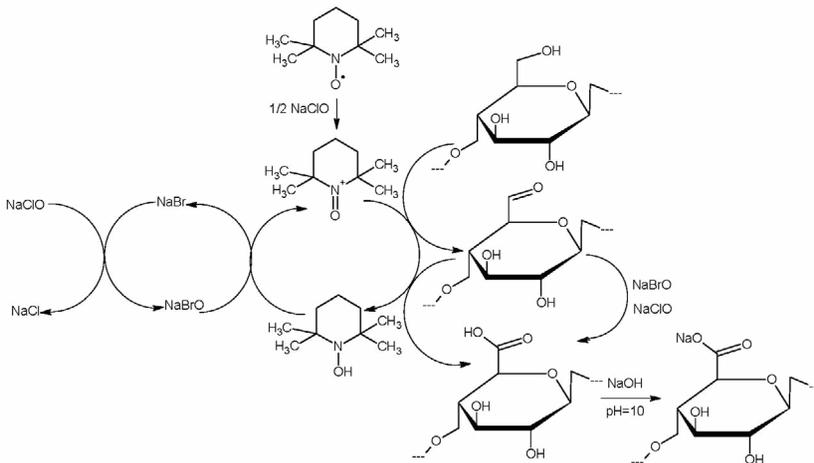


Figura 3. Oxidación regioselectiva, de hidroxilos primarios C6 de la celulosa a grupos carboxilatos, mediada por TEMPO / NaBr / NaClO en agua a pH 10-11 (Isogai et al., 2011)

Un aspecto muy importante del pretratamiento de oxidación mediada por TEMPO es que la morfología de las fibras de celulosa se mantiene inalterada por que la reacción se lleva a cabo sobre la superficie, esto ocasiona que se carguen negativamente, generando repulsión electrostática y facilitando su nanofibrilación mecánica. Además, a pH con valores cercanos a 10 se alcanzan las condiciones óptimas para obtener nanofibras con anchos de 3 nm a 5 nm y pocas micras de longitud, facilitando además la remoción de hemicelulosas que se oxidan en fracciones pequeñas más solubles (Saito et al., 2006).

Por último, se ha reportado que la celulosa que nunca se ha secado y la que se expuso a un proceso de hornificación producen CNF similar en la oxidación mediada por TEMPO, esto si la densidad de carga producto de los grupos carboxilatos en ambas es lo suficientemente alta. La mayor diferencia recae en que tratar las muestras húmedas genera que sea más fá-

cil dispersar las nanofibras obtenidas, aun si estas cuentan con una menor cantidad de grupos oxidados (Kekäläinen et al., 2014).

### *Métodos mecánicos para la nanofibrilación de las fibras de celulosa de piña*

Para lograr la obtención de celulosa a partir de material vegetal, primero se debe desestructurar para obtener fibras, por ejemplo: las hojas del rastrojo de piña se deben decorticar para lograr dicho objetivo, estas se dispersan en una disolución de hidróxido de sodio con calentamiento, posteriormente el sólido obtenido se filtra y se lava con agua para eliminar los polisacáridos solubles. El blanqueo se realiza con una disolución que contiene clorito de sodio y un buffer, mientras se agita mecánicamente (Araya-Chavarría et al., 2022). Con este tratamiento se eliminan la mayoría de las ligninas, otros polifenoles, hemicelulosas y proteínas, obteniendo fibrillas individualizadas de las cuales se puede extraer CNF a partir de alguno de los métodos mecánicos existentes, que se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. *Procesos mecánico para la nanofibrilación de celulosa (Dufresne, 2012)*

<b>Técnica</b>	<b>Descripción</b>	<b>Inconvenientes</b>
Homogeneización a alta presión	Bombee con una alta presión las suspensiones de fibras individualizadas a través de dos placas que se abren y cierran con gran velocidad donde el material vegetal está expuesto a una gran caída de presión, con fuerzas de cizallamiento e impacto muy altas, ocasionando su hinchamiento y desestructuración. Este es el método más utilizado por su alto rendimiento y también se conoce como microfluidización.	Se requieren muchas repeticiones para obtener CNF. Altos consumos de energía. Puede degradar las fibras.
Molienda	La materia prima se coloca en una tolva cuyo final llega a dos discos de molienda, superior e inferior, y mientras que el primero está fijo la otra gira a alta velocidad para someter las fibras a una alta fricción.	Degradación de las fibras de la pulpa. Se genera una gran cantidad de CMF (funciona como pretratamiento).

Técnica	Descripción	Inconvenientes
Crio-trituración	Se sumerge una solución de fibras en nitrógeno líquido para congelar el agua, la muestra congelada se tritura posteriormente con un mortero de hierro fundido, lo que produce que los cristales de hielo ejerzan la presión suficiente para provocar la liberación de fibrillas.	El diámetro de las fibrillas obtenidas oscila entre 0,1 y 1 micrómetro (CMF), pero se puede utilizar como tratamiento previo.
Ultrasonido de alta intensidad	Se genera electrónicamente una alta frecuencia, esta se transforma en energía mecánica gracias a una sonda de metal que oscila a altas velocidades. La sonda se coloca en la muestra y al oscilar produce una alta presión localizada, gracias a fenómenos de cavitación, formación, expansión e implosión de burbujas de gas microscópicas por la absorción de energía de las moléculas del líquido.	Generación de calor. Altos niveles de ruido. Variabilidad del rendimiento. Generación de radicales libres. Siempre se obtiene una mezcla de fibrillas a nano y microescala.

En la Figura 4, se muestra el proceso seguido desde las fibras de piña hasta obtener la CNF (Araya-Chavarría et al., 2022). Las hojas del rastrojo de piña fueron recolectadas en la zona de cultivo ubicada en Sarapiquí en Costa Rica. En la imagen Figura 4a se observa las fibras luego de que se pasaron a través de una decorticadora para remover su haz y envés con el fin de producir PALF. La celulosa de PALF blanqueada y sin blanquear se exponen a una oxidación mediada por TEMPO y se desestructuran con un homogeneizador mecánico llamado Masuko Grinder obteniendo una mezcla de micro y nanofibrillas. Ambas celulosas de piña blanqueada y sin blanquear se hacen finalmente pasar por otro equipo mecánico llamado microfluidizador para obtener celulosa nanofibrilar sin blanquear (CNF-SB) y celulosa nanofibrilar blanqueada (CNF-B). Los tratamientos mecánicos permiten aumentar el rendimiento en la obtención de CNF y generan ciertos cambios en las características de las fibras como su longitud, diámetro y propiedades químicas.

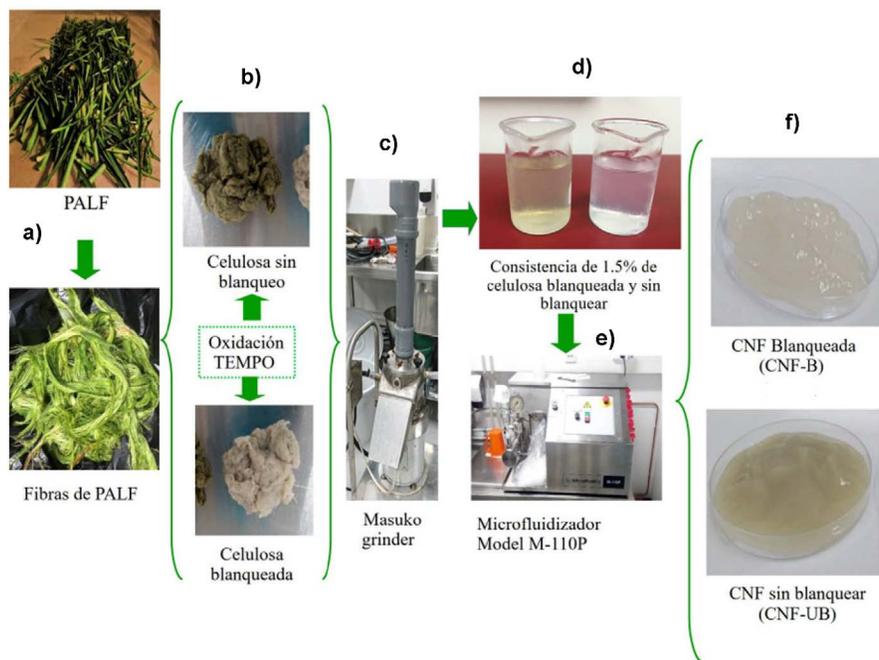


Figura 4. Etapas de obtención de CNF a partir del rastrojo de piña utilizando microfluidización: a) separación de la PALF, b) extracción de la celulosa, c) fibrilación con Masuko grinder, d) microfibras sin blanquear y blanqueadas, e) tratamiento de microfluidización y f) CNF-B y CNF-UB Tomado de (Araya-Chavarria et al., 2022)

Es importante resaltar que a través de todos los procedimientos realizados tanto la PALF como las fibras de celulosa no se sometieron a tratamientos de hornificación, esto ocasionó que las muestras al estar húmedas tuvieran que pasar en más repeticiones que si estuvieran secas por el molino ultrafino antes de pasar al microfluidizador, generando una disminución en la eficiencia energética del proceso. Igual la microfluidización permitió mayores rendimientos en la obtención de CNF si se compara con el método que no uso este tratamiento, como era de esperarse.

Para llevar a cabo la caracterización de los materiales obtenidos (CNF-SB, CNF-B) la microscopía de fuerza atómica (AFM), la titulación conductimétrica y la medición del Z-potencial se efectuaron con el material disperso en agua. Adicionalmente, se procedió a la preparación de películas, y con estas se llevaron a cabo análisis sin la interferencia ocasionada

por el agua, ya que la presencia de esta genera desviación en los resultados y una menor apreciación de estos. Se abordará en primera instancia la preparación de las películas y posteriormente la caracterización de ellas y las suspensiones de CNF.

### Caracterización de la CNF del rastrojo de piña

Se utilizó la espectroscopía infrarroja, que ayuda a elucidar la estructura química tanto en materiales sintéticos como naturales, para caracterizar las películas de las muestras obtenidas y así verificar los cambios químicos que ocurren en la extracción de CNF a partir de residuos vegetales de la industria piñera, utilizando pretratamientos químicos como lo es la oxidación mediada por TEMPO. Los espectros FTIR de las películas de las muestras sin blanquear (CNF-SB, CNF-SB-MF y PALF) se muestran en la Figura 5 (a) y los de las blanqueadas (CNF-B, CNF-B-MF y celulosa) en la Figura 5 (b).

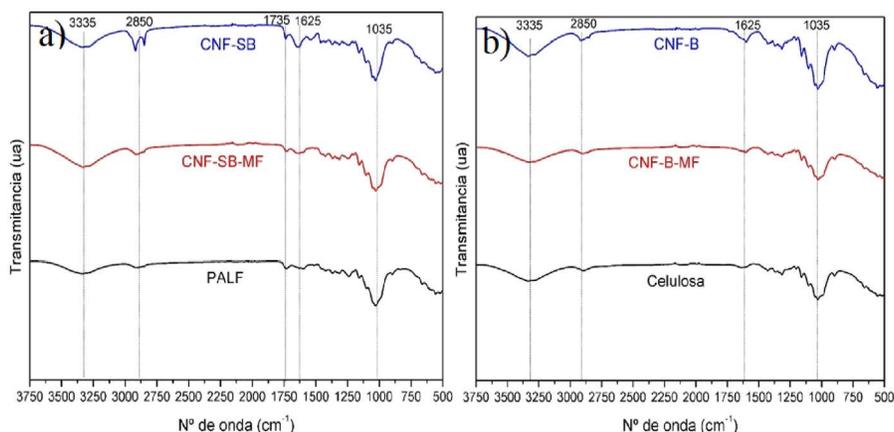


Figura 5. Espectroscopía FTIR de a) CNF-SB, CNF-SB-MF y PALF; y b) CNF-B, CNF-B-MF y celulosa (Araya Chavarria, 2021)

En todos ellos se observan señales características que están asociadas al componente en mayor proporción dentro de su composición, la celulosa. Están las bandas anchas a  $3335\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a grupos OH libres en las unidades de celobiosa, la absorción del estiramiento C–H entre

2900-2800  $\text{cm}^{-1}$  y los picos en la región 1200–950  $\text{cm}^{-1}$  que se deben al estiramiento C–O. La señal a 1734  $\text{cm}^{-1}$  en los espectros de las muestras sin blanquear está asociado con el estiramiento C=O del grupo acetilo en las hemicelulosas o a los ácidos p-cumarílicos de lignina y/o hemicelulosa (Araya-Chavarría et al., 2022). Es importante indicar que esta señal desapareció completamente de los espectros de las muestras blanqueadas por la ausencia de lignina y probablemente de las hemicelulosas. Como se explicó previamente, el tratamiento con hidróxido de sodio y posterior blanqueo permite una despolimerización de la lignina promoviendo su remoción, a su vez el de las hemicelulosas ya que quedan expuestas por lo que son más sensibles a los tratamientos químicos y mecánicos (Alemdar y Sain, 2008).

La técnica FTIR se puede utilizar como un método directo para evaluar los cambios estructurales que han ocurrido en la celulosa después de la oxidación mediada por TEMPO, ya que se puede seguir la señal alrededor de 1605  $\text{cm}^{-1}$  en los espectros de las muestras oxidadas (CNF-SB, CNF-SB-MF, CNF-B, CNF-B-MF), cuya absorbancia es mayor que su material de partida (PALF o celulosa) y que corresponde a grupos carboxilato en su forma de sal sódica, esperados que se formen con este tratamiento químico (Coseri et al., 2015). Se destaca que en el espectro de celulosa la banda mencionada es achatada ya que este material no fue oxidado por lo que no debería tener transiciones importantes a este número de onda. Para el caso de la CNF-SB, CNF-SB-MF y la PALF dicha señal también puede corresponder a los anillos aromáticos presentes en la lignina, por lo tanto, el análisis infrarrojo no es concluyente para estas muestras y la oxidación se corroboró con una titulación conductimétrica (Rashid et al., 2016).

Tabla 2. Determinación del grado de oxidación y la eficiencia de la reacción en la obtención de CNF a partir de PALF utilizando un pretratamiento químico con TEMPO (Arya Chavarría, 2021)

	Contenido de COONa (mmol/g)	Contenido de CHO (mmol/g)	Grado de oxidación (%)	Eficiencia
CNF-B	0.39±0,02	0.39±0,02	20±2	0.98±0,07
CNF-SB	0.36±0,02	0.17±0,01	15±2	0.74±0,06
CNF-B-MF	0.32±0,01	0.19±0,01	12±1	0.69±0,04
CNF-SB-MF	0.21±0,01	0.19±0,01	9±1	0.52±0,04

de CNF a  
(021)

encia

±0,07

±0,06

±0,04

±0,04

Es importante resaltar que la oxidación mediada por TEMPO tiende a ocurrir en las zonas amorfas, secciones no cristalinas, de la celulosa y en las hemicelulosas por ser más accesibles para los reactivos químicos, además la lignina genera un efecto barrera en los materiales lignocelulósicos que disminuye la efectividad de las reacciones (Chen et al., 2017). Como se puede observar en la Tabla 2 la CNF-B posee mayor grado de oxidación, eficiencia y cantidad de grupos carboxilatos (-COO) y aldehídos (-CHO) generados durante el proceso oxidativo, por lo que es correcto afirmar que dichos valores son directamente proporcionales entre sí. Le sigue la CNF-SB que, a pesar de contener lignina por su baja cristalinidad (ver Tabla 3), y su contenido de hemicelulosas supera ligeramente a la CNF-B-MF que es mayoritariamente celulosa cristalina. De último aparece la CNF-SB-MF con un considerable porcentaje de lignina y una menor cantidad de secciones amorfas en comparación a las muestras que no pasaron por el microfluidizador.

En la Tabla 3 se puede observar el índice de cristalinidad aparente para las muestras de CNF obtenidas. Si se compara la CNF-B (53.07 %) y la CNF-SB (36.98 %) con sus materiales de partida, celulosa (59.60 %) y PALF (52.30 %) respectivamente, se observa que el Ic obtenido disminuyó, coincidiendo con lo encontrado anteriormente donde la utilización de TEMPO y la homogeneización mecánica puede generar un descenso en la cristalinidad de ciertas fuentes vegetales como lo es el cultivo de arroz,

la madera dura y el algodón (Jiang y Hsieh, 2013). Esto sugiere que dicha reacción también se lleva a cabo en las zonas cristalinas fomentando su desestructuración mecánica.

Tabla 3. Índice de cristalinidad ( $I_c$ ) y potencial Z de CNF de celulosa de rastrojo de piña (Araya Chavarría, 2021)

Muestra	Índice de cristalinidad (%)	Potencial zeta (mV)
PALF	52.30	No se aplicó
Celulosa	59.60	No se aplicó
CNF-SB	36.98	-44.3±6.55
CNF-SB-MF	59.38	-36.4±9.34
CNF-B	53.07	-39.2±4.62
CNF-B-MF	64.40	-30.7±7.95

La remoción de las ligninas y hemicelulosas ocasiona que las muestras blanqueadas tengan un mayor grado de cristalinidad que sus contrapartes no blanqueadas, ya que dichos compuestos se caracterizan por su acomodo aleatorio alrededor de la celulosa. Las señales que son utilizadas para determinar el  $I_c$  de las muestras se pueden verificar en los difractogramas, alrededor de  $2\theta=15^\circ$  y  $2\theta=20^\circ$  características de la celulosa II en el plano reticular [101] (Segal et al., 1959). Se destaca que las muestras sometidas al microfluidizador son las que presentan mayor grado de cristalinidad, CNF-SB-MF con 59.38 % y CNF-B-MF con 64.40 %, dicho comportamiento se ha reportado en la cáscara de banano y el bagazo de la caña de azúcar donde al aumentar la cantidad de pases a través del homogeneizador de alta presión aumentó considerablemente la cristalinidad lo cual parece indicar que las zonas amorfas son susceptibles a desestructurarse si fueron tratadas químicamente con antelación (Saelee et al., 2016; Tibolla et al., 2019). Al usar un procedimiento similar al aplicado en la PALF, pero en madera suave, se reportó una ligera disminución en la cristalinidad, por lo que es importante aclarar que esta prueba no es concluyente y existe la posibilidad de que el acomodo de las cadenas celulósicas dentro del material de partida sea quien promueve la desestructuración de unas zonas por

encima de otras (Tanaka et al., 2012). La presencia de los grupos carboxilatos sobre las fibras ocasiona que estas posean una carga superficial la cual puede ser medida, aproximadamente ya que las partículas no son esféricas, mediante su Z-potencial como se puede ver en la Tabla 3. Se indica que la CNF-B (-44.3mV) tiene más repulsión electrostática entre sus partículas adyacentes. Esto está relacionado con la más alta grado de oxidación del CNF-B ya que tiene un mayor número de grupos carboxilato y por lo tanto la mayor repulsión entre nanofibras (Araya-Chavarría et al., 2022).

La nanofibrilación es un proceso mecánico que permite la desestructuración de fibras en componentes más pequeños como se puede observar en la imagen de microscopía de fuerza atómica (AFM) de la Figura 6, donde se presenta como una microfibra se empieza a desenrollar en unas nanofibrilla de 20-40 nm de ancho y a su vez se desprenden otras muchas más delgadas (1-5 nm) de su superficie, esto efecto del tratamiento realizado a las fibras con el microfluidizador.

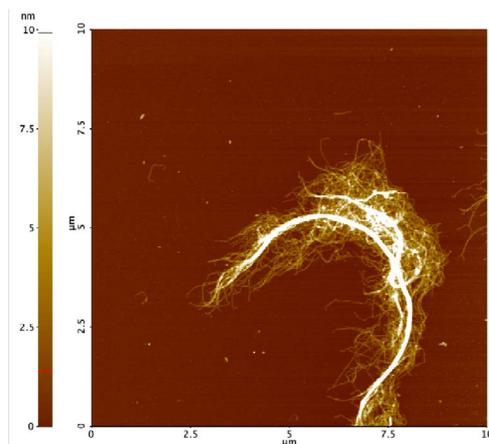


Figura 6. Imagen de  $10 \times 10 \mu\text{m}$  en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de CNF-B-MF (Araya Chavarría, 2021)

En la Figura 7 y la Tabla 4 se puede observar componentes más pequeños y a partir de estas imágenes de AFM se determina la morfología del producto obtenido. De acuerdo con esto, se encontraron diámetros entre 3 nm y 5 nm, lo que demuestra que los tratamientos fueron efectivos en la producción de materiales a nanoescala a partir de fibras PALF. El

CNF-B era más delgado, con diámetros promedio de  $15.5 \pm 6.1$  nm en comparación con el CNF-UB,  $47.9 \pm 10.4$  nm. Los diámetros de CNF-B fueron similares a los de las nanofibras aisladas de cáscaras de plátano (12 a 22 nm) y menores que los de otras estructuras nanométricas derivadas de otras fuentes, como nanofibras de paja de arroz (12 a 35 nm), paja de trigo (15 –35 nm) y bagazo de caña de azúcar (30 nm) (Tibolla et al., 2019).

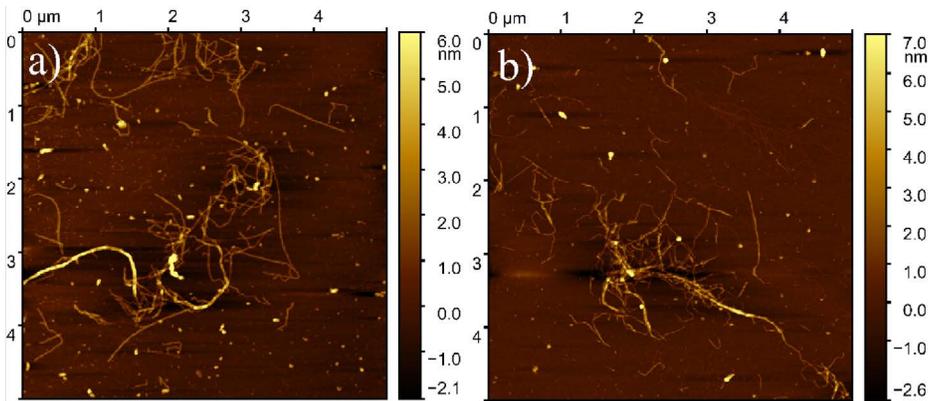


Figura 7. Imágenes de  $5 \times 5 \mu\text{m}$  en 2D obtenidas por AFM con el modo no contacto de: a) CNF-B-MF y b) CNF-SB-MF (Araya Chavarría, 2021)

Tabla 4. Dimensiones de las nanofibras obtenidas a partir de PALF (Araya Chavarría, 2021)

Muestra	Tamaño de fibra		Relación de aspecto, L/D
	Longitud, L ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro, D (nm)	
CNF-B	$1.09 \pm 0.37$	$3.2 \pm 1.0$	337
CNF-SB	$1.07 \pm 0.32$	$4.3 \pm 1.6$	249
CNF-B-MF	$0.98 \pm 0.31$	$3.4 \pm 1.9$	288
CNF-SB-MF	$1.13 \pm 0.50$	$5.2 \pm 2.0$	216

Las propiedades de degradación térmica, se pueden observar en la Figura 8. El punto máximo de descomposición térmica se observa en la curva

de la derivada del termograma (DTG) a 293 °C para PALF; este valor es menor para la celulosa (321 °C), debido a la extracción de hemicelulosa, lignina y pectinas que se degradan a menor temperatura (Wenshuai et al., 2011). En las curvas DTG se pueden observar dos señales a 261 °C y 321 °C para la muestra CNF-B y a 273 °C y 317 °C para la muestra CNF-UB. Estas señales se atribuyen principalmente a la degradación inicial de las unidades de anhidroglucuronato de sodio que se forman durante la oxidación TEMPO, seguida de la descomposición del resto de la celulosa. La última señal DTG en ambos espectros es similar a la termografía de la celulosa. Esto se debe a que el anhidroglucuronato es más inestable térmicamente lo que genera un efecto en cadena haciendo que las unidades de celobiosa se degraden a menor temperatura (Isogai et al., 2011).

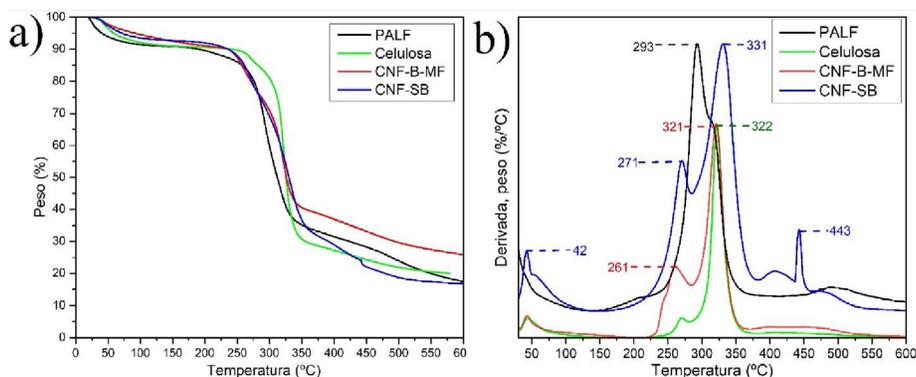


Figura 8. Termogramas TGA (a) y curvas DTG (b) de PALF, celulosa, CNF-B-MF y CNF-SB (Araya Chavarría, 2021)

## Conclusiones

Las NFC se obtuvieron a partir de residuos de piña mediante oxidación TEMPO de celulosa blanqueada y sin blanquear seguida de tratamientos mecánicos. Los resultados indicaron que PALF es una fuente adecuada para la obtención de NFC. Las NFC blanqueadas y sin blanquear presentaron características similares, lo que implica que en el proceso de producción es posible reducir la cantidad de químicos blanqueantes y utilizar únicamente el proceso de oxidación TEMPO, ya que solo se utilizarán 0.1

mmol de TEMPO por cada gramo de celulosa. La modificación química con TEMPO facilita la microfibrilación de las fibras de celulosa, reduciendo los pasos que realiza el equipo y reduciendo la energía consumida por el sistema mecánico. Las características encontradas en las nanofibras de celulosa de piña hacen que este nanomaterial pueda tener diversas aplicaciones, como elaboración de materiales compuestos, en forma de capas delgadas recubiertas en películas laminadas para productos genéricos y de vanguardia, también como posibles aditivos o recubrimientos de extremo húmedo para mejorar las propiedades de cartón en la industria del papel y embalaje.

## Referencias

- Alemdar, A., & Sain, M. (2008). Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues—Wheat straw and soy hulls. *Biore-source Technology*, *99*, 664–1671. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.029>
- Alvarado, P., Quesada, K., Sibaja, R., & Vega, J. (2005). Utilización de las fibras del rastrojo de piña (*Ananas comusus*, variedad champaka) como material de refuerzo en resinas de poliéster. *Revista Iberoamericana de Polímeros* *6*(2), 23.
- Araya-Chavarría, K., Rojas, R., Ramírez-Amador, K., Sulbarán-Rangel, B., Rojas, O., & Esquivel-Alfaro, M. (2022). Cellulose Nanofibers as Functional Biomaterial from Pineapple Stubbles via TEMPO Oxidation and Mechanical Process. *Waste and Biomass Valorization*, *13*(3), 1749-1758. doi:<https://doi.org/10.1007/s12649-021-01619-3>
- Araya Chavarría, K. (2021). *Nanofibrilación de celulosa extraída a partir del rastrojo de la piña* (*Ananas comusus*). (Licenciatura en Química Industrial), Universidad Nacional Costa Rica.
- Araya, R. (1998). *Utilización del rastrojo de piña (Ananas comusus) para la obtención de pulpa para la producción de papel*. Disponible en: <https://ruie.ucr.ac.cr/catalogo/Record/INII-CEDI-CD-25132/Details>
- Banerjee, S., Ranganathan, V., Patti, A., & Arora, A. (2018). Valorisation of pineapple wastes for food and therapeutic applications. *Trends in Food Science & Technology*, *82*, 60-70. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.024>

- Canapep. (2019). *Estadísticas de la Camara Nacional de Productores y Exportadores de Piña*. Disponible en: <https://canapep.com/estadisticas/>
- Chen, Y., Geng, B., Ru, J., Tong, C., Liu, H., & Chen, J. (2017). Comparative characteristics of TEMPO-oxidized cellulose nanofibers and resulting nanopapers from bamboo, softwood, and hardwood pulps. *Cellulose*, 24(11), 4831-4844. doi:<https://doi.org/10.1007/s10570-017-1478-4>
- Cherian, B. M., Leão, A. L., De Souza, S. F., Thomas, S., Pothan, L. A., & Kottaisamy, M. (2010). Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. *Carbohydrate Polymers*, 81, 720–725. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.03.046>
- Coseri, S., Biliuta, G., Zemljič, L. F., Srndovic, J. S., Larsson, P. T., Strnad, S., Kreže, T., Naderi, A., & Lindström, T. (2015). One-shot carboxylation of microcrystalline cellulose in the presence of nitroxyl radicals and sodium periodate. *RSC Advances*, 5(104), 85889-85897. doi:<https://doi.org/10.1039/C5RA16183E>
- Dufresne, A. (2012). Preparation of microfibrillated cellulose. En *Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials*. Berlin, Boston: De Gruyter.
- Hideno, A., Abe, K., Uchimura, H., & Yano, H. (2016). Preparation by combined enzymatic and mechanical treatment and characterization of nanofibrillated cotton fibers. *Cellulose*, 23(6), 3639-3651. doi:<https://doi.org/10.1007/s10570-016-1075-y>
- Isogai, A., Saito, T., & Fukuzumi, H. (2011). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, 1. doi:<https://doi.org/10.1039/c0nr00583e>
- Jiang, F., & Hsieh, Y.-L. (2013). Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structures. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 32-40. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.022>
- Kekäläinen, K., Liimatainen, H., Illikainen, M., Maloney, T. C., & Niinimäki, J. (2014). The role of hornification in the disintegration behaviour of TEMPO-oxidized bleached hardwood fibres in a high-shear homogenizer. *Cellulose*, 21(3), 1163-1174. doi:<https://doi.org/10.1007/s10570-014-0210-x>
- Lopattananon, N., Panawarangkul, K., Sahakaro, K., & Ellis, B. (2006). Performance of pineapple leaf fiber-natural rubber composites: The

- effect of fiber surface treatments. *Journal of Applied Polymer Science*, 102, 974–1984. doi:<https://doi.org/10.1002/app.24584>
- Mandal, D. D., Singh, G., Majumdar, S., & Chanda, P. (2023). Challenges in developing strategies for the valorization of lignin—a major pollutant of the paper mill industry. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(5), 11119–11140. doi:<https://doi.org/10.1007/s11356-022-24022-4>
- Martone, P. T., Estevez, J. M., Lu, F., Ruel, K., Denny, M. W., Somerville, C., & Ralph, J. (2009). Discovery of lignin in seaweed reveals convergent evolution of cell-wall architecture. *Current Biology*, 19, 169–175. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.12.031>
- Moreno, G., Ramirez, K., Esquivel, M., & Jimenez, G. (2017). Isolation and characterization of nanocellulose obtained from industrial crop waste resources by using mild acid hydrolysis. *Journal of Renewable Materials*, 6(4), 1–8. doi:<https://doi.org/10.7569/JRM.2017.634167>
- Nennie, I., & De Boer, H. (2018). *Sustainable Pineapple Costa Rica Market Study*. Disponible en: <https://www.rvo.nl/sites/default/files/2018/06/sustainable-pineapple-costa-rica-market-study.pdf>
- O’Sullivan, A. (1997). Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, 4, 173–207. doi:<https://doi.org/10.1023/A:1018431705579>
- PROCOMER. (2019). *Exportaciones de Portal Estadístico de Comercio Exterior*. Disponible en: <http://sistemas.procomer.go.cr/estadisticas/inicio.aspx>
- Puls, J. (1997). Chemistry and biochemistry of hemicelluloses: Relationship between hemicellulose structure and enzymes required for hydrolysis. *Macromolecular Symposia*, 120(1). doi: <https://doi.org/10.1002/masy.19971200119>
- Rashid, T., Kait, C. F., & Murugesan, T. (2016). A “Fourier Transformed Infrared” Compound Study of Lignin Recovered from a Formic Acid Process. *Procedia Engineering*, 148, 1312–1319. doi:<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.06.547>
- Saelee, K., Yingkamhaeng, N., Nimchua, T., & Sukyai, P. (2016). An environmentally friendly xylanase-assisted pretreatment for cellulose nanofibrils isolation from sugarcane bagasse by high-pressure homogenization. *Industrial Crops and Products*, 82, 149–160. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.064>

- Saito, T., Nishiyama, Y., Putaux, J. L., Vignon, M., & Isogai, A. (2006). Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules*, 6(7). doi:<https://doi.org/10.1021/bm060154s>
- Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E., & Conrad, C. M. (1959). An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Textile Research Journal*, 29(10), 786-794. doi:<https://doi.org/10.1177/004051755902901003>
- Tanaka, R., Saito, T., & Isogai, A. (2012). Cellulose nanofibrils prepared from softwood cellulose by TEMPO/NaClO/NaClO<sub>2</sub> systems in water at pH 4.8 or 6.8. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(3), 228-234. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.05.016>
- Tibolla, H., Pelissari, F. M., Martins, J. T., Lanzoni, E. M., Vicente, A. A., Menegalli, F. C., & Cunha, R. L. (2019). Banana starch nanocomposite with cellulose nanofibers isolated from banana peel by enzymatic treatment: In vitro cytotoxicity assessment. *Carbohydrate Polymers*, 207, 169-179. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.079>
- Wenshuai, C., Haipeng, Y., Yixing, L., Yunfei, H., Mingxin, Z., & Peng, C. (2011). Isolation and characterization of cellulose nanofibers from four plant cellulose fibers using a chemical-ultrasonic process. *Cellulose*, 18(2), 433-442. doi:<https://doi.org/10.1007/s10570-011-9497-z>